



國立中山大學海洋生物研究所

碩士論文

Department of Marine Biology

National Sun Yat-sen University

Master Thesis

以全細胞免疫化學染色法探討南海北部單細胞固氮生物之分布與季節變化

Distribution and seasonal dynamics of unicellular nitrogen-fixing organisms in the northern South China Sea - a whole-cell immunocytochemical study

研究生：簡良芬

Liang-fen Jian

指導教授：陳宏遠 博士

Dr. Houn-Yung Chen

李玉玲 博士

Dr. Yuh-Ling Lee Chen

中華民國102年7月

July 2013

國立中山大學研究生學位論文審定書

本校海洋生物研究所碩士班

研究生簡良芬 (學號：M975010021) 所提論文

以全細胞免疫化學染色法探討南海北部單細胞固氮生物之分布與
季節變化

經本委員會審查並舉行口試，符合碩士學位論文標準。

學位考試委員簽章：

陳宏遠

李玉玲

陳慶能

洪慶章

指導教授(可免) _____

系主任/所長(可免) _____

誌謝

在許多人的幫助之下，才得以完成本論文。首先，最要感謝的是兩位指導教授 陳宏遠老師與 李玉玲老師，兩位老師都給予學生相當的自由度與空間，對於學業及研究內容也悉心教導，並提點學生在思考邏輯上的問題，同時在生活中和處事方面也對學生多加包容與叮嚀，讓學生銘感五衷。初稿完成後，感謝口試委員 洪慶章老師以及 陳慶能老師，針對論文內容提供諸多寶貴的意見，學生由衷感謝。

在學期間，感謝染色小組的師傅 Yukiko さん與子清關於研究與實驗上的教導和討論；艷慧學姊在論文和報告上給予指教；Takuhei さん與托さん提供建議；另外也謝謝苑如、建智、柏瑞、懿賢以及學弟妹們。感謝這群實驗室夥伴們，在實驗室生活中，給予我許多照顧與協助，以及不同語言、文化交流的樂趣；並相互陪伴度過在海上漂流的月夜，一起迎接耀眼的晨曦曙光，在落日餘暉下並肩作業。出海採樣的經驗是人生中特別的篇章，過程點滴在心。也感謝海研一號與海研三號的科儀技術員與船員，使我們能平安順利地完成每一個航次任務。謝謝我的摯友，黑貓、花、超級羊、米米貓和 Yo ちゃん陪著我走過這段時光，幫我找回保持笑容的堅強，無論在世界的哪個角落，我們之間的海都是相連一起的。

最後，特別感謝爸爸與媽媽對我的體諒，毫無怨尤地付出所有，與安少一同默默地作為我的後盾，支持著我向前邁進，讓我能專心於求學之路。謝謝奶奶的關心，願在天上的爺爺也能接收到我的心意。過去總是從別人身上獲得許多而成就現在的我，未來希望能由自己發動某些東西，向下挖掘。謝謝在這段期間內，所有關照或幫助過我的人。

摘要

本研究針對南海北部海域的單細胞固氮生物之時空分布，及影響其分布之環境因子進行探討。研究方法以全細胞免疫化學染色法，利用固氮酵素抗體之探針，將具有固氮酵素抗原的細胞呈色，以利計數，並依體型及外形分成四類，即直徑 1-2 μm 之圓形細胞(1-2 μm C)、直徑 >2 μm 之圓形細胞(>2 μm C)、直徑 1-2 μm 之橢圓形細胞(1-2 μm R)，與 >2 μm 之橢圓形細胞(>2 μm R)。探測期間自 2010 年的 5 月至 12 月，包含 1455 航次(春季)、1487 航次(夏季)與 950 航次(冬季)三航次。探測區域自北緯 21° 至 22°，東經 116.5° 至 122.5°，橫跨南海北部之陸棚、陸坡與海盆區，以及黑潮上游。夏季航次之採樣為颱風過後一週進行，其結果可能與無颱風影響的夏季狀況不同。除了自然界的分布之外，夏季在陸棚與海盆測站，冬季在陸坡測站，採集南海表水，分別添加磷、添加鐵及同時添加磷鐵，進行 48 小時的培養實驗。

結果發現南海北部的單細胞固氮生物，表水細胞密度($20.4\text{-}23.8\times 10^4$ cells L^{-1})以春季和夏季略高於冬季；水柱 0-100 m 累計生物量($14.8\text{-}16.7\times 10^9$ cells m^{-2})以夏季和冬季略高於春季，但統計上季節間細胞密度的差異皆不顯著，在四個海區之間的差異亦不顯著。四類細胞中又以 1-2 μm C 的細胞密度最高，佔表水與水柱累計總細胞數的 47%與 49%，>2 μm C 者次之(佔 39%與 33%)，1-2 μm R (6%與 8%)和 >2 μm R (8%與 9%)細胞密度較低。1-2 μm C 表水細胞密度($9.7\text{-}11.5\times 10^4$ cells L^{-1})在夏季與春季略高於冬季；>2 μm C 表水細胞密度($7.0\text{-}11.1\times 10^4$ cells L^{-1})以春季最高，夏季與冬季相當；1-2 μm R ($0.8\text{-}1.8\times 10^4$ cells L^{-1})和 >2 μm R ($1.3\text{-}2.4\times 10^4$ cells L^{-1})表水細胞密度皆以夏季高於冬季和春季。表水單細胞固氮生物在季節間變化，除了 1-2 μm R 在夏季顯著高於春季與冬季之外($p<0.05$)，其他各類者皆不顯著。>2 μm C 表水細胞密度和表水硝酸鹽濃度、N/P 均呈顯著負相關，與水體分層程度之間呈顯著正相關；1-2 μm C 與 >2 μm C 兩類圓形單細胞固氮生物均與大氣落塵量之間呈顯著正顯著；顯示硝酸鹽越低、磷酸鹽或是鐵濃度越高時，>2 μm C 生物量越高。

營養鹽添加培養實驗結果，顯示在夏季時， $>2\ \mu\text{m C}$ 單細胞固氮生物同時受到磷和鐵缺乏之限制， $>2\ \mu\text{m R}$ 抑是如此，而 $1-2\ \mu\text{m R}$ 於夏季可能受到鐵缺乏之限制。

垂直分布而言，屬於圓形的 $1-2\ \mu\text{m C}$ 和 $>2\ \mu\text{m C}$ 細胞密度在水柱上層(0-50 m)較高，隨水深遞減，上層:中層(50-100 m):下層(100-150 m 或 200 m)細胞密度之比例分別為 1.4:1:0.7 與 1.6:1:0.7，可能與水柱上層較低的硝酸鹽有關。而 $1-2\ \mu\text{m R}$ 的比例為 1.2:1:0.9，為四類單細胞固氮生物中垂直分布較均勻者。 $>2\ \mu\text{m R}$ 之比例為 1.4:1:1.0，相較於前三者，其在水柱下層的比例偏高，推測與其能適應較低光照或/且同時需要磷與鐵有關。

關鍵字：單細胞固氮生物、南海、全細胞免疫化學染色法、固氮酵素、營養鹽。



Abstract

This study investigated the spatial and temporal distribution of unicellular nitrogen-fixing organisms (diazotrophs) in the northern South China Sea (SCS). The diazotrophs contain nitrogenase that can be detected by whole-cell immunocytochemical method using the antibody of nitrogenase, and distinguished and counted readily under a microscope. From present study, the unicellular diazotrophs were classified to four categories according to their sizes and shapes, coccoid cells with diameters of 1-2 μm (1-2 μm C), coccoid with diameters of >2 μm (>2 μm C), rod shape with diameters of 1-2 μm (1-2 μm R), and rod shape with diameters of >2 μm (>2 μm R). All of the field work were conducted between May and December of 2010 during three cruises, including CR1455 (spring), CR1487 (summer) and CR950 (winter). The summer cruise was carried out one week after the passage of a typhoon, which could be different from summer cruise without typhoon event. Sampling stations were located between 21°-22°N and 116.5°-122.5°E covering the shelf, slope and basin of the northern South China Sea. One station was in the upstream Kuroshio. In addition to the field data, some nutrient enrichment experiments were conducted on board the ship, including one on the shelf and one on the basin stations during the summer cruise, and one on the slope station during the winter cruise. Surface water from each station were enriched with including phosphate, iron, phosphate and iron simultaneously,

respectively and were compared with unamended control. All treatments were incubated on deck for 48 hours.

The cell densities of the unicellular diazotrophs on surface water ($20.4\text{--}23.8 \times 10^4$ cells L^{-1}) were somewhat higher in spring and summer than in winter. Water column (0-100 m) integrated abundances ($14.8\text{--}16.7 \times 10^9$ cells m^{-2}) were slightly higher in summer and winter than spring. However, their seasonal differences were not significant after statistical tests. Among the four categories, 1-2 μm C was the most abundant group, occupying 47% and 49% of total unicellular diazotrophs in the surface water and the whole water column, respectively. The second abundant group was >2 μm C (39% and 33%), and the least abundant groups were 1-2 μm R (6% and 8%) and >2 μm R (8% and 9%). The surface cell density of 1-2 μm C ($9.7\text{--}11.5 \times 10^4$ cells L^{-1}), 1-2 μm R ($0.8\text{--}1.8 \times 10^4$ cells L^{-1}) and >2 μm R ($1.3\text{--}2.4 \times 10^4$ cells L^{-1}) were all highest in summer. The surface density of >2 μm C ($7.0\text{--}11.1 \times 10^4$ cells L^{-1}) was however highest in spring. Statistical test, however, showed an insignificant seasonal differences, except that 1-2 μm R which was significantly ($p < 0.05$) higher in summer than winter and spring. The cell density of >2 μm C was negatively correlated to both surface nitrate concentration and the N/P ratio, and positively correlated to stratification of water column. Cell densities of two coccoid diazotrophs (1-2 μm C and >2 μm C) both were positively correlated to the dust influx. This suggested that high abundance of >2 μm C occurred at

low nitrate concentration and/or high phosphate/iron concentration. The results of the nutrient enrichment experiments further support these biological features. As contrast to unamended control, the abundances of $>2\ \mu\text{m}$ C and $>2\ \mu\text{m}$ R were enriched when phosphate and iron were added simultaneously in summer. Similarly, iron enrichment also stimulated the growth of $1\text{-}2\ \mu\text{m}$ R.

Vertical distribution of the four diazotrophic groups were relatively different. The cell density of the coccoid diazotrophs ($1\text{-}2\ \mu\text{m}$ C and $>2\ \mu\text{m}$ C) decreased with depth, with ratios of their densities in the surface (0-50 m): middle (50-100 m): bottom layers (100-150 or 200 m) vertical density profile being 1.4:1:0.7 and 1.6:1:0.7, respectively. High densities in the surface water column might associate with the low nitrate concentration. By contrast, the vertical distribution of $1\text{-}2\ \mu\text{m}$ R was relatively homogenous with a vertical cell density profile of 1.2:1:0.9. Among the diazotrophs, $>2\ \mu\text{m}$ R showed a highest ratio in the bottom layer, as their vertical cell density profile being of 1.4:1:1.0. The phenomenon implicated that $>2\ \mu\text{m}$ R, compared with other diazotrophic groups, probably requires lower illumination and/or higher abundances of phosphate and iron.

Keyword: unicellular nitrogen-fixing organisms (diazotrophs), South China Sea (SCS),

whole-cell immunocytochemical method, nitrogenase, nutrients.

目錄

論文審定書	i
誌謝	ii
中文摘要	iii
英文摘要	v
目錄	viii
圖次	x
表次	xii
第一章 前言	1
第二章 文獻回顧	4
2.1 南海之水文環境	4
2.2 固氮生物與固氮酵素	10
2.3 單細胞固氮生物之分類	11
2.4 單細胞固氮生物的重要性與其在各海域之分布	18
2.5 影響單細胞固氮生物分布之環境因子	24
第三章 材料方法	31
3.1 水文資料測定	31
3.2 單細胞固氮生物採集	32
3.3 營養鹽添加培養實驗	38
3.4 其他水質資料	38
3.5 數據分析	40
第四章 結果	42

4.1 春季 1455 航次	42
4.2 夏季 1487 航次	48
4.3 冬季 950 航次	50
4.4 季節間之變化趨勢	53
4.5 單細胞固氮生物與環境因子之間的關係	60
4.6 營養鹽添加培養實驗	62
第五章 討論	64
5.1 單細胞固氮生物之分布	65
5.2 垂直分布	72
參考文獻	76

圖次

圖 3-1. 本研究探勘測站之地理位置.....	99
圖 3-2. 1487 航次前萊羅克颱風(LIONROCK)之路徑.....	100
圖 3-3. 1487 航次期間莫蘭蒂颱風(MERANTI)之路徑.....	101
圖 3-4. 經全細胞免疫化學染色後而呈色之圓形單細胞固氮生物.....	102
圖 3-5. 經全細胞免疫化學染色後之單細胞固氮生物與非固氮生物.....	103
圖 3-6. 經全細胞免疫化學染色後而呈色之橢圓形單細胞固氮生物.....	104
圖 4-1. 各測站於不同航次之溫-鹽圖.....	105
圖 4-2. 春季 1455 航次南海海域之溫、鹽垂直剖面.....	106
圖 4-3. 春季 1455 航次的海水位高度與海流之衛星資料.....	107
圖 4-4. 各航次於不同海區之間表水單細胞固氮生物之細胞密度的變動.....	108
圖 4-5. 各航次於不同海區之間水柱累計單細胞固氮生物量之變動.....	109
圖 4-6. 春季 1455 航次各測站各類單細胞固氮生物之垂直分布.....	110
圖 4-7. 內波採樣之水體密度、Chl a 濃度及各類單細胞固氮生物之垂直分布	111
圖 4-8. 內波採樣之各生態變項水柱(0-150 m)平均值之變化.....	112
圖 4-9. 夏季 1487 航次的海水位高度與海流之衛星資料.....	113
圖 4-10. 夏季 1487 航次南海海域之溫、鹽垂直剖面.....	114
圖 4-11. 夏季 1487 航次各類單細胞固氮生物在南海陸棚和海盆之垂直分布	115
圖 4-12. 冬季 950 航次的海水位高度與海流之衛星資料.....	116
圖 4-13. 冬季 950 航次南海海域之溫、鹽垂直剖面.....	117
圖 4-14. 冬季 950 航次各測站各類單細胞固氮生物之垂直分布.....	118
圖 4-15. 南海海域表水單細胞固氮生物之細胞密度於季節間的變動.....	119

圖 4-16. 南海表水各類型單細胞固氮生物細胞密度於季節間之變動.....	120
圖 4-17. 南海水柱累計單細胞固氮生物量之季節間變動.....	121
圖 4-18. 各海區內季節間各類單細胞固氮生物之表水細胞密度變動.....	122
圖 4-19. 各海區內季節之間各類單細胞固氮生物水柱累計生物量之變動.....	123
圖 4-20. 南海表水 $>2\ \mu\text{m}$ C 細胞密度與環境因子間之直線關係.....	124
圖 4-21. 南海表水 $1-2\ \mu\text{m}$ R 細胞密度與日照強度之直線關係.....	125
圖 4-22. 春季 1455 航次之表水單細胞固氮生物細胞密度與大氣落塵之關係.....	126
圖 4-23. 1487 航次 S9 站營養鹽添加培養 24 小時後之各類單細胞固氮生物量....	127
圖 4-24. 1487 航次 S9 站營養鹽添加培養 48 小時後之各類單細胞固氮生物量....	128
圖 4-25. 1487 航次 S5 站營養鹽添加培養 24 小時後之各類單細胞固氮生物量....	129
圖 4-26. 1487 航次 S5 站營養鹽添加培養 48 小時後之各類單細胞固氮生物量....	130
圖 4-27. 950 航次 S6 站營養鹽添加 24 小時培養後之各類單細胞固氮生物量.....	131
圖 4-28. 950 航次 S6 站營養鹽添加 48 小時培養後之各類單細胞固氮生物量.....	132
圖 5-1. 夏季 1487 航次與冬季 950 航次之大氣落塵量.....	133

表次

表 3-1. 各航次時間及採集單細胞固氮生物樣本之測站	134
表 3-2. 進行營養鹽添加實驗之航次、測站與四個處理組	135
表 4-1. 春季 1455 航次不同海區間之水文資料	136
表 4-2. 單細胞固氮生物與 Chl a 濃度在水柱不同深度之分布	137
表 4-3. 夏季 1487 航次不同海區之間之水文資料	138
表 4-4. 冬季 950 航次不同海區間之水文資料	139
表 4-5. 南海各類單細胞固氮生物的表水生物量與各環境因子之相關係數	140
表 4-6. 南海各環境因子間之相關係數	141
表 4-7. 南海各類單細胞固氮生物水柱累計生物量與各環境因子之相關係數 ..	142
表 4-8. 南海各類單細胞固氮生物的表水生物量間之相關係數	143
表 4-9. 南海各類單細胞固氮生物的水柱累計生物量之相關係數	144

第一章 前言

海洋中氮鹽為影響海洋浮游植物生長的重要環節之一。浮游生物細胞內的碳、氮、與磷的組成比例為 106:16:1 (Redfield et al. 1963)，然而大洋水體中的這三種元素的比例為 1017:15:1 (Thomas 1966)，以氮鹽含量為三者中最低，因此氮鹽不足是限制一般海洋浮游植物生長的常見因子。浮游植物所能利用的氮鹽可分成再生性與新生性，再生性氮鹽為有光區內，經過食物鏈循環後可再被利用的氮鹽，如氨或尿素等；而新生性氮鹽則是指外來的硝酸鹽、亞硝酸鹽或氮氣進入有光區，來源如降雨、落塵、河水注入、由深水層向上擴散或湧升現象，與固氮作用(Eppley and Peterson 1979)。

在熱帶及亞熱帶海域受到溫度高的影響而使水體分層明顯，氮鹽不易擴散至有光區，這類海域的新生性氮鹽中，超過一半以上是由固氮藍綠藻進行固氮作用而來(Dore et al. 2002; Karl et al. 2002)，因此海洋中能進行固氮的藍綠藻變得相當重要。過去認為海洋中主要的固氮藍綠藻是大型絲狀藍綠藻 *Trichodesmium* (Carpenter 1983; Capone et al. 1997)，以及會共生於矽藻內並具有異細胞的 *Richelia intracellularis* (Carpenter et al. 1999)；近期則透過分子技術檢測 *nifH* 基因，證實有多種體型<10 μm 的單細胞固氮藍綠藻的存在(Zehr et al. 2001; Church et al. 2005a; Foster et al. 2007)，而且其生物量或固氮率不亞於大型的 *Trichodesmium* (Montoya et al. 2004)。在北太平洋 ALOHA 站(A Long-term Oligotrophic Habitat Assessment)發現的單細胞固氮藍綠藻的 UCYN-A 與 UCYN-B，其生物量是 *Trichodesmium* 和 *Richelia* 的 5-9 倍(Church et al. 2009)；<10 μm 水樣之固氮率也佔總水樣固氮率之 31-100% (Grabowski et al. 2008)。

目前已經被證實的單細胞固氮藍綠藻有 UCYN-A、-B 與 -C。其中 UCYN-A 和 -B 外型為圓形，UCYN-A 的直徑為<1.5 μm (Goebel et al. 2008; Le Moal and Biegala 2009)，目前尚未有實驗室純種培養，由野外樣本分析的文獻認為其直徑約 1 μm 左右(Zehr and Paerl 2008)或 0.7-1.5 μm (Biegala and Raimbault 2008)；UCYN-B 的直徑

>2 μm (Zehr et al. 2001; Webb et al. 2009), *Crocospaera Watsonii* WH8501 為首次純種培養的 UCYN-B, 其直徑 2-3 μm (Waterbury and Rippka 1989), 之後陸續分離出的植株(Strain)直徑不一, 如北大西洋分離出的直徑為 2.5 μm , 北太平洋分離出的直徑是 3-7 μm (Falcón et al. 2005), 南大西洋分離出的直徑為 2-5 μm (Webb et al. 2009)。UCYN-C 則是長>2 μm 、寬>1.9 μm 的橢圓細胞(Bothe et al. 2010; Sherman et al. 2010; Taniuchi et al. 2011), 純種之 *Cyanothece*、*Gloeocapsa* 和 *Gloeotheca* 皆屬於由沿岸分離出之 UCYN-C, 細胞長度為 2-10 μm (Church et al. 2005b; Bothe et al. 2010; Ohki et al. 2008), 寬度 1.9-5 μm (Reddy et al. 1993; Stal 2009; Sherman et al. 2010), 目前唯一由大洋分離的純種 UCYN-C 為 TW3 (Luo et al. 2012), 其細胞長 4-6 μm 、寬 2.5-3 μm (Taniuchi et al. 2011)。

氮鹽缺乏對固氮生物而言, 一般不是主要生長限制因子, 因為固氮生物可利用固氮酵素(Nitrogenase)進行固氮作用, 將大氣中的氮氣(N_2)還原成氨氮(NH_3)利用之。相對的, 其可能受到磷或鐵, 或是磷與鐵同時缺乏而受到限制(Sañudo-Wilhelmy et al. 2001; Falkowski 1997; Karl et al. 2002)。由於細胞進行代謝或光合作用需要鐵之外, 固氮酵素是由鐵蛋白與鉬鐵蛋白組成(Kustka et al. 2003), 為了合成固氮酵素而需要更大量的鐵。例如屬於 UCYN-B 的 *Crocospaera wastonii*, 對鐵的需求比其他浮游植物高 3 倍以上(Tuit et al. 2004)。

南海又稱南中國海(South China Sea), 是西太平洋地區最大的半封閉邊緣海, 位於亞洲大陸板塊東南方, 除了北部屬於亞熱帶氣候, 大部分海域屬於熱帶氣候。大陸沿岸的陸棚區由於河水匯入, 使得沿岸營養鹽較高, 其餘海區多屬於貧營養鹽的環境(Gong et al. 1992)。Chou et al. (2006)以 Redfield ratio 的碳、氮比例, 推算出南海北部的浮游植物所需要的氮為 $0.67 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, 但是檢測大型絲狀固氮藍綠藻 *Trichodesmium*、*Richelia* 的碳含量後, 所推算出的固氮貢獻為 $0.08 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, 再加上來自大氣沉降與水體垂直擴散的氮鹽, 僅佔浮游生物需求量的 55%, 文獻中研究結果推測其餘不足的部分, 可能靠<10 μm 的單細胞固氮藍綠藻的固氮貢獻彌補, 提出單細胞固氮藍綠藻對南海的氮源可能頗重要。南海的單細胞固氮

生物與其他海域的種類相似，韓(2005)分析表水至 100 m 的樣本，其發現南海單細胞固氮生物之 *nifH* 基因，與北太平洋 HOT 海域的種類，以及 *Cyanothece* sp. ATCC51142、WH8902 和 WH8904 等單細胞固氮藍綠藻的 *nifH* 基因相似度超過 90%。

目前對於野外單細胞固氮生物量的文獻，多數是以分子生物學的方法，偵測 *nifH* 基因的數量，而本研究選擇全細胞免疫化學染色法 (Whole-cell immunocytochemical detection, Taniuchi et al. 2008a)，確認所計數者為產生固氮酵素的細胞，並直接由光學顯微鏡觀察其外形及體型。楊(2011)的研究對黑潮上游與南海北部的單細胞固氮生物已有初步調查，作者認為體型 $>3\ \mu\text{m}$ 之單細胞固氮生物的分布與磷酸鹽濃度相關，其生物量隨磷酸鹽濃度增加而提高，但缺乏培養實驗結果的驗證，而且對於南海北部的單細胞固氮生物之垂直分布數據太少，僅侷限於葉綠素 a (Chl a) 濃度最大深度 77 m 以淺的水層，對於較深水層的單細胞固氮生物之研究有待補足。本研究目的除了探討南海北部的單細胞固氮生物量在不同季節、不同空間的分布，同時選擇部分測站進行磷和鐵的添加培養實驗，以瞭解營養鹽是否為南海北部單細胞固氮生物的環境限制因子，此外，對單細胞固氮生物的垂直分布，有更完整的數據分析及探討。

第二章 文獻回顧

1. 南海之水文環境

南海(South China Sea, SCS)與東海、黃海並稱為亞洲三大邊緣海，為西太平洋地區最大的半封閉邊緣海，範圍 3° - 25° N、 105° - 120° E，總面積($3.5 \times 10^6 \text{ km}^2$)大小僅次於地中海(Mediterranean Sea)。南海海盆形狀狹長且呈東北-西南走向，其東半部深度較深，海盆中央水深超過 5000 m，西半部偏淺，為廣大的陸棚地形。南海水藉由一些通道與周圍海域的水體進行交換，例如北向有台灣海峽(Taiwan Strait)與東海(East China Sea)相接；東北方經由呂宋海峽(Luzon Strait)銜接太平洋與西太平洋海水交換。呂宋海峽寬 350 km，水深可達 2500 m，全年受到黑潮水團入侵(Hu et al. 2000)，入侵範圍介於 18.8° - 22° N 與 117.3° - 123° E 之間(Jia et al. 2004)。

南海長期受到東亞季風影響，冬季受東北季風吹拂(平均風速 9 m s^{-1})，夏季則是較弱的西南季風(6 m s^{-1} , Hu et al. 2000)。當西南季風盛行之時會推動在南海海盆西側的沿岸水朝東北流，造成東側的水團跨越很深的海盆向南補償性移動，形成順時針方向的反氣旋式環流(Anti-cyclonic circulation)環流，而冬天東北季風盛行反轉了整體環流的方向，為逆時針方向的氣旋式環流(Cyclonic circulation, Wyrski 1961)。

受季風的影響使南海北部的水文環境有明顯的季節變化。夏季表水溫度高於 29°C ，受西南季風推動，來自珠江(Zhujiang River)的河水也朝東北方向延伸，進入南海北部的陸棚區，因此夏季表水鹽度較低，範圍為 32-33.9 PSU (Su 2004; Chen 2005; Chen and Chen 2006)。冬季時表水溫度範圍 21.5 - 24°C ，東北季風盛行之時，為全年風力最強之季，最大風速大於 12 m s^{-1} ，在強風驅動之下使得水體產生垂直混合，鹽度高的北太平洋熱帶水團(North Pacific Tropical Water)向上抬升，促使冬季的表水鹽度比夏季高(33.6-34 PSU)，混和層深度可達 95 m (Tseng et al. 2005; Wong et al. 2007)，而夏季的混和層深度約 16-31 m (Chen and Chen 2006)。春季是東北季風轉換為西南季風的過渡期，風速較弱(低於 4 m s^{-1} , Tseng et al. 2005)，表

水溫度(23.4-25.5°C)比冬季略高，鹽度(33.6-34.0 PSU)與冬季相當，混和層深度(44 m)比冬季淺而比夏季深(Chen and Chen 2006)。

南海北部的營養鹽濃度的季節變化也反應出季風擾動的影響，不同海區也有所差異。夏季溫度高使水體分層明顯，深水層營養鹽不易向上擴散，硝酸鹽躍層深度為 45 m，反之，冬季溫度低而水體分層不明顯，營養鹽容易向上擴散，表水的硝酸鹽濃度超過 0.1 μM ，顯示垂直混和作用旺盛，深水層的營養鹽被帶入上表層，因此冬季比夏季營養鹽高(Chen 2005)。春季的表水溫比冬季高，水體分層程度也比冬季明顯，營養鹽濃度介於冬季與夏季之間，硝酸鹽躍層深度為 30-42 m (Chen 2005)。陸棚的表水溫度比海盆低，而夏季的河流排放，加上陸棚深度較淺的本質，使陸棚與海盆相比，其鹽度較低，營養鹽較高，硝酸鹽躍層深度也較淺(Chen and Chen 2006)。

浮游植物生物量的季節變化與營養鹽的趨勢相似，深水層擴散而上的硝酸鹽是供應南海浮游植物成長的主要來源(Chen et al. 2004)。表水葉綠素 a (Chl a)濃度在春季為 0.11-0.18 mg m^{-3} (Chen and Chen 2006)，在夏季通常低於 0.1 mg m^{-3} (Lin et al. 2003)，在冬季(0.33-0.68 mg m^{-3})是在夏季的 4-8 倍(Chen and Chen 2006)。植物生長需要的光照，在南海的季節變化趨勢與 Chl a 濃度的趨勢不同，光照強度是以夏季(50-60 $\text{E m}^{-2} \text{d}^{-1}$)高於冬季(32 $\text{E m}^{-2} \text{d}^{-1}$)，有光層深度也以夏季(70-109 m)比冬季(61-73 m)來得深，春季有光層深度為 61-102 m，Chen (2005)認為光照雖然會影響浮游植物的時空分布，但不是限制南海北部初級生產者的關鍵。而且南海有光層區內，N/P 範圍為 0.2-3.5，遠小於 Redfield Ratio 的 16 (Redfield et al. 1963)，這對浮游植物而言是相當缺氮鹽的環境(Chen et al. 2004)。Chen (2005)與 Chen and Chen (2006)在海盆區所進行的營養鹽添加培養實驗結果類似，Chl a 濃度都在硝酸鹽添加組才有明顯增加，顯示海盆區的浮游植物無論在冬季或春季都受到硝酸鹽不足的限制。而陸棚區的浮游植物在夏季除了受硝酸鹽限制之外，還可能受到磷不足的限制(Chen 2005)。

南海除了受到季風影響之外也受到其餘物理現象影響，對生物造成局部性明

顯的變化，如渦流(Lin et al. 2010)、颱風(Lin et al. 2003)，內波(Sangra et al. 2001; Wang et al. 2007)。此外，黑潮水的入侵(Chen et al. 2007)以及大氣沉降帶來的營養鹽(Lin et al. 2007)也會對海域的生地化造成影響。

i. 渦流(Eddy)

渦流的形式有三種，分別為(一)氣旋渦流(Cyclone eddy)：其特色是表水溫度較周圍低，海水高度異常值較低，而且會產生湧升現象(Upwelling)；(二)反氣旋渦流(Anti-cyclone eddy)：其特色與前者相反，是表水溫度較高、海水位異常高度增加，並產生下沉現象(Downwelling)；(三) Mode-water eddy：此類渦流雖然表水溫較周圍低，但海水位異常高度是比周圍高，並且產生湧升作用(Sweeney et al. 2003)。

南海的渦流結構複雜，有許多局部的地方性渦流。衛星模擬的海水位高度異常(Sea Surface Height Anomalies)顯示，台灣西南方(20°-22.5°N, 118°-122°E)發生的氣旋渦流與反氣旋渦流比例為 1:13；宋島西北方(16°-20°N, 112°-122°E)兩者的比例為 13:18 (Wang et al. 2003)。在不同季節形成的渦流也不同。Soong et al. (1995)根據衛星模擬的海水位高度(Sea Surface Height)與表水溫度資料，顯示冬季時出現於南海中部(12.7°N, 119.1°E)者為逆時針方向的冷渦(Cold eddy)，中心表水溫度(16.5°C)比周圍的低 0.5-1.5°C；Chu et al. (1997)分析美國海軍所建置之 MOODS (Master Observational Oceanographic Data Set)資料發現，春季時出現在南海中部(9°-25°N, 109°-120°E)者為暖渦(Warm eddy)。

渦流作用能為有光層帶來的營養鹽(McGillicuddy et al. 1998, 2003)，並對當地的浮游植物的生物量或組成造成影響。例如 Bibby et al. (2008)在北太平洋(19.5°-20.3°N, 157.5°-156.8°W)發現的氣旋渦流，其內部的 Chl a 濃度是外部的 2-4 倍；在北大西洋(30.1°-33.3°N, 62.3°-66.5°W)發現的 Mode-water eddy，內部的 Chl a 濃度是外部的 1-7 倍。Vaillancourt et al. (2003)在北太平洋(18.5°-21°N, 156°-158°W)觀察到的氣旋渦流，渦流內部的超微浮游植物(如 *Prochlorococcus*、*Synechococcus*)和直徑<3 μm 的自營真核生物比渦流外部多 4 倍，但渦流內沒有觀察到與矽藻內共

生的絲狀固氮藍綠藻 *Rhizosolenia* 和 *Hemiaulus* 存在。在南海北部春季發生的藻華 (Chl a 濃度 $0.3-0.4 \text{ mg m}^{-3}$)，Lin et al. (2010)推測是大小 $700 \times 500 \text{ km}$ 的巨型反氣旋渦流，將數百公里外於越南沿岸的營養鹽和浮游植物遠距離傳輸到南海北部所致。

ii. 颱風

颱風具有強大風力，足以引發水體產生劇烈的垂直混合作用或形成渦流，使南海海域發生藻華而初級生產力 (Primary production) 上升。2000 年中度颱風 KAI-TAK 通過南海海域時，緩慢的移動速度 ($0-1.4 \text{ m s}^{-1}$) 再加上 $20-40 \text{ m s}^{-1}$ 的風力，造成混合層深度加深且硝酸鹽躍層淺化，相較於颱風通過前，表水溫下降約 9°C ，並在 3 天內促使表水 Chl a 濃度多了 30 倍，新生產力也占全年新生產力的 2-4% (Lin et al. 2003)。除了混合作用之外，Zheng and Tang (2007)發現在颱風 DAMREY 經過後 5 天，表水 Chl a 濃度最高 (1.9 mg m^{-3}) 之處，單日降雨量超過 300 mm ，水中的懸浮沉積物 (suspended sediment，如泥土) 和溶解性有機物 (dissolved organic matter) 明顯增加，顯示降雨加上颱風造成的風驅海流，將陸源物質傳送到海洋而引發藻華。颱風也促使陸源營養鹽隨河水排放到海洋，導致海洋中固氮生物量的減少。2007 年的降雨量配合鹽度資料顯示，颱風 Pabuk、Wutip 和 Sepat 通過黑潮上游流域 (22°N , $121-123^{\circ}\text{E}$) 後，颱風後的表水鹽度 ($33.1-33.8 \text{ PSU}$) 比颱風前 ($33.8-34.4 \text{ PSU}$) 降低，Chen et al. (2009)認為是來自高屏溪的淡水注入黑潮流域，使得黑潮的表水硝酸鹽濃度增加 10 倍、硝酸鹽躍層深度淺化 30 m ，而浮游植物初級生產力提升 3 倍、硝酸鹽吸收新生產力 (Nitrate-uptake-based new production) 成長 6 倍、Chl a 濃度也提高 2 倍，甚至浮游植物的組成都受到改變，矽藻生物量是颱風前的 3 倍，而固氮生物如 *Trichodesmium* spp.、*Richelia intracellularis* 和可能為單細胞固氮生物者 (直徑 $2.5-5 \text{ }\mu\text{m}$ 、 $5-10 \text{ }\mu\text{m}$) 的數量減少了 2-5 倍 (Chen et al. 2009)。南海區域年平均有 14 個颱風通過，其中有些停留時間較長或是強度較強，預估南海新生產力有 20-30% 是颱風造成，其影響力著實不可忽略 (Lin et al. 2003)。

iii. 內波(Internal Wave)

除了湧升現象之外，內波也是另一個加強上下層水體垂直混合的機制。當流體內部密度垂直分布出現層化構造(Stratification)時，層化界面受到干擾產生波動並沿著介面將能量傳遞出去，因為是在流體內部產生，故稱為內波(許與劉 2010)。Hsu et al. (2000)匯整 SAR (Synthetic Aperture Radar)影像，發現南海北部的內波多數由東向西傳遞，以內潮(Internal tide)和非線性波包(Nonlinear wave packets)的形式，沿著海盆邊緣引發擾動釋放能量(St. Laurent et al. 2011)。南海的內波震幅遠大於其他海域，可達 170 m，傳播速度接近 3 m s^{-1} ，亦為目前世界上觀測到最快的內波(Klymak et al. 2006; Simmons et al. 2011)。內波有助於當地的初級生產力的提升，當內波通過時會將下層的 Chl a 向上抬升，使表水 Chl a 濃度增加(da Silva et al. 2002)；也藉由垂直混和供應有光層營養鹽，使浮游植物生長(Sangra et al. 2001; da Silva et al. 2002; Wang et al. 2007)。南海北部，有內波通過的東沙環礁北方(20.9° - 21.9° N, 116.3° - 117.3° E)，與受內波影響極小的 SEATS 站(SouthEast Asian Time-series Study)相較之下，水柱 0-50 m 的平均溫度降低 2°C ，平均硝酸鹽濃度增加 $6 \mu\text{M}$ ，而且平均 Chl a 濃度提高 0.2 mg m^{-3} (Pan et al. 2012)。

iv. 黑潮入侵

黑潮(Kuroshio)源自於北赤道洋流(North Equatorial Current)在 11° - 14.5° N 的分支(范 2004)，因降雨少、蒸發過度而形成的海流(Cannon 1966)。黑潮的水團特性，與南海相比是溫度較高，鹽度也較高(陳 2001)。水文的季節變化與南海相同，表水硝酸鹽、磷酸鹽和 Chl a 濃度，都以冬季高於夏季，無論混和層、硝酸鹽躍層或有光層深度，都是以黑潮比南海深。黑潮與南海的 N/P (低於 1-5)都小於 16，顯示兩者同為缺乏氮鹽的海域(Chen et al. 2008)。

黑潮終年經呂宋海峽入侵南海，尤其以冬夏兩季較春秋時更加顯著(Metzger and Hurlburt 1996; Qu et al. 2000)。入侵的路徑主要有三種型態(Caruso et al. 2006)：

路徑(一)：黑潮主流經過呂宋海峽時，部分支流產生順時針方向的曲流，但不穿越呂宋海峽，故黑潮水不會到達 120.5°E 以西。路徑(二)在 21.3°N 以南流入南海之後變化成三類，一類是形成黑潮支流(South China Sea Branch of the Kuroshio)，朝西南前進沿著陸棚消散；第二類是進入南海北部形成反氣旋套流(Loop)，之後回歸到路徑(一)流出呂宋海峽，若反氣旋套流受渦流脫離作用(Eddy shedding)形成獨立的反氣旋渦流，不會回歸到第一型路徑者則成為第三類。路徑(三)是由呂宋海峽北部進入並在台灣西南方形成氣旋式渦流。入侵海流的順/逆時針之交替與風應力旋度(wind stress curls)相關(Wu et al. 2005)，如 1997-1998 年冬季觀察到的入侵海流屬於路徑(二)，2002-2003 年則為路徑(三) (Caruso et al. 2006)。

黑潮入侵南海形成的冷渦對浮游植物的生產力與組成造成影響。Chen et al. (2007)在 4-5 月觀察到的冷渦(20.3°N, 120.5°E)，除了表水溫比南海非冷渦區低(-1.1 °C)，表水硝酸鹽濃度比非冷渦區和黑潮都高了 10 倍，表水 Chl a 濃度高 3-4 倍，而水柱累計硝酸鹽吸收初級生產力也多 4 倍、水柱累計初級生產力則多 2 倍，矽藻生物量在冷渦內是非冷渦區和黑潮的 3-35 倍，固氮生物 *Trichodesmium* spp.和 *Richelia intracellularis* 的生物量卻沒有增加。另外，在 18°-21°N、117°-120°E 範圍內觀察到表水溫度與 Chl a 濃度之間呈現負相關，而且冬季的 Chl a 濃度暴增至 2.0 mg m⁻³，加上風壓、河流排放等證據，Peñaflores et al. (2007)認為也是受黑潮水影響，其將呂宋沿岸流向上抬生，產生劇烈湧升而引發藻華。

v. 氣膠(Aerosol)與大氣落塵(Dust)

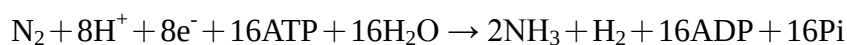
氣膠指的是大氣中的懸浮顆粒，隨著大氣飄移沉落至海洋中，能夠影響海洋中的生地化循環，如大氣沉降帶來的硝酸鹽與磷酸鹽可能直接影響到海洋中的生產力(Paerl 1997)，而大氣落塵能為有光層區帶來的不僅有硝酸鹽與磷酸鹽，還包含微量營養鹽的鐵(Wu et al. 2001)，所以大氣落塵對海洋而言，是非常重要的鐵來源，有助於表水鐵濃度的增加(Jickells et al. 2005)，也因此可能刺激貧營養海域中的固氮作用(Capone et al. 1997)。南海上空的氣膠來源包括海鹽微粒、來自中國東

部的汙染、來自亞洲沙漠的落塵，與來自蘇門答臘或婆羅洲的生質燃燒塵霾。在冬季(11-4月)，主要是人為汙染和落塵混合成的沙塵暴進入南海北部；夏季(6-9月)的西南季風，將生質燃燒造成的煙霾送入南海南部；南海附近多樣的氣膠來源伴隨時空變化顯示了大氣與南海的生化作用之間複雜的影響(Lin et al. 2007)。

綜合上述前人研究成果，許多因素對南海有光層的營養鹽產生局部性影響，但南海海區水深，在 50 m 以淺的硝酸鹽與磷酸鹽含量甚低以至於不適用低於一般的偵測方法(陳 2001; Gong et al. 1995)，為缺乏氮鹽的海域(Chen et al. 2008)，然而南海卻終年在有光層區測量出有超過 2 μM 的 N^* (Nitrate anomaly)，秋季和早春期間甚至上達 2.5 μM ，顯示上層水體的固氮作用相當旺盛(Wong et al. 2002)，再者，傳統認知中的固氮生物 *Trichodesmium* spp. 和 *Richelia intracellularis* 的生物量相當低(0-20 trichomes L^{-1} , Chen 2005)，尤其春季時 *Trichodesmium* 生物量(0.9×10^6 trichomes m^{-2})比夏季時(4.9×10^6 trichomes m^{-2})少了 5 倍(Chen et al. 2008)，而 Chou et al. (2006)推測 1-10 μm 單細胞固氮藍綠藻可能是貧營養的南海中另一群重要的氮來源提供者。

2. 固氮生物與固氮酵素

微生物中可固氮者(Diazotroph)其細胞具固氮酵素(Nitrogenase)能進行固氮作用(Biological nitrogen fixation)，將氮氣(N_2)還原成氨氮(NH_3)，反應式如下：



固氮酵素由 *nif* 基因(Nitrogen-fixation gene)控制產生，最廣為熟知的固氮酵素是鉬固氮酵素(Mo-nitrogenase, *nifHDK*)，由兩個次蛋白組成，其一為 *nifH* 基因控制產生的鐵蛋白(Fe protein, NifH)，另一為 *nifD* 與 *nifK* 基因控制產生之鉬鐵蛋白(Mo-Fe protein, NifDK)。此外尚有其他種類固氮酵素(Mo-independent nitrogenase)存在，如由釩取代鉬的釩固氮酵素(V-nitrogenase, *vnfHDK*)，或由鐵取代鉬的鐵固氮酵素(Fe-nitrogenase, *anfHDK*) (Eady 1996)。因 *nifH* 序列具有相當高的保守性(Ruvkun and Ausubel 1980; Falkowski 1997; Foster et al. 2007)，Chien and Zinder

(1996)針對 *nifH* 與 16S rRNA 之序列比對結果，將固氮生物分成四個集群(Clusters I-IV)：Cluster I 的生物擁有 *nifH* 基因，如藍綠藻或 proteobacteria；Cluster II 的細菌或古菌(Archaea)具有 *anfH* 基因可以產生鐵固氮酵素；*nifH* 基因序列與 Cluster I 相似之厭氧菌(Strict anaerobes)分類成 Cluster III；具有類似 *nif* 序列者(*nif*-like sequences) 歸納成 Cluster IV (Zehr et al. 2003, 2006)。

海洋中，藍綠藻常為主要的固氮生物，除了以往被認定生物量最多且固氮能力最活躍之絲狀藍綠藻 *Trichodesmium* 之外，尚有多種體型<10 μm 的單細胞固氮生物，其中又以單細胞固氮藍綠藻(Unicellular N_2 -fixing cyanobacteria, UCYN)，其生物量與固氮率有時可能媲美 *Trichodesmium*、*Richelia* 等常見的絲狀固氮藍綠藻 (Zehr et al. 2001; Montoya et al. 2004; Church et al. 2009)，且其分布範圍更廣闊 (Moisander et al. 2010)。利用分子生物技術檢測的結果顯示，大洋中固氮微生物族群囊括了不同類型的非藍綠藻之固氮生物(Non-cyanobacterial diazotrophs) (Zehr et al. 1998)。具有 *nifH* 序列者以藍綠藻、 α -與 γ -proteobacteria 為大宗(Zehr et al. 2000)，序列的多樣性顯示海洋中固氮生物不僅藍綠藻，亦包含 proteobacteria 與厭氧菌 (Church et al. 2005b)。

3. 單細胞固氮生物之分類

i. 單細胞固氮藍綠藻(UCYN)

分子遺傳學上歸類於 Cluster I 內的 UCYN，在熱帶與亞熱帶海域的豐度可能更勝於絲狀固氮藍綠藻(Zehr 2011)。依 *nifH* 基因序列可細分成 UCYN-A (UCYN group A)、UCYN-B (UCYN group B)與 UCYN-C (UCYN group C)，其中最早被培養在實驗室的單細胞固氮藍綠藻是屬於 UCYN-B 的 *Crocospaera Watsonii* (Waterbury and Rippka 1989)，其次是屬於 UCYN-C 的 *Cyanothece* (Reddy et al. 1993)，至今 UCYN-A 尚無實驗室的培養，而後兩者(UCYN-A、UCYN-C)與 UCYN-B 之 *nifH* 基因的相似度達 80-90% (Foster et al. 2007)。

(a) UCYN-B

早在 1988 年已有成功於實驗室中培養之 UCYN-B 的記錄，是由 Waterbury and Rippka (1989) 自大西洋海水分離出純種培養之 *Crocospaera Watsonii* WH8501 (*Synechocystis* sp. WH8501)，為直徑 2-3 μm 圓形細胞，其 *nifH* 基因序列與野外 UCYN-B 基因序列相似度達 93-100% (Zehr et al. 2001; Farnelid et al. 2011)，其適合生長之溫度範圍在 26-34°C (Webb et al. 2009)，白天進行光合作用，到夜晚才進行固氮作用(Zehe et al. 2001, 2007a)。固氮酵素每天白天會被降解，等到夜晚再重新合成(Tuit et al. 2004; Saito et al. 2011)。Zehr et al. (2007b)進一步調查得知全球的 *Crocospaera* 一屬之基因多樣性極低，不同海域分離出的細胞大小有些差異，例如：Falcón et al. (2005) 自大西洋分離出的 A-2.5，直徑為 2.5 μm ，來自太平洋的 P-3(直徑 3 μm)和 P-7(直徑 7 μm)。Webb et al. (2009)也發現不同植株(Strian)之間的細胞體型有顯著差異(1-way ANOVA, $P < 0.0001$)，並依直徑區分成小體型(2-4 μm)與大體型(5-6 μm)。其它，Zehr et al. (2001)描述的是介於 3-10 μm ，亦有記錄直徑為平均 2 μm (Tuit et al. 2004)、3-5 μm (Goebel et al. 2008)及 3-8 μm (Moisander et al. 2010)。來自野外觀察記錄疑似 *Crocospaera* 者(*C. Watsonii*-like cells)之細胞直徑有 3-7 μm (Montoya et al. 2004)、2.5-7 μm (Falcón et al. 2004)、>2 μm (Campbell et al. 2005)、3-8 μm (Goebel et al. 2008)、2-5 μm (Hewson et al. 2009)及 2.5-3.2 μm (Le Moal et al. 2011)。不同體型的 *Crocospaera* 能夠共存在同一野外環境(Falcón et al. 2005)，而且體型的差異可能導致細胞對氮的需求不同，大體型細胞會分泌醣類組成的胞外物質(extracellular material)，顯示其因為固碳作用旺盛使得體內碳氮比失衡，反而受氮不足限制，所以固氮率較高；小體型細胞不會分泌胞外物質，可能是體內的碳氮比取得平衡，或受到碳不足的限制(Webb et al. 2009)。Foster et al. (2006a, 2006b)在渦鞭毛藻(*Histioneis* sp.)的 girdle 上發現的共生 UCYN，可能是疑似 *Crocospaera* 者(Thompson et al. 2012)。

(b) UCYN-C

Cyanothece sp. ATCC51142 純種來自墨西哥灣沿岸(Reddy et al. 1993)，UCYN-C 序列與其有 96%相似(Langlois et al. 2005)。過去屬 UCYN-C 的純種培養包括 *Cyanothece* sp.、*Gloeocapsa* sp.和 *Gloeotheca* sp. (Taniuchi et al. 2011; Le Moal et al. 2011)，皆來自沿岸地區，其外型為橢圓形細胞。*Cyanothece* 之細胞長度介於 4-8 μm (Reddy et al. 1993)、2-10 μm (Church et al. 2005b)、2-8 μm (Bothe et al. 2010)或 3-10 μm (Zehr et al. 2001; Sherman et al. 2010)，寬度 4-5 μm (Reddy et al. 1993)、1.9-4.4 μm (Sherman et al. 2010)，於夜間進行固氮作用，38°C 高溫下 doubling time 只需 20 小時 (Reddy et al. 1993; Taniuchi and Ohki 2007); *Gloeocapsa* 和 *Gloeotheca* 的大小為 2-6 $\times$ 2-3.5 μm (長 $\times$ 寬)，雖然於日間能進行固氮作用，但主要仍是在夜間進行(Ohki et al. 2008; Stal 2009)。Taniuchi and Ohki (2007)也發現在 12 小時亮/12 小時暗的黑暗中，*Gloeotheca* sp. 86DGA 的固氮酵素一直存在著，而且即使有固氮酵素存在也不一定進行固氮作用。截至近期才由 Taniuchi et al. (2011)從黑潮水分離出的 TW3 是目前唯一來自大洋的純種 UCYN-C (Luo et al. 2012)，適合生長之溫度範圍在 28-34°C，外觀是綠色的橢圓細胞，細胞長 4-6 μm 、寬 2.5-3 μm ，夜間固氮率約是日間的 1500 倍。TW3 的序列與 *Cyanothece* sp. ATCC51142 和 *Gloeocapsa* sp. 有 98%相似度，且與 *Cyanothece* sp. ATCC51142 形態特徵相似，胞外沒有 sheath，在同一平面上細胞一分為二，類囊體分散在細胞內(Taniuchi et al. 2011)。利用全細胞免疫化學染色法(Whole-cell immunocytochemical detection)偵測野外樣本的 UCYN，>3 μm 的橢圓細胞被認為可能為 TW3 (Taniuchi et al. 2011)。而 Le Moal et al. (2011)以 TSA-FISH (Tyramide Signal Amplification-Fluorescent In Situ Hybridization)染色結果，雖未說明細胞外觀為圓形或橢圓形，其指出直徑 2.5-3.2 μm 之細胞也可能屬 UCYN-C。

(c) UCYN-A

較早，Zehr et al. (1998, 2001)從北太平洋 ALOHA 站之樣本中測出屬於 UCYN-A 的 *nifH* 序列，其與 *Cyanothece* sp. ATCC51142 的 *nifH* 序列相似度 82%

(Church et al. 2005a)，因無實驗室培養，瞭解甚少，推測為圓形的 pico 級固氮藍綠藻(picocyanodiazotrophs)，具微弱自體螢光(Moisander et al. 2010)，Zehr et al. (2008) 與 Goebel et al. (2008)將取自 ALOHA 站 15 m 與 45 m 的樣本，先經過流式細胞儀分選出細胞，再利用 real-time quantitative PCR 偵測 *nifH* 序列後從中發現 UCYN-A 的 *nifH* 序列，故認為 UCYN-A 的細胞直徑約 $<1\ \mu\text{m}$ 或 $1\ \mu\text{m}$ 左右，使用 TSA-FISH 染色法檢測野外的 UCYN 記錄，指稱小於 $1.5\ \mu\text{m}$ 者為 UCYN-A (Biegala and Raimbault 2008; Bonnet et al. 2009; Le Moal et al. 2011)。有別於一般的藍綠藻，UCYN-A 缺乏藻紅素(Goebel et al. 2008)，也缺乏能夠利用硝酸或亞硝酸鹽的基因 (Tripp et al. 2010)。一般日間進行固氮作用的藍綠藻是因為具有異細胞(heterocysts) 或固氮細胞(diazocytes)，UCYN-A 則是因為缺乏產生氧氣之光合作用系統 II 的緣故，能避免固氮酵素被氧破壞(Zehr et al. 2008)。又因為缺乏卡氏循環(Calvin cycle) 所需的酶(RuBisCO)而無法進行固碳作用，也缺乏另一個代謝途徑克氏循環(Krebs cycle、tricarboxylic acid (TCA) cycle)，UCYN-A 被歸類為依靠光合作用系統 I 與異營方式獲得能量的光合異營菌(Photoheterotroph, Tripp et al. 2010; Zehr 2011)。因為異營的特性，UCYN-A 傾向出現在高營養鹽環境(Moisander et al. 2010)，如鹽度只有 16 PSU、溫度低於 12°C 的出海口(Short and Zehr 2007)，鹽度高於 30 PSU 的溫帶沿岸區域(Rees et al. 2009)，甚至是渦流(Church et al. 2009)，此外在南太平洋海域，表水有機碳濃度降低時伴隨著 UCYN-A 豐度最大值，但也可能是其它異營性生物同時降低有機碳濃度(Moisander et al. 2010)。需要從外界攝取營養使 UCYN-A 除了 free-living 的生活方式之外，也可能與渦鞭毛藻共生或依附在顆粒物質上 (Bonnet et al. 2008; Le Moal and Biegala 2009)，甚至共生在單細胞的真核藻類 (Prymnesiophytes)，不但提供宿主細胞內 95%的氮源，還由宿主細胞獲得 1-17%的碳，如此共生關係也許能解釋為何在較貧營養鹽海域也發現缺乏多種代謝能力的 UCYN-A (Thompson et al. 2012)。

ii. 非藍綠藻之固氮生物(non-cyanobacterial diazotrophs)

非固氮藍綠藻與固氮藍綠藻相較之下，不僅多樣性高而且數量也多，例如沿海或河口區域，*nifH* 序列總量中有 80 %來自非固氮藍綠藻，而在開放性大洋中約占 36% (Riemann et al. 2010)。固氮生物以 Clusters I-III 為主(Zehr et al. 2006)，Cluster I 中非藍綠藻之固氮生物也具 *nifH* 基因，少部分是擁有 *vnfH* 基因；Cluster II 包括有 *anfH* 基因控制鐵固氮酵素的細菌或古菌，在河口被發現(Zehr et al. 2003)，在熱帶或亞熱帶開放性水域似乎未偵測到關於 *anfH* 基因(Hewson et al. 2007; Moisaner et al. 2008; Farnelid et al. 2010)；Cluster III 之厭氧菌、硫酸鹽還原菌(δ -proteobacteria)的 *nifH* 序列與 Cluster I 相似(Zehr et al. 2003)，常見於河口或沿岸，在大洋鮮少發現(Riemann et al. 2010)；Cluster IV 的類 *nif* 基因序列屬於古菌(Zehr et al. 2006)，在深海的海底山(Axial volcano)或高溫噴口附近有發現其基因序列(Mehta et al. 2003)，多為甲烷生成菌(Methanogens, Mehta et al. 2005; Riemann et al. 2010)。

(a) Cluster I

海洋中屬於 Cluster I 但非藍綠藻之固氮生物者，包含 α -、 β -和 γ -proteobacteria，外形多為橢圓，長度 0.5-5 μm ，寬度 <1.5 μm 。雖然多數具有典型的 *nifH* 基因，但是有些非藍綠藻之固氮生物同時具有不同固氮酵素(Zehr et al. 2003, 2006)。Cluster I 也包含具有釩固氮酵素的 γ -proteobacteria，例如好氧的 genus *Azotobacter* 是第一個被證明具有釩固氮酵素或鐵固氮酵素(Bishop et al. 1985)，*A. chroococcum* 具有釩固氮酵素(Eady 1996)，為體型 1.5 μm ×0.7 μm 的橢圓細胞(Carpa and Barbu-Tudoran. 2011)，*A. vinelandii* 同時具有鉬、釩、鐵三種固氮酵素(Eady 1996)，外形橢圓，體長 2-5 μm (Peña et al. 2002)。還有其它的 γ -proteobacteria 發現在海洋中(Zehr et al. 2003)，例如有嗜酸的 genus *Acidithiobacillus*，呈橢圓形，大小 2.0 μm ×0.4 μm (Kelly and Wood 2000)，甲烷氧化菌(Methanotrophs)當中的 genus *Methylobacter*，細胞外形呈圓形或肥短的橢圓形，體長介於 1.2-3.0 μm ，寬約 0.8-1.5 μm (Bowman et al. 1993)， γ -proteobacteria 包括的海洋弧菌(*Vibrio*)則如 *Vibrio diazotrophicus* sp. nov.，體型 1.5-2.0 μm ×0.5 μm ，外觀呈橢圓形、S 形或螺旋狀細胞(Guerinot et al. 1982)，

V. cincinnatiensis 是大小為 $2.0\ \mu\text{m} \times 0.7\ \mu\text{m}$ 的橢圓細胞(Brayton et al. 1986)，其它的 γ -proteobacteria 還有 *Pseudomonads*，體型 $1.5\text{-}4.0\ \mu\text{m} \times 0.5\text{-}1.0\ \mu\text{m}$ ，包含具有黃綠色螢光的 genus *Pseudomonas* 與不具螢光的 genus *Burkholderia*，後者為 β -proteobacteria (Madigan and Martinko 2005)，屬於 β -proteobacteria 的還有 *Pseudacidovorax intermedius*，和從南海表層沉積物中分離出來的 *Pseudacidovorax intermedius* NH-1，都是體型 $1.5\text{-}2.0\ \mu\text{m} \times 0.5\ \mu\text{m}$ 短的橢圓細胞(Kämpfer et al. 2008；Zhang and Chen 2012)，根瘤菌 (*Rhizobia*) 的 genus *Bradyrhizobium* 中有 β -proteobacteria 也有 α -proteobacteria，體型短小橢圓，介於 $1.2\text{-}3.0\ \mu\text{m} \times 0.5\text{-}0.9\ \mu\text{m}$ (Jordan 1982)。同樣為根瘤菌的 genus *Sinorhizobium* 外觀和 *Bradyrhizobium* 相同 (Chen et al. 1988)，卻屬於 α -proteobacteria，另外 genus *Mesorhizobium* 是橢圓形介在 $1.2\text{-}3.0\ \mu\text{m} \times 0.4\text{-}0.9\ \mu\text{m}$ 的細胞(Brenner et al. 2005)，部分甲烷氧化菌屬於 α -proteobacteria，例如外觀似弧菌的 genus *Methylosinus*，體型 $1.5\text{-}3.0\ \mu\text{m} \times 0.5\text{-}1.0\ \mu\text{m}$ ，genus *Methylocystis*，類似球桿菌的橢圓型細胞，大小 $0.5\text{-}1.5\ \mu\text{m} \times 0.3\text{-}0.5\ \mu\text{m}$ (Bowman et al. 1993)。

因為固氮作用需要消耗大量能量，因此環境中可利用的有機碳可能會限制非藍綠藻固氮生物的固氮作用(Zehr and Capone 1996)。Church et al. (2005b)觀察 γ -proteobacteria 的 *nifH* 基因表現，發現有微弱的日間週期性，白天 *nifH* 基因表現較高，與夜晚的表現量相差 10 倍之內，可能和光合自營生物產生的有機物質有關 (Zehr and Paerl 2008)，不過在亞熱帶北太平洋發現的 α -和 γ -proteobacteria，在白天或晚上都有進行 *nifH* 基因的轉錄(Falcón et al. 2004; Riemann et al. 2010)。 γ -proteobacteria 通常被發現在水溫較低或富營養鹽的環境(Bird et al. 2005; Farnelid et al. 2009)，但由 Moisaner et al. (2008)在越南外海發現的 γ -proteobacteria (24774A11) *nifH* 基因，廣泛分布在熱帶或亞熱帶海域(Bird et al. 2005; Church et al. 2005a; Hamersley et al. 2011)，目前為止也尚未有從海洋分離出的實驗室純種培養 (Hamersley et al. 2011)。而 α -和 β -proteobacteria 分布範圍非常廣泛(Riemann et al. 2010)。

Farnelid et al. (2010)在印度洋調查與異營性渦鞭毛藻共生的 137 個 *nifH* 序列中， α -、 β -和 γ -proteobacteria 佔 68%，8%是厭氧菌，和 *anfH* 相關者佔 5%。雖然 β -proteobacteria 在海洋中相當稀少(Barberán and Casamayor 2010)，但顯然會與渦鞭毛藻共生，如 *Gyrodinium instriatum* (Alverca et al. 2002)。

(b) Cluster III

海洋中觀察到的非藍綠藻的 *nifH* 序列落在 Cluster I、III 或 IV (Chien and Zinder 1996; Farnelid et al. 2011)，外型有絲狀者，但也多為長度 $<5\ \mu\text{m}$ 的橢圓或似弧菌，寬度 $<1\ \mu\text{m}$ 。Cluster III 中屬於 δ -proteobacteria 者如 *Desulfovibrio aespoeensis* (體型 $1.7\text{-}2.5\ \mu\text{m}\times 0.5\ \mu\text{m}$ 似弧菌，Motamedi and Pedersen 1998)、*D. magneticus* ($3\text{-}5\ \mu\text{m}\times 1\ \mu\text{m}$ 似弧菌，Sakaguchi et al. 2002)或絲狀的 *Desulfonema limicola* 等硫酸鹽還原菌；此外極度厭氧的 *Clostridium papyrosolvans* (體型 $2\text{-}5\ \mu\text{m}\times 0.5\text{-}0.8\ \mu\text{m}$ 的橢圓細胞，Madden et al. 1982)、光合綠硫菌 *Chlorobium ferrooxidans* (外觀短小橢圓介於 $1.0\text{-}1.5\ \mu\text{m}\times 0.5\ \mu\text{m}$ ，Heising et al. 1999)出現各個海域，北太平洋南海西南部與中部 (Moisander et al. 2008; Kong et al. 2011)之外，北極區的 Baffin Bay、北太平洋夏威夷沿海、西南太平洋雪梨、東南太平洋智利、北大西洋馬尾藻海域與 Azores(38.4°N , 28.8°W)也都發現屬於 Cluster III 的 *nifH* 序列 (Farnelid et al. 2011)。屬甲烷氧化菌之 Phylum *Verrucomicrobia* 的序列也被發現於海洋(Barberán and Casamayor 2010; Kong et al. 2011)，Op den Camp (2009)指出目前已知的 strain 含 SoIV (體型 $0.8\text{-}2.0\ \mu\text{m}\times 0.4\text{-}0.6\ \mu\text{m}$)、V4 ($1\text{-}4\ \mu\text{m}\times 0.3\text{-}0.5\ \mu\text{m}$)與 Kam1 ($0.8\text{-}1.0\ \mu\text{m}\times 0.45\text{-}0.65\ \mu\text{m}$)。Bombar et al. (2011)調查南海西南部的越南沿岸之研究發現，Cluster III 和其他 proteobacterium 生物量多卻沒有明顯的固氮作用，認為 Cluster III 生物可能是由低氧、高度混濁又富營養鹽的湄公河帶來，或是汙染。

現今所培養的 Cluster III 幾乎是極度厭氧菌(Zehr et al. 2003)，推測在含氧區可能寄居在浮游動物或顆粒中的無氧環境(Braun et al. 1999)，加上 Cluster III 中序列歧異度很高(Zehr et al. 2003)，因此 Church et al. (2005b)與 Farnelid et al. (2009)在外

洋發現 free-living 或依附在顆粒上的 Cluster III 是可能的(Riemann et al. 2010)。此外，共生的固氮生物似乎對宿主沒有專一性，而且可以一同共生在同一宿主身上(Farnelid et al. 2010)。

(c) Cluster IV

Cluster IV 或是 Raymond et al. (2004)歸類出的 Cluster IV-V，序列的分歧相當複雜並涵蓋不參與固氮的序列，例如類 *nif* 基因序列以及和葉綠素合成相關的原葉綠素還原酶(protochlorophyllide reductases)的序列(Zehr et al. 2006)，而且目前尚未歸類出明顯的特徵(Raymond et al. 2004)。

4. 單細胞固氮生物的重要性與其在各海域之分布

目前已知許多海域都有單細胞固氮生物存在。野外研究方式多樣，有研究是計數 2.5-7 μm 的圓形、具有橘黃色螢光之細胞(Zehr et al. 2001; Falcón et al. 2004)，也有利用同位素(^{15}N)添加偵測<10 μm 水樣之固氮率(Zehr et al. 2001; Montoya et al. 2004)，多數文獻使用分子生物技術偵測 *nifH* 基因之數量(Church et al. 2005a; Zehr et al. 2007a; Foster et al. 2007)，或是偵測 *nifH* 基因之表現量(Hewson et al. 2007; Zehr et al. 2007a; Needoba et al. 2007)，亦有使用 TSA-FISH 染色法(Biegala and Raimbault 2008; Le Moal and Biegala 2009)標記單細胞固氮藍綠藻，在本研究中使用的全細胞免疫化學染色法(Taniuchi et al. 2008a)則是標記具有固氮酵素之細胞。儘管文獻使用方法不同，但是都顯示了單細胞固氮生物對於海洋中固氮貢獻的重要性。

i. 太平洋(Pacific Ocean)

北太平洋的主要固氮貢獻者為<10 μm 的固氮生物，其固氮率為 50-119 $\mu\text{mol N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ，是佔總水樣(whole water)固氮率的 65-95% (Church et al. 2009)。單細胞固氮藍綠藻的分布會隨緯度增加而減少，Church et al. (2008)發現春季時，在緯度

23.3°-33.5°N 之間，水柱 0-100 m 累計 UCYN-A 生物量範圍為 $0.002-3.8 \times 10^9$ copies m^{-2} ，UCYN-B 生物量為 $0.2-4.3 \times 10^7$ copies m^{-2} ，作者認為低緯度環境溫度較高且營養鹽較貧乏，有利於單細胞固氮藍綠藻生長。Church et al. (2009)之研究也認為溫度會影響單細胞固氮藍綠藻的分布，其在 ALOHA 站(22.8°N, 158°W)調查了 2004-2007 年間，水柱 0-100 m 累計的單細胞固氮生物量變化，發現 UCYN-A 在冬季和春季生物量最高($6.5-6.8 \times 10^{10}$ copies m^{-2})，UCYN-B 則是夏季生物量最高(2.0×10^{10} copies m^{-2})，全年 UCYN-A 生物量高於 UCYN-B。單細胞藍綠藻生物量在不同海區之間也有些差異，Zehr et al. (2007a)比較大洋(ALOHA 站)與夏威夷歐胡島沿岸(Kane'ohe Bay, 21.4°N, 157.8°W)的單細胞固氮藍綠藻，UCYN-A 以沿岸測站生物量(2.2×10^4 copies L^{-1})高於大洋測站(0.7×10^4 copies L^{-1})，UCYN-B 的趨勢相反，則是以大洋測站者(4.3×10^5 copies L^{-1})高於沿岸測站者(1.7×10^4 copies L^{-1})。

當海水位異常高度低(Sea Surface Height Anomalies, SSHA)，可能發生冷渦之時， $<10 \mu m$ 水樣之固氮率會增加，UCYN-B 生物量也會增。Church et al. (2009)發現當 SSHA 低於 0 cm 時， $<10 \mu m$ 固氮率($141 \mu mol N m^{-2} d^{-1}$)為 SSHA 超過 0 cm 者的 2 倍，單細胞固氮藍綠藻的反應也不同，UCYN-A 生物量在 SSHA 低於 0 cm 稍高於 SSHA 超過 0 cm 者($2.5-3.1 \times 10^{10}$ copies m^{-2})，UCYN-B 的生物量在 SSHA 低於 0 cm (1.6×10^9 copies m^{-2})時為 SSHA 超過 0 cm 者(5.7×10^8 copies m^{-2})的 3 倍。

反氣旋渦流內的單細胞固氮生物量變化相當大。Fong et al. (2008)對 ALOHA 站發生的反氣旋渦流之研究顯示，渦流內的 UCYN-A 水柱 0-100 m 累計生物量範圍為 $1.3-7.4 \times 10^8$ copies m^{-2} ，UCYN-B 者為 $0.06-2.8 \times 10^8$ copies m^{-2} ，proteobacterium 者為 $4.3-120.0 \times 10^8$ copies m^{-2} ，三者的最高生物量與最低生物量分別相差 5-46 倍，顯示在渦流內的位置不同，會影響生物量多寡。受渦流經過影響，單細胞固氮藍綠藻之生物量下降，UCYN-A 生物量以渦流經過前為經過後的 4 倍，而 UCYN-B 生物量在渦流經過前為經過後的 2 倍，相對的，*Trichodesmium* 的生物量沒有明顯下降($1.7-1.8 \times 10^{10}$ copies m^{-2})。

在赤道太平洋(Equatorial Pacific, 0°-5°S, 140°W-145°E)測得 $<10 \mu m$ 水樣之固氮

率佔總固氮率的 74-83% (Bonnet et al. 2009)，作者並以 TSA-FISH 方法檢測單細胞固氮藍綠藻生物量，發現其中 98%單細胞固氮生物的體型為 0.7-1.5 μm ；除此之外，作者也發現在沿岸測站(4.8°S, 145°W)的硝酸鹽濃度低於 30 nM，磷酸鹽濃度 150 nM，單細胞固氮藍綠藻生物量(1.3×10^4 cells L^{-1})高於大洋區者(0.8×10^4 cells L^{-1})；在大洋區測站中，又以硝酸鹽濃度最高(2.0-4.0 μM)之測站生物量最低(0.2×10^4 cells L^{-1})，而且 <10 μm 固氮率最高(4 nmol $\text{L}^{-1} \text{d}^{-1}$)的區域，其硝酸鹽濃度低於 30 nM，磷酸鹽濃度為 250 nM，因此作者推測該海域的固氮生物可能受到磷酸鹽影響。

ii. 大西洋(Atlantic Ocean)

在大西洋海域，單細胞固氮藍綠藻是主要的固氮生物，並以 UCYN-A 生物量最高、分布範圍最廣泛。Benavides et al. (2011)在東北大西洋(28°-42°N, 8°-20°W)測得 <10 μm 固氮率平均為 0.07-0.25 nmol N $\text{L}^{-1} \text{d}^{-1}$ ，高於 >10 μm 固氮率(0.01-0.05 nmol N $\text{L}^{-1} \text{d}^{-1}$)，而且 *Trichodesmium* 生物量低於 0.5 trichomes L^{-1} ，也沒有發現和矽藻共生的藍綠藻存在。Turk et al. (2011)在東北大西洋(15°-30°N, 20°-25°E)，調查近岸區(36.65 PSU)、離岸區(36.81 PSU)與大洋區(37.12 PSU)的固氮生物(UCYN-A, UCYN-B, *Trichodesmium*, *Richelia-Rhizosolenia*, *Richelia-Hemiaulus*, γ -和 α -proteobacterium)的 *nifH* 基因表現量，其中 UCYN-A 之 *nifH* 表現量(0.5 - 13.0×10^4 copies L^{-1})在三個海區中都偵測到，佔所有固氮生物的 34-79%，UCYN-B 者僅在離岸區和大洋區偵測到(0.1 - 0.2×10^4 copies L^{-1})，佔 10-25%， γ -proteobacterium (γ -2477A11)只有在大洋區發現其表現量(0.7 - 0.9×10^4 copies L^{-1})，所佔比例為 32%。特別的是，大洋區在夜晚(01:55)採集的樣本中，偵測到 UCYN-A 的 *nifH* 基因表現量為 12.0×10^4 copies L^{-1} ，顯示 UCYN-A 在夜晚仍可以進行固氮作用。

大西洋的各種單細胞固氮藍綠藻生物量多寡和北太平洋不盡相同。如 Goebel et al. (2010)在北大西洋(0°-18°N, 23°-68°W)的研究發現，以 UCYN-A 最高($4.9 \pm 13.0 \times 10^8$ copies m^{-2})，其次為 UCYN-C ($0.5 \pm 1.2 \times 10^8$ copies m^{-2})，UCYN-B 生物量最低($0.04 \pm 0.1 \times 10^8$ copies m^{-2})。Needoba et al. (2007)所研究的北太平洋海域(34°N,

129°W)，亦是以 UCYN-A 最多($0.02-3.1 \times 10^4$ copies L⁻¹)，然而以 UCYN-B 為其次($0.01-0.8 \times 10^4$ copies L⁻¹)，而 UCYN-C 最少($0.3-0.4 \times 10^4$ copies L⁻¹)。

湧升現象發生時， $<10 \mu\text{m}$ 固氮率會增加。Benavides et al. (2011)發現在水溫較低、營養鹽較高的湧升區，偵測到 $<10 \mu\text{m}$ 固氮率最高可達 $0.98 \text{ nmol N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ，且是佔總固氮率的 70-92%。類似的，Subramaniam et al. (2013)在大西洋(4°N-6°S, 5°E-23°W)湧升區偵測到的固氮率($134 \pm 55 \mu\text{mol N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$)是非湧升區的 2-7 倍，其中 $<10 \mu\text{m}$ 水樣之固氮率，在湧升區內是佔總水樣固氮率的 48%，顯著高於在非湧升區中的比例(23%, $p=0.01$)； $<10 \mu\text{m}$ 固氮生物的固氮貢獻與湧升發生的時間有關，東側海域(0°-5°E)湧升發生的時間是 8-13 天前， $<10 \mu\text{m}$ 固氮率所佔比例為 19-41%，相對的，西側海域(10°W)湧升發生較晚(3 天前)， $<10 \mu\text{m}$ 固氮率所佔比例較高(67%)，作者認為湧升區有較高的固氮率與鐵濃度有關，其在湧升區內表水的鐵濃度超過 0.8 nM ，並以 Luo et al. (2008)的模式推算出在湧升期間，每天供應至水體的溶態鐵 (Soluble iron，為 Fe(II)，是浮游生物能直接吸收的小分子鐵，直徑 $<0.02 \mu\text{m}$)濃度為 3.1 nM 。其他研究也顯示湧升區內表水固氮率與表水鐵濃度之間呈顯著正相關 ($r^2=0.82$, $p<0.001$)，偵測的 UCYN-A 生物量 $>10^5$ copies L⁻¹ (Sohm et al. 2011)。

iii. 地中海(Mediterranean Sea)

地中海與南海同為半封閉邊緣海。Bonnet and Moutin (2011)在地中海西側的貧營養鹽海盆測得固氮率為 $10-67 \mu\text{mol N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ，其中 $<3 \mu\text{m}$ 固氮率佔了 45-75%。Le Moal et al. (2011)偵測 *nifH* 基因的結果顯示這些小體型固氮生物以 UCYN-A、 α -proteobacterium 為主，且沒有偵測到 UCYN-B 或-C，而以 TSA-FISH 方式測量直徑為 $0.7-3.2 \mu\text{m}$ 的單細胞固氮藍綠藻，在海盆測站的平均生物量為 0.4×10^4 cells L⁻¹，相對的，絲狀固氮藍綠藻 *Trichodesmium* 生物量為低於 4 trichomes L⁻¹，而 *Richelia intracellularis* 生物量僅在西側海盆區偵測到生物量為 20 trichomes L⁻¹ (Le Moal et al. 2011)。

地中海沿岸以直徑 $0.7-1.5 \mu\text{m}$ 者為主要的單細胞固氮生物，其生物量雖然較其

他海域稀少，全年平均為 0.5×10^4 cells L^{-1} ，但生物量最多時也增加至 10^5 - 10^6 cells L^{-1} (Le Moal and Biegala 2009)，作者以 TSA-FISH 方式觀察地中海沿岸 SOMLIT 站 (Service d'Observation en Milieu Littoral, 43.2°N, 5.3°E)，在 2006-2007 年間單細胞固氮藍綠藻生物量變動趨勢，發現附著於窩邊毛藻(Dinoglagellates)身上、直徑為 0.7-1.5 μm 的單細胞固氮藍綠藻以春末夏初之際生物量最高(1.1×10^4 cells L^{-1})，而直徑 3-10 μm 者是在冬末春初之時的生物量最高(120 cells L^{-1})。然而獨立存活、直徑為 0.7-1.5 μm 的單細胞固氮藍綠藻在 2006 年夏季生物量平均為 2.4×10^6 cells L^{-1} ，是 2007 年夏季生物量的 480 倍，作者認為並非單一環境因子所造成，而是多個環境因子共同影響，如偏低的硝酸鹽濃度(低於 70 nM)，異常高的溫度(27.2°C，比平均 10 年溫度高出 6.4°C)，偏高的磷酸鹽濃度(高於 70 nM)，加上空氣汙染增加了溶態鐵濃度等因素。

固氮生物族群組成會隨著季節變化而變動。Man-Aharonovich et al. (2007)於 2006 年間，調查地中海東部海域(30.0°-32.9°N, 34.5°-34.9°E)的近岸、離岸與大洋三個海區表水的 *nifH* 基因，發現該海域的固氮生物族群以藍綠藻與 proteobacterium 為主，其中藍綠藻之 *nifH* 基因屬於 UCYN-A (*nifH* 基因相似度超過 96%)，並沒有偵測到屬於 UCYN-B 的 *nifH* 基因。研究結果顯示近岸區以夏季固氮生物多樣性較高，冬天多樣性較低，作者推測是夏季水體分層明顯，環境變異大導致多樣性高，冬季水體混合均勻而降低多樣性；離海區因為在冬季和春季受到沿岸水注入的影響，造成這兩個季節固氮生物的多樣性高於夏季；大洋區在春夏兩季同時受到磷與氮不足的限制，固氮生物種類主要以 Cluster I 為主，在冬季則以 Cluster II 佔多數，因為冬季時硝酸鹽充足且混和層深度較深(100 m)，表水有較多屬於 Cluster II 的固氮生物可能是由深層水體向表層帶入。

iv. 南海(South China Sea)

單細胞固氮藍綠藻在南海海域之分布不均勻。春季(四月)在南海西南部海域，Moisander et al. (2008)於 2006 年調查湄公河河口至越南沿海(9°-12°N, 106°-111°E)，

偵測 UCYN-A 生物量為 $3.5-4.0 \times 10^4$ copies L⁻¹，而 UCYN-B 生物量為 0.3×10^4 copies L⁻¹；Bombar et al. (2011)於 2007 年調查同一海域(9°-10.5°N, 106°-107.5°E)，卻偵測不到 UCYN-A 的存在，並且只有在鹽度超過 33.6 PSU 的測站，偵測到 UCYN-B 與-C，其 *nifH* 基因量為 $0.05-0.54 \times 10^4$ copies L⁻¹ 與 $0.04-0.13 \times 10^4$ copies L⁻¹，*nifH* 基因表現量分別為 3.7×10^5 copies L⁻¹ 與 4.7×10^4 copies L⁻¹。夏季之南海北部海域也有類似結果，Zhang et al. (2011)在 SEATS 站(18°N, 106°E)的研究，並沒有偵測到 UCYN-A 與-B 的 *nifH* 基因存在，然而 Kong et al. (2011)在珠江口附近海域(18°-22°N、114°-118°E)，偵測到 UCYN-A 與-B 的生物量最高分別為 1.3×10^5 copies L⁻¹ 和 10^4 copies L⁻¹。研究亦顯示南海海域之單細胞固氮生物的季節分布趨勢與北太平洋不同，在北太平洋 ALOHA 站，UCYN-A 以冬季和春季生物量較高，UCYN-B 則是以夏季生物量最高(Church et al. 2009)，而 Kong et al. (2011)的研究結果顯示，適合生長溫度較低的 UCYN-A 在夏季的生物量高於冬季，而偏好高溫的 UCYN-B 在冬季生物量與夏季相當，冬季表水生物量為 0.6×10^4 copies L⁻¹。

南海不但具有單細胞固氮藍綠藻，也具有非藍綠藻之單細胞固氮生物存在，尤其以 α -proteobacterium 之垂直分布深度最深。Moisander et al. (2008)的研究發現 γ -proteobacterium 24774A11 的最高生物量介於 $0.5-0.6 \times 10^4$ copies L⁻¹，主要分布在 40 m 以淺的水層， α -proteobacterium 24809A06 的最高生物量為 6×10^4 copies L⁻¹，相較於 γ -proteobacterium， α -proteobacterium 分布深度範圍較深，深度 400 m 的生物量有 7×10^2 copies L⁻¹，深度 1700 m 水體仍可偵測到其 *nifH* 基因的存在；Bombar et al. (2010)在高鹽度海區(超過 33.6 PSU)測得的 γ -proteobacterium 之 *nifH* 基因量為 $0.04-0.13 \times 10^4$ copies L⁻¹，*nifH* 基因表現量範圍為 $0.5-8.8 \times 10^4$ copies L⁻¹，與單細胞固氮藍綠藻相似，鹽度介於 14.3-33.4 PSU 的海區皆偵測不到其 *nifH* 基因存在；Zhang et al. (2011)比較南海北部 SEATS 站以及越南沿岸兩個冷渦，CE1 (14.3°N, 111.3°E)和 CE2 (12°N, 111°E)，結果發現 γ -proteobacterium 和 α -proteobacterium 之生物量都以 SEATS 站高於 CE1，CE2 的生物量最低， γ -proteobacterium 於 SEATS 站的生物量超過 10^4 copies L⁻¹，並且在 400 m 以深的樣本中偵測到生物量超過 100

copies L⁻¹，在冷渦區生物量低於 1000 copies L⁻¹，並且侷限在 200 m 以淺的水層， α -proteobacterium 在 SEATS 站生物量最高達 7×10^5 copies L⁻¹，垂直分布範圍至深度 1000 m，而在 CE1 冷渦區內垂直分布更深，深度 1500 m 之生物量高於 100 copies L⁻¹。

5. 影響單細胞固氮生物分布之環境因子

i. 磷

比較 Redfield Ratio (106:16:1)與大洋中碳、氮、與磷的組成比例(1017:15:1)，按照 Liebig's Law of Minimum，浮游生物的生長會受到含量較低之營養鹽的抑制。對於能進行固氮作用的固氮生物而言，磷比氮更可能限制其生長。觀察實驗室單種培養，發現當磷酸鹽濃度較高時單細胞固氮生物量較高。Knapp et al. (2012)將 *Crocospaera* (屬於 UCYN-B)培養在硝酸鹽與磷酸鹽添加濃度不同的四個處理組，0:0:0.5 組為添加 0.0 μM 硝酸鹽和 0.5 μM 磷酸鹽，5:1 組為 5.0 μM 硝酸鹽和 1.0 μM 磷酸鹽，8:0.5 組為 8.0 μM 硝酸鹽和 0.5 μM 磷酸鹽，16:1 組為 16.0 μM 硝酸鹽和 1.0 μM 磷酸鹽，發現 *Crocospaera* 在四組之間生物量多寡的趨勢為 16:1 組 > 5:1 組 > 8:0.5 組 > 0:0.5 組，生物量在磷酸鹽添加濃度為 1 μM 的 16:1 組與 5:1 組之間沒有顯著差異，並且顯著高於磷酸鹽濃度 0.5 μM 的 8:0.5 組與 0:0.5 組，而且 16:1 組的體積累計固氮率($23.3 \pm 11.0 \text{ pmol N } \mu\text{g C}^{-1} \text{ h}^{-1}$)高於 8:0.5 組($11.6 \pm 1.0 \text{ pmol N } \mu\text{g C}^{-1} \text{ h}^{-1}$)，作者推測是因為 16:1 組之生物量高於 8:0.5 組所造成。

單細胞固氮生物對於磷的需求，會隨細胞體型或是溫度的增加而增加。Falcón et al. (2005)比較直徑為 2.5 μm (稱為 A-2.5)、3 μm (P-3)和 7 μm (P-7)三種體型的 *Crocospaera* 對於磷的需求，發現培養於相同溫度(29°C)，體型較小之 A-2.5 的磷需求量是 80 nM，P-3 者為 170 nM，體型最大之 P-7 的磷需求量为 250 nM；在溫度變化範圍為 26-30°C 時，A-2.5 的磷需求量为 60-90 nM，P-3 者為 60-210 nM，P-7 的磷需求量为在溫度 28-29°C 之間，由 200 nM 增加至 250 nM。

在野外環境，磷並非單一的影響因子。Zehr et al. (2007a)在夏季 ALOHA 站進行磷添加實驗(+500 nM)的結果顯示，在時間點 1 至時間點 2(間隔 20.5 小時)之間，對照組(沒有添加磷)中的 UCYN-A 生物量顯著減少($p < 0.05$)，而在磷添加組中的 UCYN-A 生物量則沒有顯著減少($p > 0.05$)；就 UCYN-B 而言，對照組中 UCYN-B 生物量由 $9 \times 10^5 \text{ copies L}^{-1}$ 下降至 $5 \times 10^5 \text{ copies L}^{-1}$ ，在磷添加組則是由 $7 \times 10^5 \text{ copies L}^{-1}$ 增加至 $9 \times 10^5 \text{ copies L}^{-1}$ ，不過經過 2-way ANOVA 檢測，在不同時間點和加磷與否之處理組之間的生物量都無顯著差異($p > 0.05$)，除此之外，磷添加組的固氮率($0.14 \pm 0.09 \text{ nmol N L}^{-1} \text{ h}^{-1}$)也高於對照組($0.10 \pm 0.05 \text{ nmol N L}^{-1} \text{ h}^{-1}$)，但統計上亦無顯著差異($p = 0.2$)，因此作者推測對於北太平洋亞熱帶海域的固氮生物並非只受到磷的影響，可能還有其他影響因子如微量金屬或其他營養鹽。

ii. 鐵

固氮生物產生固氮酵素來進行固氮作用。對單細胞固氮藍綠藻而言，固氮酵素由鐵蛋白與鉬鐵蛋白組成，因此細胞除了進行代謝或光合作用需要鐵之外，合成固氮酵素也需要鐵(Kustka et al. 2003)。而固氮酵素的鐵含量取決於鐵蛋白與鉬鐵蛋白的比例，例如 *Gloeotheca* GATCC 271522 (屬於 UCYN-C)的鐵蛋白與鉬蛋白比為 3 (Reade et al. 1999)，而 Tuit et al. (2004)對 *Crocospaera* 在進行固氮作用時，偵測其細胞內鐵濃度為 $0.14 \pm 0.12 \text{ fg cell}^{-1}$ ，是非進行固氮作用時細胞內鐵濃度的 3 倍。

鐵能促進單細胞固氮生物生長。Saito et al. (2011)進行鐵對 *Crocospaera* 生長影響的實驗也顯示，在鐵添加組(SO 培養液，Waterbury et al. 1986)與對照組(無添加鐵之 SO 培養液)中，各再加 500 nM DFB (desferrioxamine B，是能幫助浮游植物降低對鐵之利用的螯合劑)，結果顯示 DFB 的添加使細胞密度在 24 小時之後降低，鐵添加組的細胞密度由 $5.1 \times 10^5 \text{ cells ml}^{-1}$ 下降至 $4.6 \times 10^5 \text{ cells ml}^{-1}$ ，對照組者則是由 $5.6 \times 10^5 \text{ cells ml}^{-1}$ 下降至 $5.4 \times 10^5 \text{ cells ml}^{-1}$ ，相對的，沒有添加 DFB 的鐵添加組與對照組之細胞密度，在 24 小時之後繼續上升至 $7.3\text{-}8.2 \times 10^5 \text{ cells ml}^{-1}$ 。Berman-Frank

et al. (2007)將 *Cyanothece* (屬於 UCYN-C)分別培養在鐵濃度 0.004 μM 、0.04 μM 、0.1 μM 、0.4 μM 與 4 μM 的培養液中(皆添加 20 μM EDTA)，結果發現 *Cyanothece* 在不同的鐵濃度環境中的生長率範圍由 $0.23 \pm 0.02 \text{ d}^{-1}$ 至 $0.31 \pm 0.05 \text{ d}^{-1}$ ，生長率隨鐵濃度增加而提高 36%，固氮率沒有隨鐵濃度增加而增加(平均 1.6-1.8 mmol M mol $\text{C}^{-1} \text{ h}^{-1}$)，但是在相同鐵濃度之下，*Cyanothece* 的固氮率比 *Trichodesmium* 高出 3.5 倍。而目前對於 UCYN-A 對鐵需求的資訊仍相當匱乏(Moisander et al. 2010; Zehr et al. 2008; Saito et al. 2011)。

野外研究顯示鐵濃度會影響單細胞固氮生物之固氮率(Grabowski et al. 2008)。在北太平洋 ALOHA 站進行的磷、鐵添加之培養實驗，結果顯示 $<10 \mu\text{m}$ 水樣之固氮率，在鐵添加組(+2 nM)和磷鐵同時添加組(+160 nM P 與 2 nM Fe)皆比對照組顯著增加($P < 0.05$)了 86%與 100%，相對的，雖然 2004-2005 年間的固氮率與水體中 SRP 濃度之全年變化趨勢相仿，固氮率最低($0.38\text{-}0.68 \mu\text{mol N m}^{-3} \text{ d}^{-1}$)的季節為冬季，同時 SRP 濃度也為全年最低(6-10 nM)，營養鹽添加培養實驗結果卻顯示磷添加組(+160 nM)固氮率雖然高於對照組，但統計上差異不顯著($P > 0.05$)，因此作者推測磷不單獨影響固氮作用，鐵對於北太平洋海域固氮作用影響更大。

iii. 氮鹽

氮鹽缺乏的情況能促進單細胞固氮藍綠藻的固氮作用。對此，Taniuchi and Ohki (2007)將 *Gloeotheca* sp. 68DGA 培養在 12 小時/光 12 小時/暗作為對照組，發現在 12 小時黑暗期間固氮酵素持續存在，而固氮率在黑暗後 4 小時開始上升，在黑暗 6 小時後開始大幅下降，反觀實驗組，添加會抑制穀胺酸(Glutamine)合成的抑制劑，MSX (L-methionine sulfoximine)或是 DON (6-diazo-5-oxo-L-norleucin)，結果發現因為細胞內氮含量降低而固氮作用延長至光照後 2 小時才下降，顯示當細胞內氮含量充足時，固氮率就會下降。若將 *Gloeotheca* sp. 68DGA 培養在添加 1 μM NaNO_3 的培養液中，發現其成長率 $0.43 \pm 0.05 \text{ d}^{-1}$ 和對照組(無氮鹽)的成長率 $0.38 \pm 0.02 \text{ d}^{-1}$ 相似 Taniuchi and Ohki (2007)，顯示即使在缺乏氮鹽的環境中，固氮生物仍可以依

賴固氮作用維持生長。此外，*Crocospaera* 在沒有硝酸鹽的培養液中的固氮率 ($0.14 \pm 0.09 \text{ fmol N cell}^{-1} \text{ h}^{-1}$)，顯著高於硝酸鹽添加濃度為 $8 \text{ }\mu\text{M}$ ($0.03 \pm 0.01 \text{ fmol N cell}^{-1} \text{ h}^{-1}$) 或 $16 \text{ }\mu\text{M}$ ($0.04 \pm 0.01 \text{ fmol N cell}^{-1} \text{ h}^{-1}$) 的實驗組(Knapp et al. 2012)，且在磷酸鹽濃度相同的情況下，較低硝酸鹽濃度的實驗組有較高的體積累計固氮率，推測環境中因為較低濃度的硝酸鹽導致 N/P 比較低時能夠促進細胞產生較高的固氮率。

隨著氮鹽濃度的增加，對固氮作用的抑制效果也會增加。Dekaezemacker and Bonnet (2011)以無氮鹽添加作為對照組，添加 $0.2\text{-}10 \text{ }\mu\text{M}$ 氨氮或硝酸鹽濃度為實驗組，對 *Crocospaera* 的兩個植株，WH5801 和 WH0003 進行培養，結果顯示對 WH5801 而言，添加氨氮對固氮率的抑制效果為 3-38%，添加硝酸鹽對固氮率的抑制效果為 5-24%，當氨氮濃度超過 $1 \text{ }\mu\text{M}$ 或硝酸鹽濃度超過 $5 \text{ }\mu\text{M}$ 時，對固氮率之抑制效果與對照組有顯著差異($p < 0.05$)；對 WH0003 而言，添加氨氮對固氮率的抑制效果顯著(21-80%, $p < 0.05$)，然而添加硝酸鹽對固氮率的抑制效果反而從 14% 下降至 4%，作者認為此現象與單細胞固氮藍綠藻進行固氮作用同時亦會吸收氮鹽有關，而不同植株對於氮鹽濃度、種類的反應不盡相同。

氮鹽種類對固氮作用之影響有物種間的差異，氮鹽充足不影響非藍綠藻之單細胞固氮生物之固氮作用。例如 Boström et al. (2007)發現 γ -proteobacteria (BAL281) 在氨氮濃度 $500 \text{ }\mu\text{M}$ 的培養液中仍會進行固氮作用；Moran et al. (2007)則發現屬於 α -proteobacterium 的 *Roseobacter* 或 *Silicibacter pomeroyi* 都缺乏利用硝酸鹽或亞硝酸鹽的基因，培養結果也顯示 *S. pomeroyi* 即使在硝酸鹽添加的培養液中，也因為無法吸收硝酸鹽而生長產生停滯，並且與 *Silicibacter* sp. strain TM1040 (Miller and Belas 2004)皆在氨氮充足的情況仍持續進行固氮作用，作者推測這些固氮生物因無法使用其它形式氮鹽，故在氮鹽充足的條件下仍繼續進行固氮作用(Moran et al. 2007)。

iv. 氧氣

固氮酵素易遭受氧氣破壞，而且無法修復(Postgate 1998)。對於會進行光合作用的固氮藍綠藻而言，為避免光合作用產生的氧氣破壞固氮酵素，因而演化出不同的機制來因應，例如 *Trichodesmium* 進行固氮作用時會降低光合作用(Berman-Frank et al. 2001)；或是演化出不具有產生氧氣之光系統 II 的異細胞(Heterocysts)，以空間阻隔固氮作用與光合作用，使兩作用能同步進行(Popa et al. 2007)，部分單細胞固氮藍綠藻所採取的策略則是以時間作為區隔，在白天進行光合作用而晚上進行固氮作用(Bergman et al. 1997)，如屬於 UCYN-C 的 *Cyanothece* sp. 白天進行光合作用能儲蓄能量，作為固氮作用的能量來源(Reddy et al. 1993)，夜晚進行呼吸作用的同時也能消耗氧氣，降低細胞內氧濃度而減輕對固氮酵素的破壞(Fay 1992; Schneegurt et al. 1994)，Taniuchi et al. (2008b)觀察培養於連續光照下的 *Gloeotheca* sp. 68DGA，發現呼吸作用所消耗氧濃度較高時，偵測到具有固氮酵素的 *Gloeotheca* 細胞比例較高，固氮率也較高，顯示氧濃度的降低能提高固氮活性。UCYN-B 抑是晚上進行固氮作用，*Crocospaera* 在 12 小時/光 12 小時/暗培養下，黑暗期的 *nifH* 基因表現量比光照期高 203-5819 倍(Pennebaker et al. 2010)，固氮率也於黑暗 3-5 小時內上升，於黑暗 10 小時達到最高(Shi et al. 2010)。而缺乏產生氧氣之光合作用系統 II 之單細胞固氮藍綠藻，如 UCYN-A 就能在白天進行固氮作用(Zehr et al. 2008)。

進行固氮作用相當耗能(Karl and Björkman 2002)，為了獲得能量，固氮生物能忍受氧濃度較低的環境。分屬於 UCYN-B 和-C 的 *Crocospaera* 與 *Gloeothecy* sp. PCC6909，主要於夜間進行固氮作用，將其置於 12 小時/光 12 小時/暗環境，培養在氧濃度 0-20% 下的結果顯示，兩者固氮率最高是在氧濃度介於 5-7.5% (Compaoré and Stal 2009)，氧濃度超過 7.5% 則固氮率開始下降，氧濃度為 15-20% 時兩種單細胞固氮藍綠藻之固氮率下降至 0。對 *Crocospaera* 而言，在氧濃度為 0% 時，無論日間或夜間固氮率皆為 0，而 *Gloeotheca* sp. PCC6909 在氧濃度為 0% 時，反而以日間固氮率(753-1028 nmol C₂H₄ cell⁻¹)遠高於夜間固氮率(0-2 nmol C₂H₄ cell⁻¹)，Compaoré and Stal (2009)認為 *Crocospaera* 因為氧濃度太低無法進行呼吸作用，缺

乏能量供給固氮作用所需，而 *Gloeotheca* sp. PCC6909 可能與 *Trichodesmium* 對抗氧氣的機制類似，細胞在固氮作用進行中會關閉光合作用系統(Stephens et al. 2003)。

v. 光

單細胞固氮藍綠藻的生長受光照強度影響。Goebel et al. (2008)發現單種培養的 *Crocospaera* 之生長率在光強度 $20-170 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 時，隨光照強度增加而增加 5-6 倍，並在光照強度介於 $300-600 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 之間，其生長率維持在最大值(0.49 d^{-1})。培養在光照強度 $30-300 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 下的 TW3 (屬於 UCYN-C)，在光照強度為 $30 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 時生長率最低(0.21 d^{-1})，之後生長率隨著光照強度增加而上升，光照強度為 $140 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 時生長率達顛峰(0.71 d^{-1})，之後生長率開始下降，光照強度增加至 $300 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 時，細胞不但從綠色轉變成黃綠色，生長率也降低一半(0.36 d^{-1}) (Taniuchi et al. 2011)。除此之外，生長受到光強度影響而造成體型變化(Taniuchi et al. 2011)，溫度為 30°C 時，TW3 之細胞長度($4.4-4.9 \mu\text{m}$)有明顯的變化，在低光照($30 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 或高光照($240-300 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)的細胞長度顯著高於光強度 $80-180 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 時的細胞長度(1-way ANOVA, $p>0.05$)。固氮單細胞藍綠藻之細胞直徑有顯著日夜差異(Mohr et al. 2009)，在 12 小時光/12 小時暗的光照期，*Crocospaera* 細胞直徑最大為 $2.96 \mu\text{m}$ ，黑暗期開始後細胞直徑開始縮小，在黑暗 6 時細胞直徑為最小($2.84 \mu\text{m}$)。

vi. 溫度

野外文獻指出 UCYN-A 適合生長溫度比 UCYN-B 的低。北太平洋 ALOHA 站 (Church et al. 2009)與南太平洋海域(Moisander et al. 2010)的研究皆顯示溫度範圍為 $22-30^\circ\text{C}$ 內，UCYN-A 生物量與溫度間之關係成曲線，當溫度介於 $22-24^\circ\text{C}$ 時 UCYN-A 生物量會隨溫度增加而增加，溫度超過 26.6°C 之後反而隨溫度增加而減少，大西洋的研究也指出溫度介於 $19-24^\circ\text{C}$ 之間 UCYN-A 生物量較高(Langlois et al. 2008)；而 UCYN-B 生物量與溫度呈現顯著正相關，尤其溫度超過 29°C 時生物量最

高。關於野外 UCYN-C 的研究發現其能生存於溫度超過 26°C 或低於 15°C 環境下 (Langlois et al. 2008; Foster et al. 2007; Goebel et al. 2010)，Taniuchi et al. (2011) 於黑潮發現的 UCYN-C，生物量最高時溫度為 25.9°C，28.4°C 之下生物量最低，與 UCYN-A 和 -B 相比，UCYN-C 適應溫度範圍較廣泛。

依固氮率而言，UCYN-C 適合溫度範圍也比 UCYN-B 廣泛，Compaoré and Stal (2009) 於 27-41°C 下分別偵測 *Crocospaera* 與 *Gloeothecy* sp. PCC6909 之固氮率，*Gloeothecy* sp. PCC6909 於 27-38°C 之間皆可測得固氮率，且在 31°C 下固氮率最高 (10 nmol C₂H₄ cell⁻¹)，溫度上升至 41°C 時固氮率下降至 0；*Crocospaera* 僅在 27-29°C 內偵測到固氮率，在 29°C 時固氮率最高 (524 nmol C₂H₄ cell⁻¹)，當溫度超過 31°C 其固氮率為 0。

實驗室培養結果發現，不同植株所適生長溫度範圍不同。*Crocospaera* 中，由太平洋分離出的植株，適應溫度範圍比北大西洋分離出的植株廣泛，如由太平洋分離出的 WH0001 與 WH0003 的最適生長溫度為 22-36°C，而由北大西洋分離出的 WH8501 最適生長溫度範圍 26-34°C (Webb et al. 2009)，在 25°C 以下或 34°C 以上，WH8501 的生長率接近 0，而 WH0001 和 WH0003 的生長率為最大生長率的三分之一。Falcón et al. (2005) 從大西洋分離出的 A-2.5 和 P-3 的最適生長溫度 26-30°C，P-7 的最適生長溫度 28-29°C。UCYN-C 中，來自大洋的 TW3，最適生長溫度介於為 28-34°C，此溫度範圍內生長率為 0.53-0.54 d⁻¹，當溫度下降至 25°C 或上升至 36°C 時生長率皆下降至 0.40-0.43 d⁻¹ (Taniuchi et al. 2011)；來自沿岸之 *Cyanothece* sp. ATCC51142 在 38°C 下之生長率仍維持 0.77 d⁻¹ (Reddy et al. 1993)。

溫度會引起型態上的變化，溫度越高，細胞體型越小，例如：Webb et al. (2009) 針對 *Crocospaera Watsonii* WH8501 進行不同溫度的培養實驗，發現無論培養液是否添加氮鹽，在 25°C 環境下的細胞比在 28°C 環境下的大了 0.14 倍，在無氮鹽添加的培養液，於 25°C 與 28°C 的細胞直徑差距最大可達 0.9 μm，而添加氮鹽的培養液，於 25°C 與 28°C 的細胞直徑差距 1.1 μm。TW3 在 30°C 下的平均細胞長度 4.4 μm，25°C、36°C 環境下的平均細胞長度增加為 5.0 μm、5.1 μm (Taniuchi et al. 2011)。

第三章 材料方法

本研究以全細胞免疫化學染色法探究南海與黑潮的單細胞固氮生物之族群變動。探測區域為 21° - 22° N、 116.5° - 122.5° E，橫跨南海北部及黑潮上游海域(圖 3-1)；測站依海域與地形劃分成四個海區：南海陸棚區(Shelf，測站 S4、S5)，水深 302-334 m；陸坡區(Slope，測站 S6、S7)，水深 681-1565 m；海盆區(Basin，測站 S8、S9、S10)，水深 2698-3649 m，以及黑潮上游之黑潮區(Kuroshio，測站 K2)，水深 4778 m。調查時間同為 2010 年，包含春末、夏季與冬季共三個季節，分別為 1455 航次(12-17 May, OR3)、1487 航次(4-10 Sep, OR3)以及 950 航次(2-11 Dec, OR1) (表 3-1)。其中 1455 航次正是農曆 3 月 29 日至 4 月 4 日，於 S5 站採樣時遇到內波通過，採集到的生物樣本分別「內波中」與「內波後」。1487 航次啟程前一週，輕颱萊羅克(LIONROCK) (29 Aug-02 Sep)生成於東沙島南方海面，先向西北方向移動後，轉向東北方朝東沙島接近，受到台灣北部海面的南修(NAMTHEUN)颱風影響而移動速度緩慢，颱風中心於 30 日凌晨開始至 31 日凌晨在陸棚(S4、S5 站)上空徘徊，直到 31 日晚間才加速朝東北移動，颱風中心路徑通過海盆的 S8 站(圖 3-2)，9 月 1 日凌晨在 S9 站北方(中心位置 21.5° N、 119.4° E，最大強風半徑 220 km)，S9、S10 站位在強風半徑內，之後颱風朝北移動消滅，因此在海盆採集到颱風過後一週內的樣本；航次期間，研究船前往 S8 站進行採樣同時，西北太平洋生成熱帶氣旋(7 Sep)，氣旋在 8 日下午進入呂宋海峽(S10 站以東，中心位置 21.0° N、 120.7° E)，此時研究船朝 S6 站行進，9 日凌晨形成輕颱莫蘭第(MERANTI, 8-10 Sep)，中心位置(20.7° N、 119.0° E，最大強風半徑 70 km)在 S9 站南方，而研究船正前往 S4 站途中(圖 3-3)；此外 1487 航次在 S9 站和 S5 站進行營養鹽添加培養實驗，S9 站所採集到的樣本是颱風過境之後 5 天，而 S5 站則是颱風後 9 天。950 航次前已有東北季風，並在 S6 站進行營養鹽添加培養實驗。

1. 水文資料測定

水文資料測定以採水輪盤所裝載之CTD (SBE9/11 CTD, SeaBird Electronics Ins. Washington, USA)記錄鹽度(Salinity, PSU)、溫度(Temperature, °C)和水深(Depth, m)。利用甲板上的PAR Sensor (Photosynthetically Active Radiation Sensor)測量光照，將05:00至19:00間的累計光照平均，計算出日照強度(PAR, $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)。水樣的採集使用輪盤式採水器搭載10 L Niskin採水瓶(OR3)或20 L GO-FLO採水瓶(OR1)。採集深度設定8個，其中5個在有光區內，分別為透光度100% (5m, A水層)、46% (B水層)、13% (D水層)、6% (E水層)及0.8% (F水層) (Chen et al. 2008)，其餘3個水層則固定為水深100 m、150 m、200 m；倘若到站時間為夜晚，無法計算透光度時，則有光層深度採用5 m、15 m、30 m、50 m和75 m的固定水深。硝酸鹽躍層(Dni, m)定義為硝酸鹽濃度100 nM之水深，若表水(5m)的硝酸鹽濃度已超過100 nM，硝酸鹽躍層為0 m。混合層深度(Dm, m)定義為每單位公尺水深密度(σ_t)相差0.1 kg m^{-3} 處。水體分層程度(SI, kg m^{-4})以(100m密度－表水密度) $\div$ (100m－表水深度)計算(Chen et al. 2008)。

2. 單細胞固氮生物採集

單細胞固氮生物樣本之採集，由於固氮酵素於每天白天會被降解，等到夜晚再重新合成(Tuit et al. 2004; Saito et al. 2011)，樣本皆為夜間取得，包括 1455 航次之 S4、S5、S9、S10、K2 站；1487 航次之 S5、S7、S8、S9 站；及 950 航次之 S5、S6、S8、S9、S10、K2 站(表 3-1)。

i. 單細胞固氮生物樣本採集及固定

已知單細胞固氮生物之體型小於 10 μm (Montoya et al. 2004; Garcia et al. 2007)，故自不同深度之水樣先以網目大小 10 μm 的浮游生物網布(尼龍，台製)進行重力過濾，除去大於 10 μm 的生物及顆粒，濾液先分裝至 550 ml PE 廣口瓶，再以直徑 25 mm、孔徑 1 μm PC 濾膜(Whatman #110610, UK)，壓力 100 mmHg 抽氣過濾收集細胞。含有細胞之 PC 濾膜置於培養皿中，靜置在浸潤於 PFA (Paraformaldehyde,

3% wt/vol, Sigma #P6148, USA)的色層紙(chromatography paper, Waterman, USA)上，將細胞固定，在 4℃ 下歷時 4 小時。而後，濾膜裝入內含 2 ml 100% methanol (Fluka #62290, Switzerland)之旋蓋式離心管內，離心管存放於-20℃ 環境冷凍保存。

ii. 全細胞化學免疫染色(Whole-cell immunocytochemical detection)

全細胞免疫化學染色法，依據Taniuchi et al. (2008a)使用的固氮酵素抗體作為探針，此抗體源自於*Trichodesmium* sp. NIBB1067之多株抗體，標定目標抗原固氮酵素之鐵蛋白與鉬鐵蛋白(NifHDK)。Taniuchi et al. (2008a)已對純種單細胞固氮藍綠藻*Gloeotheca* sp.與*Gloeocapsa* sp.進行實驗，證明培養在無氮鹽之培養液中的固氮藍綠藻，會因為需要固氮酵素來進行固氮作用，有超過93%的細胞被染色，相對的，*Synechocystis* sp.為非固氮單細胞藍綠藻，沒有固氮酵素，其細胞則完全不被染色。

(a) 染色之前置作業

將保存於 methanol 之樣品，轉至內有 2 ml ethanol (J. B. Baker #J11T04, Malaysia)之旋蓋式離心管中，放入超音波震盪機(45Khz)內震盪 2 分鐘，將嵌在 PC 濾膜上的細胞樣本震離濾膜，以便收集全部細胞。之後離心管保存在-20℃，並在 2-3 天內進行細胞的透化及標記步驟。每個樣本需均分成兩等體積，之後於免疫反應過程時，用以進行正控制組(加入一級抗體及二級抗體)及負控制組(未加一級抗體，僅加入二級抗體)的染色。

(b) 透化(permeabilization)與阻斷(blocking)

使用直徑 25 mm 的玻璃過濾器(ADVANTEC #311200)，以直徑 25 mm、孔徑 0.45 μm 的 Millipore PVDF 膜(polyvinylidene difluoride membrane, Waterman, USA)將 ethanol 中的細胞樣本抽氣收集至膜上。PVDF 膜使用前已事先用 parafilm (pechiney plastic packaging, IL.60631, USA)封住邊緣，固定在玻璃濾杯杯底。接下

來，用 PBS (phosphate-buffered saline, 5.8×10^{-3} M Na-K phosphate, 4.0×10^{-2} M NaCl, 8.0×10^{-4} M KCl) 作為清洗液，沖洗 PVDF 膜上的細胞。清洗步驟有固定程序，首先取 1 ml PBS 沿玻璃濾杯內緣滴入，沖洗 PVDF 膜上之細胞樣本，抽氣過濾掉 PBS 後，再取 1 ml PBS 滴入濾杯內，讓細胞樣本浸泡在 PBS 內，靜置 1 分鐘之後抽氣過濾掉 PBS，然後再重複沖洗至少 3 次。最後用 parafilm 包覆含 PVDV 膜在內的整個玻璃濾杯底部，加入用 1 ml PBS 配製成的 10% DMSO (dimethylsulfoxide, Fluka #41639, USA) 和 10% NGS (normal goat serum, GIBCO™ #16219, NZ) 之綜合溶液浸泡細胞樣本。將玻璃濾杯放入適當大小的燒杯內，用保鮮膜封住燒杯口防塵，再置入 4℃ 環境 12-15 小時。

DMSO 能使細胞膜的通透性(permeability)增加，而 NGS 會阻斷非目標蛋白上的配位，使抗體蛋白不會吸附在非目標蛋白上，減少一級抗體的使用量。染色過程中使用 PVDF 膜是為了方便觀察並計數細胞，PVDF 膜為疏水性材質，因此使用前先浸泡於 methanol 中活化使其具有親水性，浸泡時間至少 1 分鐘。

(c) 免疫反應(immunoreactivity)

在進行免疫反應實驗之前，從燒杯中取出玻璃濾杯，並拆卸掉包覆玻璃濾杯基部的 parafilm，以每次 1 ml PBS 為清洗液，依照前述的清洗程序沖洗 PVDF 膜上的細胞樣本，之後在濾杯內滴入 1 ml PBS 配製的 0.1% H_2O_2 (Katayama Chemical #H-0160, Japan) 溶液，靜置 5 分鐘。此步驟可將其他可能影響後續呈色步驟之物質氧化掉，避免影響到之後免疫反應呈色的結果。而後，以每次 1 ml PBS 作清洗液，經過同樣的固定清洗步驟沖洗掉 PVDF 膜上的 H_2O_2 溶液。最後用 parafilm 包覆含 PVDV 膜在內的整個玻璃濾杯底部，並在「正控制組」的玻璃濾杯中加入 1 ml PBS 配置的 0.2% 一級抗體溶液(含 *nifH*、*nifD*、*nifK* 的酵素抗體各 2 μ l)，而「負控制組」中只加入 1 ml PBS。將玻璃濾杯全數放回燒杯內，保鮮膜封住燒杯口後置入 4℃ 環境，歷時 4 小時。

(d) 免疫反應呈色(visualization of immunoreactivity)

上述免疫反應後，取出「正控制組」與「負控制組」玻璃濾杯並撕去封底的 parafilm，以 PBS 配置的 0.2% PBS Triton X-100 (*t*-Octylphenoxypolyethoxyethanol) 溶液作為清洗液，和前述的清洗程序相同，每次取 1 ml 0.2% PBS Triton X-100 溶液，沖洗、浸泡之後再沖洗細胞樣本，然後用 parafilm 重新封包玻璃濾杯杯底。在「正控制組」與「負控制組」中，各加入 1 ml PBS 配置的 0.2% HRP (horseradish peroxidase-conjugated, 2 μ l, Bio-Rad, Goat Anti-Rabbit IgG (H+L)-HRP Conjugate #172-1019, USA) 之二級抗體溶液，將玻璃濾杯放回燒杯內，保鮮膜封住燒杯口，置於室溫下維持 2 小時。

加入二級抗體溶液 2 小時之後，取出玻璃濾杯並撕去 parafilm，以每次取 1 ml 0.2% PBS Triton X-100 溶液作為清洗液，經過相同的清洗程序沖洗與 HRP 結合過之細胞樣本。同時準備呈色用培養皿，在培養皿內由下往上依序放入 2 張吸水紙巾與 1 張色層紙，並加入 2 ml PBS 配製的呈色溶液，呈色溶液包含 1 mg DAB (3-3'-Diaminobenzidine tetrachloride, Sigma #D5637, USA)、3 μ l CoCl_2 及 0.5 μ l H_2O_2 。撕去固定 PVDF 膜的 parafilm，由玻璃濾杯底部取下載有細胞樣本的 PVDF 膜放到吸入呈色溶液之色層紙上，乘載細胞樣本面朝上，讓 PVDF 膜在呈色用培養皿中浸潤，於室溫下維持 0.5 小時。之後，為了清洗掉多餘的呈色溶液，另準備清洗用培養皿，同樣在底層有 2 張吸水紙巾、表層為 1 張色層紙的培養皿內，加入 2 ml 0.2% PBS Triton X-100 溶液。由呈色用培養皿中取出載有呈色細胞樣本的 PVDF 膜置入清洗用培養皿中浸潤，待 PVDF 膜吸入 0.2% PBS Triton X-100 後將膜夾出置於拭鏡紙上吸乾 0.2% PBS Triton X-100 溶液，再放回培養皿中使 PVDF 膜重新吸入 0.2% PBS Triton X-100 溶液並靜置 1 分鐘，然後再次將 PVDF 膜置於拭鏡紙上，讓 PVDF 膜反覆吸入 0.2% PBS Triton X-100 溶液 5 次。

免疫反應呈色過程中使用的二級抗體 HRP，能夠針對「正控制組」中所添加的一級抗體進行專一性結合，而後又與 DAB 結合，並藉由 H_2O_2 氧化 DAB 使免疫反應呈色，而「負控制組」中無添加一級抗體，二級抗體不會與一級抗體結合；

加入 CoCl_2 目的在於 CoCl_2 能夠加深 DAB 的呈色效果。

(e) 製作玻片

最後將 PVDF 膜製成玻片，把吸乾 0.2% PBS Triton X-100 溶液的 PVDF 膜，用背面朝上、乘載細胞面朝下的方式放在蓋玻片上，並滴上甘油，甘油需完全覆蓋住 PVDF 膜背面；待 PVDF 膜被甘油浸潤為透明狀後，再連同蓋玻片一起倒扣在載玻片上完成玻片製作，倒扣過程中動作輕慢，避免蓋玻片與載玻片間夾含氣泡。染色完成的玻片樣本保存於 -20°C ，需在一週內鏡檢完畢以免變色。

(f) 偵測並計量

將染色完成的玻片樣本置於光學顯微鏡(Olympus, CX31, USA)底下，以接目鏡 10 倍、接物鏡 100 倍的倍率觀察並計量，染色細胞如圖 3-5D，未被染色者如圖 3-5E。PVDF 膜上的細胞數量甚多，故取樣觀察，每樣品觀察 4 行，範圍寬度 0.1 mm(測微尺寬度)，長度是玻璃濾杯的有效過濾直徑 16.35 mm，總觀察面積為 6.54 mm^2 ，占有有效過濾面積(210 mm^2)之 3.11%。以總過濾水樣體積 0.55 L 計算，相當於觀察 17.13 ml 之水樣。單位體積之細胞密度計算公式如下：

$$\text{細胞密度}(\text{cells L}^{-1}) = \frac{\text{所觀察之細胞數量} \times 210\text{ mm}^2}{6.54\text{ mm}^2} \div 0.55\text{ L}$$

計數過程中，依據細胞體型與外形區分成 4 類型：(1) 1-2 μm C：直徑 1 至 2 μm 圓形細胞(coccoid-shaped, C)(圖 3-4B; C)；(2) >2 μm C：直徑大於 2 μm 之圓形細胞(圖 3-4D; 圖 3-5A 至 D)；(3) 1-2 μm R：直徑 1 至 2 μm 的橢圓形細胞(rod-shaped, R)(圖 3-6A)；(4) >2 μm R：直徑大於 2 μm 之橢圓形細胞(圖 3-6B; C)。文獻中關於單細胞固氮生物 UCYN-A、UCYN-B 和 UCYN-C 之體型及外形的描述，認為 UCYN-A 為圓形細胞(Goebel et al. 2008)，直徑小於 1.5 μm (Biegala and Raimbault 2008; Bonnet et al. 2009; Le Moal et al. 2011)；UCYN-B 為圓形細胞，其體型依照野外觀察與實驗室培養之文獻歸納，介於 2-10 μm (Zehr et al. 2001; Church et al. 2005a;

Moisander et al. 2010; Campbell et al. 2005; Webb et al. 2009; Hewson et al. 2009; Dron et al. 2011); UCYN-C 外形則為橢圓，細胞直徑記錄為介於 2-10 μm (Zehr et al. 2001; Church et al. 2005a; Ohki et al. 2008)。按此，1-2 μm C 可能屬於 UCYN-A，>2 μm C 屬於 UCYN-B，而>2 μm R 屬 UCYN-C，1-2 μm R 推測可能屬於 Cluster I、III 中非藍綠藻之單細胞固氮生物，例如 γ -proteobacteria 中的 *Azotobacter chroococcum* (1.5 μm ×0.7 μm , Carpa and Barbu-Tudoran 2011)和 *Acidithiobacillus* (2.0 μm ×0.4 μm , Kelly and Wood 2000)， α -proteobacteria 中的 *Methylocystis* (0.5-1.5 μm ×0.3-0.5 μm , Bowman et al. 1993)，或是 Cluster III 的 *Chlorobium ferrooxidans* (1.0-1.5 μm ×0.5 μm , Heising et al. 1999)以及 *Verrucomicrobia* 之 SoIV (0.8-2.0 μm ×0.4-0.6 μm , Op den Camp et al. 2009)等。此外，>2 μm R 也可能包含屬於非藍綠藻之單細胞固氮生物，例如 *A. vinelandii* (2-5 μm , Peña et al. 2002)、*Pseudomonads* (1.5-4.0 μm ×0.5-1.0 μm , Madigan and Martinko 2005)、*Desulfovibrio magneticus* (3-5 μm ×1 μm , Sakaguchi et al. 2002)或 *Verrucomicrobia* 之 V4 (1-4 μm ×0.3-0.5 μm , Op den Camp et al. 2009)。而 *Methylobacter* 的細胞外形有圓形或肥短的橢圓形，且體長介於 1.2-3.0 μm (Bowman et al. 1993)，因此 1-2 μm C 或>2 μm C 也可能包含其在內。

每個樣本，進行玻片觀察時，均分成兩半均等體積進行正控制組(加入一級抗體及二級抗體)及負控制組(未加一級抗體，僅加入二級抗體)，分別計數正控制組與負控制組之細胞密度，自然界樣本，每水樣採二重複(兩個 subsamples)，文中所列之細胞密度為兩個 subsamples 的平均細胞密度。細胞密度計算時，(一)先計算負控制組中呈色比例(S)：將各類體型與外形的非單細胞固氮生物之細胞呈色比例(S)分別計算，公式為：

$$\text{負控制組之呈色比例(S)} = \frac{\text{負控制組之呈色細胞密度}}{[\text{負控制組之呈色細胞密度} + \text{負控制組之未呈色細胞密度}]}$$

(二)之後計算單細胞固氮生物細胞密度：將正控制組中呈色細胞之密度，用負控制組之呈色比例(S)修正，計算公式為：

單細胞固氮生物細胞密度(cells L⁻¹)=

正控制組呈色細胞密度(cells L⁻¹)－正控制組所有細胞密度(含呈色與未呈色細胞, cells L⁻¹)×S

3. 營養鹽添加培養實驗

進行營養鹽添加實驗者共 3 站，1487 航次的 S9 站(海盆區)、S5 站(陸棚區)與 950 航次的 S6 站(陸坡區)。用於營養鹽添加培養實驗的水樣為表水(5 m)，亦採用輪盤式採水器採集，其中僅 950 航次的 S6 站採用 metal free 系統。水樣先經過 10 µm 的浮游生物網布進行重力過濾除去大體型顆粒後，再分裝到預先酸洗乾淨的 PC 瓶內，之後依照實驗處理組別加入營養鹽磷或鐵，或同時加磷與鐵等 4 組，每組 2 瓶(n=2，沒有取 subsample)。(1)對照組(C)不添加任何營養鹽(C)；(2)磷添加組(+P)添加 100 nM K₂HPO₄；(3)鐵添加組(+Fe)，1487 航次添加 2 nM FeCl₃·6H₂O，950 航次添加 50 nM FeCl₃·6H₂O 與 20 µM ETDA (C₁₀H₁₂N₂O₈NaF·3H₂O Fe(III)-EDTA)；(4)同時添加磷鐵組(+PFe)，所添加的濃度，為該航次添加的磷與鐵的濃度(表 3-2)。添加完營養鹽之後放置在日光照射的甲板上，利用循環式表水控溫培養 2 天，每隔 24 小時，取 550 ml 的水樣(PE 廣口瓶)，用 PC 濾膜(25 mm, 1 µm)抽氣過濾(100 mmHg)收集細胞，並依前述「單細胞固氮生物樣本採集及固定」之方式保存 PC 濾膜，回到陸上實驗室之後再進行全細胞化學免疫染色觀察。此外，為避免營養鹽的殘留，不重複使用培養用的 PC 瓶。

4. 其他水質資料

樣本中的營養鹽中的硝酸鹽與亞硝酸鹽(N+N, nM)、磷酸鹽濃度(SRP, nM)與葉綠素 a 濃度(Chl a, mg m⁻³)資料等數據，均由實驗室同仁測定後，提供使用。模擬之大氣落塵資料，則由 Toshihiko Takemura (Kyushu University)提供。

i. 硝酸鹽與亞硝酸鹽(N+N, nM)

各水層水樣以 125 ml PE 瓶或 250 ml PC 瓶盛裝至八分滿，置 -20℃ 保存。偵測方

式採用鎘銅還原裝置與偶氮比色法(Azo dye colorimetric method)。水樣中的硝酸鹽經過鎘絲還原處理還原成亞硝酸鹽後，與磺胺(Sulphanilamide)反應形成重氮離子(Diazonium ion)，再和鹽酸奈乙二胺(Naphthyl-ethylenediamine)作用產生粉紅色的偶氮染料(Azo dye)，而後利用流動式自動分析儀(FIA)在波長543 nm下測定吸光值(Strickland and Parsons 1972)。水樣未經鎘絲還原處理所測得結果為亞硝酸鹽濃度(NO_2)，處理後偵測結果是硝酸鹽與亞硝酸鹽之濃度總和($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$)，故可回推出硝酸鹽之濃度。假若結果低於偵測極限($0.2 \mu\text{M}$)，則採用化學螢光測定法(Garside 1982)，此方法可分析至nM的硝酸鹽與亞硝酸鹽濃度。原理是利用亞鐵(Fe^{2+})作為還原劑，在硝酸根和亞硝酸根還原過程中產生的氧化氮(NO)，在 NO_x 偵測儀中與 O_3 反應形成激發態，而激發態降為基態時所放出的螢光由光倍增管偵測螢光強度。

ii. 磷酸鹽(SRP, nM)

水樣以250 ml PC瓶盛裝至八分滿，置 -20°C 保存。測定時採用維他命C還原比色法(Ascorbic acid reduction-colorimetric method)。水樣中的 PO_4^{3-} 在酸性條件下和鉬酸鉍反應產生黃色的磷鉬複合物(Dodecaphosphomolybdenum complex)，再經由抗壞血酸(Ascorbic acid)還原成深藍色之磷鉬複合物(Molybdenum blue)，設定波長880 nm偵測吸光值(Strickland and Parsons 1972)。倘若結果低於偵測極限的 $0.4 \mu\text{M}$ ，則先於水樣中加入NaOH將磷析出沉澱，再加入10 ml HCl使其溶解的濃縮步驟，此MAGIC分析法偵測範圍可低至1-100 nM (Karl and Tien, 1992)。環境中的氮磷比(N/P)以 $[\text{N} + \text{N}]/\text{SRP}$ 計算。

iii. Chl a 分析(Chlorophyll a, mg m^{-3})

各水層之水樣以550 ml PE 廣口瓶盛裝兩瓶($n=2$)，為防止Chl a 分解成脫鎂葉綠素影響檢測結果，於水樣中滴入數滴碳酸鎂溶液(1% wt/vol)，而後以壓力100 mmHg抽氣過濾於GF/F濾膜上，此樣本濾膜經對折並以夾鏈袋封包保存於 -20°C ，

待陸上實驗室分析。以 Strickland and Parsons (1972)方法萃取，使用 90% 丙酮 (Acetone)、置於 4°C 黑暗中 20 小時後，利用螢光分光光度計(Hitachi F-3010)檢測。

iv. 大氣落塵(Dust, $\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$)

大氣落塵量的數據取自於 Spectral Radiation-Transport Model for Aerosol Species (SPRINTARS)，將出海前14天的大氣落塵資料取平均後得來(Takamura et al. 2000)。根據文獻已知，海洋中的鐵來源之一為空氣中的大氣落塵(Measures and Vink 1999)，而落塵中的鐵含量有1-10%會溶解至海洋中成為生物可利用的鐵(Fung et al. 2000)，之中又有1-6%是以乾沉降(Dry deposition)的方式進入水體，10-50%則是以濕沉降的方式(Wet deposition, Gao et al. 2003)。本研究中僅取得1455航次之資料，將其視為由大氣中輸送至海水中的鐵含量，作為海水中鐵之指標，以探討單細胞固氮生物與鐵豐寡之關連。

5. 數據分析

單細胞固氮生物的生物量包含表水細胞密度以及水柱(0-100 m)累計生物量。由於南海北部有光層深度範圍為61-109 m (Chen and Chen 2006)，混合層深度在冬天也可達95 m，加上營養鹽躍層深度約100 m (Wong et al. 2007)，因此水柱累計之深度取至100 m，水柱(0-100 m)累計生物量為積分0-100 m的細胞密度。

垂直分布比例為上層(0-50 m)、中層(50-100 m)與下層(100-150 m或200 m)之水柱平均細胞密度之比值，以中層細胞密度為1，其表示垂直分布之變動趨勢。即：

$$\frac{[\text{水柱0 - 50 m平均細胞密度}]}{[\text{水柱50 - 100 m平均細胞密度}]} : 1 : \frac{[\text{水柱100 - 150 m或200 m平均細胞密度}]}{[\text{水柱50 - 100 m平均細胞密度}]}$$

比較各環境因子或單細胞固氮生物量在不同海區間(陸棚、陸坡、海盆和黑潮)之差異，或是不同季節間(春季1455航次、夏季1487航次、冬季950航次)的差異，是利用單因子變異數分析(1-way ANOVA)進行檢測，若結果有顯著差異($p < 0.05$ 或 $p < 0.01$)，再進行Duncan's multiple range test事後檢定分析，可得出平均值呈顯著差

異的組別。此外，生物量與環境因子之間的關係是利用相關係數(Correlation coefficient, r)和簡單直線回歸(Simple Linear Regression)分析。本研究之環境因子包含日照強度與表水溫度、鹽度、硝酸鹽濃度、磷酸鹽濃度、N/P、Chl a 濃度，以及硝酸鹽躍層深度、混合層深度、水體分層程度與大氣落塵量。

營養鹽添加培養實驗結果以單因子變異數分析分析四個處理組間(C、+P、+Fe和+PFe)之平均生物量(各處理組 $n=2$)是否有差異，若結果有顯著差異($p<0.05$ 或 $P<0.01$)，繼續行Duncan's multiple range test事後檢定，進一步了解南海單細胞固氮生物的細胞密度是否受到磷或鐵不足的限制。

第四章 結果

本研究內含三個探測航次調查，主要探測範圍橫跨南海北部及黑潮上游，並將研究海域分類為四個海區，包含南海陸棚、陸坡、海盆以及黑潮，總計 8 站(圖 3-1)，依季節則可分為同年春末(CR1455)、夏季(CR1487)與冬季(CR950)，調查結果發現南海表水溫度平均在不同季節之差異極為顯著($p < 0.01$)，夏季($29.1 \pm 0.1^\circ\text{C}$)表水溫度最高，其次是春季($27.7 \pm 0.3^\circ\text{C}$)，表水溫度最低是冬季($26.1 \pm 0.2^\circ\text{C}$)。其中，夏季受到萊羅克颱風影響，採集樣本為颱風後一週；冬季受到東北季風影響。本章節中依三個季節 1.春季、2.夏季和 3.冬季分述說明，內容包括其 i.水文資料，ii.單細胞固氮生物於表水之分布，和 iii.單細胞固氮生物之水柱(0-100 m)累計與垂直分布。之後，再綜合三個季節資料進行 4.季節變化，與 5.生物與環境因子之間的關係，最末為 6.營養鹽添加培養實驗之結果。

1. 春季(CR1455, 12-17 May 2010)

由中央氣象局資料顯示 2010 年一至六月，無颱風在南海與台灣附近海域生成或通過。航次期間採樣測站包含南海陸棚之 S4、S5 站和海盆之 S9、S10 站，與黑潮之 K2 站(表 3-1)。此外，在南海陸棚採樣期間適逢內波通過，S4 站取內波後 10.9 小時，S5 站取內波通過後 4.9 小時的最終採樣做為該測站自然分布之樣本；針對 S5 站採集到內波通過期間及內波通過後的樣本，在「iv.內波」中另做論述。

i. 水文資料

航次中在南海三海區(陸坡、陸棚和海盆)採樣的日照強度差異不顯著，但遠高於在黑潮($p < 0.01$)(表 4-1)。本研究中唯一獲得大氣落塵量數據者為 1455 航次，資料顯示在南海陸棚遠低於海盆和黑潮($p < 0.05$)，後兩者之間無顯著差異。

由 T-S 曲線判斷，南海陸棚和海盆的水團性質都屬典型南海水(Chen and Huang 1996)，但陸坡的 T-S 曲線紊亂，水團性質明顯偏離典型南海水，而黑潮 K2 測站

的 T-S 曲線接近典型黑潮水，與南海水相比，呈現溫度高、鹽度高(圖 4-1A)。陸坡測站 S6、S7 站，由溫鹽的剖面圖(圖 4-2)顯示，其等溫線、等鹽度線比周圍測站較淺，推測可能為湧升現象所造成。S7 站因此顯示表水溫度低(27.2°C)、混合層深度(103 m)深，表水硝酸鹽濃度(13 nM)和 Chl a 濃度(0.16 mg m^{-3})均較周圍測站高。同時，根據 NLOM (Navy Layered Ocean Model) 1/32° Nowcast 模擬的海流方向，與來自 HYCOM+NCODA (Hybrid Coordinate Ocean Model and the Navy Coupled Ocean Data Assimilation) Global 1/12° Analysis 的模擬之海水位高度(SSH, m, 圖 4-3)，發現海盆測站 S9 站與陸坡測站 S7 站皆位於水位較低處，海水位高度(0.50-0.55 m)比 S10 站和 S6 站(0.55-0.60 m)稍低，比陸棚測站 S4、S5 站(0.65-0.70 m)更低，周圍海流微弱，渦流特徵不易見得，S9 站的表水硝酸鹽濃度(24 nM)比也 S10 站(8 nM)高。S9 站的表水溫度(28.6°C)和黑潮相同，比 S10 站高了 0.1°C 。

表水平均溫度發現南海陸坡($27.4\pm 0.2^{\circ}\text{C}$)和陸棚($27.2\pm 0.1^{\circ}\text{C}$)顯著低於海盆($28.6\pm 0.1^{\circ}\text{C}$)與黑潮(28.6°C) ($p<0.05$)；而表水鹽度平均在陸坡($34.24\pm 0.03\text{ PSU}$)和陸棚($34.22\pm 0.05\text{ PSU}$)比海盆($33.75\pm 0.02\text{ PSU}$)高($p<0.05$)，比黑潮(34.54 PSU)低，顯示陸棚和陸坡的水體比海盆溫度低、鹽度高。

表水硝酸鹽濃度在四海區之間無顯著差異，以海盆($16\pm 8\text{ nM}$)較高於陸棚($12\pm 1\text{ nM}$)和陸坡($9\pm 4\text{ nM}$)，之中海盆測站中 S9 站的表水硝酸鹽濃度(24 nM)比 S10 站高，黑潮與海盆之 S10 站濃度相同(8 nM)，陸坡的 S7 站(13 nM)的表水硝酸鹽濃度也比 S6 站(5 nM)高。表水磷酸鹽濃度在南海陸棚($28\pm 6\text{ nM}$)、陸坡($31\pm 5\text{ nM}$)和海盆($29\pm 2\text{ nM}$)之間差異不顯著，都顯著低於黑潮(76 nM) ($p<0.05$)。表水 N/P 平均在四海區間無顯著差異，範圍介於 0.3-0.6，遠小 16，顯示無論黑潮或南海海區，在春季時多數的浮游植物生長可能受到氮限制。表水 Chl a 濃度在四海區之間亦無顯著差異，以陸坡($0.15\pm 0.01\text{ mg m}^{-3}$)和陸棚($0.11\pm 0.03\text{ mg m}^{-3}$)較高(表 4-1)。

南海陸棚的硝酸鹽躍層平均深度極淺($15\pm 3\text{ m}$)，其次為陸坡($42\pm 13\text{ m}$)和海盆($48\pm 2\text{ m}$)，黑潮最深(133 m) ($p<0.01$)。混合層深度平均以海盆($22\pm 2\text{ m}$)較淺，陸坡($57\pm 46\text{ m}$)、陸棚($65\pm 17\text{ m}$)和黑潮較深(72 m)，雖然四海區間無顯著差異，但陸坡

S7 站(103 m)和陸棚 S5 站(82 m)的混合層深度特別深。水體分層程度以海盆($0.033 \pm 0.000 \text{ kg m}^{-4}$)為最大($p < 0.01$)，陸棚($0.021 \pm 0.001 \text{ kg m}^{-4}$)次之，陸坡($0.017 \pm 0.002 \text{ kg m}^{-4}$)以黑潮(0.014 kg m^{-4})之分層程度最低，且後三者之間無顯著差異。綜合上述，南海陸棚溫度偏低且 Chl a 濃度偏高，加上混合層深度頗深，除了水深較淺之本質外，尚有內波作用的影響，可能因此導致 S5 站表水溫度低(27.1°C)、鹽度高(34.27 PSU)、混合層深度(82 m)深。

ii. 單細胞固氮生物於表水之分布

表水單細胞固氮生物之總細胞密度，以黑潮($41.3 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)多於南海平均值($23.8 \pm 5.3 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)。海區之間以南海陸棚($15.0 \pm 0.5 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)為最低，南海海盆($32.6 \pm 4.0 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)和黑潮($41.3 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)較高(1-way ANOVA, $p = 0.056$)。以細胞外形分類，所有海區的表水單細胞固氮生物都是圓形細胞(C)多於橢圓細胞(R)。若依細胞體型分成小體型細胞($1-2 \mu\text{m C+R}$)和大體型細胞($>2 \mu\text{m C+R}$)，小體型細胞在三海區的細胞密度範圍為 $7.6-24.0 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$ ，在黑潮顯著多於南海海盆和陸棚($p < 0.05$)，大體型細胞($7.3-17.8 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)則是在南海海盆略高些($p > 0.05$) (圖 4-4)，顯示不同體型及外型的單細胞固氮生物對環境的選擇可能不同。

iii. 單細胞固氮生物之水柱(0-100 m)累計與垂直分布生物量

水柱累計單細胞固氮生物之總生物量的趨勢，也以黑潮高於南海海區平均。黑潮之 K2 站($22.4 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)高於南海陸棚($15.9 \pm 4.6 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)，而南海海盆之 S9 站($12.7 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)較低。小體型細胞($1-2 \mu\text{m C+R}$)在黑潮($12.8 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)較多，南海陸棚和海盆較少($6.5-8.2 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)，大體型細胞($6.2-9.5 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)在南海陸棚、海盆和黑潮三海區的生物量相近(圖 4-5)。

水柱累計生物量在各海區之間差異不大，垂直分布也顯示單細胞固氮生物不一定是以表水生物量最多，有些細胞密度最高值出現在 100 m 以深(圖 4-6)。計算上層(0-50 m)、中層(50-100 m)與下層(100-150 m 或 200 m)細胞密度之垂直分布比

例，即[水柱 0-50 m 平均細胞密度]/[水柱 50-100 m 平均細胞密度]/[水柱 100-150 m 或 200 m 平均細胞密度]，並以中層之細胞密度為 1 時，觀察其垂直分布之變動，發現南海陸棚區域，S4 站的小體型細胞(1-2 μm C+R, 1.2:1:1.3)和大體型細胞(>2 μm C+R, 1.8:1:1.3)在上、下層的細胞密度都比中層高(表 4-2)，尤其 S4 站的 1-2 μm R 和 >2 μm R 在 120 m 之細胞密度最高(圖 4-6)。而在 S5 站的小體型細胞(1.3:1:0.5)和大體型細胞(1.1:1:0.4)主要分布在水柱上層和中層，下層的細胞密度較低。相對的，南海海盆的 S9 站和黑潮之 K2 站，各類單細胞固氮生物大多以表水細胞密度最高(圖 4-6)。垂直分布比例來看(表 4-2)，S9 站的小體型細胞(2.9:1:0.9)和大體型細胞(5.2:1:0.9)的密度以在水柱上層最為明顯。黑潮 K2 站的小體型細胞(2.0:1:0.8)和大體型細胞(1.4:1:1.0)也是上層細胞密度最高，而中層和下層的密度相當。相較於單細胞固氮生物，Chl a 濃度在南海海區都主要分布在中層，Chl a 最大深度範圍為 66-80 m，上層比例(0.4-0.7)比中層少，而下層比例更少(0.1-0.2)，顯示 100 m 以深的 Chl a 濃度非常低；在黑潮的 Chl a 最大深度為 100 m，垂直分布比例為 0.6:1:0.7，黑潮下層的 Chl a 濃度相對較高，推測是因為黑潮有光層深度比南海深(黑潮 131 ± 12 m，南海 96 ± 6 m，Chen et al, 2007)所造成。

iv. 內波(CR1455 之 S5 站)

1455 航次正是農曆 3 月 29 日至 4 月 4 日，於 S5 站採樣時(農曆 4 月 2 日，大潮)遇到內波通過採樣測站，並採集到內波通過期間與內波通過之後共計四次的樣本。內波正通過時的採樣(IW)時間為當地時間 18:10-18:35，內波後第一次採樣(IW1)在 18:45-18:59，內波後 3.5 小時進行第二次採樣(IW2)在 21:40-22:05，內波後 4.9 小時的 23:05-23:26 間進行內波後最終採樣(IW3)。

CTD 資料顯示，下放與上收的作業時間在 15 至 20 分鐘內即完成，其間隔時間相當短，但所測得前後海水密度相差甚遠(圖 4-7A)。就混合層深度(Dm)而言，從內波中至內波後(IW-IW3)的四次採樣，混合層深度平均為 94 ± 10 m。內波中(IW)下放時之 Dm 為 107 m，上收時之 Dm 為 150 m，兩者相差 43 m，顯示水體正由上

層向深層下壓；內波後第一次採樣(IW1)，在下放時其 Dm 很淺，僅 59 m，上收時 Dm 稍深，為 65 m，雖然水體略為下沉，但是 IW1 混合層深度比內波正通過時(IW)淺很多，顯示水體已經向上回復。內波通過後的 4-5 小時內，水體依然有上下波動的情況，內波後第二次採樣(IW2)，混合層深度比 IW1 較深，下放時 Dm 為 84 m，而上收時 Dm 為 100 m；在內波後 4.9 小時的採樣(IW3)，下放時之 Dm 在 102 m，而上收時 Dm 淺至 82 m。內波後 4-5 小時(IW2 與 IW3)的混合層深度範圍相當。

水柱 0-150 m (內波通過時最大 Dm 為 150 m)的平均溫度、鹽度變化也呈現出內波通過時，上層水體向下壓的特質。內波通過時至內波後的溫度變化範圍在 26.3-22.8°C，鹽度變化在 34.22-34.35 PSU 之間(圖 4-8A)，兩者之變動趨勢相反。內波通過時(IW)，表層水往下壓，平均溫度 26.3°C，平均鹽度 34.22 PSU；但 IW1 時，低溫高鹽的水體向上回升，因此平均溫度比 IW 低 4.4°C，平均鹽度高了 0.17 PSU。內波後 4-5 小時，水體仍小幅波動，IW2 時上層高溫低鹽的水體向下移動，因此與前次採樣 IW1 相比，平均溫度高 1.7°C，鹽度較低 0.07 PSU；而 IW3 水體再度向上回升，平均溫度比 IW2 降低 0.8°C，鹽度增加 0.03 PSU。

水柱 0-150 m 平均的營養鹽濃度(硝酸鹽與磷酸鹽)(圖 4-8B)，亦反應出內波通過時水體向下及通過後向上回升之變動，其變動趨勢與平均鹽度一致，且與平均溫度的變動趨勢相反。內波通過時(IW)水體下壓，水柱平均硝酸鹽濃度僅 495 nM，平均磷酸鹽濃度 85 nM，當內波通過之後，IW1 低溫高鹽的水體回復，平均硝酸鹽濃度(5949 nM)提高了 5454 nM，平均磷酸鹽濃度(404 nM)也增加 319 nM。內波後 4-5 小時(IW2)，上層高溫低鹽的水體向下移動時，平均硝酸鹽濃度下降至 3785 nM，磷酸鹽則下降至 275 nM；之後在 IW3 採樣時的水體是向上回升，平均硝酸鹽濃度比 IW2 高 746 nM，平均磷酸鹽濃度也增加 45 nM。

以 Chl a 濃度作為所有浮游植物生物量之指標，內波通過時至內波後的水柱 0-150 m 平均 Chl a 濃度變化範圍在 0.19-0.29 mg m⁻³，也表現出內波通過時引起的垂直擾動現象造成上層水體下沉及回升之動態，且趨勢與平均溫度的變動趨勢相同，但與營養鹽的變動趨勢相反。在內波通過時(IW)的平均 Chl a 濃度為 0.24 mg m⁻³，

內波後(IW1)隨著低溫高營養鹽水體回升，平均濃度下降為 0.19 mg m^{-3} 。內波後 4-5 小時(IW2)，高溫低營養鹽的水體下沉，平均 Chl a 濃度增加至 0.29 mg m^{-3} ；在 IW3 水體回升時，平均濃度下降至 0.24 mg m^{-3} (圖 4-8B)。

單細胞固氮生物細胞密度之變動(圖 4-8C)與 Chl a 濃度變動趨勢甚為相似。內波通過至內波後單細胞固氮生物之總平均生物量範圍為 $7.7\text{-}18.8 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$ 。由內波通過時(IW)水體下壓，到內波通過後(IW1)低溫高鹽水體向上回復，小體型細胞($1\text{-}2 \text{ }\mu\text{m C+R}$)、大體型細胞($>2 \text{ }\mu\text{m C+R}$)細胞密度和平均 Chl a 濃度都下降；內波後 4-5 小時，水體持續著小幅震盪，當 IW2 時水體再度下壓，平均 Chl a 濃度增加 0.1 mg m^{-3} ，單細胞固氮生物細胞密度也都有提高趨勢；在 IW3 時水體再度向上回升，平均 Chl a 濃度再度下降 0.05 mg m^{-3} ，小體型細胞者($8.3\text{-}9.7 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)、大體型細胞($8.1\text{-}9.1 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)的平均生物量略微下降。

各類單細胞固氮生物的垂直分布(圖 4-7C)，在內波通過時與內波後均呈現比 Chl a 濃度之垂直分布(圖 4-7B)均勻。從內波通過時(IW)的水體下壓，Chl a 濃度在水柱上層:中層:下層的垂直分布比例($0.7:1:2.1$)顯示在下層最高，相較之下，小體型($1\text{-}2 \text{ }\mu\text{m C+R}$)和大體型($>2 \text{ }\mu\text{m C+R}$)單細胞固氮生物垂直分布卻頗均勻，垂直分布比例為 $1.1:1:1.4$ 和 $1.0:1:1.1$ ；內波過後水體回升(IW1)，Chl a 濃度呈現在上層遠高於下層($1.1:1:0.1$)，但大、小體型單細胞固氮生物反而呈現在中、下層之細胞密度稍高於上層($0.8:1:1.4$ 和 $0.6:1:1.0$)。內波過後 4-5 小時(IW2)，水體小幅下壓，使 Chl a 濃度集中在中層，上層與下層的濃度一樣少($0.5:1:0.4$)，相對地，大、小體型單細胞固氮生物則是垂直分布依然均勻，中、下層之細胞密度比上層稍高(兩者皆為 $0.8:1:0.9$)；IW3 時水體回升，Chl a 濃度在上層與中層遠多於下層($0.7:1:0.1$)，而大、小體型單細胞固氮生物之密度則是以上層略高於中層，再高於下層($1.3:1:0.5$ 和 $1.1:1:0.4$)，相對於 Chl a 的垂直分布上來得均勻的。

以上觀測結果，顯示內波通過的過程中，水體受到內波的擾動作用而反覆下壓、回復地劇烈震盪，造成水文環境明顯變化。但相較於 Chl a 濃度(所有浮游植物之生物量)之變動情形，內波對單細胞固氮生物之垂直分布趨勢的變動影響較

小。

2. 夏季(CR1487, 04-09 Sep 2010)

此航次於南海陸棚(08-09 Sep)採樣時間在颱風(30 Aug)後 9-10 天，陸坡(08 Sep)為颱風後 9 天(30 Aug)，海盆(06-07 Sep)為颱風(31 Aug-01 Sep)後 5-6 天內採樣。萊羅克颱風於 8 月 29 日凌晨在東沙島南方海面生成的，先朝西北移動後轉向東北方，朝東沙島上空接近，受到南修颱風影響而移動速度緩慢，29 日下午起陸棚(S4、S5 站)進入颱風範圍(強風半徑 110-170 km)，颱風中心(20.7°-20.9°N、116.4°-117.0°E)在 30 日凌晨開始至 31 日凌晨於陸棚上空徘徊，且強風半徑(190-200 km)已涵蓋陸棚(S6、S7 站)與海盆測站(S8 站)，直到 31 日晚間萊羅克颱風才加速朝東北移動，颱風中心路徑通過 S8 站，9 月 1 日凌晨在 S9 站北側改變路徑方向轉北移動(中心位置 21.5°N、119.4°E) (圖 3-2)，強風半徑 220-260 km，海盆(S9、S10 站)從 31 日晚間至 9 月 1 日晚間，持續被籠罩在強風半徑內，颱風在 9 月 2 日消散(颱風資料取自日本氣象廳 <http://www.jma.go.jp/jma/index.html>)，颱風期間最大風速達 18-25 m s⁻¹。

i. 水文資料

本航次採樣全在南海海區，不包含黑潮(表 3-1)。航次中，南海三海區(陸棚、陸坡、海盆)之間的日照強度經過 1-way ANOVA 檢測差異不顯著，南海陸棚比陸坡和海盆略高(表 4-3)。

依 T-S 圖可知南海陸棚水團屬典型南海水性質；陸坡的水團偏離典型南海水特質；海盆採樣在萊羅克颱風後一週內進行，其水團性質也偏離典型南海水(圖 4-1B)。三海區中以海盆之溫度、鹽度較高。表水溫度平均在三海區之間沒有顯著差異，海盆(29.2±0.1°C)較高，陸棚(28.9±0.2°C)略低(表 4-3)。表水鹽度平均在南海海盆(33.53±0.02 PSU)和陸坡(33.47±0.03 PSU)顯著高於陸棚(33.35±0.01 PSU)，前兩者之間差異不顯著(p<0.01)。

三海區之表水硝酸鹽濃度、磷酸鹽濃度平均雖無顯著差異，但都以海盆較高，其硝酸鹽濃度平均為 34 ± 6 nM，磷酸鹽濃度平均為 26 ± 4 nM，表水硝酸鹽濃度平均以陸坡(23 ± 12 nM)低於陸棚(32 ± 17 nM)，兩者之表水磷酸鹽濃度相當(表 4-3)。表水 N/P 平均在三海區之間差異不顯著，範圍介在 1.3-1.9。表水 Chl a 濃度平均以海盆(0.24 ± 0.03 mg m⁻³)顯著高於陸坡和陸棚($p < 0.05$)，後兩者相同(0.13 ± 0.01 mg m⁻³)。同一海區內，測站間的營養鹽濃度差異頗大，如在陸棚的 S5 站之表水硝酸鹽濃度為 15 nM，S4 站為 48 nM；在海盆的 S8 站的表水磷酸鹽濃度為 19 nM，而 S10 站為 34 nM。

三海區之間硝酸鹽躍層深度平均($p > 0.05$)與混合層深度平均($p = 0.054$)皆無顯著差異，不但趨勢相同，也以海盆(Dni 為 60 ± 24 m，Dm 為 84 ± 12 m)比陸坡(51 ± 0 m、 42 ± 2 m)稍深，陸棚(25 ± 13 m、 38 ± 6 m)較淺。水體分層程度則以海盆(0.013 ± 0.004 kg m⁻⁴)最小($p < 0.05$)，陸棚(0.038 ± 0.001 kg m⁻⁴)和陸坡(0.031 ± 0.002 kg m⁻⁴)之間差異不顯著。

按 HYCOM+NCODA Global 1/12° Analysis 之模擬全測站的海水位高度變化趨勢為由海盆向陸棚遞減(圖 4-9)，海盆 S9、S10 站的海水位高度為 0.75-0.80 m，S8 站為 0.70-0.75 m，陸坡區為 0.65-0.70 m，陸棚區表水位高度最低，為 0.60-0.65 m。除此之外，在海盆區北方、台灣西南方(22.5°N , 119°E)一處，海水位高度較周圍高(0.90-0.95 m)，陸棚與陸坡區南方(20.5°N , 117.5°E)有一處的海水位高度較周圍低處(0.55-0.60 m)。本航次測站周圍的海流微弱，渦流特徵不明確(圖 4-9)。溫度剖面可見等溫線的趨勢，由海盆到陸棚是向淺水層分布(圖 4-10A)，等鹽度線除了 S9 站之外，也是向淺水層分布的趨勢(圖 4-10B)。海盆三測站之硝酸鹽躍層深度和混合層深度變異頗大，均以 S10 站最深，S10 站(103 m)的硝酸鹽躍層深度遠比 S9 站(56 m)和 S8 站(20 m)深；S10 站混合層深度為 109 m，S9 站和 S8 站為 72 m 和 71 m。

ii. 單細胞固氮生物於表水之分布

表水單細胞固氮生物的總細胞密度在陸坡(27.8×10^4 cells L⁻¹)與陸棚(24.6×10^4

cells L⁻¹)相當，海盆較低($19.2 \pm 4.2 \times 10^4$ cells L⁻¹)。小體型(1-2 μ m C+R)細胞密度範圍為 $10.8-17.2 \times 10^4$ cells L⁻¹，大體型(>2 μ m C+R)細胞密度為 $8.4-10.6 \times 10^4$ cells L⁻¹；無論小體型或大體型細胞在三海區之間，均以海盆之細胞密度最低，小體型細胞以陸坡(17.2×10^4 cells L⁻¹)比陸棚(14.3×10^4 cells L⁻¹)稍高(圖 4-4A)，大體型細胞則在陸棚(10.3×10^4 cells L⁻¹)與陸坡(10.6×10^4 cells L⁻¹)的細胞密度相當(圖 4-4B)。

iii. 單細胞固氮生物之水柱(0-100 m)累計與垂直分布生物量

水柱累計總生物量在陸棚(20.8×10^9 cells m⁻²)約是在海盆($14.7 \pm 1.8 \times 10^9$ cells m⁻²)的 1.4 倍。水柱累計的小體型細胞(1-2 μ m C+R)和大體型細胞(>2 μ m C+R)，均是以陸棚高於海盆(圖 4-5)，小體型細胞水柱累計生物量範圍為 $9.6-12.7 \times 10^9$ cells m⁻²，大體型細胞為 $5.1-8.1 \times 10^9$ cells m⁻²。

各類單細胞固氮生物在各測站的垂直分布趨勢如圖 4-11，垂直分布比例多以上層高於中層，再高於下層(表 4-2)。Chl a 濃度在水柱下層為中層的 0.1-0.4 倍，下層相對低很多，但是小體型細胞(1-2 μ m C+R)和大體型細胞(>2 μ m C+R)細胞密度在下層是中層的 0.4-0.7 與 0.5-1.1 倍，與 Chl a 濃度垂直分布相比，單細胞固氮生物在下層的比例較高。與 S5、S8 站相比，S9 站稍有不同，其下層的細胞密度為中層的 0.7 與 1.1 倍，S5 和 S8 站下層細胞密度是中層的 0.4-0.6 與 0.5-0.6 倍。在此航次，水柱上層的 Chl a 濃度與中層相近，但單細胞固氮生物則在上層比中層細胞密度稍高。和 1455 航次相比，此航次下層的小體型細胞和大體型細胞在比例上都較低些，且不同於 1455 航次時下層分布比例比中層稍高或相近。本航次 Chl a 濃度在 100 m 以淺分布均勻，上層 Chl a 濃度是中層的 0.9-1.2 倍，相較於 1455 航次者則較高(表 4-2)，1455 航次之上層 Chl a 濃度是中層的 0.4-0.7 倍。

3. 冬季(CR950, 02-11 Dec 2010)

南海冬季之季節風主要為東北季風，中央氣象局氣候監測報告(<http://www.cwb.gov.tw/V7/climate/watch/watch.htm>)指出，此航次啟程前(12 月 1-3

日)東北季風有增強趨勢。本航次的測站包含南海陸棚 S5 站,陸坡 S6 站,海盆 S8、S9 和 S10 站與黑潮 K2 站(表 3-1)。

i. 水文資料

航次中四海區採樣時的日照強度之間差異不顯著,以陸棚最高,其次為陸坡、黑潮和海盆(表 4-4)。

各海區的 T-S 曲線如圖 4-1C,南海陸棚和陸坡的水團性質屬於典型南海水,黑潮的水團也接近黑潮水,但是海盆的水團介於南海水與黑潮水之間,明顯偏離典型南海水。四海區之間表水平均溫度、平均鹽度皆沒有顯著差異。表水溫度以海盆($26.6 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$)較高,而陸坡($25.7 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$)和陸棚($25.7 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$)稍低(表 4-4)。表水鹽度除了黑潮(34.67 PSU)較高之外,陸棚(34.01 ± 0.02 PSU)也偏高,陸坡(33.91 ± 0.13 PSU)和海盆(33.91 ± 0.14 PSU)相對較低。四海區當中,海盆的水體是相對溫度高、鹽度低。

四海區間之表水硝酸鹽與磷酸鹽濃度平均皆無顯著差異(表 4-4),兩者皆以黑潮相對較低(10 nM、27 nM)。表水硝酸鹽濃度以南海海盆(189 ± 60 nM)和陸坡(125 ± 64 nM)較高於陸棚(50 ± 16 nM),但是海盆的 S9 站之表水硝酸鹽只有 73 nM,比 S8 站(219 nM)、S10 站(276 nM)低許多;表水磷酸鹽濃度平均在南海海盆(69 ± 2 nM)、陸坡(67 ± 12 nM)和陸棚(64 ± 6 nM)間相當。四海區之間表水 N/P 平均沒有顯著差異。表水 Chl a 濃度平均以陸坡(0.50 ± 0.03 mg m^{-3})顯著最高,陸棚(0.37 ± 0.00 mg m^{-3})和海盆(0.35 ± 0.02 mg m^{-3})之間無顯著差異,黑潮(0.16 mg m^{-3})顯著最低($p < 0.01$)。

四海區之間的硝酸鹽躍層深度差異不顯著,以南海陸棚(36 ± 16 m)和黑潮(36 m)較深,海盆(12 ± 12 m)和陸坡(10 ± 10 m)較淺。四海區之間的混合層深度亦無顯著差異,陸坡(144 ± 4 m)較深,而陸棚(91 ± 5 m)較淺,特別的是海盆的 S9 站混合層深度(150 m)為全航次最深。四海區之間水體分層程度也無顯著差異,南海陸棚(0.014 ± 0.002 kg m^{-4})略大於陸坡(0.008 ± 0.004 kg m^{-4}),海盆(115 ± 18 m)和黑潮(119 m)

混合層深度相當，兩者的水體分層程度平均亦相同(0.007 kg m^{-4}) (表 4-4)。

由文獻研究調查中可知在南海海域有許多渦流形成，也因此於採樣時許多南海測站可能位於不同渦流之內，同時受到周圍渦流影響。由 NLOM $1/32^\circ$ Nowcast 與 HYCOM+NCODA Global $1/12^\circ$ Analysis 模擬的海流方向與海水位高度(圖 4-12)，顯示 S8、S9 和 S10 站位於高水位之反時針暖渦邊緣，S8 站海水位高度 0.85-0.90 m，S9 和 S10 站海水位高度 0.80-0.85 m，這些海盆測站除了表水溫度較高、鹽度較低之外，溫度和鹽度的垂直剖面圖(圖 4-13)也顯示，等溫線在海盆區內向深水層分布。此外，S8 站的 Chl a 濃度垂直分布的最大深度(75 m)也比 S9 和 S10 站者(皆 5 m)深。三個海盆測站的硝酸鹽濃度、混合層深度變化大，可能因所在暖渦位置不同所致。相對的，S5、S6 站位於低水位逆時針之冷渦中，垂直剖面圖中的等溫線與等鹽度線在 S5、S6 站有向淺水層分布之趨勢(圖 4-13)。S6 站可能位於冷渦中心(圖 4-12)，此測站之海水位高度為所有測站中最低者(0.55-0.60 m)，比 S5 站(0.65-0.70 m)和 S7 站(0.70-0.75 m)低，周圍海流是逆時針方向，S6 站具低表水溫度(25.2°C ，比 S7 站低了 1°C)，高表水鹽度(34.03 PSU，也比 S7 站高了 0.25 PSU)，及高的表水營養鹽，硝酸鹽濃度(189 nM)與磷酸鹽濃度(79 nM)均較 S7 站(61 nM、55 nM)和 S5 站(65 nM、58 nM)高。S5 站則位在冷渦邊緣(圖 4-12)，其表水溫度(25.5°C)、鹽度(33.99 PSU)和 S6 站相近。

ii. 單細胞固氮生物於表水之分布

表水單細胞固氮生物之總細胞密度，在南海平均($20.4 \pm 8.1 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)比黑潮多($13.0 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)。海區之間的分布趨勢以南海陸棚($50.4 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)最高，其次為陸坡($24.8 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)，再其次為黑潮($13.0 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)，最低為海盆($8.9 \pm 1.5 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)。與 1455 航次、1487 航次相同，圓形細胞(C)多於橢圓型細胞(R)。不同體型的單細胞固氮生物在海區間分布趨勢不相同，小體型細胞(1-2 μm C+R)的細胞密度範圍為 $5.8\text{-}23.2 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$ ，以陸棚($23.2 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)比陸坡($14.1 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)高，黑潮($6.4 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)和海盆較低(圖 4-4A)；大體型細胞(>2

$\mu\text{m C+R}$)的範圍是 $3.1\text{--}27.2 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$ ，也以陸棚($27.2 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)最高，陸坡($10.7 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)略高於黑潮($6.6 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)，海盆最低(圖 4-4B)。

iii. 單細胞固氮生物之水柱(0-100 m)累計與垂直分布生物量

水柱累計單細胞固氮生物之總生物量和表水的分布趨勢不同，在黑潮($18.4 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)比南海平均($16.0 \pm 3.3 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)高。海區之間的總生物量以南海陸棚($21.0 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)和黑潮($18.4 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)相近，均比海盆($13.5 \pm 3.8 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)高。小體型細胞($1\text{--}2 \mu\text{m C+R}$)在黑潮、陸棚和海盆三海區之間的生物量相當(範圍 $8.4\text{--}10.7 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$ ，圖 4-5A)，大體型細胞($>2 \mu\text{m C+R}$ ，範圍 $5.1\text{--}10.5 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)則以陸棚稍高於黑潮，海盆較低(圖 4-5B)。

雖然水柱累計生物量在三海區之間沒有明顯分布趨勢，但在各測站之間的垂直分布有些差異(圖 4-14)。本航次中南海單細胞固氮生物的垂直分布比例是上層高於中層，下層與中層相近，或甚至有的高於中層，如 S9 站之總單細胞固氮生物之垂直分布比例為 1.6:1:1.7；但 Chl a 濃度則維持下層遠低於中層(表 4-2)。本航次 Chl a 濃度在上層與中層相近，除了在陸棚 S5 站其上層為中層之 2.2 倍外。黑潮 K2 站，無論小體型或是大體型單細胞固氮生物，垂直分布均勻(表 4-2)，上:中:下層比例接近，但 Chl a 濃度則以中層比例最高，上層其次，下層最少。與其他航次相比，此航次和 1455 航次的單細胞固氮生物之垂直分布比例，分別是下層為中層的 0.7-1.7 倍和 0.4-1.3 倍，此兩航次之細胞密度在下層分布的比例較 1487 航次者高，1487 航次下層單細胞固氮生物之細胞密度是中層的 0.5-0.8 倍(表 4-2)。

4. 季節間變化趨勢

南海單細胞固氮生物量隨季節變化的趨勢略有不同，但無論是表水細胞密度或是水柱(0-100 m)累計生物量，於統計上季節差異不顯著(1-way ANOVA, $p > 0.05$)。相對而言，表水總細胞密度在春季($23.8 \pm 5.3 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)與夏季($22.7 \pm 2.7 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)相似，略高於冬季($20.4 \pm 8.1 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$) (圖 4-15)。其中， $1\text{--}2 \mu\text{m C}$ 細胞密度

在夏季和春季相當，冬季略低(範圍 $9.7-11.5 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)； $>2 \mu\text{m C}$ 細胞密度在春季比夏季和冬季稍高($7.0-11.1 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)； $1-2 \mu\text{m R}$ ($0.8-1.8 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)細胞密度是以夏季最高($p < 0.05$)，春季最低，冬季之細胞密度和前兩者之間皆無顯著差異； $>2 \mu\text{m R}$ ($1.3-2.4 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)在夏季比春季和冬季高(圖 4-16)。小體型($1-2 \mu\text{m C+R}$)細胞密度範圍為 $10.9-13.3 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$ ，季節間趨勢由高至低為夏>春>冬，大體型細胞($>2 \mu\text{m C+R}$)也是以冬季稍低，趨勢為春>夏>冬，細胞密度介於 $9.4-12.6 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$ (圖 4-15)。單細胞固氮生物之水柱累計總生物量在季節之間亦無顯著差異(圖 4-17)，趨勢是夏季($16.7 \pm 2.3 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)>冬季($16.0 \pm 3.3 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)>春季($14.8 \pm 2.9 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)，其中因為小體型細胞生物量遠多於大體型細胞者，因此總生物量的季節變動趨勢和小體型細胞者相同，小體型細胞水柱累計生物量範圍為 $7.6-10.6 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$ ，大體型細胞的水柱累計生物量範圍是 $6.1-7.2 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$ ，趨勢與小體型者相反，為春>冬>夏(圖 4-17)。

南海內各類單細胞固氮生物的季節差異不明顯，推測其原因可能如前文所述(圖 4-4; 4-5)，同一季節內海區間差異頗大所致。以下依四個不同海區，(A)陸棚、(B)陸坡、(C)海盆、(D)黑潮，分別比較其季節間之 i. 水文資料、ii. 表水單細胞固氮生物之細胞密度、iii. 水柱(0-100 m)累計單細胞固氮生物量的變化。其中水柱累計生物量無陸坡資料。黑潮的採樣僅 K2 站($n=1$)。結果如下：

(A) 陸棚(Shelf)

i. 陸棚上水文資料之季節變動

陸棚的日照強度範圍為 $713-1455 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ，春季比夏季及冬季高，但季節之間差異不顯著。表水溫度、鹽度在三個季節間都呈顯著差異($p < 0.01$)，表水溫度以夏季最高(28.9°C)，春季次之(27.2°C)，冬季溫度最低(25.7°C)；鹽度則是春季最高(34.22 PSU)，其次為冬季(34.01 PSU)，夏季表水鹽度最低(33.35 PSU)。春季的陸棚採樣時內波通過，增加海洋的垂直擾動作用，使得水團上下混合旺盛，也因此造成鹽度上升而比冬季高。三個季節相比較則呈現冬季溫度低、鹽度高，夏季則

相反。

表水硝酸鹽濃度在冬季(50 nM)比夏季(32 nM)及春季(12 nM)高，但統計測試無顯著季節差異；但表水磷酸鹽以冬季(64 nM)顯著最高($p < 0.05$)，春季(28 nM)和夏季(17 nM)之間差異不顯著。表水 N/P 以夏季(1.9)顯著高於冬季(0.8)和春季(0.4) ($p < 0.05$)。表水 Chl a 濃度以冬季(0.37 mg m^{-3})顯著高於夏季(0.13 mg m^{-3})和春季(0.11 mg m^{-3}) ($p < 0.01$)。

硝酸鹽躍層深度以春季(15 m)較淺而夏季(25 m)冬季(36 m)較深；混合層深度在冬季(91 m)比春季(65 m)和夏季(38 m)深。水體分層程度以夏季(0.038 kg m^{-4})顯著最大($p < 0.01$)，其次是春季(0.021 kg m^{-4})，冬季(0.014 kg m^{-4})最小。冬季的混合層深度深，水體分層程度最小，底層營養鹽易向上擴散，再加上受到冷渦影響，使得表水營養鹽比其他季節高，而春季時受到內波強大擾動影響，水體垂直混合作用旺盛，硝酸鹽躍層也較淺。

ii. 陸棚上表水單細胞固氮生物細胞密度之季節變動

陸棚的表水單細胞固氮生物的總細胞密度，以冬季最高($50.4 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)，其次為夏季($24.6 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)，春季最少($15.0 \pm 0.5 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)。各類固氮生物的季節變化趨勢不同(圖 4-18A)， $1-2 \text{ } \mu\text{m C}$ ($6.7-22.2 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)和 $>2 \text{ } \mu\text{m C}$ ($5.8-26.7 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)之細胞密度，都以冬季最高，春季最低； $1-2 \text{ } \mu\text{m R}$ ($0.9-2.3 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)以夏季最高，春季與冬季偏低； $>2 \text{ } \mu\text{m R}$ ($0.5-2.2 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)的季節趨勢為夏季與春季較高，冬季相當低。小體型($1-2 \text{ } \mu\text{m C+R}$)細胞在冬季和夏季時密度較高($23.2 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$, $14.3 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)，是春季($7.6 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)的 3 倍與 2 倍，大體型細胞($>2 \text{ } \mu\text{m C+R}$)之密度以冬季最高($27.2 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)，是夏季($10.3 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)的 3 倍、春季($7.3 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)的 4 倍。

iii. 陸棚上水柱(0-100 m)累計單細胞固氮生物量之季節變動

水柱累計單細胞固氮生物之總生物量，以夏季($20.8 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)與冬季

(21.0×10^9 cells m^{-2})相當，皆高於春季(15.9×10^9 cells m^{-2})。各類單細胞固氮生物隨季節之生物量變動趨勢如圖 4-19A，小體型的 1-2 μm C ($7.1-11.0 \times 10^9$ cells m^{-2})與 1-2 μm R ($1.0-1.7 \times 10^9$ cells m^{-2})皆以夏季最多，冬季與春季較少；大體型的單細胞固氮生物之季節趨勢與小體型者略有不同， $>2 \mu m$ C ($6.0-8.4 \times 10^9$ cells m^{-2})在冬季和夏季比春季略高，而 $>2 \mu m$ R ($1.4-2.1 \times 10^9$ cells m^{-2})是冬季生物量較多，春季與夏季較少。

垂直分布而言，單細胞固氮生物在陸棚上有隨深度增加而減少之趨勢(圖 4-6; 4-11; 4-14)，例外者為春季 S4 站，在下層比中層細胞密度高。綜合而言，上層單細胞總細胞密度比中層稍高(表 4-2)。檢視單細胞固氮生物與 Chl a 濃度的垂直分布，兩者之間呈現截然不同的趨勢(表 4-2)。Chl a 濃度除了冬季 S5 站是例外的上層遠高於中層；其他大多以中層最高，上層次之，為中層的 0.4-0.9 倍，下層則驟減，只有中層的 0.1-0.2 倍。相對的，三個季節中，單細胞固氮生物之總細胞密度則在上層比中層高，為中層的 1.2-1.5 倍，且其下層雖比中層低些，但比例上的差距不如 Chl a 者劇烈，下層為中層的 0.4-1.3 倍，甚至有在下層比中層密度高者，如春季 S4 站下層為中層的 1.3 倍。

(B) 陸坡(Slope)

i. 陸坡上水文資料之季節變動

陸坡的日照強度($383-1515 \mu E m^{-2} s^{-1}$)以春季顯著最高($p < 0.01$)，夏季次之，冬季最低。表水溫度在夏季($29.3^\circ C$)顯著高於春季($27.4^\circ C$) ($p < 0.01$)，冬季($25.7^\circ C$)顯著最低，表水鹽度則是春季(34.24 PSU)顯著高於冬季(33.91 PSU) ($p < 0.05$)，以夏季(33.47 PSU)顯著最低。春季的陸坡測站比冬季溫度更低、鹽度更高，應為湧升作用所致。

陸坡的表水硝酸鹽濃度隨季節變動之趨勢為冬季(125 nM)高於夏季(23 nM)和春季(9 nM)，表水磷酸鹽濃度亦以冬季(67 nM)顯著最高($p < 0.05$)，其次為春季(31 nM)和夏季(18 nM)之間無顯著差異。表水 N/P 變化趨勢和表水硝酸鹽相同，而以

冬季較高(1.8)，夏季(1.3)和春季(0.3)較低。表水 Chl a 濃度以冬季(0.50 mg m^{-3})顯著高於春季(0.15 mg m^{-3})和夏季(0.13 mg m^{-3}) ($p < 0.01$)。

硝酸鹽躍層深度隨季節變化之趨勢，為冬季(10 m)最淺，夏季最深(51 m)，混合層深度則以冬季最深(144 m)，夏季最淺(42 m)。水體分層程度以夏季(0.031 kg m^{-4})最大($p < 0.05$)，春季(0.017 kg m^{-4})和冬季(0.008 kg m^{-4})之間無顯著差異。

ii. 陸坡上表水單細胞固氮生物細胞密度之季節變動

陸坡的單細胞固氮生物採樣只在夏季的 S7 站與冬季的 S6 站表水進行，其總細胞密度呈現夏季($27.8 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)比冬季($24.8 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)高。圓形者($1-2 \mu\text{m C}$ 與 $>2 \mu\text{m C}$)之細胞密度範圍分別是 $12.8-16.2 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$ 和 $8.0-8.7 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$ ，以夏季高於冬季，橢圓形者($1-2 \mu\text{m R}$ 與 $>2 \mu\text{m R}$)則是以冬季較夏季高，其細胞密度範圍分別為 $1.0-1.3 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$ 和 $1.9-2.7 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$ (圖 4-18B)。小體型細胞($1-2 \mu\text{m C+R}$)和大體型細胞($>2 \mu\text{m C+R}$)之密度在兩季節中相當，細胞密度範圍分別為 $14.1-17.2 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$ 和 $10.6-10.7 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$ 。

(C) 海盆(Basin)

i. 海盆上水文資料之季節變動

海盆的日照強度($204-1442 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)以春季顯著最高($p < 0.01$)，夏季次之，冬季顯著最低。表水溫度在季節間差異顯著，夏季(29.2°C)最高($p < 0.01$)，其次為春季(28.6°C)，冬季(26.6°C)最低；表水鹽度在季節間差異不顯著，其季節變動趨勢以冬季(33.91 PSU)高於春季(33.75 PSU)與夏季(33.53 PSU)。

表水硝酸鹽濃度在冬季(189 nM)較高於夏季(34 nM)與春季(16 nM)，季節之間差異不顯著(1-way ANOVA, $p = 0.053$)；表水磷酸鹽濃度亦是以冬季(69 nM)顯著最高($p < 0.01$)，春季(29 nM)和夏季(26 nM)之間差異不顯著。表水 N/P 季節趨勢以冬季(2.8)高於夏季(1.3)與春季(0.6)。表水 Chl a 濃度在冬季(0.35 mg m^{-3})顯著高於夏季(0.24 mg m^{-3}) ($p < 0.01$)，以春季(0.09 mg m^{-3})為最低。海盆在夏季的營養鹽或 Chl a

濃度皆高於春季，推測是受颱風過境影響。

硝酸鹽躍層深度的季節趨勢以冬季(12 m)較淺，春季(48 m)與夏季(60 m)較深。混合層深度是則在春季(22 m)顯著最淺，夏季(84 m)和冬季(115 m)之間無顯著差異，皆比春季深($p < 0.05$)，海盆在夏季受到颱風影響，冬季又有暖渦影響，使混合層深度都特別深。水體分層程度是春季(0.033 kg m^{-4})顯著高於夏季(0.013 kg m^{-4})和冬季(0.007 kg m^{-4}) ($p < 0.01$)，後兩者之間無顯著差異。

ii. 海盆上表水單細胞固氮生物細胞密度之季節變動

單細胞固氮生物之總細胞密度在海盆以春季($32.6 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)顯著最高($p < 0.05$)，是夏季($19.2 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)的 2 倍，冬季($8.9 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)的 4 倍，夏季與冬季間無顯著差異。1-2 $\mu\text{m C}$ ($p < 0.05$)和 $>2 \mu\text{m C}$ ($p < 0.01$)細胞密度分別為 $4.5\text{-}14.2 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$ 、 $2.0\text{-}16.4 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$ ，均以春季顯著最高，夏季與冬季之間無顯著差異(圖 4-18C)；1-2 $\mu\text{m R}$ 細胞密度($0.5\text{-}2.0 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)則是以夏季顯著最高，冬季次之，春季最低($p < 0.01$)； $>2 \mu\text{m R}$ 細胞密度($1.1\text{-}2.7 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)亦以夏季較高，但季節間差異不顯著(圖 4-18C)。小體型細胞(1-2 $\mu\text{m C+R}$)與大體型細胞($>2 \mu\text{m C+R}$)之密度均以春季顯著最高($p < 0.05$)，夏季與冬季之間無顯著差異，此趨勢與 1-2 $\mu\text{m C}$ 和 $>2 \mu\text{m C}$ 之季節變動趨勢相同，因為小體型者以 1-2 $\mu\text{m C}$ 佔多數，大體型者以 $>2 \mu\text{m C}$ 為主。

iii. 海盆上水柱(0-100 m)累計單細胞固氮生物量之季節變動

水柱累計單細胞固氮生物之總生物量沒有顯著的季節間差異，夏季($14.7 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)、冬季($13.5 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)和春季($12.7 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)生物量相近。各體型的水柱累計單細胞固氮生物量皆無顯著的季節差異(圖 4-19B)，其季節變動趨勢為：小體型細胞的 1-2 $\mu\text{m C}$ ($5.7\text{-}8.1 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)與 1-2 $\mu\text{m R}$ ($0.7\text{-}1.5 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)，兩者生物量都以夏季和冬季較高，春季較低； $>2 \mu\text{m C}$ 生物量($3.7\text{-}5.0 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)以春季略高， $>2 \mu\text{m R}$ ($1.2\text{-}1.4 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)則是三季相當。就細胞大小而言，小體

型細胞(1-2 μm C+R)以春季最少，大體型細胞(>2 μm C+R)是三季相當。

海盆的固氮生物之垂直分布，除了冬季 S9 站是下層為三層中最高者之外，均是以上層量最高，尤其春季 S9 站，水柱上層總細胞密度為中層的 3.8 倍；其他站上層總細胞密度為中層的 1.2-1.6 倍；下層總細胞密度為中層的 0.6-1.7 倍(表 4-2)。春季時，1-2 μm R 上下分布均勻之外，其他各類單細胞固氮生物之細胞密度最高值發生於水柱上層(圖 4-6)，總細胞密度的垂直分布比例為 3.8:1:0.9；夏季時也有集中在上層之趨勢(圖 4-11)，S8 和 S9 站的總細胞密度垂直分布比例為 1.2:1:0.6 和 1.6:1:0.8；冬季時垂直分布均勻上下頗均勻(圖 4-14)，冬季 S8 站(1.6:1:0.9)與 S9 站(1.6:1:1.7)的垂直分布比例趨勢雖略有不同，但下層細胞密度略低於中層，或甚至比上層細胞密度高。春季時 Chl a 濃度集中在中層，夏季和冬季都集中在上層(表 4-2)，且下層比例(比值範圍 0.2-0.4)也比春季(0.2)稍高。

(D) 黑潮(Kuroshio)

i. 黑潮水文資料之季節變動

黑潮的採樣僅於 K2 一站($n=1$)，因此無法進行統計分析，只且採樣時序有春季與冬季兩季，以下僅單就春、冬兩季節間變動趨勢陳述。日照強度在春季($814 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)高於冬季($314 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)。表水溫度和鹽度的季節變動趨勢相反，冬季(26.0°C)比春季(28.8°C)溫度低，而鹽度則是冬季(34.67 PSU)比春季(34.54 PSU)高。

表水硝酸鹽濃度在冬季(10 nM)和春季(8 nM)相當。表水磷酸鹽濃度在春季(76 nM)比冬季(27 nM)高。表水 N/P 皆小於 1，在冬季為 0.4，春季為 0.1。表水 Chl a 濃度在冬季(0.16 mg m^{-3})高於春季(0.10 mg m^{-3})。

硝酸鹽躍層深度在冬季(36 m)比春季(100 m)淺。混合層深度則在冬季(119 m)比春季(72 m)深。水體分層程度在冬季(0.007 kg m^{-4})比春季(0.014 kg m^{-4})小。

ii. 黑潮表水單細胞固氮生物細胞密度之季節變動

黑潮採樣只在春季與冬季，且各僅在 K2 一站進行($n=1$)。春季總細胞密度

(41.3×10^4 cells L^{-1})是冬季(13.0×10^4 cells L^{-1})的 3 倍。各體型單細胞固氮生物之細胞密度趨勢皆是春季較冬季高。1-2 μm C 之春季細胞密度(23.0×10^4 cells L^{-1})是冬季(5.7×10^4 cells L^{-1})的 4 倍，>2 μm C 之春季細胞密度(14.5×10^4 cells L^{-1})是冬季(5.2×10^4 cells L^{-1})的 3 倍，1-2 μm R 和>2 μm R 之春季細胞密度皆為冬季的 2 倍(圖 4-18D)。小體型細胞(1-2 μm C+R，範圍 $6.4-24.0 \times 10^4$ cells L^{-1})在春季細胞密度是冬季的 4 倍，大體型細胞(>2 μm C+R，範圍 $6.6-17.2 \times 10^4$ cells L^{-1})在春季是冬季的 3 倍。

iii. 黑潮水柱(0-100 m)累計單細胞固氮生物量之季節變動

水柱累計單細胞固氮生物之總生物量，在春季(22.4×10^9 cell m^{-2})和冬季(18.4×10^9 cell m^{-2})相當。各體型生物量在兩季節間變化皆很小(圖 4-19C)，1-2 μm C ($8.9-11.4 \times 10^9$ cell m^{-2})與>2 μm C ($6.0-7.8 \times 10^9$ cell m^{-2})在春季稍高於冬季，1-2 μm R ($1.5-1.8 \times 10^9$ cell m^{-2})的季節變動趨勢相反，在冬季比春季略高，>2 μm R 在兩季生物量相當，皆為 1.8×10^9 cell m^{-2} 。

黑潮的單細胞固氮生物之垂直分布頗均勻，冬季時各類單細胞固氮生物在各水層的細胞密度沒有明顯的高值(圖 4-14)，總細胞密度在上層與下層皆比中層少，其垂直分布比例為 0.8:1:0.9；相對的，Chl a 濃度的垂直分布比例在冬季為 0.6:1:0.3，在春季為 0.6:1:0.7。春季時，1-2 μm R 和>2 μm R 在表水與深水的細胞密度相當，唯 1-2 μm C 與>2 μm C 在表水細胞密度偏高(圖 4-6)，總細胞密度在上:中:下層之垂直分布比例為 1.7:1:0.9。

5. 南海單細胞固氮生物量與環境因子間的關係

將南海所有航次之各類單細胞固氮生物的表水細胞密度取對數值($n=13$)後，與各種環境因子(表水溫度、鹽度、硝酸鹽濃度、磷酸鹽濃度、N/P、Chl a 濃度、及硝酸鹽躍層深度、混合層深度、水體分層程度、日照強度)進行相關係數分析(表 4-5)，發現關係顯著的环境因子包含表水硝酸鹽濃度(負相關)、表水 N/P (負相關)、水體

分層程度(正相關)、日照強度(負相關)。其中， $>2\ \mu\text{m C}$ (圖 4-20)、 $>2\ \mu\text{m C+R}$ 和 Total (總細胞密度)和表水硝酸鹽濃度呈顯著負相關($r=-0.59$ 、 $r=-0.61$ 、 $r=-0.56$ ，皆 $p<0.05$)； $>2\ \mu\text{m C}$ (圖 4-20)與 $>2\ \mu\text{m C+R}$ 及 Total (總細胞密度)和 N/P 呈顯著負相關($r=-0.64$ 、 $r=-0.67$ 、 $r=-0.61$ ，皆 $p<0.05$)； $>2\ \mu\text{m C}$ 與水體分層程度為顯著正相關($r=0.57$, $p<0.05$) (圖 4-20)；只有 $1-2\ \mu\text{m R}$ 和日照強度呈顯著負相關($r=-0.65$, $p<0.05$) (圖 4-21)。

各環境因子間之關係如表 4-6，其中和單細胞固氮生物關係顯著的許多環境因子，彼此間也呈顯著相關。如硝酸鹽濃度與 N/P 呈正相關($r=0.96$, $p<0.01$)，和硝酸鹽躍層深度($r=-0.73$, $p<0.01$)、水體分層程度($r=-0.74$, $p<0.01$)呈負相關；硝酸鹽躍層深度又和水體分層程度呈顯著正相關($r=-0.71$, $p<0.01$)，也和 N/P 呈負相關($r=-0.69$, $p<0.01$)，顯示這些環境因子都與硝酸鹽濃度同時變動。Chl a 濃度(代表所有浮游植物之生物量)與鹽度之間無顯著關係($p>0.05$)，除此之外，其與其他環境因子(表水溫度、硝酸鹽濃度、磷酸鹽濃度、N/P、及硝酸鹽躍層深度、混合層深度、水體分層程度、日照強度)之間皆呈顯著關係($p<0.05$)(表 4-6)。因此其中一因子對單細胞固氮生物有影響，可能隱含或包含了其他共同變動的環境因子之影響。

南海所有航次($n=9$)以水柱(0-100 m)累計各類單細胞固氮生物之生物量(取對數值)來看，與各環境因子進行相關係數分析(表 4-7)。結果發現各類單細胞固氮生物與各環境因子皆無顯著相關($p>0.05$)。

大氣落塵量僅取得春季數據，故只以春季資料分析。將春季各類單細胞固氮生物的表水細胞密度($n=5$)、水柱累計 0-100 m 生物量($n=4$)取對數值後，與大氣落塵進行相關係數分析，結果顯示表水之 $1-2\ \mu\text{m C}$ ($r=0.96$, $p<0.01$) (圖 4-22A)、 $>2\ \mu\text{m C}$ ($r=0.97$, $p<0.01$) (圖 4-22B)、 $1-2\ \mu\text{m C+R}$ ($r=0.95$, $p<0.05$)、 $>2\ \mu\text{m C+R}$ ($r=0.98$, $p<0.01$)與 Total ($r=1.00$, $p<0.01$)之細胞密度(對數值)和大氣落塵皆呈顯著正相關，而水柱累計生物量取對數值和大氣落塵皆無顯著相關($p>0.05$)。

各類單細胞固氮生物量彼此間變動之關係，以表水細胞密度作分析之結果如表 4-8：小體型細胞($1-2\ \mu\text{m C+R}$)和大體型細胞($>2\ \mu\text{m C+R}$)之間顯著正相關($r=0.93$,

$p < 0.01$)。小體型的 $1-2\ \mu\text{m C}$ 與 $1-2\ \mu\text{m R}$ 之間關係不顯著($r = -0.26$, $p > 0.05$)，大體型的 $>2\ \mu\text{m C}$ 和 $>2\ \mu\text{m R}$ 之間亦無顯著相關($r = 0.06$, $p > 0.05$)；圓形細胞中，小體型的 $1-2\ \mu\text{m C}$ 與大體型的 $>2\ \mu\text{m C}$ 之間顯著正相關($r = 0.94$, $p < 0.01$)；但橢圓形細胞的小體型者($1-2\ \mu\text{m R}$)和大體型者($>2\ \mu\text{m R}$)之間無顯著關係($r = 0.44$, $p > 0.05$)。

水柱累計之各類單細胞固單生物量彼此間變動的關係(表 4-9)，與表水者之趨勢不同。小體型細胞($1-2\ \mu\text{m C} + \text{R}$)和大體型細胞($>2\ \mu\text{m C} + \text{R}$)之間呈顯著正相關($r = 0.94$, $p < 0.01$)。各類型細胞分別做相關分析時，小體型兩類細胞($1-2\ \mu\text{m C}$ 與 $1-2\ \mu\text{m R}$)之間的正相關顯著($r = 0.91$, $p < 0.01$)，大體型的兩類細胞($>2\ \mu\text{m C}$ 和 $>2\ \mu\text{m R}$)之間的正相關也顯著($r = 0.94$, $p < 0.01$)；圓型細胞(C)與橢圓形細胞(R)的小體型者($1-2\ \mu\text{m}$)與大體型者($>2\ \mu\text{m}$)之間皆呈顯著正相關(皆 $r = 0.93$, $p < 0.01$)。

6. 營養鹽添加培養實驗

本研究進行營養鹽添加實驗之測站，包括 1487 航次的 S9 站(海盆)、S5 站(陸棚)與 950 航次的 S6 站(陸坡)。受限於夜間採水之關係，在 950 航次選擇 S6 站進行培養實驗，如前所述，S6 站位於冷渦內。四個實驗處理組別如表 3-2。結果如下：

1487 航次的 S9 站、於萊羅克颱風過境之後 5 天所採集的表水，經過 24 小時培養之後，各類單細胞固氮生物($1-2\ \mu\text{m C}$ 、 $>2\ \mu\text{m C}$ 、 $1-2\ \mu\text{m R}$ 與 $>2\ \mu\text{m R}$)之生物量在四個處理組之間均無顯著不同($p > 0.05$)，雖然營養鹽添加組(+P、+Fe 與 +PFe)的生物量比對照組(C)的生物量略高，但經過 1-way ANOVA 檢測發現，單細胞固氮生物在營養鹽添加組的生物量與對照組間無顯著差異($p > 0.05$) (圖 4-23)。培養 48 小時之後，各類單細胞固氮生物量在四個處理組之間仍呈無顯著不同($p > 0.05$) (圖 4-24)，圓形細胞($1-2\ \mu\text{m C}$ 和 $>2\ \mu\text{m C}$)生物量在 +Fe 與 +PFe 組高於 C 和 +P 組。

萊羅克颱風後過境後 9 天之 S5 站表水，經過 24 小時培養之後，四類單細胞固氮生物生物量在不同處理組間不一定有顯著差異(1-way ANOVA, Duncan's multiple range test)。以 $1-2\ \mu\text{m C}$ 而言(圖 4-25A)，四個處理組之間差異不顯著($p > 0.05$)；對 $>2\ \mu\text{m C}$ 來說(圖 4-25B)，雖然 +Fe 組生物量較 C 組高，但統計上無顯

著差異，+PFe 組生物量顯著高於其他三個處理組($p < 0.05$)，顯示若要促使 $>2 \mu\text{m C}$ 之生物量增加，需要同時添加磷與鐵； $1-2 \mu\text{m R}$ 生物量(圖 4-25C)則是在+Fe 組和+PFe 組顯著高於 C 組($p < 0.05$)，而+Fe 與+PFe 組生物量之間無顯著差異，表示對 $1-2 \mu\text{m R}$ 而言，鐵濃度的增加可促使其生物量增加；而 $>2 \mu\text{m R}$ 生物量顯然在+PFe 組顯著比其他處理組高($p < 0.05$) (圖 4-25D)，表示對 $>2 \mu\text{m R}$ 而言是需同時添加鐵與磷，其生物量才會提升。經過 48 小時培養之結果，各類單細胞固氮生物量在四個處理組間經統計結果分析，無顯著不同($p \geq 0.05$) (圖 4-26)， $1-2 \mu\text{m C}$ 生物量以+P 較高於其他處理組($p = 0.05$)； $>2 \mu\text{m C}$ 生物量是以+Fe 組略高於其他處理組；橢圓形細胞($1-2 \mu\text{m R}$ 與 $>2 \mu\text{m R}$)生物量以+P 組比其他處理組稍高。

950 航次之 S6 站表水，在培養 24 小時後，其單細胞固氮生物量皆是以+P 組高於 C 與+Fe 組(圖 4-27)，但統計上無顯著差異($p > 0.05$)。因為+PFe 組在 0 小時的單細胞固氮生物量已顯著高於其他組別($p < 0.05$)，故不列入分析。培養 48 小時之後，各類單細胞固氮生物量均以+Fe 組較高(圖 4-28)，但統計分析結果呈現各處理組間差異不顯著($p > 0.05$)。

第五章 討論

本研究使用的全細胞免疫化學染色法(Taniuchi et al. 2008a)，藉由標定固氮酵素之鐵蛋白與鉬鐵蛋白(NifHDK)，用以區分固氮生物與非固氮生物，進一步針對單細胞固氮生物，再按外形分群。本研究結果中 1-2 μm C 細胞可能屬 UCYN-A，>2 μm C 與 UCYN-B 相似，>2 μm R 則與 UCYN-C 相似。由文獻上敘述之野外觀察與實驗室培養的單細胞固氮生物之外型與體型歸納結果，認為 UCYN-A 為直徑 <1.5 μm 的圓形細胞(Goebel et al. 2008; Biegala and Raimbault 2008; Bonnet et al. 2009; Le Moal et al. 2011)；UCYN-B 為直徑>2 μm 的圓形細胞(Zehr et al. 2001; Church et al. 2005a; Moisander et al. 2010; Campbell et al. 2005; Webb et al. 2009)；UCYN-C 則為長>2 μm 、寬>1.9 μm 的橢圓細胞(Bothe et al. 2010; Reddy et al. 1993; Sherman et al. 2010; Taniuchi et al. 2011; Le Moal et al. 2011)。

因為部分非藍綠藻之固氮生物也同樣具有 *nifH* 基因，能轉錄出固氮酵素進行固氮作用，使得全細胞免疫化學染色法亦可能會將非藍綠藻之固氮生物呈色，如 Cluster I 的 proteobacterium 和 Cluster III 的厭氧菌(Zehr et al. 2003, 2006)，兩者多為長<5 μm 、寬<1.5 μm 的橢圓或似弧菌細胞(Peña et al. 2002; Sakaguchi et al. 2002; Op den Camp et al. 2009; Carpa and Barbu-Tudoran. 2011)，因此本研究結果中 1-2 μm C、>2 μm C 和>2 μm R 細胞除分別相似於 UCYN-A、-B 和-C 之外，也可能包含了部分非藍綠藻之其他單細胞固氮生物。然而，proteobacterium 和厭氧菌的 *nifH* 序列與鹽沼、湖泊、微生物席(Microbial mat，微生物黏結或沉積而成的薄片)、沉積物、土壤或白蟻腸道內等非大洋環境的 *nifH* 基因相似(Zehr et al. 2003; Moisander et al. 2008; Bombar et al. 2011)，因此部分研究認為若在海水樣本中出現此類 *nifH* 基因，有可能是來自河流或是汙染(Man-Aharonovich et al. 2007; Bombar et al. 2011)，但也有研究認為如 Cluster III 的極度厭氧生物會附著於浮游動物上或在顆粒聚合形成的無氧空間內(Braun et al. 1999; Riemann et al. 2010; Ploug et al. 1997)，再加上尚未有從「海洋」分離出的實驗室純種培養(Hamersley et al. 2011)，因此關於海洋中的非

藍綠藻之固氮生物之分類與外形，有待更多研究確認。

1. 單細胞固氮生物之分布

i. 1-2 μm C 細胞(似 UCYN-A 者)

本研究探測的三個航次資料包含了南海北部海域的春季、夏季與冬季。似 UCYN-A 者的表水細胞密度，在季節間變化趨勢以冬季($9.7 \pm 3.5 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)較低，春季($10.4 \pm 2.3 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)和夏季($11.5 \pm 1.9 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)較高，水柱累計生物量也以溫度低的春季(27.7°C)與冬季(26.1°C)生物量較低($6.7 \pm 1.5 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$ 與 $7.8 \pm 1.2 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)，溫度高的夏季(29.1°C)生物量較高($9.1 \pm 1.1 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)，此結果與以 *nifH* 基因量代表生物量之前人研究的季節變動趨勢不同。北太平洋的大洋測站 ALOHA 站(22.6°N , 158.0°W)與南海緯度相近，其 UCYN-A 生物量在冬季與春季最多($65\text{-}68 \times 10^9 \text{ copies m}^{-2}$)，夏季較低($28 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$, Church et al. 2009)。由於 UCYN-A 會與體型較大($>10 \mu\text{m}$)的生物共生或依附在顆粒物質上(Bonnet et al. 2008; Le Moal and Biegala 2009; Thompson et al. 2012)，本研究在採樣過程中曾以網目 $10 \mu\text{m}$ 網布預先過濾，推測是將宿主連同共生的細胞一起過濾掉而可能造成似 UCYN-A 者之生物量的低估。

本研究之統計分析結果顯示似 UCYN-A 者之細胞密度與表水溫度無顯著相關，僅和大氣落塵量之間呈顯著正相關(圖 4-22A)。磷和鐵普遍認為是影響固氮生物生長的主要營養鹽(Sañudo Wilhelmy et al. 2001; Karl 2002)。雖然本研究中的營養鹽添加培養實驗結果，似 UCYN-A 者生物量在各處理組之間都並沒有顯著差異，但在夏季($p=0.050$)與冬季($p=0.055$)，皆以磷添加組生物量較高於對照組(圖 4-26A; 27A)。由研究結果初步推測影響南海似 UCYN-A 者分布的原因，可能受到磷或鐵的影響。時至今日，UCYN-A 尚未能純種培養於實驗室，但文獻中於野外的營養鹽添加培養實驗結果顯示，UCYN-A 生物量也可能受到磷或鐵的影響，或同時受磷和鐵影響。Zehr et al. (2007a)在夏季 ALOHA 站進行磷添加實驗($+500 \text{ nM}$)，其結果顯示，UCYN-A 生物量經過 20.5 小時之後，在對照組(沒有添加磷)顯著減少($p<0.05$)，而

在磷添加組則沒有顯著減少($p>0.05$)，顯示磷的重要性。相對的，Moisander et al. (2012)在南太平洋 3-4 月，進行營養鹽加培養實驗的結果也顯示，UCYN-A 在磷添加(+2 μM)組的生物量與對照組差異不顯著($p>0.05$)，鐵添加組(+0.4 μM)與同時添加磷鐵組的生物量顯著高於對照組($p<0.05$)，顯示出鐵的重要性。另外，Langlois et al. (2012)在北大西洋的營養鹽添加培養實驗，結果發現 UCYN-A 生物量在磷添加組(+200 nM)和鐵添加組(+2 nM)相對少於對照組，但在同時添加磷鐵組相對高於對照組，顯示其同時需要磷和鐵。本研究的營養鹽添加實驗，經過 24 小時培養的結果，與經過 48 小時培養的結果趨勢有些不同，且各重複組之間誤差頗大，原因不明確，推測可能因為 bottle effect，或是受到小體型捕食者(直徑 2.3-7.7 μm , Massana et al. 2006)、或病毒裂解(viral lysis, Hewson et al. 2004; Ohki 1999)等的 top-down control 影響。也或許發生 bottom-up control，因為在 top-down control 過程中會釋放出有機物而促進異營性細菌成長(Fuhrman 1992; Shiah et al. 2006)，產生對營養鹽的競爭。

本研究中營養鹽培養實驗之處理組未添加硝酸鹽，但似 UCYN-A 者細胞密度與表水 N/P 之間呈負相關($r=-0.55$, $p=0.052$) (表 4-5)，顯示當表水磷酸鹽相對於氮鹽較充足的時候，即 N/P 較低時似 UCYN-A 者生物量較高，推測其在南海的分布除了受磷影響之外，硝酸鹽抑是可能的影響因子。由文獻上已知，還原性的氮(如 NO^3 、 NO^2 、 NH^{4+})會抑制固氮酵素的產生和固氮作用的進行(Thomas et al. 1982; Cheng et al. 1999)，Langlois et al. (2008)在北大西洋海盆區(0° - 42°N , 13° - 67°W)的研究也發現，UCYN-A 在硝酸鹽低(低於 500 nM)的環境中所佔的比例(97.5%)，顯著高於硝酸鹽高(高於 500 nM)的環境(2.5%)，其認為 UCYN-A 的分布可能受到硝酸鹽的限制。另外 Langlois et al. (2012)進行的營養鹽添加培養實驗結果，也顯示硝酸鹽添加組(+1 μM)的生物量比對照組(未添加)低。

除了磷、鐵或硝酸鹽之外，UCYN-A 需要由外界提供有機碳作為能量來源，研究也顯示 UCYN-A 能由宿主身上獲得 1-17%的碳(Thompson et al. 2012)，屬於光合異營性生物，因為其缺乏卡氏循環(Calvin cycle)所需的酶(RuBisCO)而無法進行

固碳作用(Tripp et al. 2010; Zehr 2011)。雖然本研究沒有環境中的溶解有機碳濃度之資料，但由 Hung et al. (2007)研究指出，南海北部的溶解有機碳濃度的季節變動趨勢以夏季較高(100-110 μM)，冬季較低(73-90 μM)。Moisander et al (2012)進行的野外培養實驗結果也顯示 UCYN-A 生物量，在同時添加 glucose 和 mannitol 組(各+0.4 μM)，顯著高於對照組($p < 0.05$)。除此之外，研究也顯示異營性細菌，對於磷的吸收比浮游植物快，也能使用浮游植物進行固碳作用所釋出的活性溶解有機碳(Labile dissolved organic carbon, Vadstein et al. 2003)；本研究中營養鹽添加培養之結果，似 UCYN-A 者在磷添加組生物量較高(圖 4-26A; 27A)，推測除了磷可能促進其生長之外，或許與磷添加之後促使其他藻類生長，進而提高了溶解有機碳有關。因此，南海海域的似 UCYN-A 生物量以夏季較多，以及其生物量是否與環境中溶解有機碳濃度有關，需要更多的研究釐清。

ii. $>2 \mu\text{m C}$ 細胞(似 UCYN-B 者)

本研究結果中，似 UCYN-B 者之生物量的季節變動趨勢也與前人研究結果略有差異。表水細胞密度以春季($11.1 \pm 3.2 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)最高，夏季生物量($7.0 \pm 1.1 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)和冬季($8.1 \pm 4.8 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)相近；水柱累計生物量則是春季($5.7 \pm 1.4 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)、冬季($5.4 \pm 1.7 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)和夏季($4.7 \pm 1.0 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)三季相當。文獻記載關於 UCYN-B 生物量之季節變動，多為夏季高於冬季，如北太平洋 ALOHA 站的 UCYN-B 之季節變化是夏季生物量($20 \times 10^9 \text{ copies m}^{-2}$)最高，春季和冬季的生物量較低($0.2-3.7 \times 10^9 \text{ copies m}^{-2}$, Church et al. 2009)；而且 Moisander et al. (2010)研究發現，當溫度範圍在 $23-29^\circ\text{C}$ 之間，UCYN-B 生物量隨溫度增加而增加。另外，北太平洋夏威夷歐胡島沿岸(21.4°N , 157.8°W)的 UCYN-B 之季節變化，也是以夏季($1.7 \times 10^4 \text{ copies L}^{-1}$)高於冬季($0.02 \times 10^4 \text{ copies L}^{-1}$, Zehr et al. 2007a)。

本研究統計分析結果，顯示似 UCYN-B 者之生物量與溫度之間無顯著關係，而是和表水硝酸鹽濃度及 N/P 兩者之間分別均呈顯著負相關，和水體分層程度、大氣落塵量之關係分別為顯著正相關(表 4-5；圖 4-20)，顯示當水體分層明顯的時

候，硝酸鹽不易向上擴散，表水硝酸鹽濃度較低造成 N/P 較低，其生物量反而較高。在硝酸鹽濃度較高的環境，UCYN-B 可能降低固氮酵素產生(Thomas et al. 1982; Cheng et al. 1999)，因此與其他非固氮浮游植物相比，硝酸鹽濃度較低的環境較具有優勢。Moisander et al. (2010)在南太平洋(15°-30°S, 155°-170°W)的研究也顯示，UCYN-B 生物量與硝酸鹽濃度呈顯著負相關($R^2=0.186$, $p<0.01$)，而且添加氮鹽組(硝酸鹽和氨氮各別+10 μM)的生物量(0.9×10^4 copies L^{-1})低於對照組(3.5×10^4 copies L^{-1} , Moisander et al. 2012)。北大西洋(4°N, 24°W)也有相似的結果，UCYN-B 生物量在硝酸鹽添加組(+1 μM)為對照組生物量的一半(Langlois et al. 2012)。而且當環境中硝酸鹽濃度增加(0.2-10 μM)時，對 UCYN-B 之固氮作用的抑制效果(5-24%)也有所增加(Dekaezemacker and Bonnet 2011)。

似 UCYN-B 者生物量在南海的分布，磷可能並非單一之影響因子，而是同時受到磷和鐵的影響。營養鹽添加實驗中，無論在夏季或冬季之磷添加組中，似 UCYN-B 者生物量都和對照組之間無顯著差異($p>0.05$) (圖 4-23 至 28B)；但是同時添加磷鐵組之生物量顯著高於對照組(圖 4-25B)。於北大西洋熱帶海域的研究認為磷與鐵能共同影響固氮作用，且作者認為其研究海域富含固氮生物是受到來自薩哈拉(Saharan)沙漠之大氣落塵的影響(Mills et al. 2004)。而本研究統計分析結果亦顯示似 UCYN-B 者之細胞密度與大氣落塵量之間有顯著的正相關(圖 4-22B)。Wang et al. (2011)追蹤 2010 年三月(春)發生的沙塵暴發現，南海北部也會受到來自戈壁沙漠的大氣落塵影響，此時發生的亞洲沙塵暴範圍涵蓋至東沙島與台灣；而南海北部之大氣落塵通量(Dust flux)，全年中以春季(6.14 g m^{-2})最高，冬季和秋季次之(4.37 - 4.42 g m^{-2})，夏季最低(2.75 g m^{-2} , Wang et al. 2012)，推測春季時大氣落塵帶來的較多的鐵，是似 UCYN-B 者以春季生物量最高之原因。添加培養實驗結果則顯示，在夏季時，同時添加磷鐵組之生物量顯著高於磷添加組和對照組，鐵添加組的生物量雖與對照組之間無顯著差異，但生物量仍高於對照組與磷添加組(圖 4-25B; 26B)，因此推測鐵對南海中似 UCYN-B 者的影響比磷更大。在南太平洋(15°-30°S, 155°-170°W)的添加培養實驗也有類似結果，Moisander et al. (2012)進行

野外培養實驗的結果顯示，UCYN-B 在對照組(3.5×10^4 copies L^{-1})與磷添加組(+2 μM , 3.3×10^4 copies L^{-1})生物量相當，但鐵添加組(+0.4 μM 和+0.4 μM EDTA)和同時添加磷鐵組的生物量($9.6-10.3 \times 10^4$ copies L^{-1})，比對照組與磷添加組生物量高。在北大西洋 ALOHA 站的磷添加培養實驗結果也類似(Zehr et al. 2007a)，UCYN-B 生物量在對照組中，時間點 1 至時間點 2(間隔 20.5 小時)的生物量由 9×10^5 copies L^{-1} 下降至 5×10^5 copies L^{-1} ，磷添加組(+500 nM)的生物量則是由 7×10^5 copies L^{-1} 增加至 9×10^5 copies L^{-1} ，然而藉由 2-way ANOVA 檢測，在不同時間點和加磷與否之處理組之間的生物量都無顯著差異($p > 0.05$)。Langlois et al. (2012)在北大西洋($4^\circ N$, $24^\circ W$)的研究指出，UCYN-B 生物量在磷添加組(+200 nM)比對照組高 7 倍，但是在鐵添加組(+2 nM)和同時添加磷鐵組的生物量比對照組高 12-13 倍，雖然磷添加組的生物量也增加，但生物量增加的主要原因仍是受鐵添加影響。針對實驗室單種培養之結果也顯示，將 *Crocospaera* (屬 UCYN-B)培養在鐵濃度 2-400 nM (皆有添加 2 μM EDTA)之培養液，生物量會隨著鐵濃度的增加而增加(Jacq and Ridame 2012)。Wu et al. (2003)檢測南海水中鐵濃度，發現生物可以利用的溶解性鐵濃度的變動範圍非常小，當溶解性鐵濃度由 0.2 nM 上升至 0.3 nM 時，顆粒性鐵 (Particulate Fe)濃度由 0.1-0.2 nM 上升至 3-4 nM，作者認為是因為水中能和鐵結合、促進鐵溶解的配體(Fe-binding ligands)不足，同時生物可利用量也被限制。雖然南海海域水中缺乏配體，但是 *Crocospaera* 也被發現具有可以合成有利鐵吸收的螯合劑 Siderophore 的基因(Hopkinson and Morel 2009)。Siderophore 能將 Fe(III)螯合成 Fe(II)，而 Fe(II) 為多數浮游植物易吸收的鐵(Shaked et al. 2005)。在夏季的培養實驗中，鐵(Fe(III))添加組和同時添加磷鐵組雖沒有添加 EDTA (能將金屬螯合供生物利用的配體)，但是單細胞固氮生物量仍增加，顯示配體可能並非是當時生物量之關鍵原因。

相對的，在冬季(CR950)S6 站所進行的培養實驗結果，似 UCYN-B 者生物量在鐵添加組較低(圖 4-27B)，推測或許是與 S6 站為冷渦測站有關。冷渦引起的湧升作用會將深水層的鐵向上輸送，例如 Sohm et al. (2011)在南太平洋環流(South

Atlantic Gyre)的非湧升區內，測得 10 m 以淺的鐵濃度(0.08-0.34 nM)與湧升區(2.4 nM)相差 6-29 倍。本研究雖沒有實際偵測水體中鐵濃度，根據文獻指出，南海中鐵濃度隨深度增加而增加，10 m 以淺的溶解鐵濃度低於 0.2 nM，200 m 以深的鐵濃度高達 0.7 nM (Wen et al. 2006)。另一方面，冬季時水體混和作用較強烈(Dm 為 140 m, SI 為 0.004 kg m^{-4})，由深水層向上輸送的鐵原本可能就較夏季高(Rijkenberg et al. 2012)，除此之外，大氣落塵量在冬季也頗高，而隨大氣落塵攜至的鐵也相對較高(Wang et al. 2012)。據 NRL (Naval Research Laboratory)提供的 NAAPS (Navy Aerosol Analysis and Prediction System)全球氣膠模擬(Global Aerosol Model)資料顯示，冬季進行營養鹽添加培養實驗的前一天開始(04-05 Dec)，有 $20\text{-}80 \mu\text{g m}^{-3}$ 的大氣落塵通過 S6 站(圖 5-1B)，以沉降速率 2.0 cm s^{-1} (Wang et al. 2012)換算出的大氣落塵量為 $34.6\text{-}138.2 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ；相對的，文獻指出在亞洲夏季期間沙塵暴發生的頻率較低(Merrill et al. 1989)，南海北部的大氣落塵通量也在夏季(2.75 g m^{-2})低於冬季(4.42 g m^{-2} , Wang et al. 2012)，全球氣膠模擬資料亦顯示，夏季進行營養鹽添加培養實驗的前一天起至當天(S9 站為 06-07 Sep；S5 站為 07-08 Sep)，通過的大氣落塵量均偏低(低於 $20 \mu\text{g m}^{-3}$ ，即低於 $34.6 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) (圖 5-1A)，故推測南海北部在冬季有較豐富的鐵來源，使得似 UCYN-B 者生物量在冬季鐵添加組與對照組之間無顯著差異，而夏季可能的鐵來源少，因此似 UCYN-B 者生物量在鐵添加組與對照組之間有顯著差異。

iii. $>2 \mu\text{m}$ R 細胞(似 UCYN-C 者)

有關野外 UCYN-C 生物量之研究或是實驗室培養的報告不多，增加了探討其生物量變動之機制的困難度。似 UCYN-C 表水生物量以夏季($2.4 \pm 0.4 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)較高，春季($1.5 \pm 0.2 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)與冬季($1.3 \pm 0.4 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1}$)較低，但其水柱累計生物量，冬季($1.6 \pm 0.3 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)、春季($1.5 \pm 0.2 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)和夏季($1.4 \pm 0.1 \times 10^9 \text{ cells m}^{-2}$)相當。UCYN-C 適應的溫度範圍廣泛，在北大西洋($0^\circ\text{-}45^\circ\text{N}$ 、 $0^\circ\text{-}70^\circ\text{W}$)的研究，Langlois et al. (2008)在與 Foster et al. (2007)的報告都顯示，在溫度高於 26

°C 環境下才能偵測到 UCYN-C 生物量(超過 10^2 copies L^{-1})，其調查 UCYN-C 適合溫度範圍在 26-29°C 之間，介於 18-26°C 沒有偵測到 UCYN-C；但 Goebel et al. (2010) 在夏季北大西洋(0°-18°N, 23°-68°W)的研究，在 28.4°C 的表水能偵測到 UCYN-C 之外，在溫度低於 15°C 的深水層，也能偵測到 UCYN-C 生物量，且生物量高達 1.4×10^4 copies L^{-1} 。目前唯一來自大洋的 UCYN-C 培養為 TW3，其在實驗室培養結果顯示最適生長溫度為 30°C (Taniuchi et al. 2011)。Foster et al. (2007) 在大西洋(7°-12°N, 47°-57°W)發現，野外的 UCYN-C 在低鹽度(低於 31 PSU)的測站，量測到的生物量較低(0.4×10^4 copies L^{-1})，而在高鹽度(超過 35 PSU)的測站，量測到的生物量較高($0.8-14 \times 10^4$ copies L^{-1})。而單種培養之 TW3 能適應的鹽度範圍在 28.5-34.5 PSU (Taniuchi et al. 2011)。本研究之統計結果顯示，似 UCYN-C 者生物量與溫度和鹽度皆無顯著相關(表 4-5)，同時反應了 UCYN-C 的廣溫性與廣鹽性。

本研究中營養鹽添加培養實驗結果顯示，似 UCYN-C 者於夏季在同時添加磷鐵組之生物量最高($p < 0.05$)，而磷添加組或鐵添加組之生物量與對照組無顯著差異(圖 4-25D)，推測似 UCYN-C 者生物量在夏季可能受到磷和鐵的共同限制。文獻顯示在秋季的北大西洋的 UCYN-C 也同樣受到鐵的限制，營養鹽添加培養實驗結果顯示，其生物量在鐵添加組(+2 nM)與同時添加磷鐵組比對照組生物量高一倍，而磷添加組(+200 nM)生物量略少於對照組(Langlois et al. 2012)。

颱風的強大風力引起的垂直混和作用和降雨等，都會提升海洋表層水中的營養鹽引發藻華(Lin et al. 2003; Zheng and Tang 2007; Chen et al. 2009)，夏季 S9 站的採樣為萊羅克颱風過境後 5 天，推測因此造成 S9 站之營養鹽添加組與對照組間無顯著異。本研究之水文資料顯示，S9 站的混合層深度比 S5 站深(72 m 比 44 m)，水體分層程度較小(0.019 kg m^{-4} 比 0.037 kg m^{-4})，說明 S9 站的水體混合較為均勻，營養鹽由下向上輸送，因此表水的硝酸鹽、磷酸鹽也高於 S5 站(硝酸鹽為 25 nM 比 15 nM；磷酸鹽為 26 nM 比 17 nM)。南海的溶解鐵主要分布在深水層(30-70%，Wu et al. 2001)，而由深水層向上補充的營養鹽可能也包含鐵。除此之外，伴隨颱風而來的大量降雨也是表水溶解鐵的來源(Law et al. 2011)。推測 S9 站營養鹽比 S5 站

豐富，因此不僅 Chl a 濃度是 S9 站(0.22 mg m^{-3})高於 S5 站(0.14 mg m^{-3})，在 S9 站的添加培養實驗，除了似 UCYN-C 者之外，其他體型的單細胞固氮生物量在不同實驗處理組也都無顯著差異(圖 4-23; 24)。

2. 垂直分布

南海北部各類單細胞固氮生物之垂直分布不盡相似，與 Chl a 之垂直分布亦有差異。Chl a 的垂直分布比例為 0.9:1:0.2，相較之下，似 UCYN-A 者(1.4:1:0.7)及似 UCYN-B 者(1.6:1:0.7)傾向分布於水柱上層或中層，下層較少，與代表所有浮游植物生物量的 Chl a 垂直分布較類似，而似 UCYN-C 者(1.4:1:1.0)則是在水柱下層的分布比例特別高。除了光照之外，其他因素如營養鹽亦對固氮生物分布有所影響。

Chl a 在春季時主要集中在中層(50-100 m)，冬季時傾向集中在上層(0-50 m)，在夏季則是上層與中層比例當(表 4-2)。南海北部海域的水體分層一般而言是夏季比春季較為明顯，上層水營養鹽也相對貧乏(Chen and Chen 2006)，夏季水柱上層的 Chl a 濃度應是更低於中層(Chen 2005)。但本研究之實際觀測，夏季全南海平均的水體分層程度(0.025 kg m^{-4})，和春季者(0.022 kg m^{-4})極相近，且比其他夏季水體不受颱風影響時的分層程度低(0.047 kg m^{-4} , Chen and Chen 2006)，而且表水硝酸鹽濃度(30 nM)反而高於春季者(12 nM)，也高於南海一般夏季的表水硝酸鹽(12 nM, Chen 2005)。因此本研究夏季 Chl a 在上層分布與中層相當，由夏季航次資料結果推測，此情況與萊羅克颱風經過研究海域，並將深層硝酸鹽帶往上層有關。統整三個季節的 Chl a 垂直分布，顯示下層(100-150 或 200 m)生物量遠低於上層與中層(表 4-2)，可能是受到光線影響，南海北部有光層深度介於 61-109 m (Chen and Chen 2006)，下層的光度太低。相對的，黑潮的有光層深度(104-128 m)比南海北部深(Chen et al. 2008)，而黑潮 Chl a 在下層佔全水柱的比例(0.3-0.7)比南海者(0.1-0.4)高。

似 UCYN-A 者在三個季節均分布在水柱上層，此現象在其他海域也有類似的垂直分布研究結果。如冬季北太平洋 ALOHA 站，在光照超過 $700 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 且硝酸鹽濃度低於 10 nM 的環境下，UCYN-A 生物量高達 $2 \times 10^5 \text{ copies L}^{-1}$ ，主要分布

於 50 m 以淺的水層(Church et al. 2005a)；在夏季北大西洋(0° - 18° N, 23° - 68° W)的 UCYN-A 生物量最高值深度平均為 41 m (Goebel et al. 2010)。UCYN-A 為光合異營性生物，雖然可以進行光合作用，但是需要由外界提供有機碳(Thompson et al. 2012)。因此其生物量的垂直分布趨勢隨著深度增加而減少，推測與環境中的有機碳濃度有關，在南海北部有機碳濃度的垂直分布趨勢，也是隨深度增加而減少(Hung et al. 2007)。UCYN-A 會與其他浮游植物共生(Bonnet et al. 2008; Le Moal and Biegala 2009; Thompson et al. 2012)，因此亦可能是疑為宿主的其他浮游植物在上層或中層較多的緣故。冬季海盆測站(S9、S8 站)，似 UCYN-A 者在水柱中的垂直分布較平均(圖 4-14)，可能測站位於暖渦邊緣有關(圖 4-12)。冬季海盆區之表水溫度(26.7°C)高於往常(23.7°C , Chen and Chen 2006)，鹽度也比往常冬季海盆略低(33.9 PSU 比 34.0 PSU)，然而表水硝酸鹽濃度(189 nM)不但高於以往(66 nM)，也比同航次中發生湧升現象的陸坡區(125 nM)更高；混和層深度(115 m)比沒有發生暖渦時(61 m)更深(Chen and Chen 2006)。推測本研究中冬季的暖渦，因為其周圍水溫與氣溫都較低，溫度差引發對流作用，與周圍硝酸鹽濃度較高的水體混和(Tranter et al. 1982)，造成的反轉現象(overtake)使位於暖渦邊緣的海盆測站，硝酸鹽濃度特別高，因此似 UCYN-A 者與似 UCYN-B 者在表水的生物量相當低，而垂直分布上，不僅似 UCYN-A 者，其餘各類單細胞固氮生物的垂直分布也頗均勻(圖 4-14)。

似 UCYN-B 者也傾向分布於水柱上層，可能亦與光和營養鹽有關。UCYN-B 在其他海域的分布，如秋季南太平洋(15°S , 175°E)，UCYN-B 的生物量最大值深度在 37-45 m (Hewson et al. 2009)，Moisander et al. (2010)測得的生物量最大深度平均為 20 m；秋季北太平洋 ALOHA 站與春、夏季北大西洋(7.2° - 12.2°N , 45.5° - 55.9°W)的 UCYN-B 生物量都介於表水至 25 m 之間為最高(Falcón et al. 2004)，夏季北大西洋(0° - 18°N , 23° - 68°W)，其生物量高值主要分布在 50 m 以淺(Goebel et al. 2010)。充足的光線推測是似 UCYN-B 者趨向上層分布的原因之一，因為 UCYN-B 的生長會受到光線影響，在實驗室以光照強度 $20\text{-}600\ \mu\text{E m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ 培養的 *Crocospaera* (屬於 UCYN-B)，生長率在光照低於 $170\ \mu\text{E m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ 時，隨光照強度增加而增加 5-6 倍，

並在 $300\text{-}600\ \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 的光照環境下維持最高生長速率(Goebel et al. 2008)。本研究
中表水日照強度之範圍為 $433\text{-}1471\ \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ，推算有光層底部(透光度 0.8%，約
91 m)的光照只有 $3\text{-}11\ \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ，似 UCYN-B 生物量或許因此在水柱下層較少。除
此之外，硝酸鹽濃度可能也影響似 UCYN-B 者的垂直分布情形，本研究的結果顯
示似 UCYN-B 者在空間上的生物量變動，隨表水硝酸鹽濃度有顯著變化，硝酸鹽
濃度越低，其生物量越高，而南海北部的硝酸鹽主要來自深水層(Chen 2005)，上
層硝酸鹽濃度較低，降低對固氮酵素的抑制效果(Thomas et al. 1982; Cheng et al.
1999)，因此可能在水柱上層偵測到較多似 UCYN-B 者。另由本研究中的統計分析
結果也顯示，似 UCYN-B 者細胞密度的增加，與大氣落塵量的增加有顯著關係(圖
4-24B)，雖然水柱上層受由底層垂直向上供應的鐵來源較少，然而全年皆有來自戈
壁沙漠的大氣落塵通過南海北部海域，年平均通量為 $23.05\pm 3.86\ \text{g m}^{-2}$ (Wang et al.
2012)，可能是似 UCYN-B 者於上層的營養鹽來源之一。

似 UCYN-C 者垂直分布，由於在水柱各層之細胞密度差異相對較小，反而顯
現出其分布於水柱下層的比例較似 UCYN-A 和-B 者高，且生物量最高值有時甚至
出現在深度 100 m 以深的水層(圖 4-6; 4-11; 4-14)。此等垂直分布趨勢，可能反應
似 UCYN-C 者比似 UCYN-B 者所需光度低，此結果由實驗室的單種培養之所需光
照強度加以佐證。將 TW3 (屬於 UCYN-C，由大洋分離出的單種培養，Taniuchi et al.
2011)培養在不同光照強度($30\text{-}300\ \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$)後發現，最適生長的光照強度為 $140\ \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Taniuchi et al. 2011)，而另一屬於 UCYN-C 之單種培養 *Gloeotheca* sp.
68DGA (來自沿岸，Ohki et al. 2008)的最適生長的光照強度為 $80\ \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Taniuchi
and Ohki 2007)。相較之下，屬於 UCYN-B 的 *Crocospaera* 最適生長光度超過 $300\ \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Goebel et al. 2008)，顯示 UCYN-C 最適生長之光強度比 UCYN-B 低。本
研究中似 UCYN-C 者在自然界之垂直分布趨勢與野外調查 UCYN-C 結果類似，如
Goebel et al. (2010)在夏季北大西洋($0^{\circ}\text{-}18^{\circ}\text{N}$, $23^{\circ}\text{-}68^{\circ}\text{W}$)調查的 23 個測站，以表水
樣本來看，只有 1 個測站偵測到 UCYN-C 的 *nifH* 基因($170\ \text{copies L}^{-1}$)，其餘 6 個
有偵測到 UCYN-C 的測站，所測得的深度在 50 m 以深，而且在 200 m 的生物量最

高(1×10^4 copies L⁻¹)。除了光照影響之外，於本研究的營養鹽添加培養實驗顯示，在南海北部的似 UCYN-C 之生物量可能受到磷和鐵的共同影響(圖 4-25D)，磷和鐵的濃度都是隨深度增加而增加(Wen et al. 2006; Wong et al. 2007)，因此似 UCYN-C 者分布在較深的水層，就營養鹽磷和鐵的需求而言，是有利的。

參考文獻

- 范光龍，2004。物理海洋學導論。國立編譯館編，南山堂出版社，台北市，台灣。
- 許明光、劉安國、2010。神秘的巨浪—南海內波。行政院國家科學委員會編，行政院國家科學委員會，台北市，台灣。
- 陳鎮東，2001。南海海洋學。國立編譯館編，渤海堂文化事業有限公司，台北市，台灣。
- 楊子清，2011。單細胞固氮生物在黑潮上游與北南海之季節分布，碩士論文，國立中山大學海洋生物科技暨資源學系研究所。
- 韓佳安，2005。南海海域單細胞藍綠藻之分布及固氮酵素鐵蛋白*nifH* 基因分析，碩士論文，國立中山大學海洋生物科技暨資源學系研究所。
- Alverca, E., I. C. Biegala, G. M. Kennaway, J. Lewis, and S. Franca. 2002. *In situ* identification and localization of bacteria associated with *Gyrodinium instriatum* (Gymnodiniales, Dinophyceae) by electron and confocal microscopy. *European Journal of Phycology* 37:523-530.
- Barberán, A., and E. O. Casamayor. 2010. Global phylogenetic community structure and β -diversity patterns in surface bacterioplankton metacommunities. *Aquatic Microbial Ecology* 59:1-10.
- Benavides, M., N. S. R. Agawin, J. Arístegui, P. Ferriol, and L. J. Stal. 2011. Nitrogen fixation by *Trichodesmium* and small diazotrophs in the subtropical northeast Atlantic. *Aquatic Microbial Ecology* 65(1):43-53.
- Bergman, B., J. R. Gallon, A. N. Rai, and L. J. Stal. 1997. N_2 Fixation by non-heterocystous cyanobacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 19:139-85.
- Berman-Frank, I., A. Quigg, Z. V. Finkel, A. J. Irwin, and L. Haramaty. 2007. Nitrogen-fixation strategies and Fe requirements in cyanobacteria. *Limnology and Oceanography* 52:2260-2269.
- Berman-Frank, I., P. Lundgren, Y. B. Chen, H. Kupper, Z. Kolber, B. Bergman, and P. Falkowski. 2001. Segregation of nitrogen fixation and oxygenic photosynthesis in

the marine cyanobacterium *Trichodesmium*. *Science* 295:1534-1537.

- Bibby, T. S., M. Y. Gorbunov, K. W. Wyman, and P. G. Falkowski. 2008. Photosynthetic community responses to upwelling in mesoscale eddies in the subtropical North Atlantic and Pacific Oceans. *Deep-Sea Research II* 55:1310-1320.
- Biegala, I. C., and P. Raimbault. 2008. High abundance of diazotrophic picocyanobacteria (<3 μm) in a Southwest Pacific coral lagoon. *Aquatic Microbial Ecology* 51:45-53.
- Bird, C., J. M. Martinez, A. G. O'Donnell, and M. Wyman. 2005. Spatial distribution and transcriptional activity of an uncultured clade of planktonic diazotrophic alpha-proteobacteria in the Arabian Sea. *Applied and Environmental Microbiology* 71(4):2079-2085.
- Bishop, P. E., R. Premakumar, D. R. Dean, M. R. Jacobsen, J. R. Chisnell, T. M. Rizzo, and J. Kopczynski. 1986. Nitrogen fixation by *Azotobacter vinelandii* strains having deletions in structural genes for nitrogenase. *Science* 232:92-94.
- Bombar, D., P. H. Moisander, J. W. Dippner, R. A. Foster, M. Voss, B. Karl, and J. P. Zehr. 2011. Distribution of diazotrophic microorganisms and *nifH* gene expression in the Mekong River plume during intermonsoon. *Marine Ecology Progress Series* 424:39-52.
- Bonnet, S., C. Guieu, F. Bruyant, O. Prášil, F. Van Wambeke, P. Raimbault, T. Moutin, C. Grob, M. Y. Gorbunov, J. P. Zehr, S. M. Masquelier, L. Garczarek, and H. Claustre. 2008. Nutrient limitation of primary productivity in the Southeast Pacific (BIOSCOPE cruise). *Biogeosciences* 5:215-225.
- Bonnet, S., I. C. Biegala, P. Dutrieux, L. O. Slemons, and D. G. Capone. 2009. Nitrogen fixation in the western equatorial Pacific: rates, diazotrophic cyanobacterial size class distribution, and biogeochemical significance. *Global Biogeochemical Cycles* 23:GB3012.
- Bonnet, S., O. Grosso, and T. Moutin. 2011. Planktonic dinitrogen fixation along a longitudinal gradient across the Mediterranean Sea during the stratified period (BOUM cruise). *Biogeosciences* 8 (8):2257-2267.

- Boström K. H., L. Riemann, M. Kühl, and Å. Hagström. 2007. Isolation and gene quantification of heterotrophic N₂-fixing bacterioplankton in the Baltic Sea. *Environmental Microbiology* 9(1):152-164.
- Bothe, H., H. J. Tripp, and J. P. Zehr. 2010. Unicellular cyanobacteria with a new mode of life: the lack of photosynthetic oxygen evolution allows nitrogen fixation to proceed. *Archives of Microbiology* 192:783-790.
- Bowman, J. P., L. I. Sly, P. D. Nichols, and A. C. Hayward. 1993. Revised taxonomy of the methanotrophs: description of *Methylobacter* gen. nov., emendation of *Methylococcus*, validation of *Methylosinus* and *Methylocystis* species, and a proposal that the family *Methylococcaceae* includes only the group I methanotrophs. *International Journal of Systematic Bacteriology* 43(4):735-753.
- Braun, S. T., L. M. Proctor, S. Zani, M. T. Mellon, and J. P. Zehr. 1999. Molecular evidence for zooplankton-associated nitrogen-fixing anaerobes based on amplification of the *nifH* gene. *FEMS Microbiology Ecology* 28:273-279.
- Brayton, P. R., R. B. Bode, R. R. Colwell, M. T. MacDonell, H. L. Hall, D. J. Grimes, P. A. West, and T. N. Bryant. 1986. *Vibrio cincinnatiensis* sp. nov., a new human pathogen. *Journal of Clinical Microbiology* 23(1):104-108.
- Brenner, D. J., N. R. Krieg, and J. T. Staley, editors. 2005. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, volume 2, part C. Springer New York, USA.
- Campbell, L., E. J. Carpenter, J. P. Montoya, A. B. Kustka, and D. G. Capone. 2005. Picoplankton community structure within and outside a *Trichodesmium* bloom in the southwestern Pacific Ocean. *Vie et Milieu* 55:185-195.
- Cannon, G. A. 1966. Tropical waters in the western Pacific Oceans, August-September 1957. *Deep-Sea Research* 13:1139-1148.
- Capone, D. G., J. P. Zehr, H. W. Paerl, B. Bergman, and E. J. Carpenter. 1997. *Trichodesmium*, a globally significant marine cyanobacterium. *Science* 276:1221-1229.
- Carpa, R., and L. Barbu-Tudoran. 2011. Investigation of the poly-β-hydroxybutyrate (PHB) producing in mountain bacterial strains by transmission electron

- microscopy. *Romanian Biotechnological Letters* 16(2):5989-5995.
- Carpenter, E. J. 1983. Nitrogen fixation by marine *Oscillatoria* (*Trichodesmium*) in the world's oceans. Pages 65-103 in E. J. Carpenter, and D. G. Capone, editors. Nitrogen in the marine environment. Academic Press, New York.
- Carpenter, E. J., J. P. Montoya, J. Burns, M. R. Mulholland, A. Subramaniam, and D. G. Capone. 1999. Extensive bloom of a N₂-fixing diatom/cyanobacterial association in the tropical Atlantic Ocean. *Marine Ecology Progress Series* 185:273-283.
- Caruso, M. J., G. Gawarkiewicz, and R. Beardsley. 2006. Interannual Variability of the Kuroshio Intrusion in the South China Sea. *Journal of Oceanography* 62:559-575.
- Chen, W. X., G. H. Yan, and J. L. Li. 1988. Numerical taxonomic study of fast-growing soybean rhizobia and a proposal that *Rhizobium fredii* be assigned to *Sinorhizobium* gen. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 38:392-397.
- Chen, Y. L. L. 2005. Spatial and seasonal variations of nitrate-based new production and primary production in the South China Sea. *Deep-Sea Research I* 52:319-340.
- Chen, Y. L. L., and H. Y. Chen. 2006. Seasonal dynamics of primary and new production in the northern South China Sea: the significance of river discharge and nutrient advection. *Deep-Sea Research I* 53:971-986.
- Chen, Y. L. L., H. Y. Chen, and S. H. Tuo. 2009. Phytoplankton productivity enhancement and assemblage change in the upstream Kuroshio after typhoons. *Marine Ecology Progress Series* 385:111-126.
- Chen, Y. L. L., H. Y. Chen, D. M. Karl, and M. Takahashi. 2004. Nitrogen modulates phytoplankton growth in spring in the South China Sea. *Continental Shelf Research* 24:527-541.
- Chen, Y. L. L., H. Y. Chen, I. I. Lin, M. A. Lee, and J. Chang. 2007. Effects of cold eddy on phytoplankton production and assemblages in Luzon Strait bordering the South China Sea. *Journal of Oceanography* 63:671-683.
- Chen, Y. L. L., H. Y. Chen, S. H. Tuo, and K. Ohki. 2008. Seasonal dynamics of new

- production from *Trichodesmium* N₂ fixation and nitrate uptake in the upstream Kuroshio and South China Sea basin. *Limnology and Oceanography* 53(5):1705-1721.
- Cheng, J., C. R. Hipkin, and J. R. Gallon. 1999. Effects of inorganic nitrogen compounds on the activity and synthesis of nitrogenase in *Gloeotheca (Nageli)* sp. ATCC27152. *New Phytologist* 141:61-70.
- Chien, Y. T., and S. H. Zinder. 1996. Cloning, functional organization, transcript studies, and phylogenetic analysis of the complete nitrogenase structural genes (*nifHDK2*) and associated genes in the archaeon *Methanosarcina barkeri* 227. *Journal of Bacteriology* 178(1):143-148.
- Chou, W. C., Y. L. L. Chen, D. D. Sheu, Y. Y. Shih, C. A. Han, C. L. Cho, C. M. Tseng, and Y. J. Yang. 2006. Estimated net community production during the summertime at the SEATS time-series study site, northern South China Sea: Implications for nitrogen fixation. *Geophysical Research Letters* 33:L22610.
- Chu, P. C., H. C. Tseng, C. P. Chang, and J. M. Chen. 1997. South China Sea warm pool detected in spring from the Navy's Master Oceanographic Observational Data Set (MOODS). *Journal of Geophysical Research* 102:15761-15771.
- Church, M. J., B. D. Jenkins, D. M. Karl, and J. P. Zehr. 2005a. Vertical distributions of nitrogen-fixing phylotypes at Stn ALOHA in the oligotrophic North Pacific Ocean. *Aquatic Microbial Ecology* 38:3-14.
- Church, M. J., C. M. Short, B. D. Jenkins, D. M. Karl, and J. P. Zehr. 2005b. Temporal patterns of nitrogenase Gene (*nifH*) expression in the oligotrophic North Pacific Ocean. *Applied and Environmental Microbiology* 71(9):5362-5370.
- Church, M. J., C. Mahaffey, R. M. Letelier, R. Lukas, J. P. Zehr, and D. M. Karl. 2009. Physical forcing of nitrogen fixation and diazotroph community structure in the North Pacific subtropical gyre. *Global Biogeochemical Cycles* 23: GB2020.
- Church, M. J., K. M. Bjorkman, D. M. Karl, M. A. Saito, and J. P. Zehr. 2008. Regional distributions of nitrogen-fixing bacteria in the Pacific Ocean. *Limnology and Oceanography* 53:63-77.

- Compaoré, J., and L. J. Stal. 2009. Oxygen and the light-dark cycle of nitrogenase activity in two unicellular cyanobacteria. *Environmental Microbiology* 12:54-62.
- da Silva, J. C. B., A. L. New, M. A. Srokosz, and T. J. Smyth. 2002. On the observability of internal tidal waves in remotely-sensed ocean colour data. *Geophysical Research Letters* 29(12):1569.
- Dekaezemacker, J., and S. Bonnet. (2011) Sensitivity of N_2 fixation to combined nitrogen forms (NO_3^- and NH_4^+) in two strains of the marine diazotroph *Crocospaera watsonii* (Cyanobacteria). *Marine Ecology Progress Series* 438:33-46.
- Dore, J. E., J. R. Brum, L. M. Tupas, and D. M. Karl. 2002. Seasonal and interannual variability in sources of nitrogen supporting export in the oligotrophic subtropical North Pacific Ocean. *Limnology and Oceanography* 47:1595-1607.
- Dron, A., S. Rabouille, P. Claquin, B. Le Roy, A. Talec, and A. Sciandra. 2011. Light-dark (12:12) cycle of carbon and nitrogen metabolism in *Crocospaera watsonii* WH8501: relation to the cell cycle. *Environmental Microbiology* 14(4):967-981.
- Eady, R. R. 1996. Structure-function relationships of alternative nitrogenases. *Chemical Reviews* 96:3013-3030.
- Eppley, R. W. and B. J. Peterson. 1979. Particulate organic-matter flux and planktonic new production in the deep ocean. *Nature* 282(5740): 677-680.
- Falcón, L. I., E. J. Carpenter, F. Cipriano, B. Bergman, and D. G. Capone. 2004. N_2 fixation by unicellular bacterioplankton from the Atlantic and Pacific Oceans: phylogeny and in situ rates. *Applied and Environmental Microbiology* 70(2):765-770.
- Falcón, L. I., S. Pluvinau, and E. J. Carpenter. 2005. Growth kinetics of marine unicellular N_2 -fixing cyanobacterial isolates in continuous culture in relation to phosphorus and temperature. *Marine Ecology Progress Series* 285:3-9.
- Falkowski, P. G. 1997. Evolution of the nitrogen cycle and its influence on the biological sequestration of CO_2 in the ocean. *Nature* 387:272-275.

- Farnelid, H., A. F. Andersson, S. Bertilsson, W. A. Al-Soud, L. H. Hansen, S. Sørensen, G. F. Steward, Å. Hagström, and L. Riemann. 2011. Nitrogenase gene amplicons from global marine surface waters are dominated by genes of non-cyanobacteria. *PLOS ONE* 6(4):e19223.
- Farnelid, H., T. Öberg, and L. Riemann. 2009. Identity and dynamics of putative N₂-fixing picoplankton in the Baltic Sea proper suggest complex patterns of regulation. *Environmental Microbiology Reports* 1(2):145-154.
- Farnelid, H., W. Tarangkoon, G. Hansen, P. J. Hansen, and L. Riemann. 2010. Putative N₂-fixing heterotrophic bacteria associated with dinoflagellate-*Cyanobacteria* consortia in the low-nitrogen Indian Ocean. *Aquatic Microbial Ecology* 61:105-117.
- Fay, P. 1992. Oxygen relations of nitrogen fixation in cyanobacteria. *Microbiological Reviews* 56:430-373.
- Fong, A. A., D. M. Karl, R. Lukas, R. M. Letelier, J. P. Zehr, and M. J. Church. 2008. Nitrogen fixation in an anticyclonic eddy in the oligotrophic North Pacific Ocean. *International Society for Microbial Ecology* 2:663-676.
- Foster, R. A., A. Subramaniam, C. Mahaffey, E. J. Carpenter, D. G. Capone, and J. P. Zehr. 2007. Influence of the Amazon River plume on distributions of free-living and symbiotic cyanobacteria in the western tropical North Atlantic Ocean. *Limnology and Oceanography* 52:517-532.
- Foster, R. A., E. J. Carpenter, and B. Bergman. 2006a. Unicellular cyanobionts in open ocean dinoflagellates, radiolarians, and tintinnids: Ultrastructural characterization and immuno-localization of phycoerythrin and nitrogenase. *Journal of Phycology* 42:453-463.
- Foster, R. A., L. L. Collier, and E. J. Carpenter. 2006b. Reverse transcription PCR amplification of cyanobacterioal symbiont 16sRNA sequences from single non-photosynthetic eukaryotic marine planktonic host cells. *Journal of Phycology* 42:243-250.
- Fuhrman, J. A. 1992. Bacterioplankton roles in cycling of organic matter: the microbial food web. Page 361-383 in P. G. Falkowski, and A. D. Woodhead, editors. *Primary*

- productivity and biogeochemical cycles in the sea. Plenum Press, New York.
- Fung, I. Y., S. K. Meyn, I. Tegen, S. C. Doney, J. G. John, and J. K. B. Bishop. 2000. Iron supply and demand in the upper ocean, *Global Biogeochem. Cycles* 14:281-295.
- Gao, Y., S. M. Fan, and J. L. Sarmiento. 2003. Aeolian iron input to the ocean through precipitation scavenging: A modeling perspective and its implication for natural iron fertilization in the ocean. *Journal of Geophysical Research* 108(D7):4221.
- Garcia, N., P. Raimbault, and V. Sandroni. 2007. Seasonal nitrogen fixation and primary production in the Southwest Pacific: nanoplankton diazotrophy and transfer of nitrogen to picoplankton organisms. *Marine Ecology Progress Series* 343:25-33.
- Garside, C. 1982. A chemiluminescent technique for the determination of nanomolar concentrations nitrate in sea water. *Marine Chemistry* 11:159-167.
- Goebel, N. L., C. A. Edwards, B. J. Carter, K. M. Achilles, and J. P. Zehr. 2008. Growth and carbon content of three different-sized diazotrophic cyanobacteria observed in the subtropical North Pacific. *Journal of Phycology* 44:1212-1220.
- Goebel, N. L., K. A. Turk, K. M. Achilles, R. Paerl, I. Hewson, A. E. Morrison A. E. Morrison, J. P. Montoya, C. A. Edwards, and J. P. Zehr. 2010. Abundance and distribution of major groups of diazotrophic cyanobacteria and their potential contribution to N₂ fixation in the tropical Atlantic Ocean. *Environmental Microbiology* 12:3272-3289.
- Gong, G., K. K. Liu, C. Liu, and S. Pai. 1992. The chemical hydrography of the South China Sea west of Luzon and a comparison with the west Philippine Sea. *Terrestrial, Atmospheric and Oceanic Sciences* 3:587-602.
- Grabowski, M. N. W., M. J. Church, and D. M. Karl. 2008. Nitrogen fixation rates and controls at Stn ALOHA. *Aquatic Microbial Ecology* 52:175-183.
- Guerinot, M. L., P. A. West, J. V. Lee, and R. R. Colwell. 1982. *Vibrio diazotrophicus* sp. nov., a marine nitrogen-fixing bacterium. *International Journal of Systematic Bacteriology* 32(3):350-357.

- Hamersley, M. R., K. A. Turk, A. Leinweber, N. Gruber, J. P. Zehr, T. Gunderson, and D. G. Capone. 2011. Nitrogen fixation within the water column associated with two hypoxic basins in the Southern California Bight. *Aquatic Microbial Ecology* 63:193-205.
- Heising, S., L. Richter, W. Ludwig, and B. Schink. 1999. *Chlorobium ferrooxidans* sp. nov., a phototrophic green sulfur bacterium that oxidizes ferrous iron in coculture with a “*Geospirillum*” sp. strain. *Archives of Microbiology* 172:116-124.
- Hewson, I., P. H. Moisander, K. M. Achilles, C. A. Carlson, B. D. Jenkins, E. A. Mondragon, A. E. Morrison, and J. P. Zehr. 2007. Characteristics of diazotrophs in surface to abyssopelagic waters of the Sargasso Sea. *Aquatic Microbial Ecology* 46:15-30.
- Hewson, I., R. S. Poretsky, R. A. Beinart, A. E. White, T. Shi, S. R. Bench, P. H. Moisander, R. W. Paerl, H. J. Tripp, J. P. Montoya, M. A. Moran, and J. P. Zehr. 2009. In situ transcriptomic analysis of the globally important keystone N₂-fixing taxon *Crocospaera watsonii*. *International Society for Microbial Ecology* 3:618-631.
- Hewson, I., S. R. Govil, D. G. Capone, E. J. Carpenter, J. A. Fuhrman. 2004. Evidence for *Trichodesmium* viral lysis and potential significance for biogeochemical cycling in the oligotrophic ocean. *Aquatic Microbial Ecology* 36:1-8.
- Hopkinson, B. M., and F. M. M. Morel. 2009. The role of siderophores in iron acquisition by photosynthetic marine microorganisms. *Biometals* 22:659-669.
- Hsu, M. K., A. K. Liu, and C. Liu. 2000. A study of internal waves in the China Seas and Yellow Sea using SAR. *Continental Shelf Research* 20:389-410.
- Hu, J., H. Kawamura, H. Hong, and Y. Qi. 2000. A review on the currents in the South China Sea: seasonal circulation, South China Sea warm current and Kuroshio intrusion. *Journal of Oceanography* 56(6): 607-624.
- Hung, J. J., S. M. Wang, and Y. L. Chen. 2007. Biogeochemical controls on distributions and fluxes of dissolved and particulate organic carbon in the Northern South China Sea. *Deep-Sea Research II* 54:1486-1503.

- Jacq, V., and C. Ridame. 2012. The influence of iron limitation on the growth and activity of *Crocospaera watsonii*, an unicellular diazotrophic cyanobacterium. *Geophysical Research Abstracts* 14:12080.
- Jia, Y., and Q. Liu. 2004. Eddy shedding from the Kuroshio bend at Luzon Strait. *Journal of Oceanography* 60:1063-1069.
- Jickells, T. D., Z. S. An, K. K. Andersen, A. R. Baker, G. Bergametti, N. Brooks, J. J. Cao, P. W. Boyd, R. A. Duce, K. A. Hunter, H. Kawahata, N. Kubilay, J. LaRoche, P. S. Liss, N. Mahowald, J. M. Prospero, A. J. Ridgwell, I. Tegen, and R. Torres. 2005. Global iron connections between desert dust, ocean biogeochemistry, and climate. *Science* 308:67-71.
- Jordan, D. C. 1982. Transfer of *Rhizobium japonicum* buchanan 1980 to *Bradyrhizobium* gen. nov., a genus of slow-growing, root nodule bacteria from leguminous plants. *International Journal of Systematic Bacteriology* 32(1):136-139.
- Kämpfer, P., K. Thummes, H. I. Chu, C. C. Tan, A. B. Arun, W. M. Chen, W. A. Lai, F. T. Shen, P. D. Rekha, and C. C. Young. 2008. *Pseudacidovorax intermedius* gen. nov., sp. nov., a novel nitrogen-fixing betaproteobacterium isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 58:491-495.
- Karl, D. M. 2002. Nutrient dynamics in the deep blue sea. *Trends in Microbiology* 10(9):410-418.
- Karl, D. M., and G. Tien. 1992. MAGIC: A sensitive and precise method for measuring dissolved phosphorus in aquatic environments. *Limnology and Oceanography* 37(1):105-116.
- Karl, D. M., and K. M. Björkman. 2002. Dynamics of DOP. Pages 246-366 in D. Hansell, and C. Carlson, editors. *Biogeochemistry of marine dissolved organic matter*. Elsevier Science, New York.
- Karl, D. M., A. Michaels, B. Bergman, D. Capone, E. Carpenter, R. Letelier, F. Lipschultz, H. Paerl, D. Sigman, and L. Stal. 2002. Dinitrogen fixation in the world's oceans. *Biogeochemistry* 57:47-98.

- Kelly, D. P., and A. P. Wood. 2000. Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 50:511-516.
- Klymak, J. M., R. Pinkel, C. T. Liu, A. K. Liu, and L. David. 2006. Prototypical solitons in the South China Sea. Geophysical Research Letters 33:L11607.
- Knapp, A. N., D. DeKaetzmacker, S. Bonnet, J. A. Sohm, and D. G. Capone. 2012. Sensitivity of *Trichodesmium erythraeum* and *Crocospaera watsonii* abundance and N₂ fixation rates to varying NO³⁻ and PO₄³⁻ concentrations in batch cultures. Aquatic Microbial Ecology 66:223-236.
- Kong, L., H. Jing, T. Kataoka, J. Sun, and H. Liu. 2011. Phylogenetic diversity and spatio-temporal distribution of nitrogenase genes (*nifH*) in the northern South China Sea. Aquatic Microbial Ecology 65:15-27.
- Kustka, A., S. Sanudo-Wilhelmy, E. J. Carpenter, D. G. Capone, and J. A. Raven. 2003. A revised estimate of the iron use efficiency of nitrogen fixation, with special reference to the marine cyanobacterium *Trichodesmium* spp. (Cyanophyta). Journal of Phycology 39:12-25.
- Langlois, R. J., M. M. Mills, C. Ridame, P. Croot, and J. LaRoche. 2012. Diazotrophic bacteria respond to Saharan dust additions. Marine Ecology Progress Series 470:1-14.
- Langlois, R. J., D. Huemmer, and J. LaRoche. 2008. Abundances and distributions of the dominant *nifH* phylotypes in the northern Atlantic Ocean. Applied and Environmental Microbiology 74:1922-1931.
- Langlois, R. J., J. LaRoche, and P. A. Raab. 2005. Diazotrophic diversity and distribution in the Tropical and Subtropical Atlantic Ocean. Applied and Environmental Microbiology 71(12):7910-7919.
- Law, C., E. M. S. Woodward, M. J. Ellwood, A. Marriner, S. Bury, and K. Safi. 2011. Response of surface nutrient inventories and nitrogen fixation to a tropical cyclone in the Southwest Pacific. Limnology and Oceanography 56(4):1372-1285.

- Le Moal, M., and I. C. Biegala. 2009. Diazotrophic unicellular cyanobacteria in the northwestern Mediterranean Sea: A seasonal cycle. *Limnology and Oceanography* 54(3):845-855.
- Le Moal, M., H. Collin, and I. C. Biegala¹. 2011. Intriguing diversity among diazotrophic picoplankton along a Mediterranean transect: a dominance of rhizobia. *Biogeosciences* 8:827-840.
- Lin, I. I., C. C. Lien, C. R. Wu, G. T. F. Wong, C. W. Huang, and T. L. Chiang. 2010. Enhanced primary production in the oligotrophic South China Sea by eddy injection in spring. *Geophysical Research Letters* 37:L16602.
- Lin, I. I., J. P. Chen, G. T. F. Wong, C. W. Huang, and C. C. Lien. 2007. Aerosol input to the South China Sea: Results from the MODerate resolution Imaging Spectro-radiometer, the quick scatterometer, and the measurements of pollution in the troposphere sensor. *Deep-Sea Research I* 54:1589-1601.
- Lin, I., W. T. Liu, C. C. Wu, G. T. F. Wong, C. Hu, Z. Chen, W. D. Liang, Y. Yang, and K. K. Liu. 2003. New evidence for enhanced ocean primary production triggered by tropical cyclone. *Geophysical Research Letters* 30(13):1718.
- Luo, C., N. Mahowald, T. Bond, P. Y. Chuang, P. Artaxo, R. Siefert, Y. Chen, and J. Schauer. 2008. Combustion iron distribution and deposition. *Global Biogeochemical Cycles* 22(1):GB1012.
- Luo, Y.W., S. C. Doney, L. A. Anderson, M. Benavides, I. B. Frank, A. Bode, S. Bonnet, K. H. Boström, D. Böttjer, D. G. Capone, E. J. Carpenter, Y. L. Chen, M. J. Church, J. E. Dore, L. I. Falóon, A. Fernández, R. A. Foster, K. Furuya, F. Gómez, K. Gundersen, A. M. Hynes, D. M. Karl, S. Kitajima, R. J. Langlois, J. LaRoche, R. M. Letelier, E. Marañón, D. J. McGillicuddy Jr., P. H. Moisaner, C. M. Moore, B. Mouriño-Carballido, M. R. Mulholland, J. A. Needoba, K. M. Orcutt, A. J. Poulton, E. Rahav, P. Raimbault, A. P. Rees²⁷, L. Riemann, T. Shiozaki, A. Subramaniam, T. Tyrrell, K. A. Turk-Kubo, M. Varela, T. A. Villareal, E. A. Webb, A. E. White, J. Wu, and J. P. Zehr. 2012. Database of diazotrophs in global ocean: abundance, biomass and nitrogen fixation rates. *Earth System Science Data* 4:47-73.

- Madden, R. H., M. J. Bryder, and N. J. Poole. 1982. Isolation and characterization of an anaerobic, cellulolytic bacterium, *Clostridium papyrosolvens* sp. nov. International Journal of Systematic Bacteriology 32(1):87-91.
- Madigan, M. T., and J. M. Martinko. 2005. Brock biology of microorganisms. 11th edition. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, USA.
- Man-Aharonovich, D., N. Kress, E. Bar Zeev, I. Berman-Frank, and O. Béjà. 2007. Molecular ecology of *nifH* genes and transcripts in Eastern Mediterranean Sea. Environmental Microbiology 9:2354-2363.
- Massana, R., R. Terrado, I. Forn, C. Lovejoy, and C. Pedros-Alio. 2006. Distribution and abundance of uncultured heterotrophic flagellates in the world oceans. Environmental Microbiology 8(9):1515-1522.
- McGillicuddy Jr., D. J., A. R. Robinson, D. A. Siegel, H. W. Jannasch, R. Johnson, T. D. Dickey, J. McNeil, A. F. Michaels, and A. H. Knap. 1998. Influence of mesoscale eddies on new production in the Sargasso Sea. Nature 394:263-266.
- McGillicuddy Jr., D. J., L. A. Anderson, S. C. Doney, and M. E. Maltrud. 2003. Eddy-driven sources and sinks of nutrients in the upper ocean: Results from a 0.1° resolution model of the North Atlantic. Global Biogeochemical Cycles 17(2):1035.
- Measures, C. I., and S. Vink. 1999. Seasonal variations in the distribution of Fe and Al in the surface waters of the Arabian Sea. Deep-Sea Research II 46: 1597-1622.
- Mehta, M. P., D. A. Butterfield, and J. A. Baross. 2003. Phylogenetic diversity of nitrogenase (*nifH*) genes in deep-sea and hydrothermal vent environments of the Juan de Fuca Ridge. Applied and Environmental Microbiology 69(2):960-970.
- Mehta, M. P., J. A. Huber, and J. A. Baross. 2005. Incidence of novel and potentially archaeal nitrogenase genes in the deep Northeast Pacific Ocean. Environmental Microbiology 7(10):1525-1534.
- Merrill, J. T., M. Uematsu, and R. Bleck. 1989. Meteorological analysis of long range transport of mineral aerosols over the North Pacific. Journal of Geophysical Research 94:8584-8598.

- Metzger, E. J., and H. E. Hurlburt. 1996. Coupled dynamics of the South China Sea, the Sulu Sea, and the Pacific Ocean. *Journal of Geophysical Research* 101:12331-12352.
- Miller, T. R. and R. Belas. 2004. Dimethylsulfoniopropionate metabolism by *Pfiesteria*-associated *Roseobacter* spp. *Applied and Environmental Microbiology* 70(6):3383-3391.
- Mills, M. M., C. Ridame, M. Davey, J. LaRoche, and R. J. Geider. 2004. Iron and phosphorus co-limit nitrogen fixation in the eastern tropical North Atlantic. *Nature* 429: 292-294.
- Mohr, W., M. P. Intermaggio, and J. LaRoche. 2009. Diel rhythm of nitrogen and carbon metabolism in the unicellular, diazotrophic cyanobacterium *Crocospaera watsonii* WH8501. *Environmental Microbiology* 12(2):412-421.
- Moisander, P. H., R. A. Beinart, I. Hewson, A. E. White, K. S. Johnson, C. A. Carlson, J. P. Montoya, and J. P. Zehr. 2010. Unicellular cyanobacterial distributions broaden the oceanic N₂ fixation domain. *Science* 327:1512-1514.
- Moisander, P. H., R. A. Beinart, M. Voss, and J. P. Zehr. 2008. Diversity and abundance of diazotrophic microorganisms in the South China Sea during intermonsoon. *International Society for Microbial Ecology* 2:954-967.
- Moisander, P. H., R. Zhang, E. A. Bolye, I. Hewson, J. P. Montoya, and J. P. Zehr. 2012. Analogous nutrient limitations in unicellular diazotrophs and *Prochlorococcus* in the South Pacific Ocean. *International Society for Microbial Ecology* 6:733-744.
- Montoya, J. P., C. M. Holl, J. P. Zehr, A. Hansen, T. A. Villareal, and D. G. Capone. 2004. High rates of N₂ fixation by unicellular diazotrophs in the oligotrophic Pacific Ocean. *Nature* 430:1027-1031.
- Moran, M. A., R. Belas, M. A. Schell, J. M. González, F. Sun, S. Sun, B. J. Binder, J. Edmonds, W. Ye, B. Orcutt, E. C. Howard, C. Meile, W. Palefsky, A. Goesmann, Q. Ren, I. Paulsen, L. E. Ulrich, L. S. Thompson, E. Saunders, and A. Buchan. 2007. Ecological genomics of marine *Roseobacters*. *Applied and Environmental Microbiology* 73:4559-4569.

- Motamedi, M., and K. Pedersen. 1998. *Desulfovibrio aespoeensis* sp. nov., a mesophilic sulfate-reducing bacterium from deep groundwater at Äspö hard rock laboratory, Sweden. *International Journal of Systematic Bacteriology* 48:311-315.
- Needoba, J.A., R. A. Foster, C. Sakamoto, J. P. Zehr, and K. S. Johnson. 2007. Nitrogen fixation by unicellular diazotrophic cyanobacteria in the temperate oligotrophic North Pacific ocean. *Limnology and Oceanography* 52:1317-1327.
- Ohki, K. 1999. A possible role of temperate phage in the regulation of *Trichodesmium* biomass. Pages 287-292 in L. Charpy, and A. W. D. Larkum, editors. *Marine cyanobacteria and related organisms*. Bulletin de l'Institut Oceanographique, Monaco.
- Ohki, K., M. Kamiya, D. Honda, S. Kumazawa, and K. K. Ho. 2008. Morphological and phylogenetic studies on unicellular diazotrophic cyanobacteria (*Cyanophytes*) isolated from the coastal waters around Singapore. *Journal of Phycology* 44:142-151.
- Op den Camp, H. J. M., T. Islam, M. B. Stott, H. R. Harhangi, A. Hynes, S. Schouten, M. S. M. Jetten, N. Birkeland, A. Pol, and P. F. Dunfield. 2009. Environmental, genomic and taxonomic perspectives on methanotrophic *Verrucomicrobia*. *Environmental Microbiology Reports* 1(5):293-306.
- Paerl, H. W. 1997. Coastal eutrophication and harmful algal blooms: Importance of atmospheric deposition and groundwater as “new” nitrogen and other nutrient sources. *Limnology and Oceanography* 42:1154-1165.
- Pan, X., G. T. F. Wong, F. k. Shiah, and T. Y. Ho. 2012. Enhancement of biological productivity by internal waves: observations in the summertime in the northern South China Sea. *Journal of Oceanography* 68(3):427-437.
- Peña, C., C. Reyes, P. Larralde-Corona, G. Corkidi, and E. Galindo . 2002. Characterization of *Azotobacter vinelandii* aggregation in submerged culture by digital image analysis. *FEMS Microbiology Letters* 207:173-177.
- Peñaflor, E. L., C. L. Villanoy, C. T. Liu, and L. T. David. 2007. Detection of monsoonal phytoplankton blooms in Luzon Strait with MODIS data. *Remote Sensing of Environment* 109(4):443-450.

- Pennebaker, K., K. R. M. Mackey, R. M. Smith, S. B. Williams, and J. P. Zehr. 2010. Diel cycling of DNA staining and *nifH* gene regulation in the unicellular cyanobacterium *Crocospaera watsonii* Strain WH8501 (Cyanophyta). *Environmental Microbiology* 12(4):1001-1010.
- Ploug, H., M. Kühl, B. Buchholz-Cleven, and B. B. Jørgensen. 1997. Anoxic aggregates - an ephemeral phenomenon in the pelagic environment? *Aquatic Microbial Ecology* 13:285-294.
- Popa, R., P. K. Weber, J. Pett-Ridge, J. A. Finzi, S. J. Fallon, I. D. Hutcheon, K. H. Nealson, and D. G. Capone. 2007. Carbon and nitrogen fixation and metabolite exchange in and between individual cells of *Anabaena oscillarioides*. *International Society for Microbial Ecology* 1:354-360.
- Postgate, J. 1998. *Nitrogen Fixation*, 3rd edition. Cambridge University Press, Cambridge.
- Qu, T., H. Mitsudera, and T. Yamagata. 2000. Intrusion of the North Pacific waters into the South China Sea. *Journal of Geophysical Research* 15:6415-6424.
- Raymond, J., J. L. Siefert, C. R. Staples, and R. E. Blankenship. 2004. The natural history of nitrogen fixation. *Molecular Biology and Evolution* 21(3):541-554.
- Reade, J. P. H., L. J. Dougherty, L. J. Rogers, and J. R. Gallon. 1999. Synthesis and proteolytic degradation of nitrogenase in cultures of the unicellular cyanobacterium *Gloeotheca* strain ATCC 27152. *Microbiology* 145:1749-1758.
- Reddy, K. J., J. B. Haskell, D. M. Sherman, and L. A. Sherman. 1993. Unicellular, aerobic nitrogen-fixing cyanobacteria of the genus *Cyanothece*. *Journal of Bacteriology* 175:1284-1292.
- Redfield, A. C., B. H. Ketchum, and F. A. Richards. 1963. The influence of organisms on the composition of sea water. Page 26-77 in M. N. Hill, editor. *The sea, composition of sea-water*. Wiley-Interscience, New York.
- Rees, A. P., J. A. Gilbert, and B. A. Kelly-Gerreyn. 2009. Nitrogen fixation in the western English Channel (NE Atlantic Ocean). *Marine Ecology Progress Series*

374:7-12.

- Riemann, L., H. Farnelid, and G. F. Steward. 2010. Nitrogenase genes in non-cyanobacterial plankton: prevalence, diversity and regulation in marine waters. *Aquatic Microbial Ecology* 61:235-247.
- Rijkenberg, M. J. A., S. Steigenberger, C. F. Powell, H. van Haren, M. D. Patey, A. R. Baker, and E. P. Achterberg. 2012. Fluxes and distribution of dissolved iron in the eastern (sub-) tropical North Atlantic Ocean. *Global Biogeochemical Cycles* 26:GB3004.
- Ruvkun G. B., and F. M. Ausubel. 1980. Interspecies homology of nitrogenase genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 77(1):191-195.
- Saito, M. A., E. M. Bertrand, S. Dutkiewicz, V. V. Bulygin, D. M. Moran, F. M. Monteiro, M. J. Follows, F. W. Valois, and J. B. Waterbury. 2011. Iron conservation by reduction of metalloenzyme inventories in the marine diazotroph *rocosphaera watsonii*. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108(6):2184-2189.
- Sakaguchi, T., A. Arakaki, and T. Matsunaga. 2002. *Desulfovibrio magneticus* sp. nov., a novel sulfate-reducing bacterium that produces intracellular single-domain-sized magnetite particles. *International Journal of Systematic Bacteriology* 52:215-221.
- Sangra, P., G. Basterretxea, J. L. Pelegri, and J. Aristegui. 2001. Chlorophyll increase due to internal waves on the shelf break of Gran Canaria (Canary Islands). *Scientia Marina* 65:89-97.
- Sañudo-Wilhelmy, S. A., A. B. Kustka, C. J. Gobler, D. A. Hutchins, M. Yang, K. Lwiza, J. Burns, D. G. Capone, J. A. Raven, and E. J. Carpenter. 2001. Phosphorus limitation of nitrogen fixation by *Trichodesmium* in the central Atlantic Ocean. *Nature* 411(6833):66-69.
- Schneegurt, M. A., D. M. Sherman, S. Nayar, and L. A. Sherman. 1994. Oscillating behavior of carbohydrate granule formation and dinitrogen fixation in the cyanobacterium *Cyanothece* sp. strain ATCC-51142. *Journal of Bacteriology* 176:1586-1597.

- Shaked, Y. A., B. Kustka, and F. M. M. Morel. 2005. General kinetic model for iron acquisition by eukaryotic phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 50:872-882.
- Sherman, L. A., H. Min, J. Toepel, and H. B. Pakrasi. 2010. Better living through *Cyanothece* - unicellular diazotrophic cyanobacteria with highly versatile metabolic systems. Pages 275-290 in P. C. Hallenbeck, editor. Recent advances in phototrophic prokaryotes. Springer New York, USA.
- Shi, T., I. Ilikchyan, S. Rabouille, and J. P. Zehr. 2010. Genome-wide analysis of diel gene expression in the unicellular N₂-fixing cyanobacterium *Crocospaera watsonii* WH 8501. *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology* 4:621-632.
- Shiah, F. K., G. C. Gong, and T. Xiao. 2006. Effects of ChangJiang River summer discharge on the bottom-up control processes of shelf bacterial growth. *Aquatic Microbial Ecology* 44:105-113.
- Short, S. M., and J. P. Zehr. 2007. Nitrogenase gene expression in the Chesapeake Bay Estuary. *Environmental Microbiology* 9(6):1591-1596.
- Simmons, H., M. H. Chang, Y. T. Chang, S. Y. Chao, O. Fringer, C. R. Jackson, and D. S. Ko. 2011. Modeling and prediction of internal waves in the South China Sea. *Oceanography* 24:88-99.
- Sohm, J. A., J. A. Hilton, A. E. Noble, J. P. Zehr, M. A. Saito, and E. A. Webb. 2011. Nitrogen fixation in the South Atlantic Gyre and the Benguela Upwelling System. *Geophysical Research Letters* 38:L16608.
- Soong, Y. S., J. H. Hu, C. R. Ho, and P. P. Niiler. 1995. Coldcore eddy detected in South China Sea. *Eos, Transactions American Geophysical Union* 76(35):345-347.
- St. Laurent, L., H. Simmons, T. Y. Tang, and Y. H. Wang. 2011. Turbulent properties of internal waves in the South China Sea. *Oceanography* 24(4):78-87.
- Stal, L. J. 2009. Is the distribution of nitrogen-fixing cyanobacteria in the oceans related to temperature? *Environmental Microbiology* 11(7):1632-1645.
- Stephens, N., K. J. Flynn, and J. R. Gallon. 2003. Interrelationships between the

- pathways of inorganic nitrogen assimilation in the cyanobacterium *Gloeotheca* can be described using a mechanistic mathematical model. New Phytologist Trust 160:545-555.
- Strickland, J. M., and T. R. Parsons. 1972. Inorganic micronutrients in sea water. Pages 49-77 in J. C. Stevenson, L. W. Billingsley, and R. H. Wigmore, editors. A practical handbook of seawater analysis. Fisheries Research Board of Canada, Ottawa.
- Su, J. 2004. Overview of the South China Sea circulation and its influence on the coastal physical oceanography outside the Pearl River Estuary. Continental Shelf Research 24:1745-1760.
- Subramaniam, A., C. Mahaffey, W. Johns, and N. Mahowald. 2013. Equatorial upwelling enhances nitrogen fixation in the Atlantic Ocean. Geophysical Research Letters doi:10.1002/grl.50250.
- Sweeney, E. N., D. J. McGillicuddy Jr. and K. O. Buesseler. 2003. Biogeochemical impacts due to mesoscale eddy activity in the Sargasso Sea as measured at the Bermuda Atlantic Time-series Study (BATS). Deep-Sea Research II 50:3017-3039.
- Takamura, T., H. Okamoto, Y. Maruyama, A. Numaguti, A. Higurashi, and T. Nakajima. 2000. Global three-dimensional simulation of aerosol optical thickness distribution of various origins. Journal of Geophysical Research 105(D14):17853-17873.
- Taniuchi, Y., A. Murakami, and K. Ohki. 2008a. Whole-cell immunocytochemical detection of nitrogenase in cyanobacteria: improved protocol for highly fluorescent cells. Aquatic Microbial Ecology 51:237-247.
- Taniuchi, Y., and K. Ohki. 2007. Relation between nitrogenase synthesis and activity in a marine unicellular diazotrophic strain, *Gloeotheca* sp. 68DGA (Cyanophyte), grown under different light/dark regimens. Phycological Research 55:249-256.
- Taniuchi, Y., S. Yoshikawa, S. Maeda, T. Omata, and K. Ohki. 2008b. Diazotrophy under continuous light in a marine unicellular diazotrophic cyanobacterium, *Gloeotheca* sp. 68DGA. Microbiology 154:1859-1865.
- Taniuchi, Y., Y. L. L. Chen, H. Y. Chen, M. L. Tsai, and K. Ohki. 2011. Isolation and

- characterization of the unicellular diazotrophic cyanobacterium Group C TW3 from the tropical western Pacific Ocean. *Environmental Microbiology* 14:641.
- Thomas, J. H., P. M. Mullineaux, A. D. Cronshaw, A. E. Chaplin, and J. R. Gallon. 1982. The effects of structural analogues of amino acids on assimilation and acetylene reduction (nitrogen fixation) in *Gloecapsa (Gloeotheca)* sp. CCAP 1430/3. *Journal of General Microbiology* 128:885-893.
- Thomas, W. H. 1966. Surface nitrogenous nutrients and phytoplankton in the northeastern tropical Pacific Ocean. *Limnology and Oceanography* 11:393-400.
- Thompson, A. W., R. A. Foster, A. Krupke, B. J. Carter, N. Musat, D. Vaultot, M. M. M. Kuypers, and J. P. Zehr. 2012. Unicellular cyanobacterium symbiotic with a single-celled eukaryotic alga. *Science* 337:1546-1550.
- Tranter, D. J., G. S. Leech, and D. J. Vaudrey. 1982. Biological significance of surface flooding in warm-core ocean eddies. *Nature* 297:572-574.
- Tripp, H. J., S. R. Bench, K. A. Turk, R. A. Foster, B. A. Desany, F. Niazi, J. P. Affourtit, and J. P. Zehr. 2010. Metabolic streaming in an open-ocean nitrogen-fixing cyanobacterium. *Nature* 464:90-94.
- Tseng, C. M., G. T. F. Wong, I. I. Lin, C. R. Wu, and K. K. Liu. 2005. A unique seasonal pattern in phytoplankton biomass in low-latitude waters in the South China Sea. *Geophysical Research Letters* 32:L08608.
- Tuit, C., J. Waterbury, and G. Ravizza. 2004. Diel variation of molybdenum and iron in marine diazotrophic cyanobacteria. *Limnology and Oceanography* 49(4):978-990.
- Turk, K. A., A. P. Rees, J. P. Zehr, N. Pereira, P. Swift, R. Shelley, M. Lohan, E. M. S. Woodward, and J. Gilbert. 2011. Nitrogen fixation and nitrogenase (*nifH*) expression in tropical waters of the eastern North Atlantic. *International Society for Microbial Ecology* 5:1201-1212.
- Vadstein, O., L. M. Olsen, A. Busch, T. Andersen, and H. R. Reinertsen. 2003. Is phosphorus limitation of planktonic heterotrophic bacteria and accumulation of degradable DOC a normal phenomenon in phosphorus-limited systems? A microcosm study. *FEMS Microbiology Ecology* 46:307-316.

- Wang, G. H., J. L. Su, and P. C. Chu. 2003. Mesoscale eddies in the South China Sea observed with altimeter data. *Geophysical Research Letters* 30(21):2121.
- Wang, S. H., N. C. Hsu, S. C. Tsay, N. H. Lin, A. M. Sayer, S. J. Huang, and W. K. M. Lau.. 2012. Can Asian dust trigger phytoplankton blooms in the oligotrophic northern South China Sea? *Geophysical Research Letters* 39:L05811.
- Wang, S. H., S. C. Tsay, N. H. Lin, N. C. Hsu, S. W. Bell, C. Li, Q. Ji, M. Jae Jeong, R. A. Hansell, E. J. Welton, B. N. Holben, G. R. Sheu, Y. C. Chu, S. C. Chang, J. J. Liu, and W. L. Chiang. 2011. First detailed observations of long-range transported dust over the northern South China Sea. *Atmospheric Environment* 45:4804-4808.
- Wang, Y. H., C. F. Dai, and Y. Y. Chen. 2007. Physical and ecological processes of internal waves on an isolated reef ecosystem in the South China Sea. *Geophysical Research Letters* 34:L18609.
- Waterbury, J. B., and R. Rippka. 1989. The order Chroococcales. Pages 1728-1746 in J. T. Staley, M. P. Bryant, N. Pfennig, and J. G. Holt, editors. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, volume 3. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.
- Waterbury, J. B., S. W. Watson, F. W. Valois, and D. G. Franks. 1986. Biological and ecological characterization of the marine unicellular cyanobacterium *Synechococcus*. Pages 71-120 in T. Platt and W. K. W. Li, editors. *Photosynthetic picoplankton*. Canadian bulletin of fisheries and aquatic sciences, Department of Fisheries and Oceans, Ottawa, Canada.
- Webb, E. A., I. M. Ehrenreich, S. L. Brown, F. W. Valois, and J. B. Waterbury. 2009. Phenotypic and genotypic characterization of multiple strains of the diazotrophic cyanobacterium, *Crocosphaera watsonii*, isolated from the open ocean. *Environmental Microbiology* 11(2):338-348.
- Wen, L. S., K. T. Jiann, and P. H. Santschi. 2006. Physicochemical speciation of bioactive trace metals (Cd, Cu, Fe, Ni) in the oligotrophic South China Sea. *Marine Chemistry* 101:104-129.
- Wong, G. T. F., C. M. Tseng, L. S. Wen, and S. W. Chung. 2007. Nutrient dynamics and N-anomaly at the SEATS station. *Deep-Sea Research II* 54:1528-1545.

- Wong, G. T. F., S. W. Chung, F. K. Shiah, C. C. Chen, L. S. Wen, and K. K. Liu. 2002. Nitrate anomaly in the upper nutricline in the northern South China Sea-Evidence for nitrogen fixation. *Geophysical Research Letters* 29(23):2097.
- Wu, C. R., T. Y. Tang, and S. F. Lin. 2005. Intra-seasonal variation in the velocity field of the northeastern South China Sea. *Continental Shelf Research* 25:2075-2083.
- Wu, J. F., E. Boyle, W. Sunda, and L. S. Wen. 2001. Soluble and colloidal iron in the oligotrophic North Atlantic and North Pacific. *Science* 293(5531):847-849.
- Wu, J. F., S. W. Chung, L. S. Wen, K. K. Liu, Y. L. L. Chen, H. Y. Chen, and D. M. Karl. 2003. Dissolved inorganic phosphorus, dissolved iron, and *Trichodesmium* in the oligotrophic South China Sea. *Global Biogeochemical Cycles* 17(1):doi:10.1029/2002GB001924.
- Wyrtki, K. 1961. Physical oceanography of the Southeast Asian water. NAGA report vol.2 Scientific result of marine investigation of the South China Sea and Gulf of Thailand 1959-1961. Scripps Institution of Oceanography, La Jolla, California.
- Zehr, J. P., and D. G. Capone. 1996. Problems and promises of assaying the genetic potential for nitrogen fixation in the marine environment. *Microbial Ecology* 32:263-281.
- Zehr, J. P., and H. W. Paerl. 2008. Molecular ecological aspects of nitrogen fixation in the marine environment. Pages 481-525 in D. L. Kirchman, editor. *Microbial ecology of the oceans*. Wiley-Liss, USA.
- Zehr, J. P., B. D. Jenkins, S. M. Short, and G. F. Steward . 2003. Nitrogenase gene diversity and microbial community structure: a cross-system comparison. *Environmental Microbiology* 5:539-554.
- Zehr, J. P., E. J. Carpenter, and T. A. Villareal. 2000. New perspectives on nitrogen-fixing microorganisms in tropical and subtropical oceans. *Trends in Microbiology* 8(2):68-73.
- Zehr, J. P., J. B. Waterbury, P. J. Turner, J. P. Montoya, E. Omoregie, G. F. Steward, A. Hansen, and D. M. Karl. 2001. Unicellular cyanobacteria fix N₂ in the subtropical

North Pacific Ocean. *Nature* 412:635-638.

Zehr, J. P., J. P. Montoya, B. D. Jenkins, I. Hewson, E. Mondragon, C. M. Short, M. J. Church, A. Hanssen, and D. M. Karl. 2007a. Experiments linking nitrogenase gene expression to nitrogen fixation in the North Pacific subtropical gyre. *Limnology and Oceanography* 52:169-183.

Zehr, J. P., M. J. Church, and P. H. Moisander. 2006. Diversity, distribution and biogeochemical significance of nitrogen-fixing microorganisms in anoxic and suboxic ocean environments. Pages 337-369 in L. N. Neretin, editor. *Past and present water column anoxia*. Springer Netherlands, Netherlands.

Zehr, J. P., M. T. Mellon, and S. Zani. 1998. New nitrogen-fixing microorganisms detected in oligotrophic oceans by amplification of nitrogenase (*nifH*) genes. *Applied and Environmental Microbiology* 64:3444-3450.

Zehr, J. P., S. R. Bench, B. J. Carter, I. Hewson, F. Niazi, T. Shi, H. J. Tripp, and J. P. Affourtit. 2008. Globally distributed uncultivated oceanic N₂-fixing cyanobacteria lack oxygenic photosystem II. *Science* 322:1110-1112.

Zehr, J. P., S. R. Bench, E. A. Mondragon, J. McCarren, and E. F. DeLong. 2007b. Low genomic diversity in tropical oceanic N₂-fixing cyanobacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104(45):17807-17812.

Zehr, P. J. 2011. Nitrogen fixation by marine cyanobacteria. *Trends in Microbiology* 19(4):162-173.

Zhang, L. H., and S. F. Chen. 2012. *Pseudacidovorax intermedius* NH-1, a novel marine nitrogen-fixing bacterium isolated from the South China Sea. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 28:2839-2847.

Zhang, Y., Z. Zhao, J. Sun, and N. Jiao. 2011. Diversity and distribution of diazotrophic communities in the South China Sea deep basin with mesoscale cyclonic eddy perturbations. *FEMS Microbiology Ecology* 78:417-427.

Zheng, G. M., and D. L. Tang. 2007. Offshore and nearshore chlorophyll increases induced by typhoon winds and subsequent terrestrial rainwater runoff. *Marine Ecology Progress Series* 333:61-74.

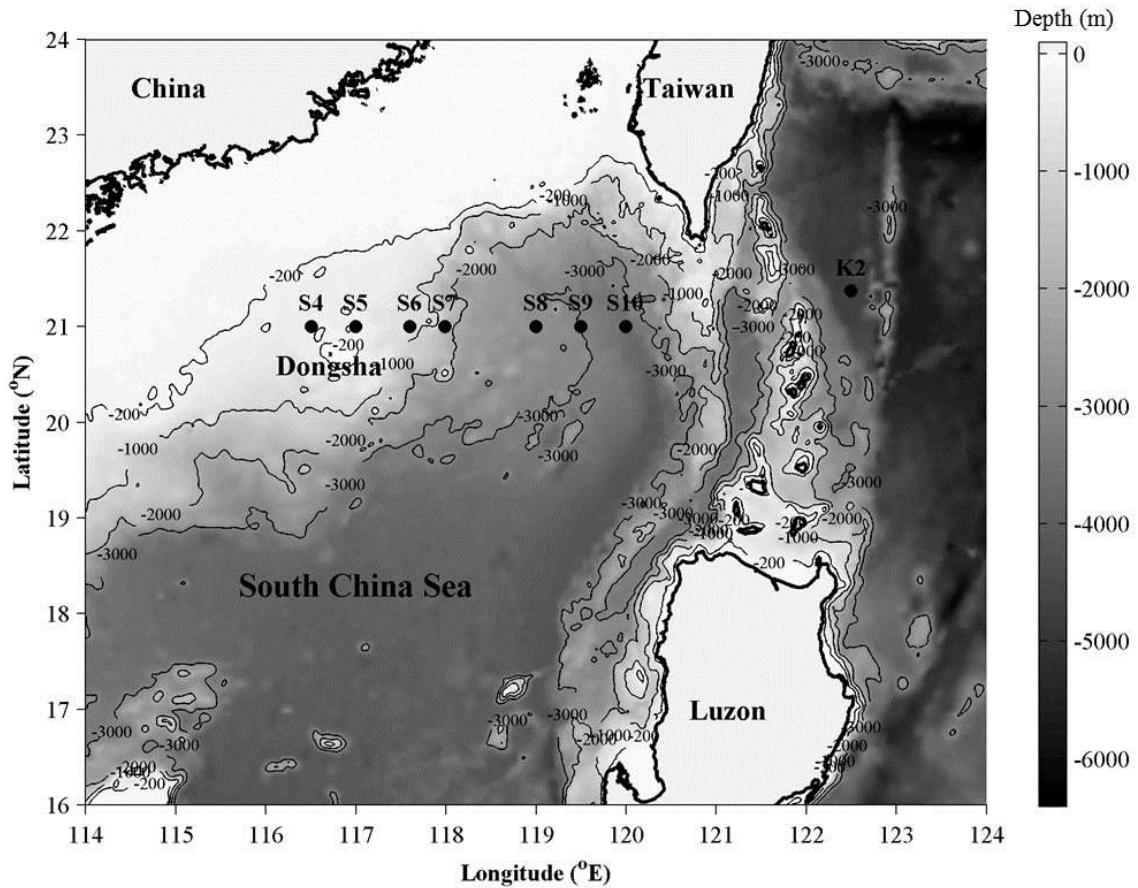


圖 3-1. 本研究探勘測站之地理位置。南海測站沿 21°N 自西向東為 S4 至 S10 站；黑潮測站為 K2 站。色階顯示水深(m)。

Figure 3-1. Location of sampling stations in the SCS along 21°N (station S4 to S10) and the Kuroshio (station K2). Color bar represents depth of bottom (m).

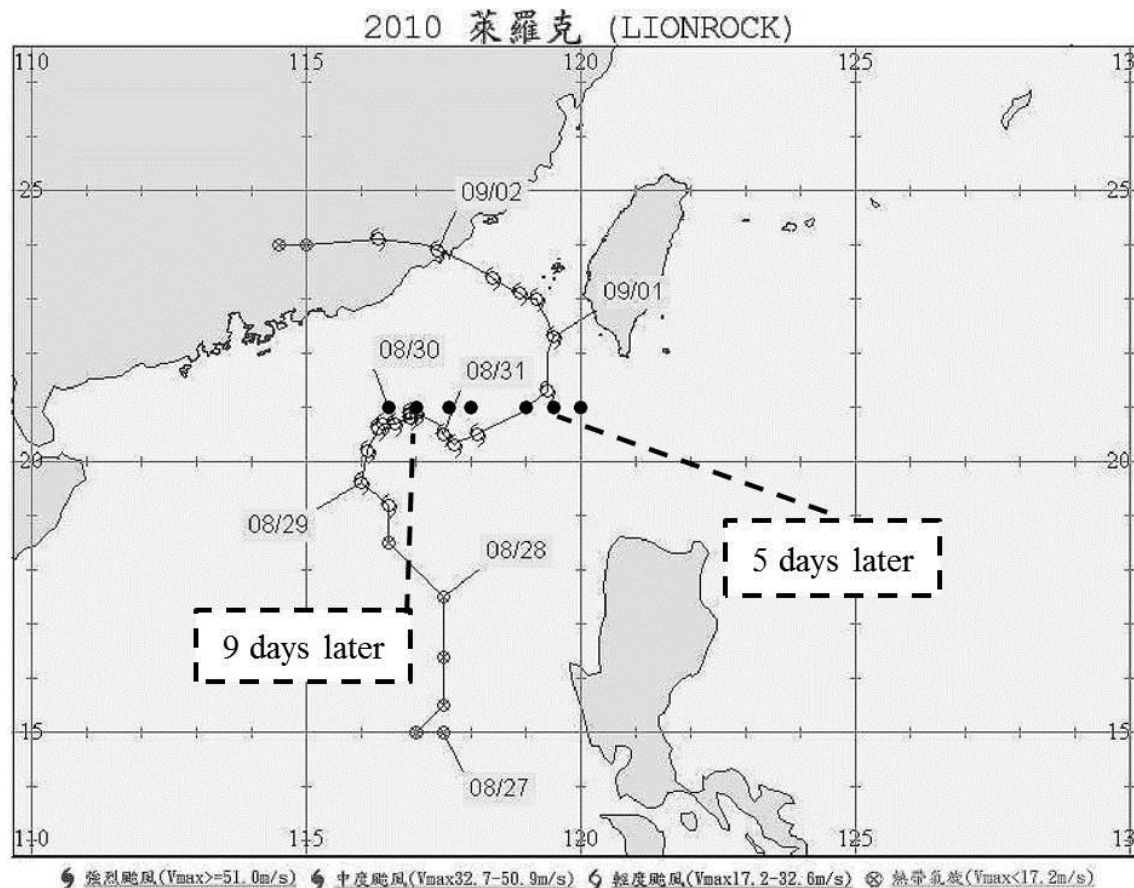


圖 3-2. 1487 航次前，輕颱萊羅克(29 Aug-02 Sep)路徑通過南海測站。黑色圓點為採樣測站，簞空圓點為颱風中心位置，颱風路徑標示間隔為每 6 小時。本航次海盆採樣在颱風後一週進行。颱風路徑標示時間為世界標準時間(UTC)，採樣標示時間為當地時間(UTC+8 小時)。(颱風資料庫 <http://rdc28.cwb.gov.tw/index.php>)。

Figure 3-2. Track of Typhoon LIONROCK (29 Aug-02 Sep) before the summer cruise CR1487. Black dots indicate sampling stations. Open dots represent the center of the typhoon which were recorded every once 6 hours. Basin samplings were taken after the passage of typhoon. Track of typhoon was recorded with time in Coordinated Universal Time (UTC). Sampling time at each station was the local time (UTC+0800 hours). (Data of the typhoon were adopted from <http://rdc28.cwb.gov.tw/index.php>)

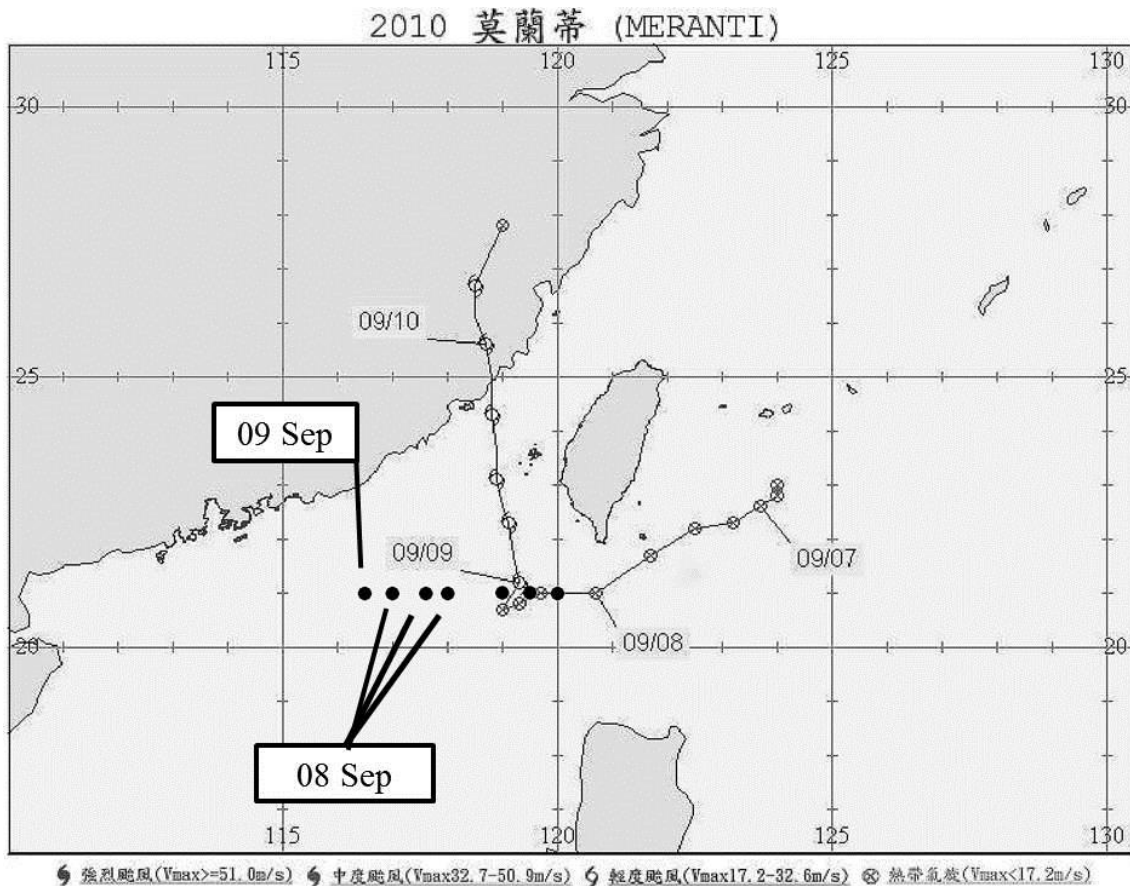


圖 3-3. 1487 航次期間輕颱莫蘭蒂(9-10 Sep)路徑。黑色圓點為採樣測站，簾空圓點為颱風中心位置，颱風路徑標示間隔為每 6 小時。熱帶氣旋形成時，研究船於 S8 站採樣。颱風路徑標示時間為世界標準時間(UTC)，採樣標示時間為當地時間(UTC+8 小時)。(颱風資料庫 <http://rdc28.cwb.gov.tw/index.php>)。

Figure 3-3. Track of Typhoon MERANTI (9-10Sep) during the summer cruise CR1487. Black dots indicate sampling stations. Open dots represent the center of the typhoon which were recorded every once 6 hours. The tropical storm was formed when sampling was conducted at Station S8. Track of typhoon was recorded with time in Coordinated Universal Time (UTC). Sampling time at each station was the local time (UTC+0800 hours). (Data of the typhoon were adopted from <http://rdc28.cwb.gov.tw/index.php>)

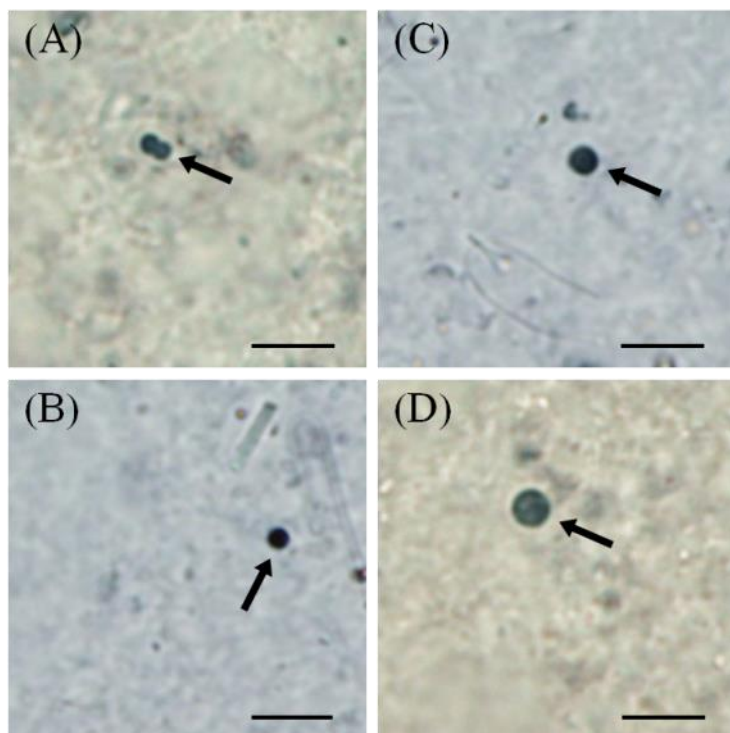


圖 3-4. 以固氮酵素抗體進行全細胞免疫化學染色法處理後，光學顯微鏡下觀察到不同大小之圓形單細胞固氮生物。(A-C)細胞直徑 $<2\ \mu\text{m}$ ；(D)細胞直徑 $>2\ \mu\text{m}$ 。Scale bar= $5\ \mu\text{m}$ 。

Figure 3-4. Microphotographs from coccoid unicellular diazotrophs stained with nitrogenase antibody by the whole-cell immunocytochemical detection. (A-C) $<2\ \mu\text{m}$ in diameter; (D) $>2\ \mu\text{m}$ in diameter. Scale bar= $5\ \mu\text{m}$.

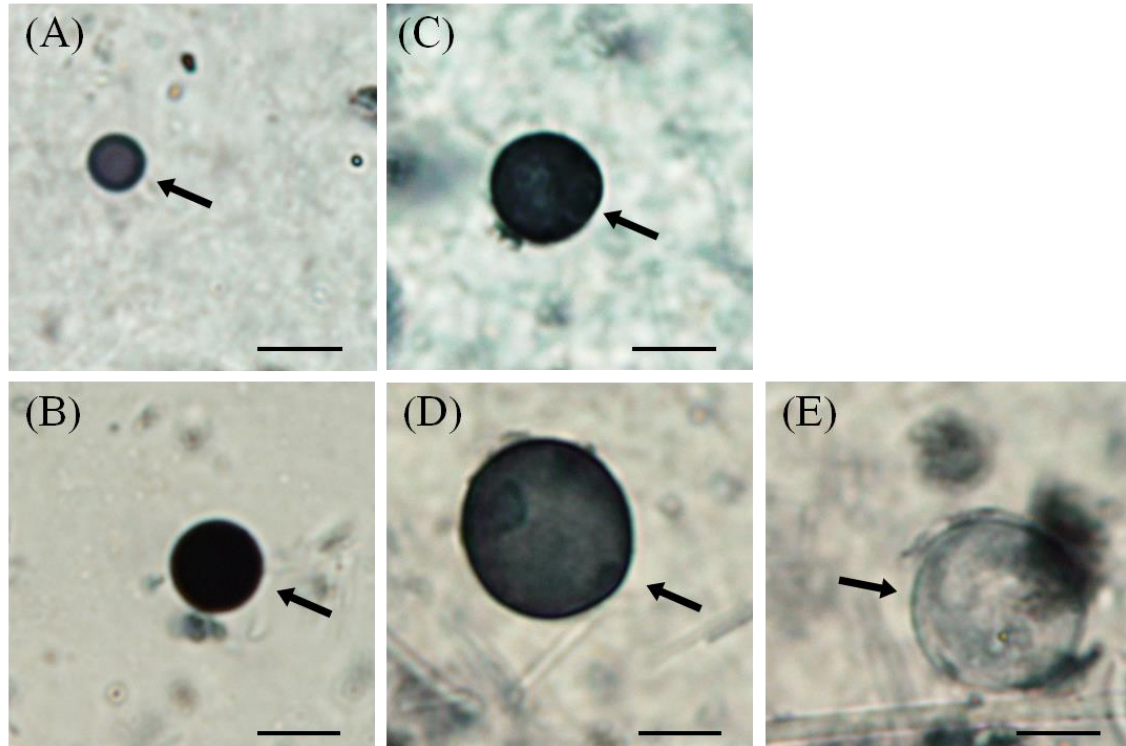


圖 3-5. 以固氮酵素抗體進行全細胞免疫化學染色法處理後，光學顯微鏡下觀察到不同大小之圓形單細胞固氮生物與非固氮單細胞生物。(A-D)細胞直徑 $>2\ \mu\text{m}$ 的圓形單細胞固氮生物(深色)；(E)為非固氮單細胞生物(未被染色)。Scale bar= $5\ \mu\text{m}$ 。

Figure 3-5. Microphotographs from coccooid unicellular diazotrophs stained with nitrogenase antibody and non-diazotrophic phytoplankton (unstained). (A-D) unicellular diazotrophs stained with nitrogenase antibody (dark), size $>2\ \mu\text{m}$ in diameter; (E) non-diazotrophic phytoplankton. Scale bar= $5\ \mu\text{m}$.

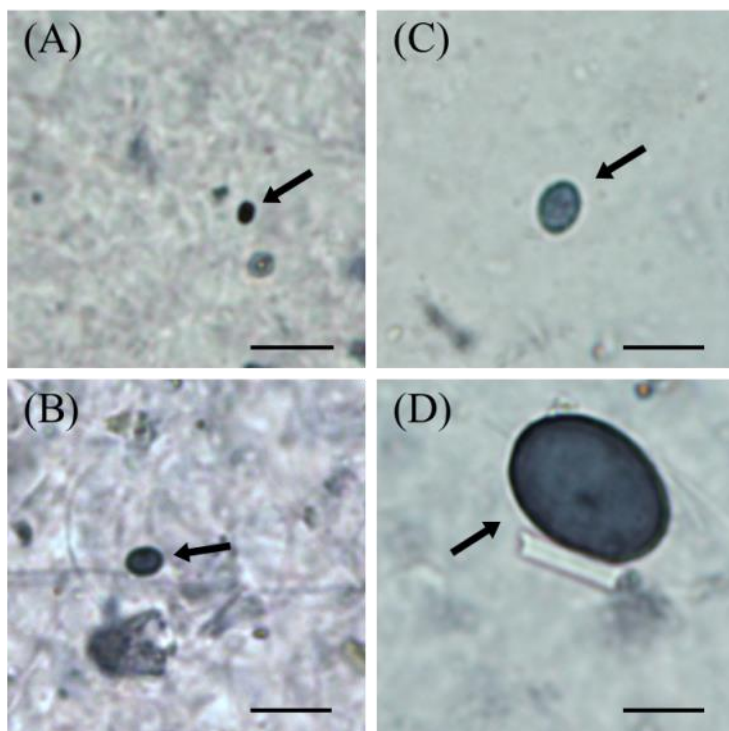


圖 3-6. 以固氮酵素抗體進行全細胞免疫化學染色法處理後，光學顯微鏡下觀察到不同大小之橢圓形單細胞固氮生物。(A)細胞直徑 $<2\ \mu\text{m}$ ；(B-D)細胞直徑 $>2\ \mu\text{m}$ 。Scale bar= $5\ \mu\text{m}$ 。

Figure 3-6. Microphotographs from rod unicellular diazotrophs stained with nitrogenase antibody by the whole-cell immunocytochemical detection. (A) $<2\ \mu\text{m}$ in diameter; (B-D) $>2\ \mu\text{m}$ in diameter. Scale bar= $5\ \mu\text{m}$.

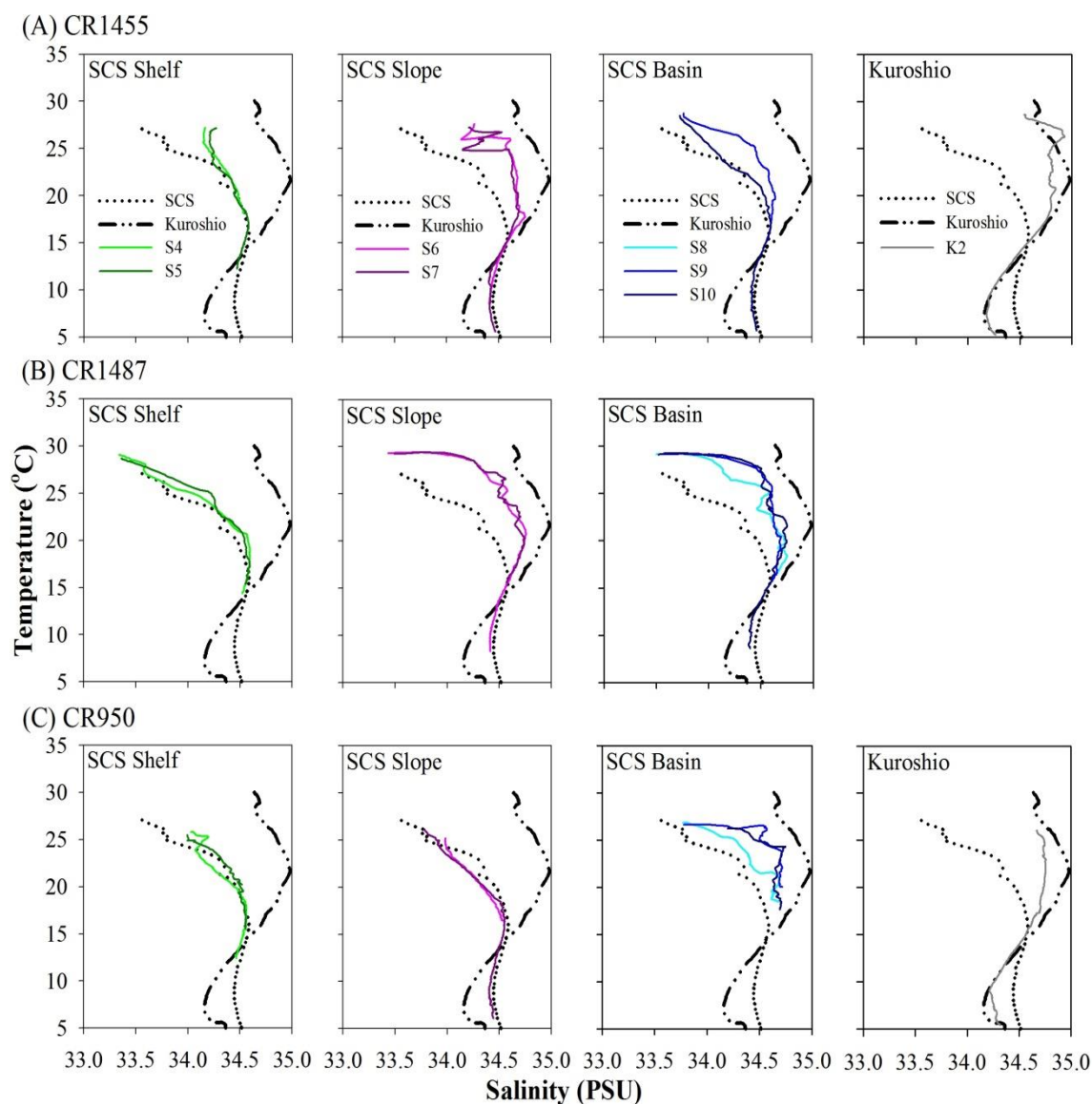


圖 4-1. 不同航次海區各測站之溫-鹽圖。南海陸棚(Shlef)測站 S4、S5；陸坡(Slope)測站 S6、S7；海盆(Basin)測站 S8、S9、S10；黑潮(Kuroshio)測站 K2。(A)1455 航次；(B)1487 航次；(C)950 航次。圖中典型南海水(SCS)與黑潮水(Kuroshio)之溫鹽取自 Chen and Huang (1996)。

Figure 4-1. T-S (temperature-salinity) diagram for the stations located on the SCS shelf, slope and basin regions and the Kuroshio during cruise (A) CR1455 (spring); (B) CR1487 (summer); (C) CR950. Typical T-S for SCS and Kuroshio curves were adopted from Chen and Huang (1996).

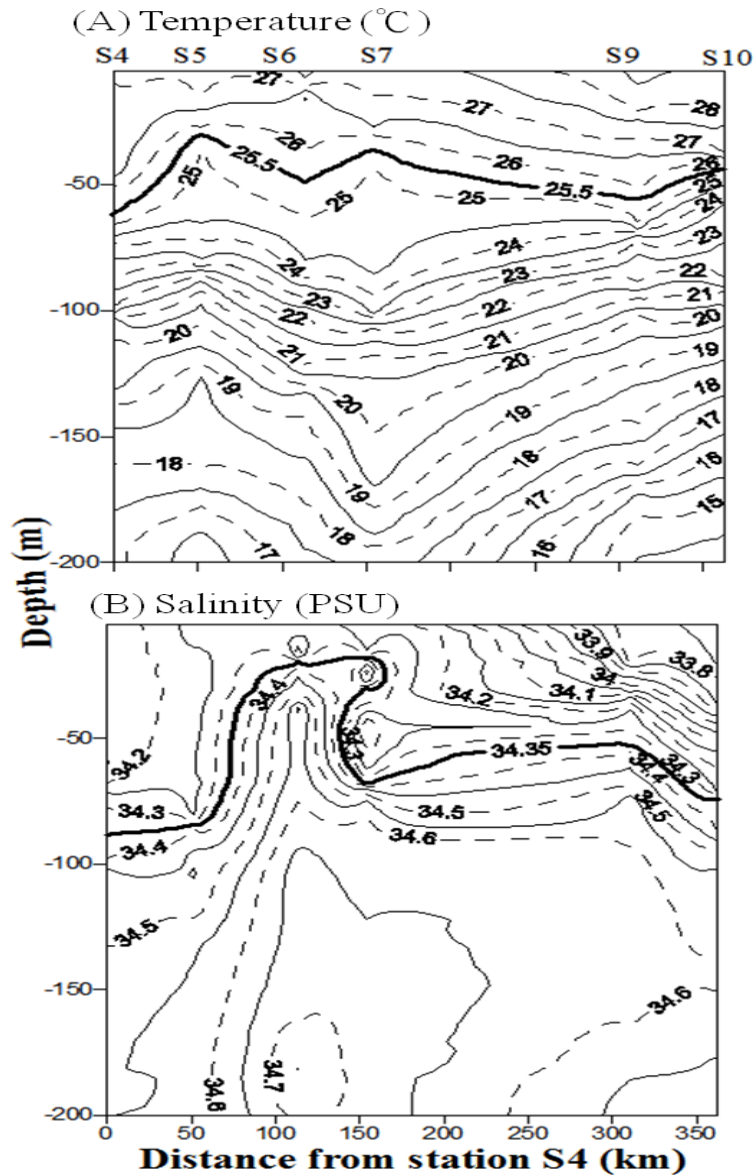


圖 4-2. 春季 1455 航次由南海陸棚(Shelf)至海盆(Basin)測站(S4 站至 S10 站)之垂直剖面。(A)溫度(Temperature)，粗線為 25.5°C 等溫線；(B)鹽度(Salinity)，粗線為 34.35 PSU 等鹽度線。

Figure 4-2. Vertical profile at across the SCS stations transect S4 to S10 during the spring cruise CR1455. (A) temperature, bold line: 25.5°C -isotherm; (B) salinity, bold line: 34.35 PSU-isohaline.

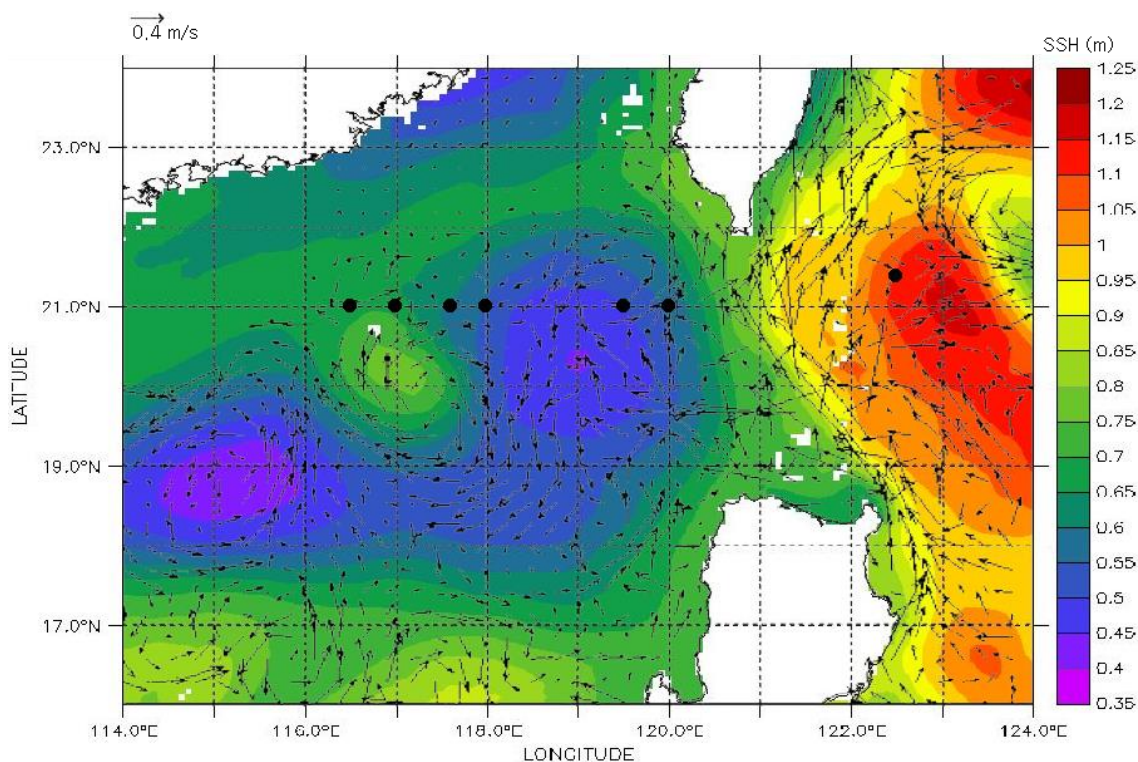


圖 4-3. 春季 1455 航次(14 May)的海水位高度(SSH, m)與海流(m s^{-1})之衛星資料。黑色圓點為採樣測站位置。海水位高度由 HYCOM+NCODA Global $1/12^\circ$ Analysis 模擬，海流資料取自 NLOM $1/32^\circ$ Nowcast 模擬。水位高度色階 0.35-1.25 m (間隔為 0.05 m)。資料取自 <http://apdrc.soest.hawaii.edu/index.php>。

Figure 4-3. Sea surface height (SSH, m) and currents (m s^{-1}) on 14 May during the spring cruise (CR1455). Black dots are sampling stations. Sea surface height were simulated from Hybrid Coordinate Ocean Model and the Navy Coupled Ocean Data Assimilation (HYCOM+NCODA) Global $1/12^\circ$ Analysis. Water currents were simulated from Navy Layered Ocean Model (NLOM) $1/32^\circ$ Nowcast. Sea surface height contouring begins from 0.35 m to 1.25 m with an interval of 0.05 m in magnitude for each successive contour. Data were adopted from <http://apdrc.soest.hawaii.edu/index.php>.

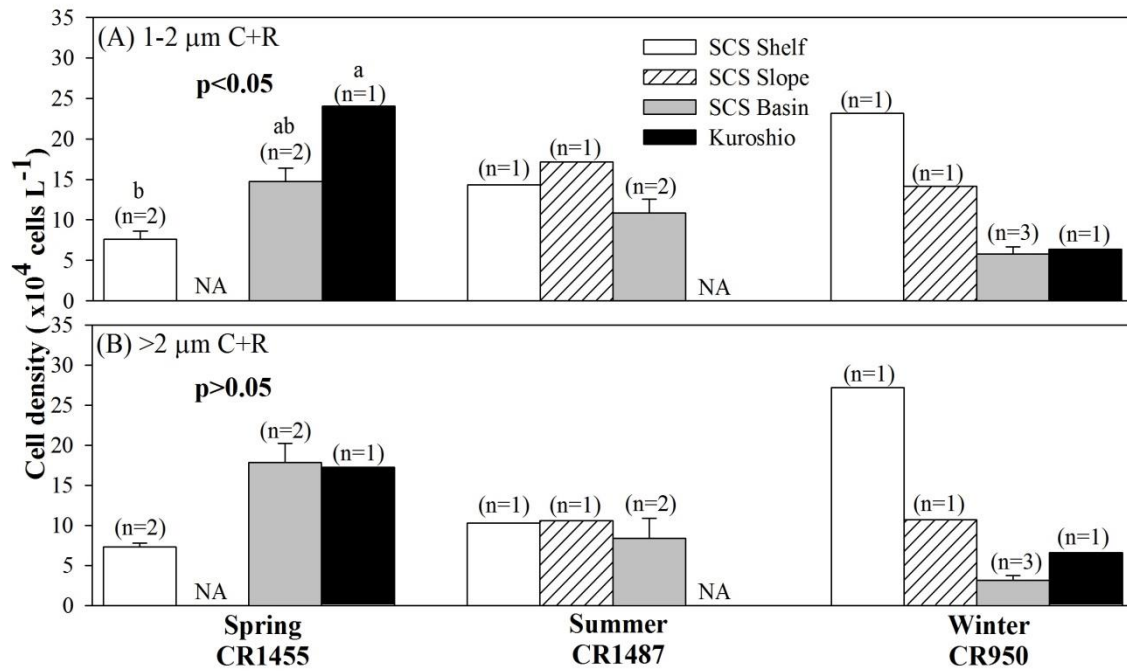


圖 4-4. 各採樣航次(春季(CR1455)、夏季(CR1487)與冬季(CR950))，比較不同海區之間(南海陸棚(Shelf)、陸坡(Slope)、海盆(Basin)和黑潮(Kuroshio))表水單細胞固氮生物之細胞密度。(A)小體型細胞(1-2 μm C+R)；(B)大體型細胞及(>2 μm C+R)。春季(CR1455)表水單細胞固氮生物細胞密度經過 1-way ANOVA 與 Duncan's multiple range test 檢測，顯著差異($p<0.05$)者用 a 或 b 表示，相同字母者之間無顯著差異。NA 表示無資料。

Figure 4-4. Comparison of surface cell densities of unicellular diazotrophs among different sampling regions during the spring (CR1455), summer (CR1487) and winter (CR950) cruises, respectively. (A) 1-2 μm C+R; (B) >2 μm C+R. Regional means were tested for the spring cruise (CR1455) with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. Significant differences ($p<0.05$) are indicated by different letters a or b. Those with the same letter are not significantly different from each other. NA means not available.

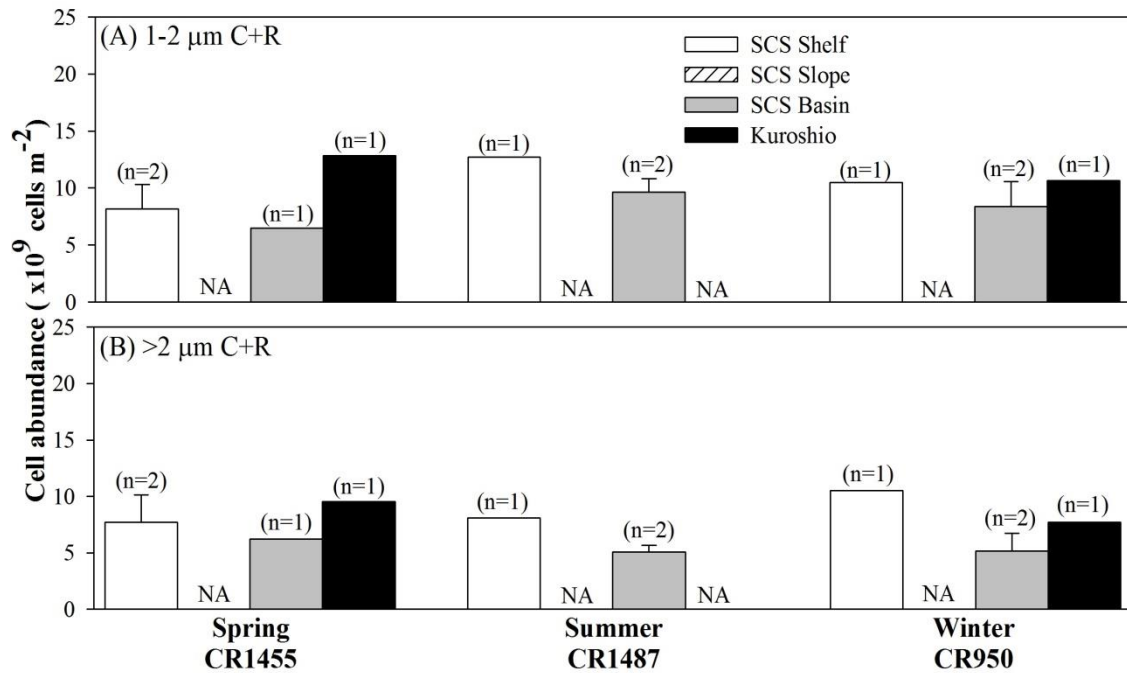


圖 4-5. 各採樣航次(春季(CR1455)、夏季(CR1487)與冬季(CR950))，比較不同海區間(南海陸棚(Shelf)、陸坡(Slope)、海盆(Basin)和黑潮(Kuroshio))水柱(0-100 m)累計單細胞固氮生物量之變動。(A)小體型細胞(1-2 μm C+R)；(B)大體型細胞及(>2 μm C+R)。NA 表示無資料。

Figure 4-5. Comparison of water column (0-100 m) integrated abundances among different sampling regions during the spring (CR1455), summer (CR1487) and winter (CR950) cruises, respectively. (A) 1-2 μm C+R; (B) >2 μm C+R abundances. NA means not available.

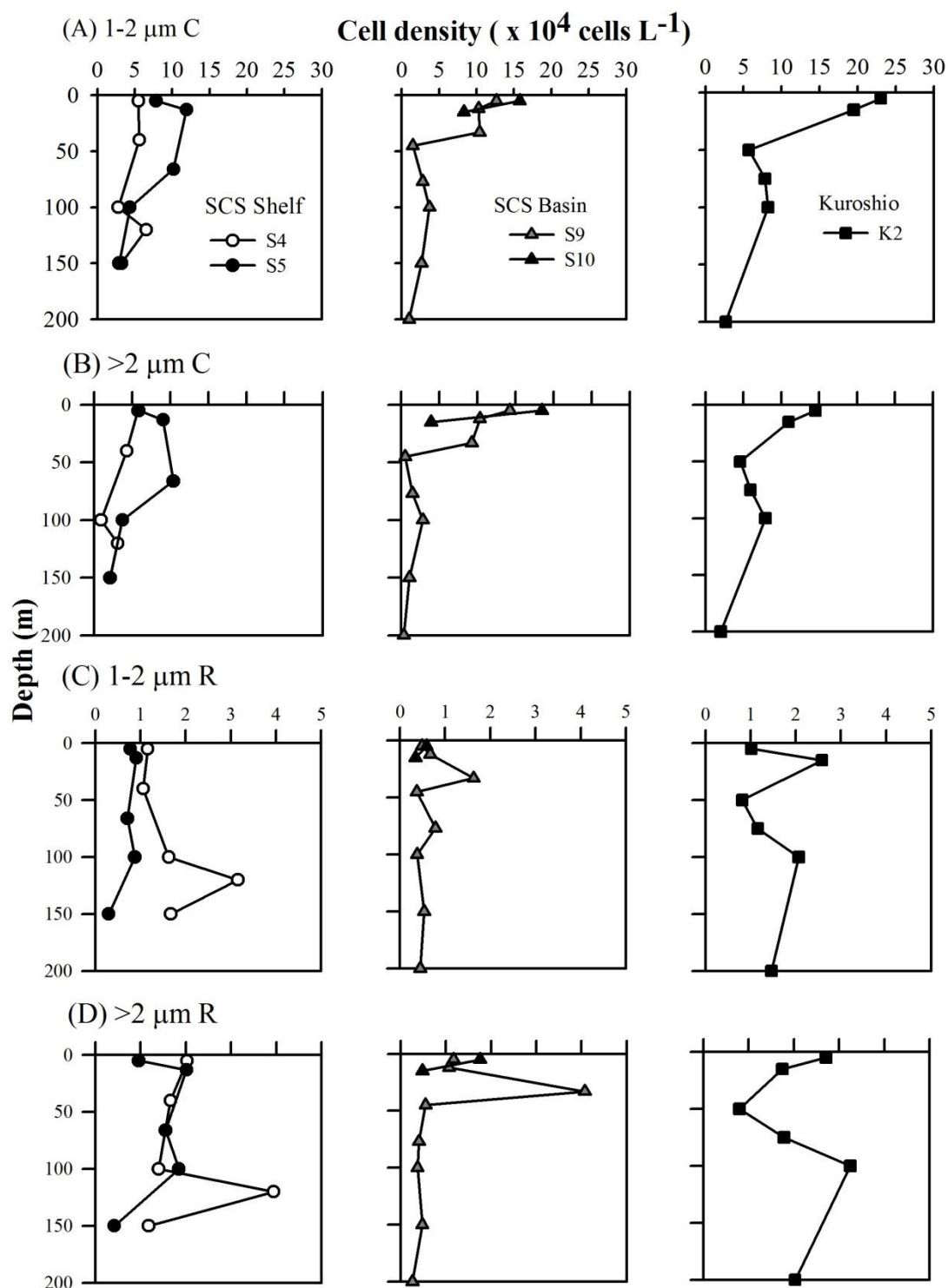


圖 4-6. 春季(CR1455)各類單細胞固氮生物在南海陸棚(Shelf)、海盆(Basin)與黑潮(Kuroshio)之垂直分布。(A) 1-2 μm C；(B) >2 μm C；(C) 1-2 μm R；(D) >2 μm R。

Figure 4-6. Vertical distributions of unicellular diazotrophs on shelf and basin regions of the SCS and the Kuroshio during the spring cruise (CR1455). (A) 1-2 μm C; (B) >2 μm C; (C) 1-2 μm R; (D) >2 μm R.

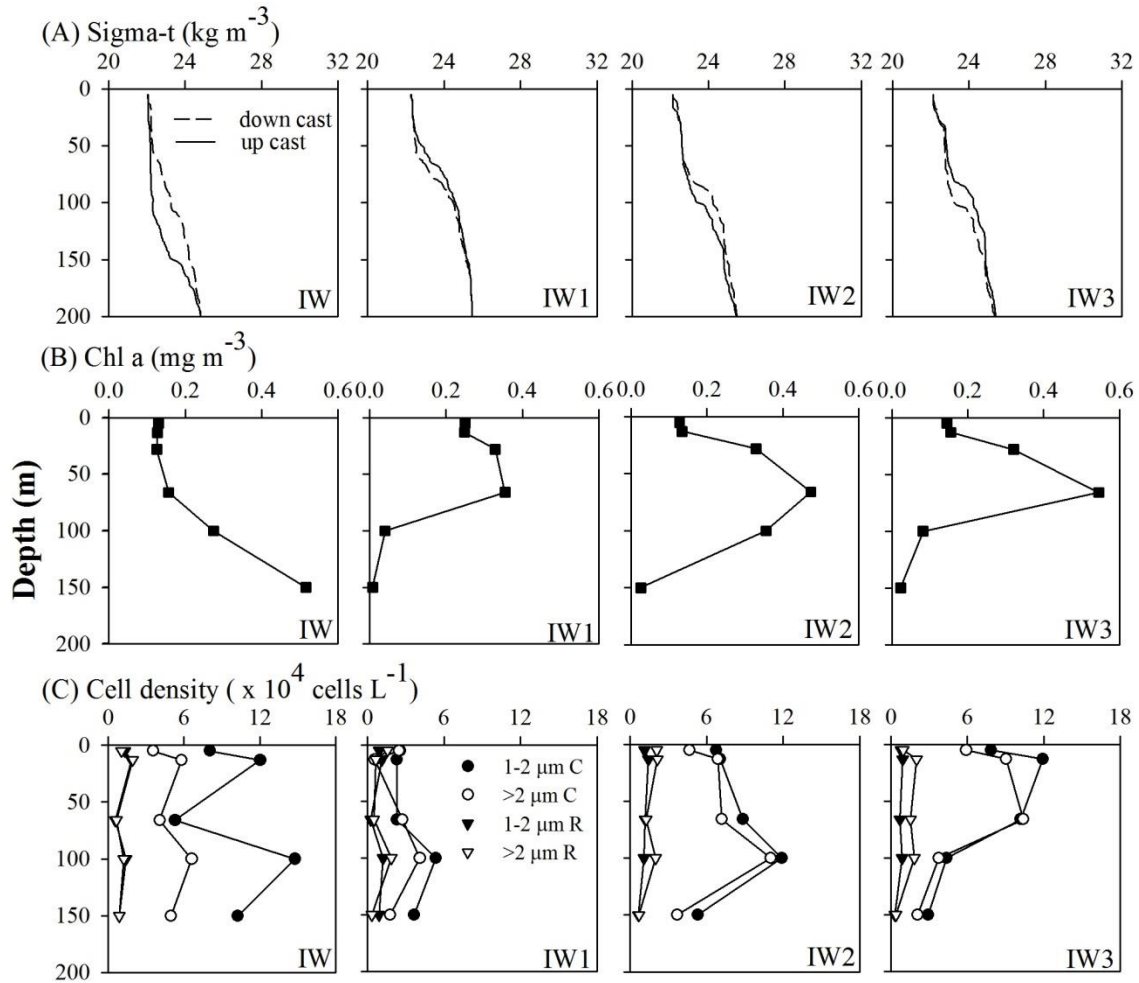
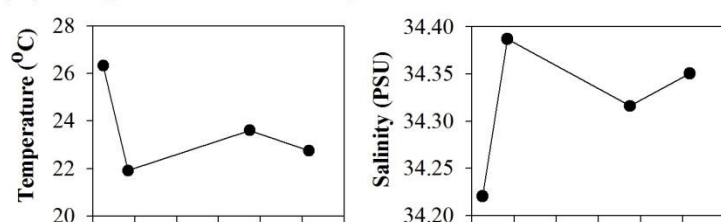


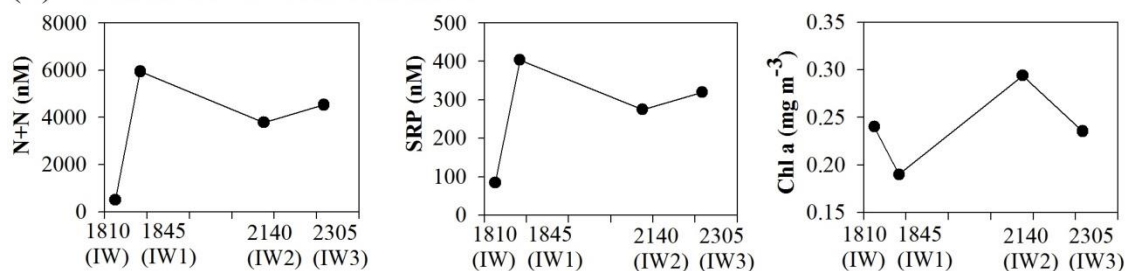
圖 4-7. 比較內波通過期間與內波通過後(A)水體密度，虛線為下放資料(down cast)，實線為上收資料(up cast)；(B)葉綠素 a 濃度；(C)各類單細胞固氮生物細胞密度(1-2 $\mu\text{m C}$ 、>2 $\mu\text{m C}$ 、1-2 $\mu\text{m R}$ 和>2 $\mu\text{m R}$)的垂直分布。IW 為內波通過中的採樣，內波通過後的採樣依序為 IW1，IW2 與 IW3。

Figure 4-7. Vertical distributions of (A) water density (Sigma-t). Dashed line: down casts; solid line: up casts; (B) Chl a concentration (Chl a); (C) cell densities of various kind of unicellular diazotrophs (1-2 $\mu\text{m C}$; >2 $\mu\text{m C}$; 1-2 $\mu\text{m R}$; >2 $\mu\text{m R}$) following the pass of internal waves. IW: cast during pass of the internal wave; IW1, IW2 and IW3: casts after internal waves.

(A) Temperature and salinity



(B) Nutrients and Chl a concentration



(C) Unicellular diazotrophs

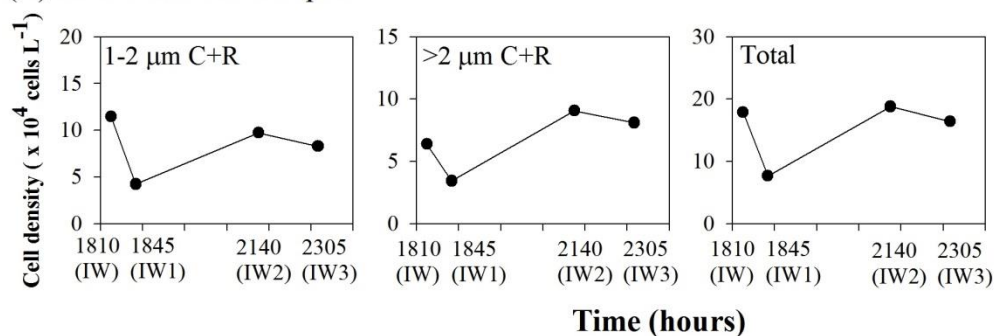


圖 4-8. 內波通過期間與內波通過後水柱(0-150 m)各生態變項平均值時間之變化。IW 為內波中的採樣(18:10)，內波後採樣依序為 IW1 (18:45)、IW2 (21:40)與 IW3 (23:05)。(A)溫度(temperature)和鹽度(salinity)；(B)營養鹽(硝酸鹽 N+N、磷酸鹽 SRP)和 Chl a 濃度(Chl a)；(C)單細胞固氮生物之平均細胞密度(1-2 μm C+R、>2 μm C+R 和 Total)。

Figure 4-8. Temporal variation on means of various ecological variables in 0-150 m water column following the pass of internal wave (IW). IW: 1810 hours; IW1: 1845 hours; IW2: 2140 hours; IW3: 2305 hours. (A) temperature; salinity; (B) nutrients including nitrate plus nitrate concentration (N+N) and phosphorus concentration(SRP); Chl a concentration. (C) cell densities of unicellular diazotrophs (1-2 μm C+R; >2 μm C+R; Total).

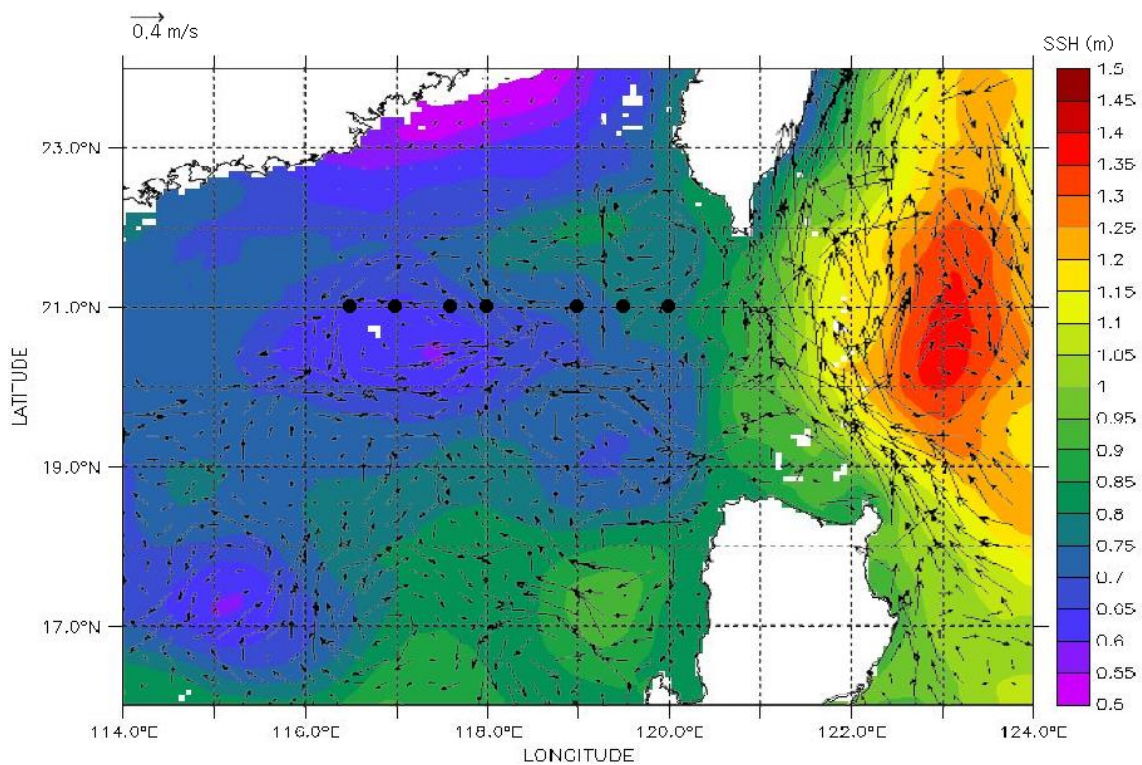


圖 4-9. 夏季 1487 航次(06 Sep)的海水位高度(SSH, m)與海流(m s^{-1})之衛星資料。黑色圓點為採樣測站位置。海水位高度由 HYCOM+NCODA Global $1/12^\circ$ Analysis 模擬，海流資料取自 NLOM $1/32^\circ$ Nowcast 模擬。水位高度色階 0.5-1.5 m (間隔為 0.05 m)。(<http://apdrc.soest.hawaii.edu/index.php>)

Figure 4-9. Sea surface height (SSH, m) and currents (m s^{-1}) on 06 September during the summer cruise (CR1487). Black dots are sampling stations. Sea surface height were simulated from Hybrid Coordinate Ocean Model and the Navy Coupled Ocean Data Assimilation (HYCOM+NCODA) Global $1/12^\circ$ Analysis. Water currents were simulated from Navy Layered Ocean Model (NLOM) $1/32^\circ$ Nowcast. The Sea surface height contouring begins from 0.5 m to 1.5 m with an interval of 0.05 m in magnitude for each successive contour. (<http://apdrc.soest.hawaii.edu/index.php>)

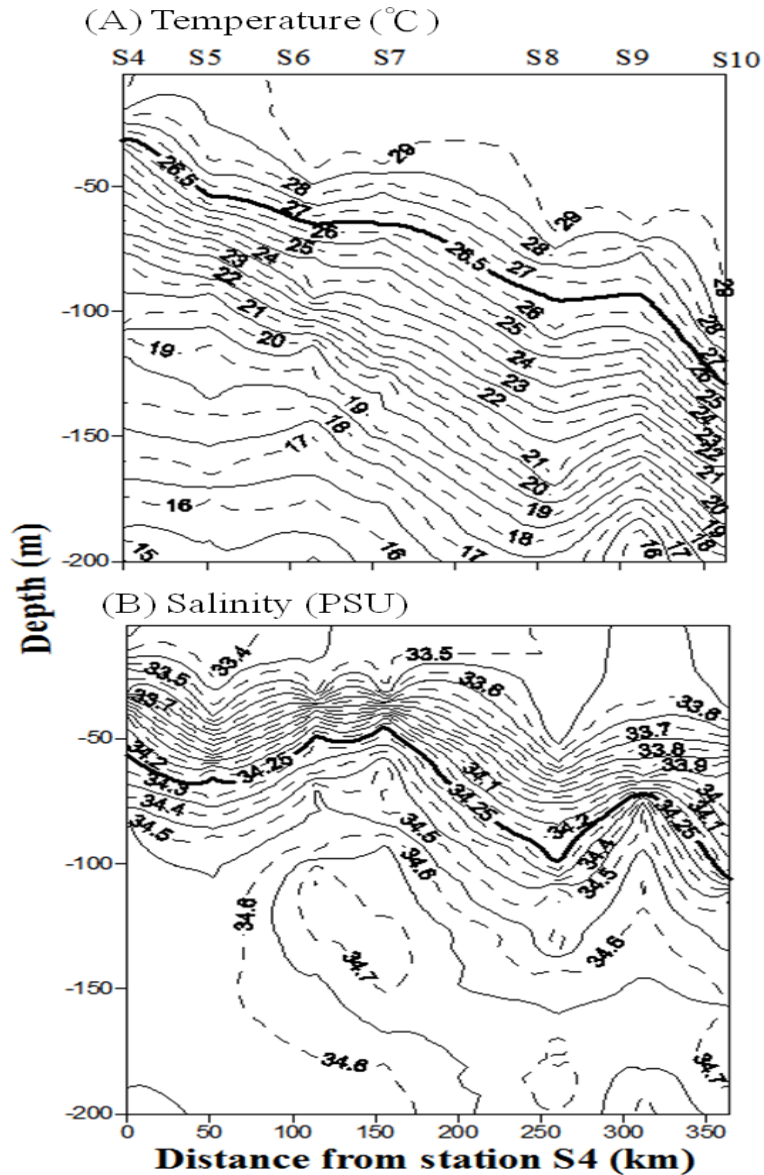


圖 4-10. 夏季 1487 航次由南海陸棚(Shelf)至海盆(Basin)測站(S4 站至 S10 站)之垂直剖面。(A)溫度(Temperature)，粗線為 26.5 $^{\circ}\text{C}$ 等溫線；(B)鹽度(Salinity)，粗線為 34.25 PSU 等鹽度線。

Figure 4-10. Vertical profile at across the SCS stations transect S4 to S10 during the spring cruise CR1455. (A) temperature, bold line: 25.5 $^{\circ}\text{C}$ -isotherm; (B) salinity, bold line: 34.35 PSU-isohaline.

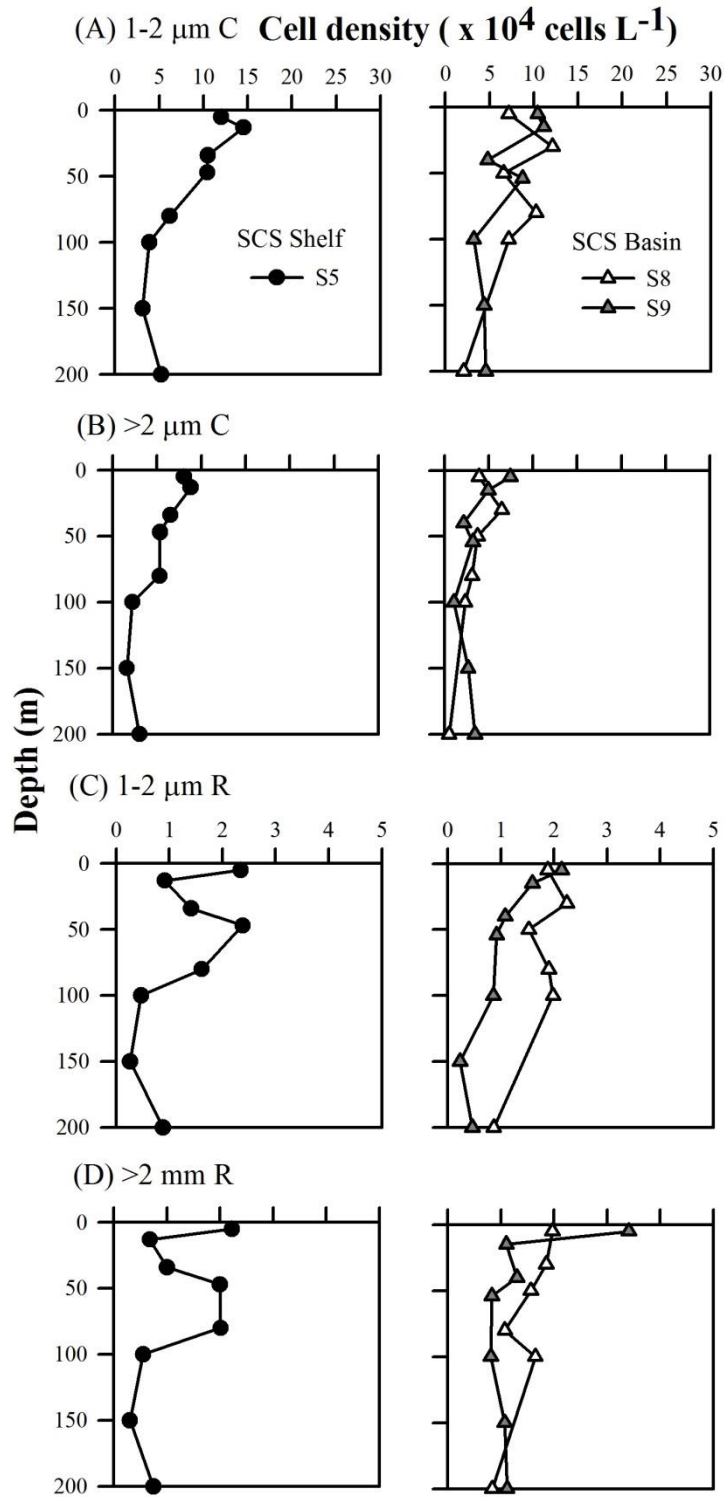


圖 4-11. 夏季(CR1487)各類單細胞固氮生物在南海陸棚(Shelf)和海盆(Basin)之垂直分布。(A) 1-2 μm C ; (B) $>2 \mu\text{m}$ C ; (C) 1-2 μm R ; (D) $>2 \mu\text{m}$ R。

Figure 4-11. Vertical distributions of unicellular diazotrophs on the shelf and basin regions of the SCS during the summer cruise (CR1487). (A) 1-2 μm C; (B) $>2 \mu\text{m}$ C; (C) 1-2 μm R; (D) $>2 \mu\text{m}$ R.

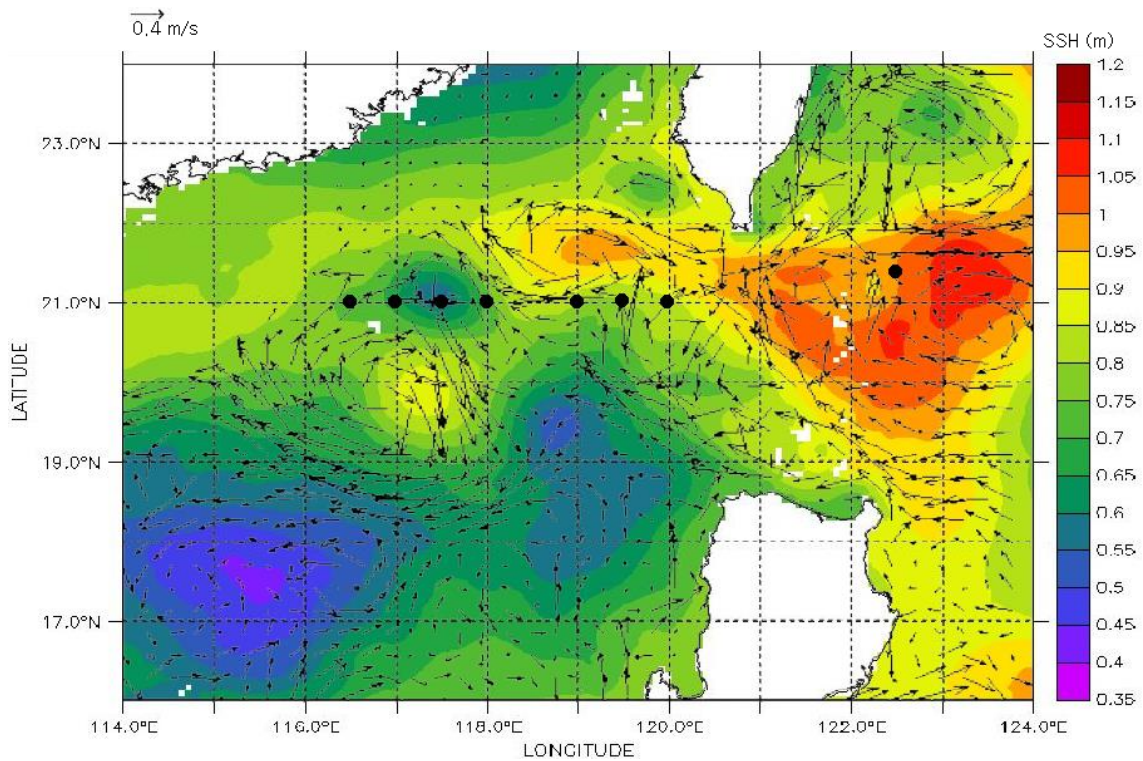


圖 4-12. 冬季 950 航次(04 Dec)的海水位高度(SSH, m)與海流(m s^{-1})之衛星資料。黑色圓點為採樣測站位置。海水位高度由 HYCOM+NCODA Global $1/12^\circ$ Analysis 模擬，海流資料取自 NLOM $1/32^\circ$ Nowcast 模擬。水位高度色階 0.35-1.25 m (間隔為 0.05 m)。(http://apdrc.soest.hawaii.edu/index.php)

Figure 4-12. Sea surface height (SSH, m) and currents (m s^{-1}) on 04 December during the winter cruise (CR950). Black dots are sampling stations. Sea surface height were simulated from Hybrid Coordinate Ocean Model and the Navy Coupled Ocean Data Assimilation (HYCOM+NCODA) Global $1/12^\circ$ Analysis. Water currents were simulated from Navy Layered Ocean Model (NLOM) $1/32^\circ$ Nowcast. The Sea surface height contouring begins from 0.35 m to 1.25 m with an interval of 0.05 m in magnitude for each successive contour. (http://apdrc.soest.hawaii.edu/index.php)

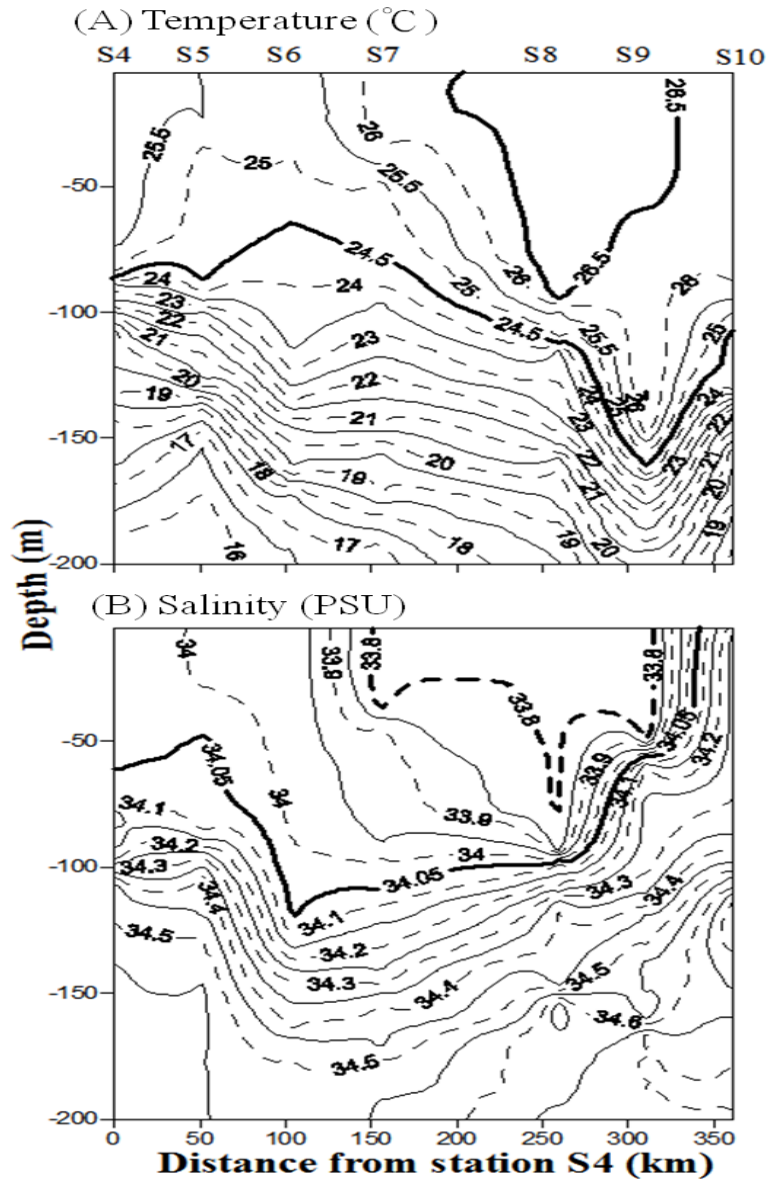


圖 4-13. 冬季 950 航次由南海陸棚(Shelf)至海盆(Basin)測站(S4 站至 S10 站)之垂直剖面。(A)溫度(Temperature)，粗線為 24.5°C、26.5°C 等溫線；(B)鹽度(Salinity)，粗線為 33.8 PSU、34.05 PSU 等鹽度線。

Figure 4-13. Vertical profile at across the SCS stations transect S4 to S10 during the spring cruise CR1455. (A) temperature, bold line: 24.5°C, 25.5°C-isotherm; (B) salinity, bold line: 33.8 PSU, 34.35 PSU-isohaline.

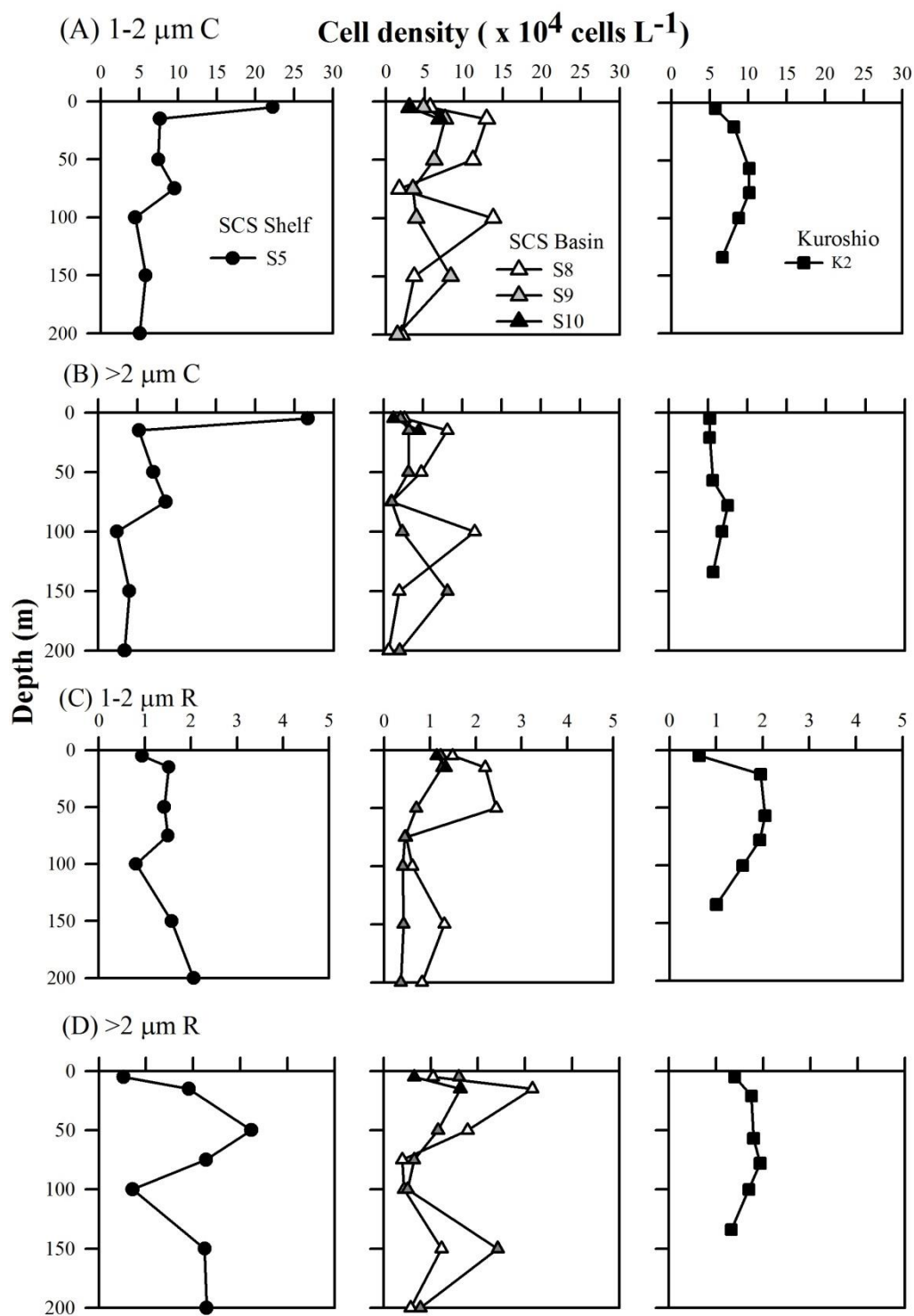


圖 4-14. 冬季(CR950)各類單細胞固氮生物在南海陸棚(Shelf)、海盆(Basin)與黑潮(Kuroshio)之垂直分布。(A) 1-2 $\mu\text{m C}$; (B) >2 $\mu\text{m C}$; (C) 1-2 $\mu\text{m R}$; (D) >2 $\mu\text{m R}$ 。

Figure 4-14. Vertical distributions of unicellular diazotrophs on the shelf and basin regions of the SCS and the Kuroshio during the winter cruise (CR950). (A) 1-2 $\mu\text{m C}$; (B) >2 $\mu\text{m C}$; (C) 1-2 $\mu\text{m R}$; (D) >2 $\mu\text{m R}$.

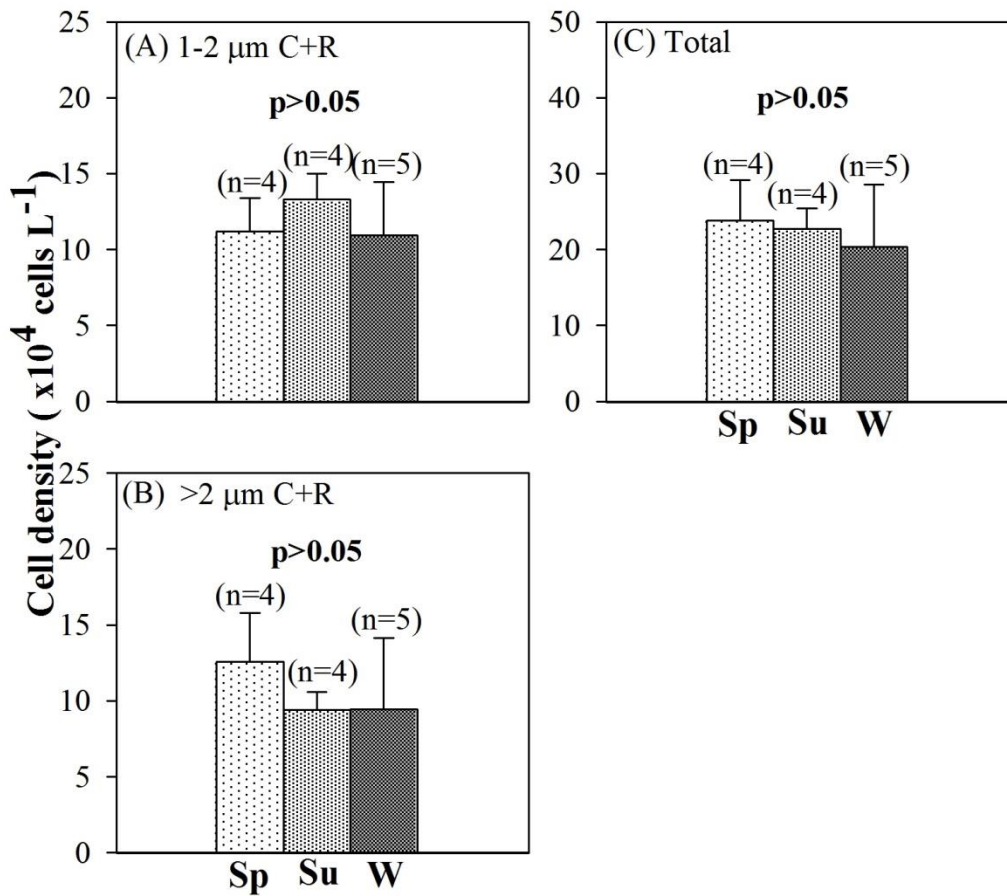


圖 4-15.南海表水單細胞固氮生物之細胞密度在季節間的變動(春季(Sp)、夏季(Su)和冬季(W))。以 1-way ANOVA 測試季節間差異不顯著($p>0.05$)。(A)小體型細胞(1-2 μm C+R)；(B)大體型細胞(>2 μm C+R)；(C)總細胞密度(Total)。

Figure 4-15. Seasonal variations on the cell densities on surface water of unicellular diazotrophs in the SCS among the spring (Sp), summer (Su) and winter (W). Seasonal differences were not significant ($p>0.05$) after being tested by one-way ANOVA. (A) 1-2 μm C+R; (B) >2 μm C+R; (C) Total.

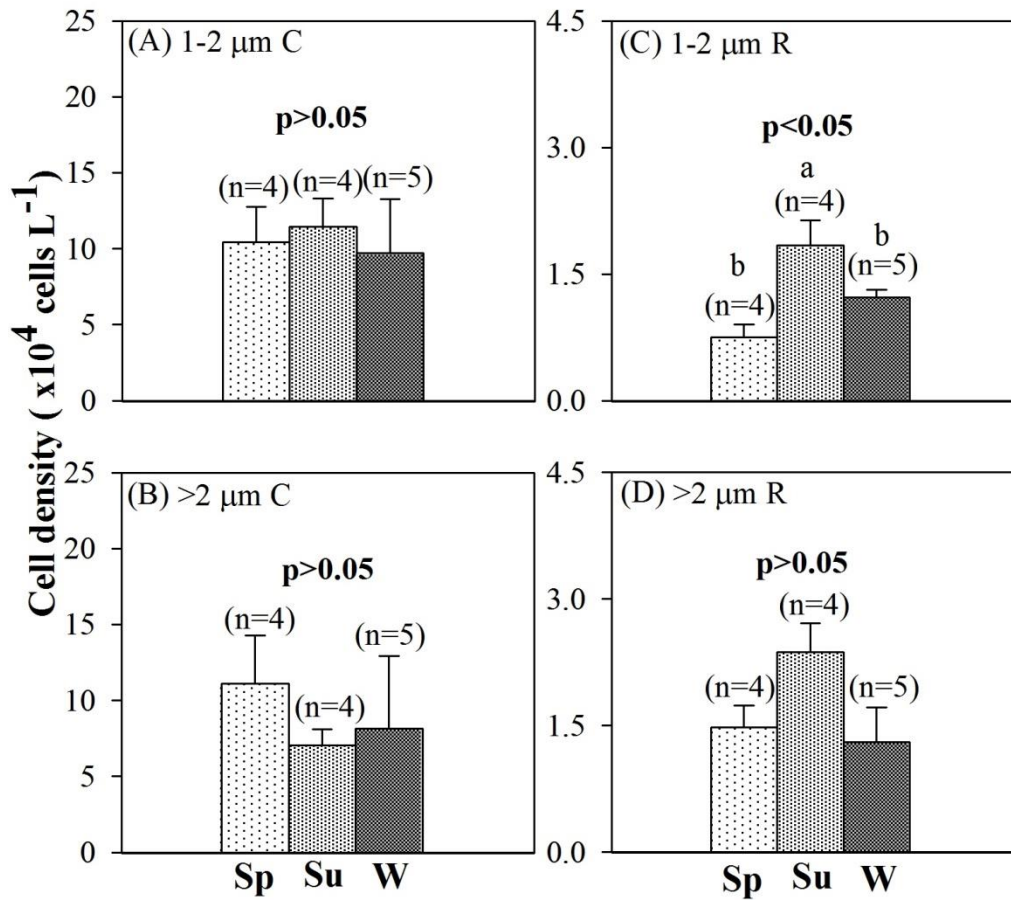


圖 4-16.南海表水各類型單細胞固氮生物之細胞密度在春季(Sp)、夏季(Su)和冬季(W)間之季節差異。以 1-way ANOVA 與 Duncan's multiple range test 測試季節間之差異，顯著差異者($p < 0.05$)用 a 或 b 表示，相同字母者之間無顯著差異。(A) 1-2 μm C；(B) $>2 \mu\text{m}$ C；(C) 1-2 μm R；(D) $>2 \mu\text{m}$ R。

Figure 4-16. Seasonal variations on the cell densities of various size categories of unicellular diazotrophs in the surface water of the SCS among the spring (Sp), summer (Su) and winter (W). Seasonal differences were tested with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. Significant differences ($p < 0.05$) are indicated by different letters a or b. Those with the same letter are not significantly different. (A) 1-2 μm C; (B) $>2 \mu\text{m}$ C; (C) 1-2 μm R; (D) $>2 \mu\text{m}$ R.

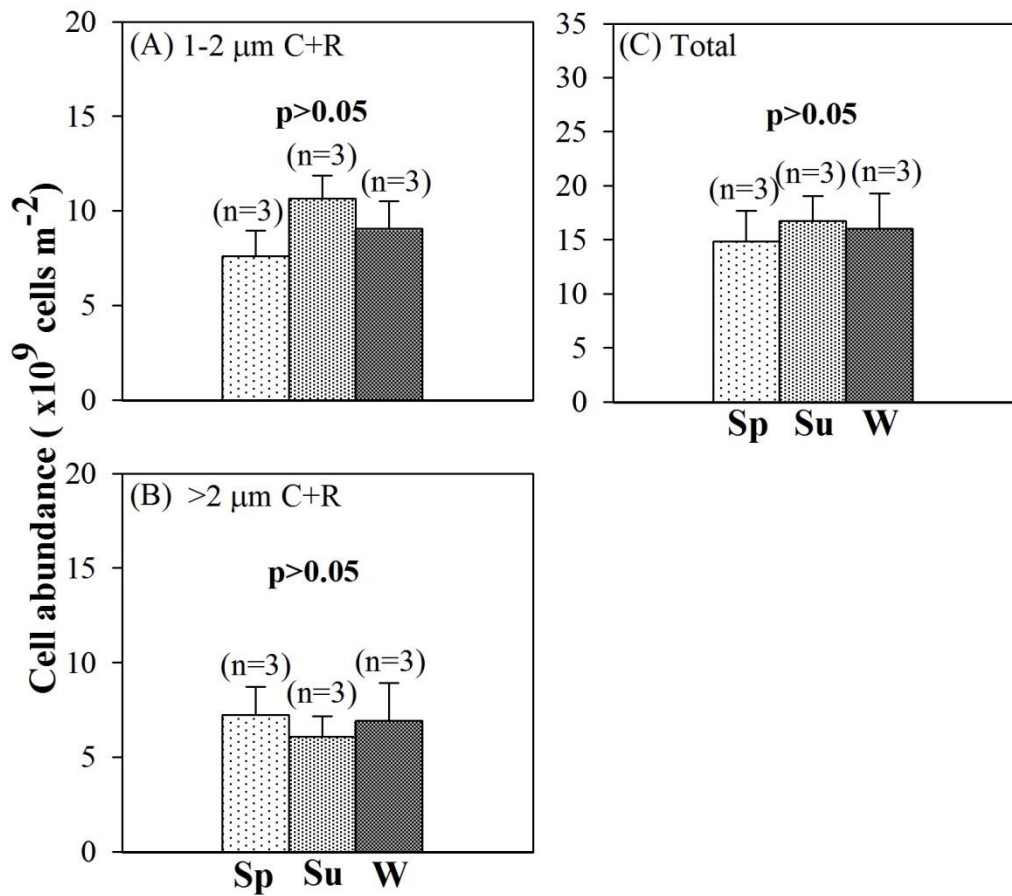


圖 4-17. 南海水柱(0-100 m)累計單細胞固氮生物量在春季(Sp)、夏季(Su)和冬季(W)之季節間變動。以 1-way ANOVA 測試季節間差異不顯著($p>0.05$)。(A)小體型細胞(1-2 μ m C+R)；(B)大體型細胞(>2 μ m C+R)；(C)總生物量(Total)。

Figure 4-17. Seasonal variations on the abundances of water column (0-100 m) integrated unicellular diazotrophs in the the SCS among the spring (Sp), summer (Su) and winter (W). Seasonal differences were not significant ($p>0.05$) tested with one-way ANOVA. (A) 1-2 μ m C+R; (B) >2 μ m C+R; (C) Total.

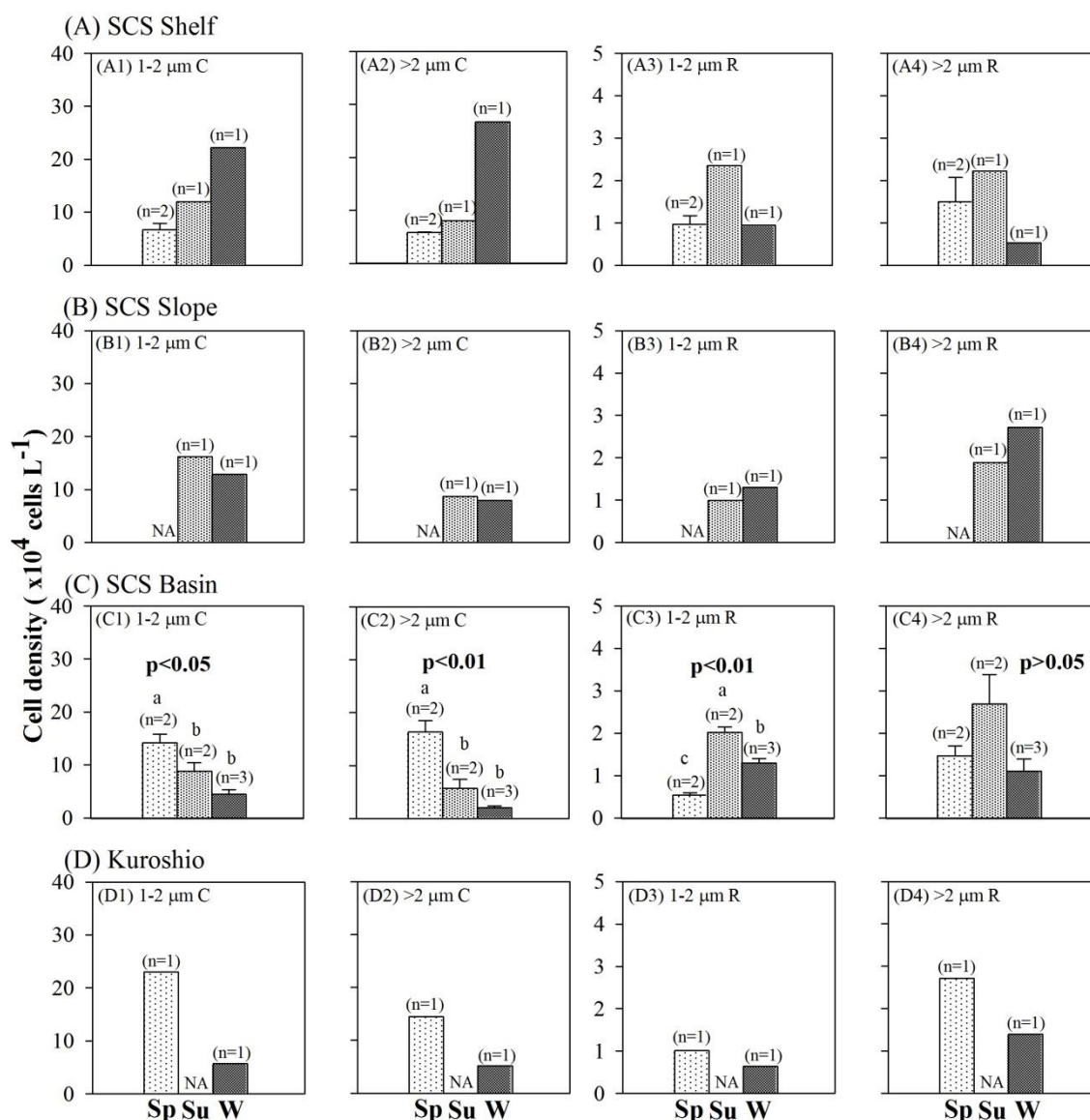


圖 4-18. 各海區內季節間(春季(Sp)、夏季(Su)和冬季(W))表水各類單細胞固氮生物(1-2 $\mu\text{m C}$ 、>2 $\mu\text{m C}$ 、1-2 $\mu\text{m R}$ 和 >2 $\mu\text{m R}$)細胞密度之變動。海盆內細胞密度之季節變動以 1-way ANOVA 與 Duncan's multiple range test 檢測,顯著差異者($p < 0.01$)用 a、b 或 c 表示,相同字母者之間無顯著差異。(A)陸棚(Shelf);(B)陸坡(Slope);(C)海盆(Basin);(D)黑潮(Kuroshio)。NA 表示無資料。

Figure 4-18. Seasonal variations on the cell densities of various size categories of unicellular diazotrophs in the surface water of the SCS among the spring (Sp), summer (Su) and winter (W). The abundance on the basin were tested with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. Significant differences ($p < 0.01$) are shown with different letters a, b or c. Those with the same letter are not significantly different. (A) Shelf; (B) Slope; (C) Basin; (D) Kuroshio. NA means not available.

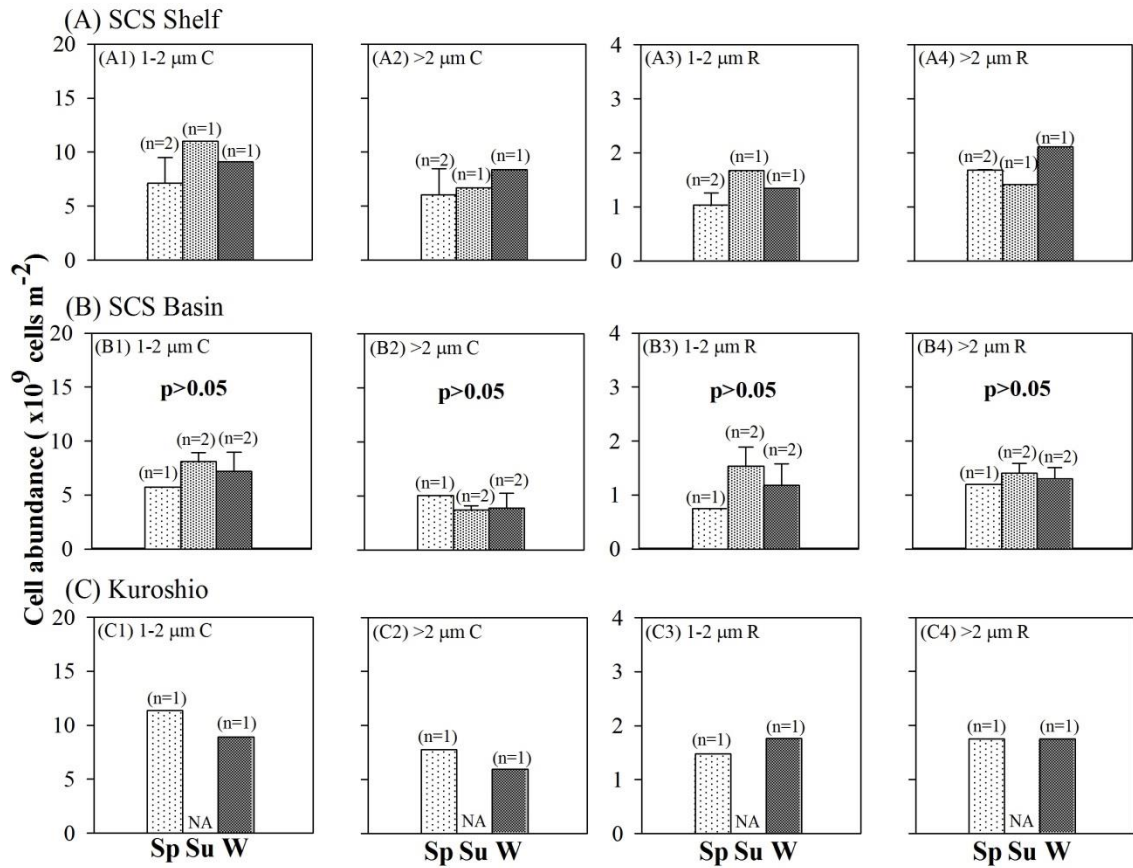


圖 4-19. 各海區內季節(春季(Sp)、夏季(Su)和冬季(W))之間水柱(0-100 m)累計各類單細胞固氮生物(1-2 $\mu\text{m C}$ 、>2 $\mu\text{m C}$ 、1-2 $\mu\text{m R}$ 和 >2 $\mu\text{m R}$)之生物量變動。海盆內生物量之季節變動以 1-way ANOVA 檢測結果不顯著($p>0.05$)。(A)陸棚(Shelf)；(B)海盆(Basin)；(C)黑潮(Kuroshio)。NA 表示無資料。

Figure 4-19. Seasonal variations on the the water column (0-100 m) integrated abundances of various size categories of unicellular diazotrophs in the SCS among the spring (Sp), summer (Su) and winter (W). The abundance on the basin were not significant ($p>0.05$) after being tested by one-way ANOVA. (A) Shelf; (B) Basin; (C) Kuroshio. NA means not available.

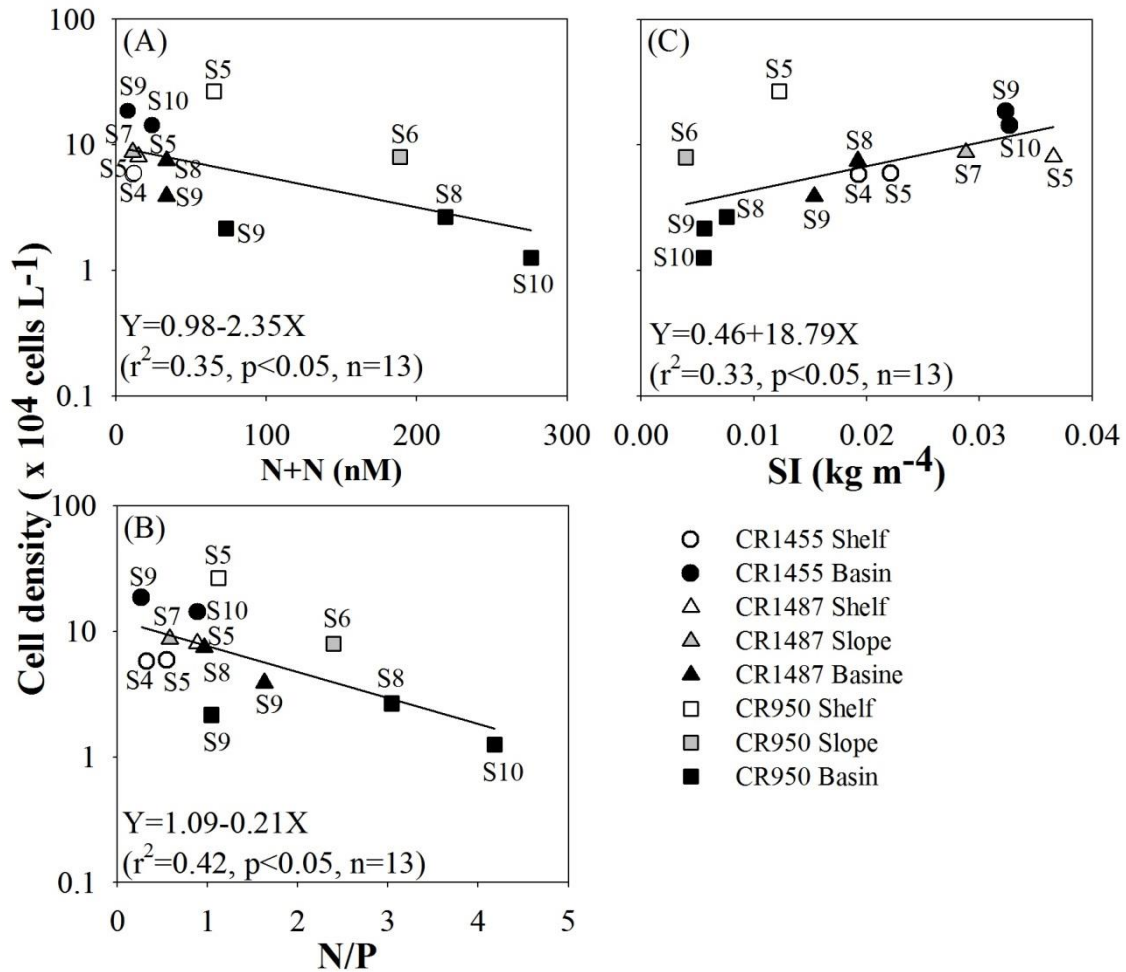


圖 4-20. 南海表水 $>2\ \mu m$ C 單細胞固氮生物之細胞密度(取對數值)與環境因子間之直線關係。(A)與表水硝酸鹽濃度(N+N)之關係；(B)與 N/P 之關係；(C)與水體分層程度(SI)之關係。

Figure 4-20. Linear relationships of Log(cell density) of $>2\ \mu m$ C unicellular diazotrophs on the surface water and environmental factors in the SCS. (A) surface nitrate plus nitrite concentration (N+N); (B) ratio of surface [nitrate+nitrite] to phosphate concentration (N/P); (C) stratification index of water column (SI).

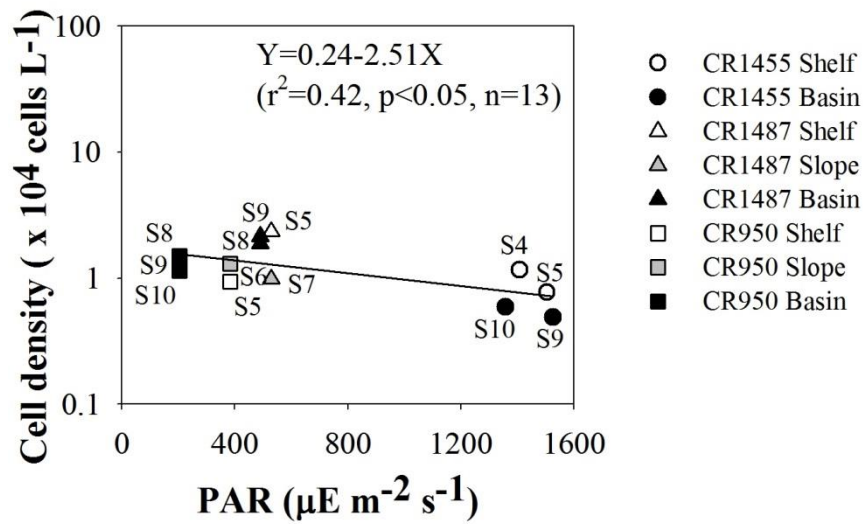


圖 4-21. 南海表水 1-2 μm R 單細胞固氮生物之細胞密度(取對數值)與日照強度之直線關係。

Figure 4-21. Linear relationships of Log(cell density) of 1-2 μm R unicellular diazotrophs on the surface water and photosynthetically active radiation (PAR) in the SCS.

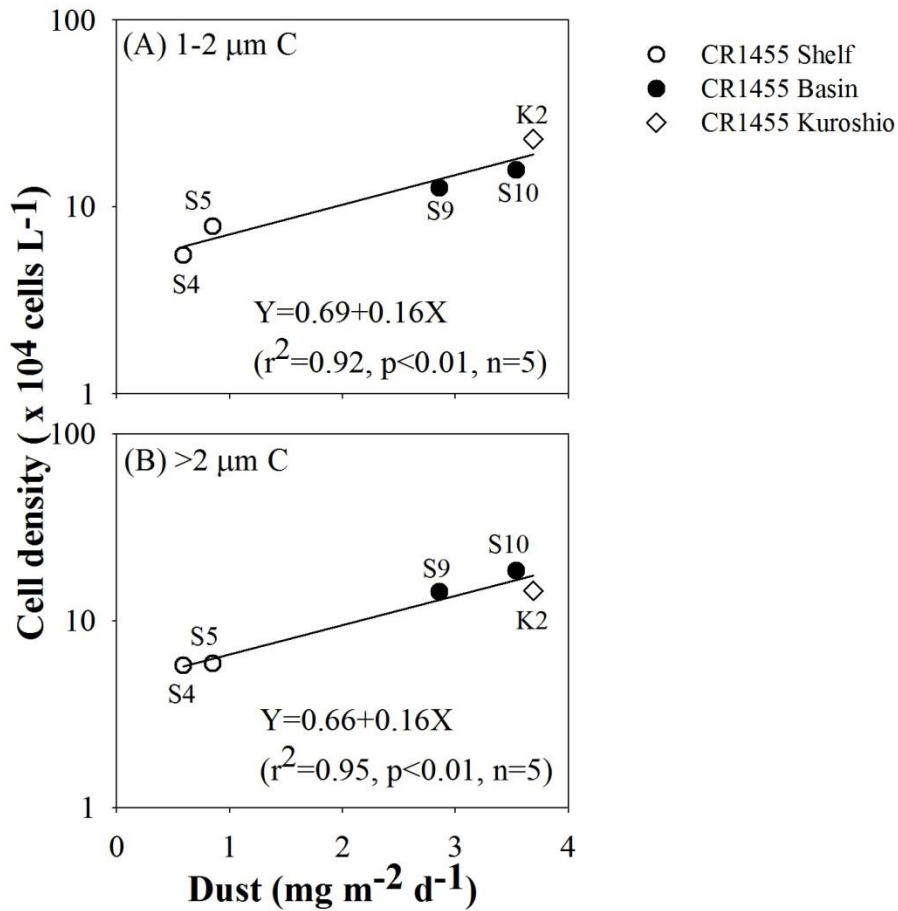


圖 4-22. 春季(CR1455)之表水單細胞固氮生物之細胞密度(取對數值)與大氣落塵(Dust)之關係。(A)1-2 μm C；(B) >2 μm C。

Figure 4-22. Linear relationships of Log(cell density) of unicellular diazotrophs on the surface water and the dust concentration (Dust) during the spring cruise CR1455. (A) 1-2 μm C; (B) >2 μm C.

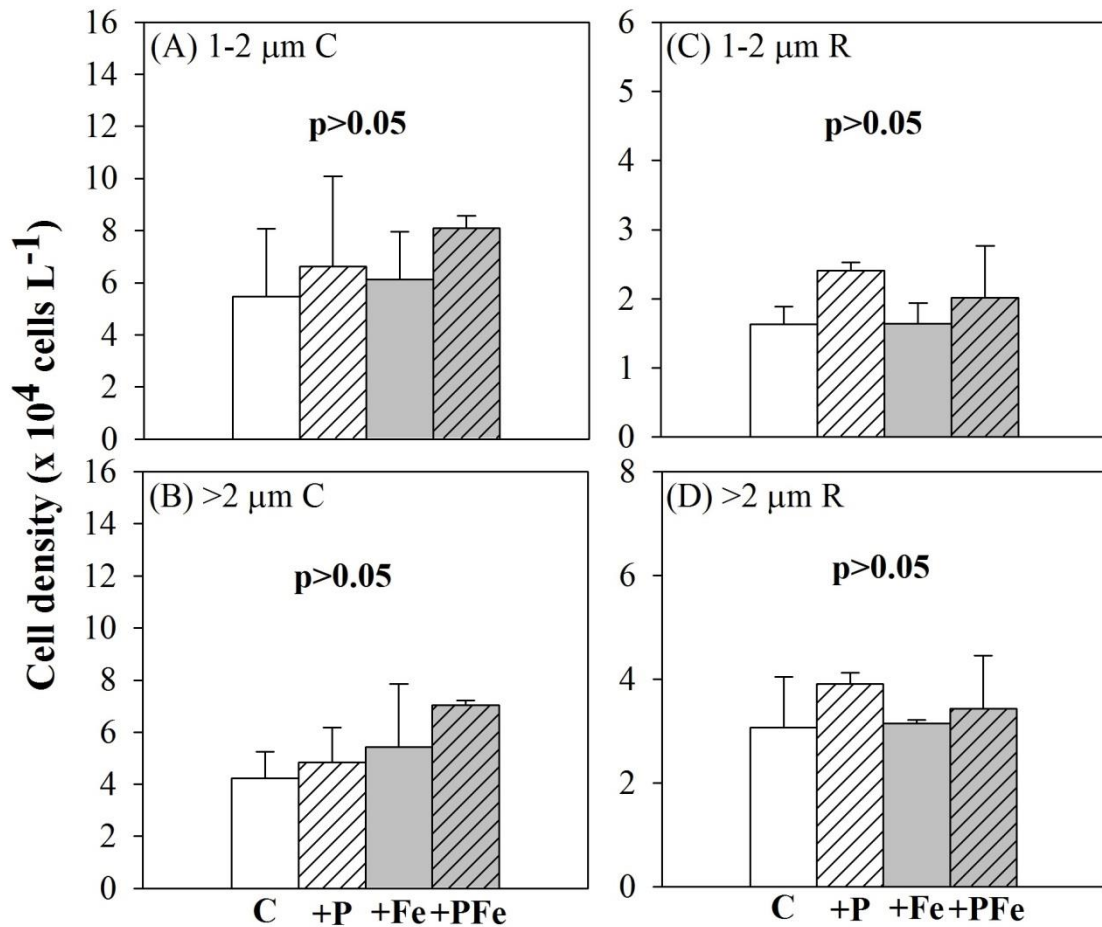


圖 4-23. 1487 航次 S9 站表水之各類單細胞固氮生物之生物量，經過營養鹽添加培養 24 小時後之比較。利用 1-way ANOVA 檢定四個處理組之平均生物量(對照組(C)、磷添加(+P)、鐵添加(+Fe)及同時添加磷鐵(+PFe)是否有差異，結果顯示均無顯著差異($p > 0.05$)。Error bars 為 SE ($n=2$)。

Figure 4-23. Cell densities of different sized categories of unicellular diazotrophs in four treatments (C, +P, +Fe and +PFe) after 24 hours incubation in the nutrients enrichment experiment using surface water of station S9 during CR1487. Four treatments are control (C), addition of phosphate (+P), addition of iron (+Fe), simultaneous addition of phosphate and iron (+PFe). Treatment means were tested by 1-Way ANOVA and were not significantly different ($p > 0.05$) for all size categories. Error bars are SE ($n=2$).

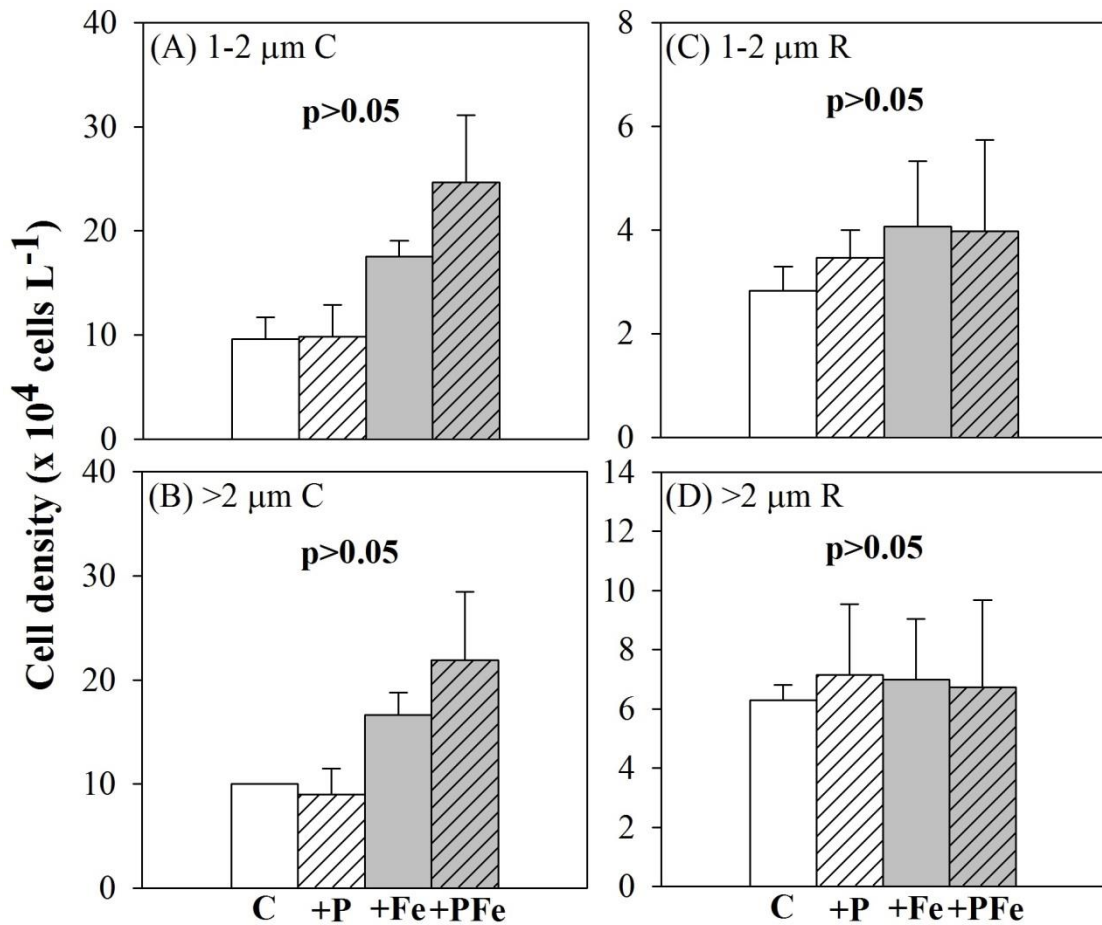


圖 4-24. 1487 航次 S9 站表水之各類單細胞固氮生物之生物量，經過營養鹽添加培養 48 小時後之比較。利用 1-way ANOVA 檢定四個處理組之平均生物量(對照組(C)、磷添加(+P)、鐵添加(+Fe)及同時添加磷鐵(+PFe)是否有差異，結果顯示均無顯著差異($p>0.05$)。Error bars 為 SE ($n=2$)。

Figure 4-24. Cell densities of different sized categories of unicellular diazotrophs in four treatments (C, +P, +Fe and +PFe) after 48 hours incubation in the nutrients enrichment experiment using surface water of station S9 during CR1487. Four treatments are control (C), addition of phosphate (+P), addition of iron (+Fe), simultaneous addition of phosphate and iron (+PFe). Treatment means were tested by 1-Way ANOVA and were not significantly different ($p>0.05$) for all size categories. Error bars are SE ($n=2$).

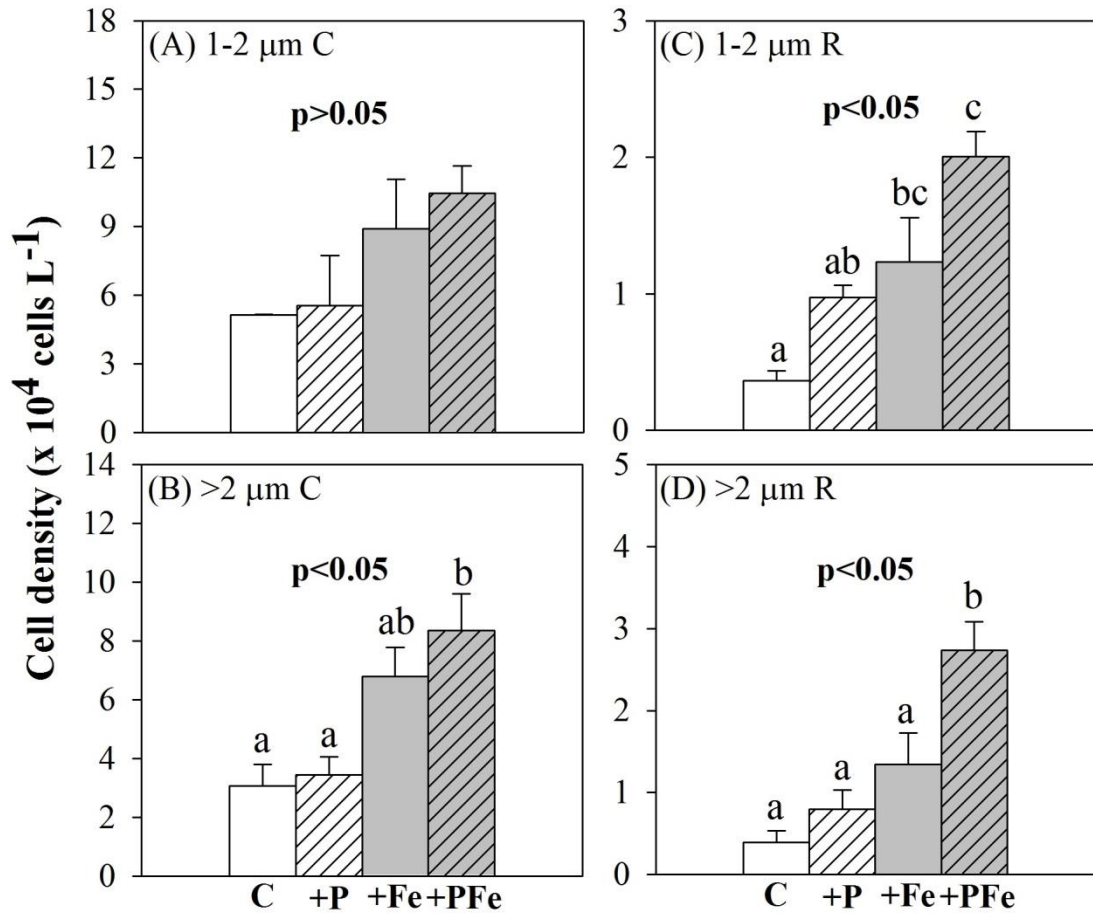


圖 4-25. 1487 航次 S5 站表水之各類單細胞固氮生物之生物量，經過營養鹽添加培養 24 小時後之比較。四個處理組別為對照組(C)、磷添加(+P)、鐵添加(+Fe)及同時添加磷鐵(+PFe)。各處理之平均生物量以 1-way ANOVA 與 Duncan's multiple range test 檢測，顯著差異者(p<0.05)用 a、b 或 c 表示，相同字母者之間無顯著差異。error bars 為 SE (n=2)。

Figure 4-25. Cell densities of different sized categories of unicellular diazotrophs in four treatments (C, +P, +Fe and +PFe) after 24 hours incubation in the nutrients enrichment experiment using surface water of station S5 during CR1487. Four treatments are control (C), addition of phosphate (+P), addition of iron (+Fe), simultaneous addition of phosphate and iron (+PFe). Treatment means were tested with 1-Way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. Significant differences (p<0.05) are shown with different letters a, b or c. Those with the same letter are not significantly different. Error bars are SE (n=2).

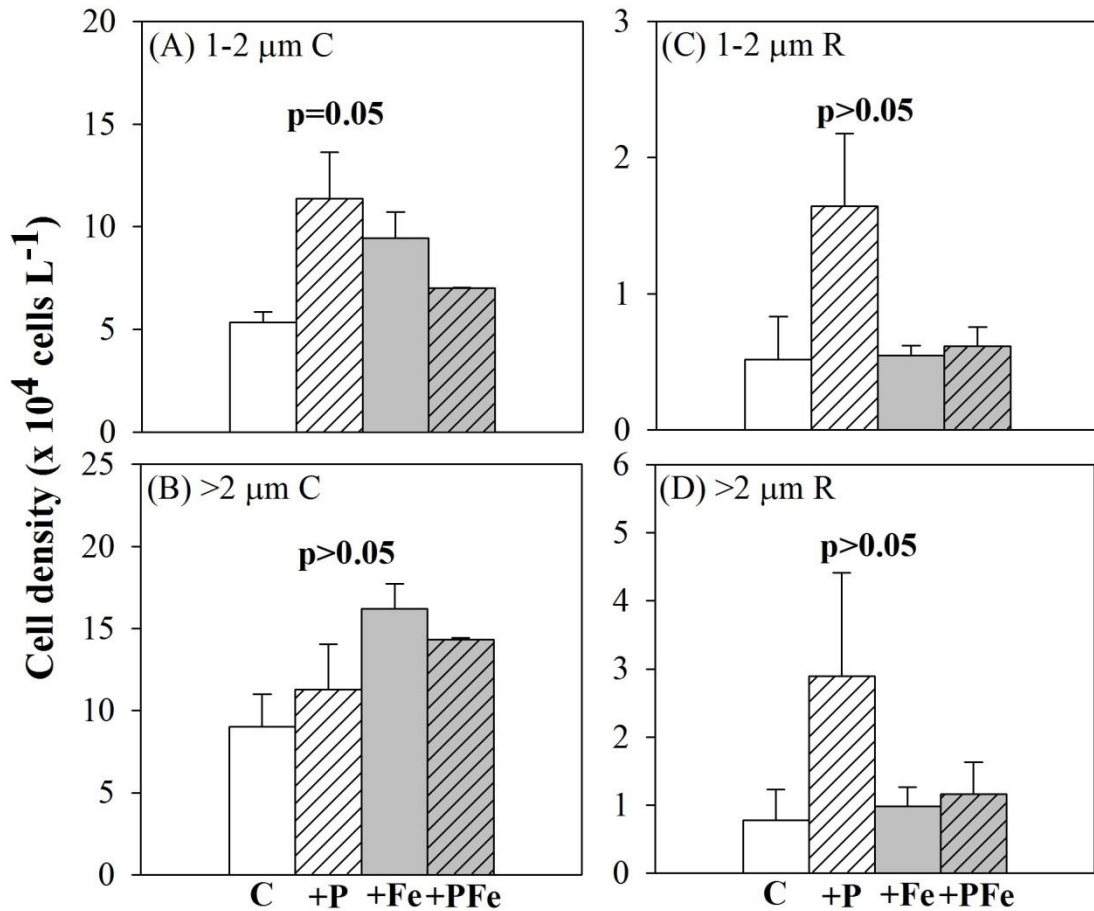


圖 4-26. 1487 航次 S5 站表水之各類單細胞固氮生物之生物量，經過 48 小時營養鹽添加培養後之比較。四個處理組別為對照組(C)、磷添加(+P)、鐵添加(+Fe)及同時添加磷鐵(+PFe)。利用 1-way ANOVA 檢定各處理組之平均生物量是否有差異，結果顯示均無顯著差異($p>0.05$)。error bars 為 SE (n=2)。

Figure 4-26. Cell densities of different sized categories of unicellular diazotrophs in four treatments (C, +P, +Fe and +PFe) after 48 hours incubation in the nutrients enrichment experiment using surface water of station S5 during CR1487. Four treatments are control (C), addition of phosphate (+P), addition of iron (+Fe), simultaneous addition of phosphate and iron (+PFe). Treatment means were tested by 1-Way ANOVA and were not significantly different ($p>0.05$) for all size categories. Error bars are SE (n=2).

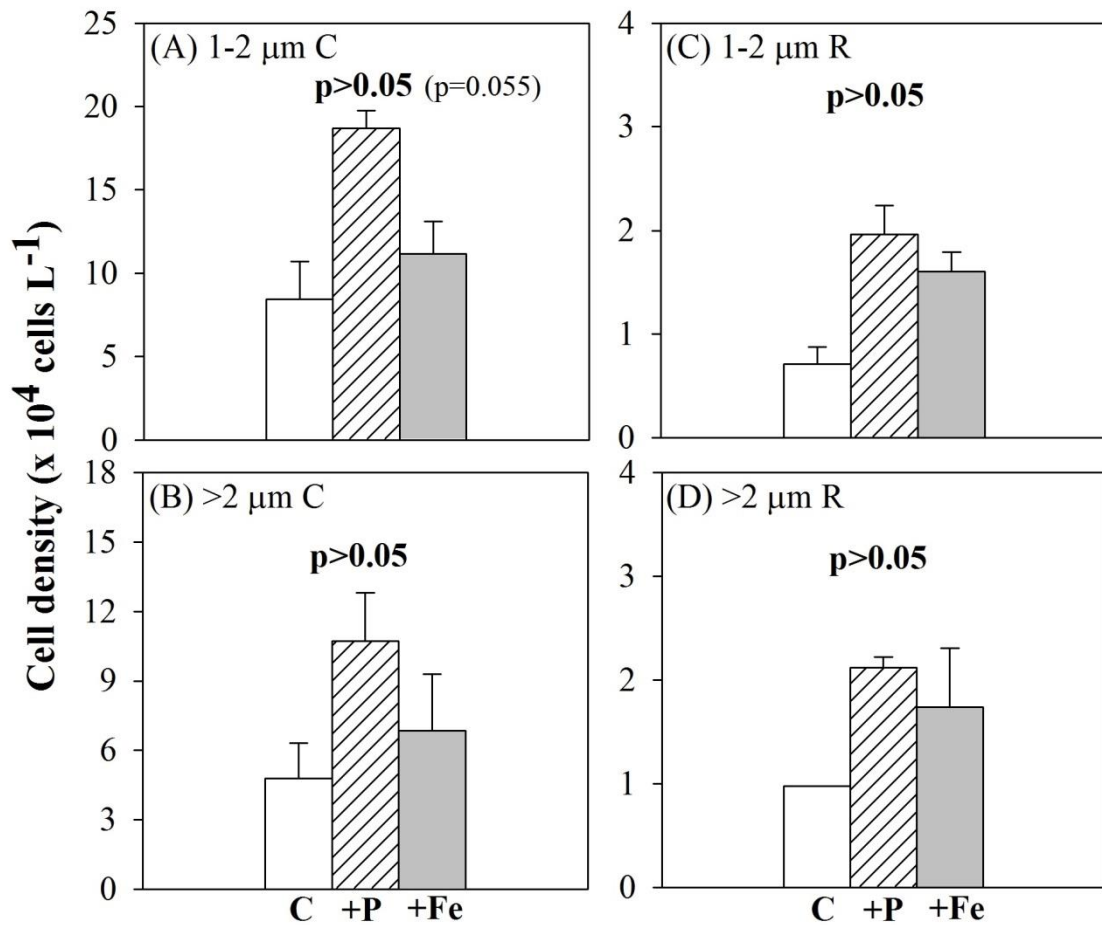


圖 4-27. 950 航次 S6 站表水之各類單細胞固氮生物之生物量，經過營養鹽添加 24 小時培養後之比較。三個處理組為對照組(C)、磷添加(+P)和鐵添加(+Fe)。各處理之平均生物量以 1-way ANOVA 檢測結果顯示均無顯著差異($p > 0.05$)。error bars 為 SE (n=2)。

Figure 4-27. Cell densities in control, +P and +Fe treatments for different sized unicellular diazotrophs after 24 hours incubated in the nutrients enrichment experiment using surface water of station S6, CR950. Three treatments are control (C), addition of phosphate (+P) and addition of iron (+Fe). Treatment means were tested by 1-Way ANOVA and were not significantly different ($p > 0.05$) for all size categories. Error bars are SE (n=2).

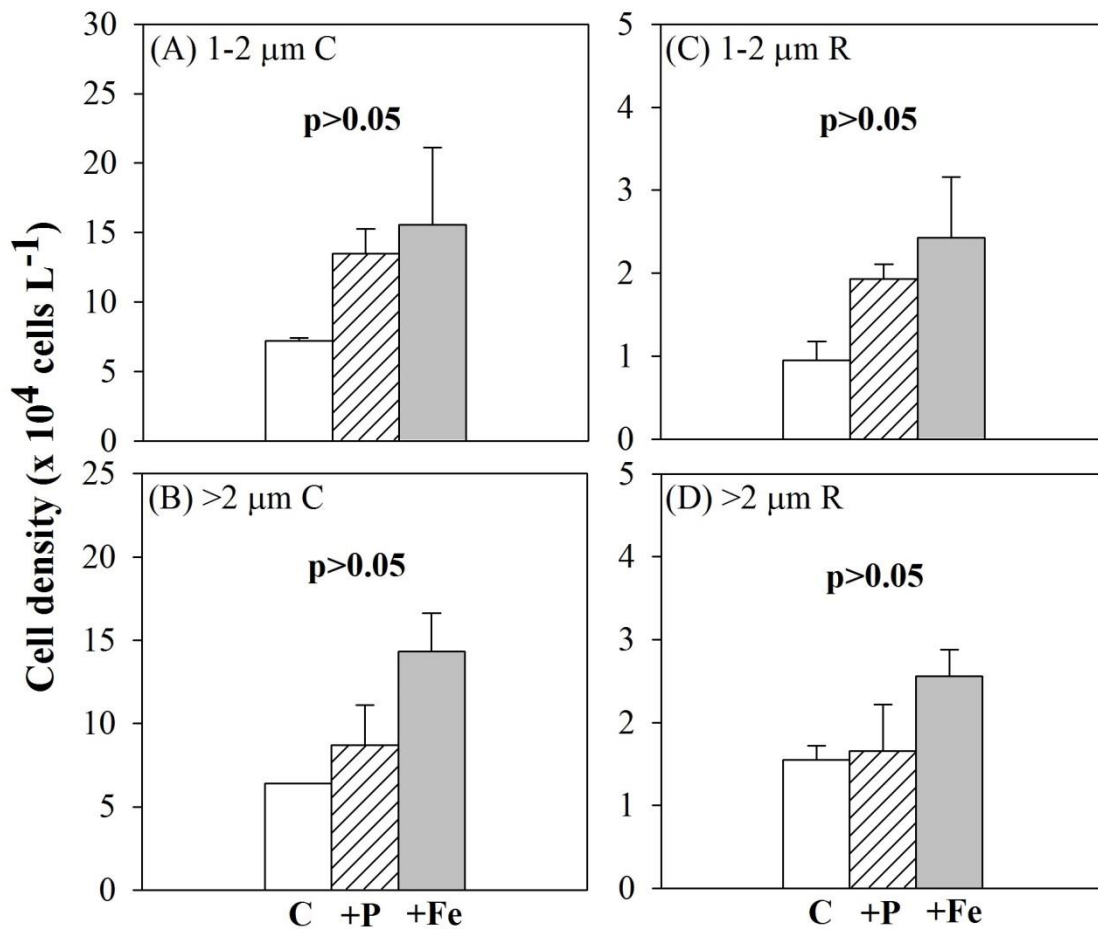


圖 4-28. 950 航次 S6 站表水之各類單細胞固氮生物之生物量，經過 48 小時營養鹽添加培養後之比較。三個處理組為對照組(C)、磷添加(+P)和鐵添加(+Fe)。各類單細胞固氮生物量以+Fe 較高，但利用 1-way ANOVA 檢測，處理組之間均差異不顯著($p>0.05$)。error bars 為 SE ($n=2$)。

Figure 4-28. Cell densities in control, +P and +Fe treatments for different sized unicellular diazotrophs after 48 hours incubated in the nutrients enrichment experiment using surface water of station S6, CR950. Three treatments are control (C), addition of phosphate (+P) and addition of iron (+Fe). Abundances on iron added of various size categories of unicellular diazotrophs were higher than others treatments. Treatment effects were tested with one-way ANOVA. There are no significant differences ($p>0.05$). Error bars are SE ($n=2$).

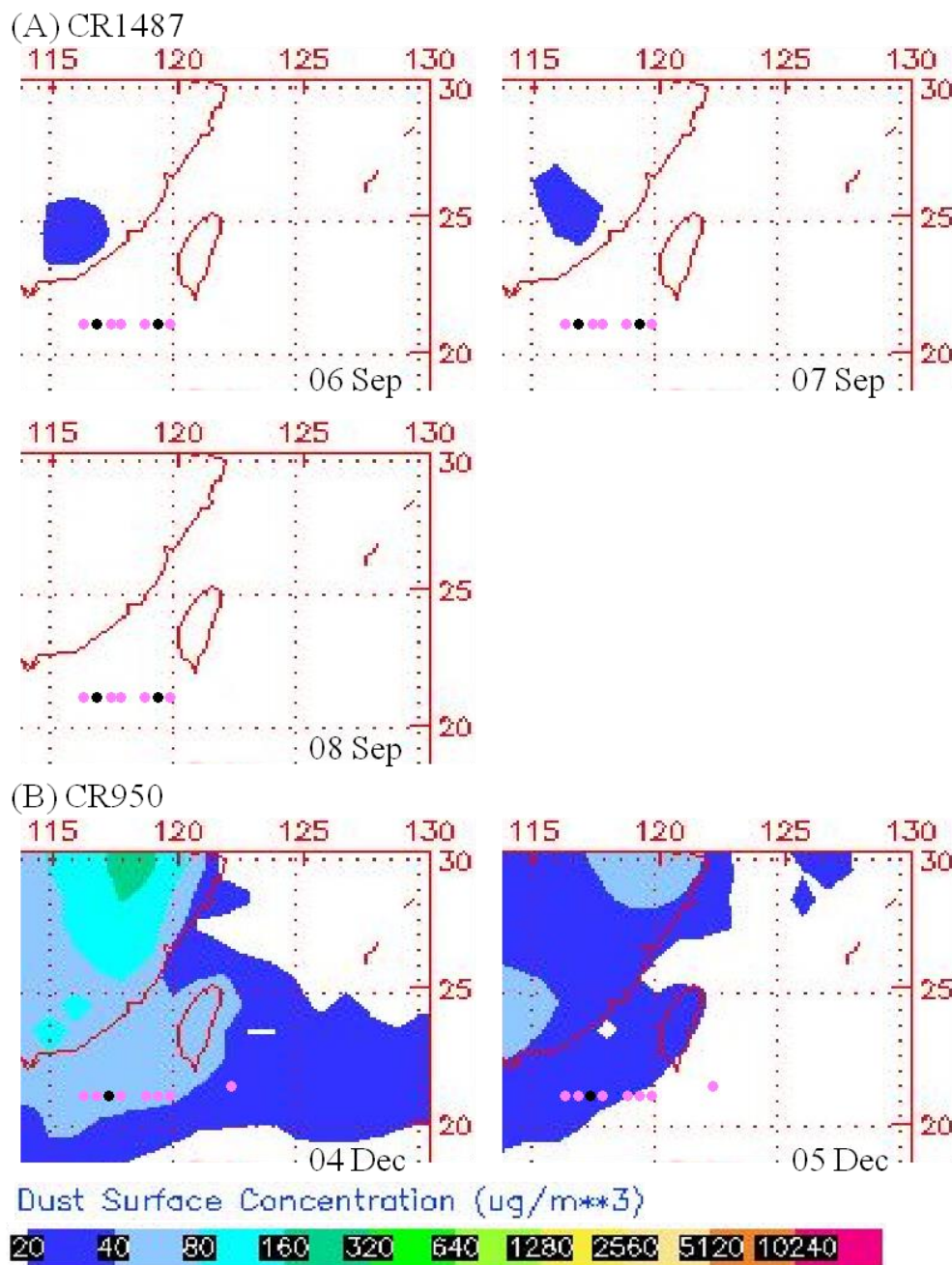


圖 5-1. 取自 NRL 之 NAAPS 全球氣膠模擬(http://www.nrlmry.navy.mil/aerosol_web/)之大氣落塵濃度。(A)夏季 1487 航次(06-08 Sep)；(B)冬季 950 航次(04-05 Dec)。黑色圓點為進行營養鹽添加培養實驗測站，粉色圓點為其他測站。Color bars 由 $20 \mu\text{g m}^{-3}$ 開始(間隔 2 倍)。

Figure 5-1. Dust surface concentration adopted from NAAPS Global Aerosol Model (NRL) (http://www.nrlmry.navy.mil/aerosol_web/). Black plots are stations with nutrient added experiments. Pink plots are the other stations. The contouring begins from $20 \mu\text{g m}^{-3}$ and doubles in magnitude for each successive contour. (A) the summer cruise CR1487 (06-08 Sep); (B) the winter cruise CR950 (04-05 Dec).

表 3-1. 各航次時間及採集單細胞固氮生物樣本之測站。*進行營養鹽添加培養之實驗。

Table 3-1. Summary of cruise time and sampling stations. *: stations nutrient enrichments were conducted.

Cruise	Dates	SCS station			Kuroshio station
		Shelf	Slope	Basin	
CR1455	12-17 May 2010	S4, S5		S9, S10	K2
CR1487	04-19 Sep 2010	S5*	S7	S8, S9*	
CR950	02-11 Dec 2010	S5	S6*	S8, S9, S10	K2

表 3-2. 進行營養鹽添加實驗之航次、測站與四個處理組：C 為對照組，+P 為磷添加組，+Fe 為鐵添加組，+PFe 是同時添加磷鐵組。

Table 3-2. Four treatments in the nutrient enrichment experiment conducted at the various cruises and stations. C: control, +P: addition of phosphate, +Fe: addition of iron, +PFe: simultaneous addition of phosphate and iron.

Cruise	Station	Treatments			
		C	+P	+Fe	+PFe
CR1487	S5, S9		+100 n M K ₂ HPO ₄	+2 nM FeCl ₃ · 6H ₂ O	+100 nM K ₂ HPO ₄ and 2 nM FeCl ₃ · 6H ₂ O
CR950	S6		+100 nM K ₂ HPO ₄	+50 nM FeCl ₃ · 6H ₂ O and 20 μM ETDA	+100 nM K ₂ HPO ₄ and 50 nM FeCl ₃ · 6H ₂ O and 20 μM ETDA

表 4-1. 比較春季(CR1455)不同海區間(南海陸棚(Shelf)、陸坡(Slope)、海盆(Basin)和黑潮(Kuroshio))之日照強度(PAR)、表水溫度(Temperature)、表水鹽度(Salinity)、表水硝酸鹽濃度(N+N)、表水磷酸鹽濃度(SRP)、表水氮磷比值(N/P, 即[N+N]/SRP)、表水葉綠素 a 濃度(Chl a)、硝酸鹽躍層深度(Dni)、混合層深度(Dm)、水體分層程度(SI)和大氣落塵量(Dust)。以 1-way ANOVA 與 Duncan's multiple range test 進行檢測, 顯著差異者($p<0.05$ 或 $p<0.01$)用 a, b 或 c 表示, 相同字母者之間無顯著差異。NA 表示無資料。

Table 4-1. Regional variations on photosynthetically active radiation (PAR), surface water temperature, surface water salinity, surface nitrate plus nitrite concentration (N+N), surface phosphorus concentration (SRP), ratio of surface [nitrate+nitrite] to phosphate concentration (N/P, [N+N]/SRP), chlorophyll a concentration (Chl a), the nitracline depth (Dni), depth of mixed layer (Dm), stratification index of water column (SI) and dust concentration (Dust) among the SCS shelf, slope, basin and the Kuroshio, during the spring cruise (CR1455). Regional means were tested with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. Significant differences ($p<0.05$ or $p<0.01$) are shown with different letters a, b or c. Those with the same letter are not significantly different from each other. NA means not available.

Variables	Shelf (n=2)	Slope (n=2)	Basin (n=2)	Kuroshio (n=1)
PAR ($\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	1455±49 ^a	1515±11 ^a	1442±84 ^a	814 ^b
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	27.2±0.1 ^b	27.4±0.2 ^b	28.6±0.1 ^a	28.6 ^a
Salinity (PSU)	34.22±0.05 ^b	34.24±0.03 ^b	33.75±0.02 ^c	34.54 ^a
N+N (nM)	12±1	9±4	16±8	8
SRP (nM)	28±6 ^b	31±5 ^b	29±2 ^b	76 ^a
N/P	0.4±0.1	0.3±0.1	0.6±0.3	0.1
Chl a (mg m^{-3})	0.11±0.03	0.15±0.01	0.09±0.00	0.10
Dni (m)	15±3 ^b	42±13 ^b	48±2 ^b	133 ^a
Dm (m)	65±17	57±46	22±2	72
SI (kg m^{-4})	0.021±0.001 ^b	0.017±0.002 ^b	0.033±0.001 ^a	0.014 ^b
Dust ($\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$)	0.72±0.13 ^b	NA	3.20±0.34 ^a	3.69 ^a

表 4-2. 單細胞固氮生物(1-2 $\mu\text{m C+R}$ 、>2 $\mu\text{m C+R}$ 和 Total)與 Chl a 濃度(Chl a)在水柱不同深度之分布。以 50-100 m 之生物量為 1 時計算出[水柱 0-50 m 平均]:[水柱 50-100 m 平均]:[水柱 100-150 或 200 m 平均]之比例。代表 0-200 m 水柱中之上層:中層:下層生物量比例。

Table 4-2. Proportion of the cell densities of unicellular diazotrophic (1-2 $\mu\text{m C+R}$, >2 $\mu\text{m C+R}$ and Total) and chlorophyll a concentration (Chl a) in the depth internals of 0-50 m:50-100 m:100-150 or 200 m of the water column. The proportion was calculated respect to the cell densities in the depth of 50-100 m. So that the relative cell densities in surface, middle, and bottom layers of water column 0-200 m can be compared.

Cruise	Region	Station	1-2 $\mu\text{m C+R}$	>2 $\mu\text{m C+R}$	Total	Chl a
CR1455	Shelf	S4	1.2:1:1.3	1.8:1:1.3	1.5:1:1.3	0.4:1:0.2
		S5	1.3:1:0.5	1.1:1:0.4	1.2:1:0.4	0.7:1:0.1
	Basin	S9	2.9:1:0.9	5.2:1:0.9	3.8:1:0.9	0.6:1:0.2
		K2	2.0:1:0.8	1.4:1:1.0	1.7:1:0.9	0.6:1:0.7
CR1487	Shelf	S5	1.2:1:0.4	1.2:1:0.5	1.2:1:0.5	0.9:1:0.1
	Basin	S8	1.1:1:0.6	1.5:1:0.6	1.2:1:0.6	0.9:1:0.4
		S9	1.4:1:0.7	1.9:1:1.1	1.6:1:0.8	1.2:1:0.2
CR950	Shelf	S5	1.3:1:0.8	1.4:1:0.6	1.4:1:0.7	2.2:1:0.1
	Basin	S8	1.6:1:0.8	1.5:1:0.9	1.6:1:0.9	1.1:1:0.2
		S9	1.6:1:1.2	1.7:1:2.5	1.6:1:1.7	1.2:1:0.4
	Kuroshio	K2	0.8:1:0.8	0.8:1:1.0	0.8:1:0.9	0.6:1:0.3

表 4-3. 比較夏季(CR1487)不同海區之間(南海陸棚(Shelf)、陸坡(Slope)和海盆(Basin))之日照強度(PAR)、表水溫度(Temperature)、表水鹽度(Salinity)、表水硝酸鹽濃度(N+N)、表水磷酸鹽濃度(SRP)、表水氮磷比值(N/P, 即[N+N]/SRP)、表水葉綠素 a 濃度(Chl a)、硝酸鹽躍層深度(Dni)、混合層深度(Dm)與水體分層程度(SI)。以 1-way ANOVA 與 Duncan's multiple range test 檢測, 顯著差異者($p<0.05$ 或 $p<0.01$) 用 a, b 或 c 表示, 相同字母者之間無顯著差異。NA 表示無資料。

Table 4-3. Regional variations on photosynthetically active radiation (PAR), surface water temperature, surface water salinity, surface nitrate plus nitrite concentration (N+N), surface phosphorus concentration (SRP), ratio of surface [nitrate+nitrite] to phosphate concentration (N/P, [N+N]/SRP), chlorophyll a concentration (Chl a), the nitracline depth (Dni), depth of mixed layer (Dm) and stratification index of water column (SI) among the SCS shelf, slope and basin, during the summer cruise (CR1487). Regional means were tested with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. Significant differences ($p<0.05$ or $p<0.01$) are shown with different letters a, b or c. Those with the same letter are not significantly different from each other. NA means not available.

Variables	Shelf (n=2)	Slope (n=2)	Basin (n=3)
PAR ($\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	858±329	528±0	427±76
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	28.9±0.2 ^b	29.3±0.0 ^b	29.2±0.1 ^b
Salinity (PSU)	33.35±0.01 ^b	33.47±0.03 ^a	33.53±0.02 ^a
N+N (nM)	32±17	23±12	34±6
SRP (nM)	17±1	18±1	26±4
N/P	2.0±1.1 ^a	1.3±0.7 ^b	1.3±0.2 ^b
Chl a (mg m^{-3})	0.13±0.01 ^b	0.13±0.00 ^b	0.24±0.03 ^a
Dni (m)	25±13	51±0	60±24
Dm (m)	38±6	42±2	84±12
SI (kg m^{-4})	0.038±0.001 ^a	0.031±0.002 ^a	0.013±0.004 ^b

表 4-4. 比較冬季(CR950)不同海區間(南海陸棚(Shelf)、陸坡(Slope)、海盆(Basin)和黑潮(Kuroshio))之日照強度(PAR)、表水溫度(Temperature)、表水鹽度(Salinity)、表水硝酸鹽濃度(N+N)、表水磷酸鹽濃度(SRP)、表水氮磷比值(N/P, 即[N+N]/SRP)、表水葉綠素 a 濃度(Chl a)、硝酸鹽躍層深度(Dni)、混合層深度(Dm)以及水體分層程度(SI)。以 1-way ANOVA 與 Duncan's multiple range test 進行統計檢測, 顯著差異者($p<0.05$ 或 $p<0.01$)用 a, b 或 c 表示, 相同字母者之間無顯著差異。NA 表示無資料。

Table 4-4. Regional variations on photosynthetically active radiation (PAR), surface water temperature, surface water salinity, surface nitrate plus nitrite concentration (N+N), surface phosphorus concentration (SRP), ratio of surface [nitrate+nitrite] to phosphate concentration (N/P, [N+N]/SRP), chlorophyll a concentration (Chl a), the nitracline depth (Dni), depth of mixed layer (Dm) and stratification index of water column (SI) among the SCS shelf, slope, basin and the Kuroshio, during the winter cruise (CR950). Regional means were tested with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. Significant differences ($p<0.05$ or $p<0.01$) are shown with different letters a, b or c. Those with the same letter are not significantly different from each other. NA means not available.

Variables	Shelf (n=2)	Slope (n=2)	Basin (n=3)	Kuroshio (n=1)
PAR ($\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	713 $\pm$ 329	383 $\pm$ 0	204 $\pm$ 0	314
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	25.7 $\pm$ 0.2	25.7 $\pm$ 0.5	26.7 $\pm$ 0.2	26.1
Salinity (PSU)	34.01 $\pm$ 0.02	33.91 $\pm$ 0.13	33.91 $\pm$ 0.14	34.67
N+N (nM)	50 $\pm$ 16	125 $\pm$ 64	189 $\pm$ 60	10
SRP (nM)	64 $\pm$ 6	67 $\pm$ 12	69 $\pm$ 2	27
N/P	0.8 $\pm$ 0.3	1.8 $\pm$ 0.6	2.8 $\pm$ 0.9	0.4
Chl a (mg m^{-3})	0.37 $\pm$ 0.00 ^b	0.50 $\pm$ 0.03 ^a	0.35 $\pm$ 0.02 ^b	0.16 ^c
Dni (m)	36 $\pm$ 16	9.9 $\pm$ 9.9	12 $\pm$ 12	36
Dm (m)	91 $\pm$ 5	144 $\pm$ 4	115 $\pm$ 18	119
SI (kg m^{-4})	0.014 $\pm$ 0.002	0.008 $\pm$ 0.004	0.007 $\pm$ 0.001	0.007

表 4-5. 綜合南海所有航次數據，分析各類單細胞固氮生物的表水生物量(取對數值)，與各環境因子之相關係數。環境因子包含表水溫度(Temperature)、鹽度(Salinity)、硝酸鹽濃度(N+N)、磷酸鹽濃度(SRP)、氮磷比值(N/P，即[N+N]/SRP)、葉綠素 a 濃度(Chl a)、及硝酸鹽躍層深度(Dni)、混合層深度(Dm)、水體分層程度(SI)、平均日照(PAR)。

Table 4-5. Correlation coefficients of Log(abundance) of surface unicellular diazotrophs and various environmental variables in the SCS after stations in all cruises were compiled. Environmental variables including surface water temperature, surface water salinity, surface nitrate plus nitrite concentration (N+N), surface phosphorus concentration (SRP), ratio of surface [nitrate+nitrite] to phosphate concentration (N/P, [N+N]/SRP), chlorophyll a concentration (Chl a), the nitracline depth (Dni), depth of mixed layer (Dm), stratification index of water column (SI) and photosynthetically active radiation (PAR).

	Temperature	Salinity	N+N	SRP	N/P	Chl a	Dni	Dm	SI	PAR
1-2 μm C	0.20	-0.36	-0.51	-0.33	-0.55	-0.24	0.51	-0.38	0.51	0.20
>2 μm C	0.17	-0.17	-0.59*	-0.37	-0.64*	-0.39	0.47	-0.50	0.57*	0.45
1-2 μm R	0.11	-0.41	0.16	0.03	0.26	0.33	-0.15	0.32	-0.27	-0.65*
>2 μm R	0.50	-0.52	-0.37	-0.32	-0.36	-0.22	0.41	-0.13	0.25	0.04
1-2 μm C+R	0.22	-0.41	-0.49	-0.32	-0.52	-0.20	0.50	-0.37	0.50	0.14
>2 μm C+R	0.19	-0.22	-0.61*	-0.37	-0.67*	-0.36	0.51	-0.47	0.55	0.41
Total	0.20	-0.31	-0.56*	-0.35	-0.61*	-0.29	0.51	-0.43	0.54	0.29

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

n=13

表 4-6. 綜合南海所有航次數據，分析各環境因子之間的相關係數。環境因子包含表水溫度(Temperature)、鹽度(Salinity)、硝酸鹽濃度(N+N)、磷酸鹽濃度(SRP)、氮磷比值(N/P，即[N+N]/SRP)、葉綠素 a 濃度(Chl a)、及硝酸鹽躍層深度(Dni)、混合層深度(Dm)、水體分層程度(SI)、平均日照(PAR)。

Table 4-6. Correlation coefficients between various environmental variables in the SCS after stations in all cruises were compiled. Environmental variables include surface water temperature, surface water salinity, surface nitrate plus nitrite concentration (N+N), surface phosphorus concentration (SRP), ratio of surface [nitrate+nitrite] to phosphate concentration (N/P, [N+N]/SRP), chlorophyll a concentration (Chl a), the nitracline depth (Dni), depth of mixed layer (Dm), stratification index of water column (SI) and photosynthetically active radiation (PAR).

	Temperature	Salinity	N+N	SRP	N/P	Chl a	Dni	Dm	SI
Salinity	-0.73**								
N+N	-0.64*	0.38							
SRP	-0.85**	0.45	0.82**						
N/P	-0.48	0.25	0.96**	0.66*					
Chl a	-0.71**	0.23	0.74**	0.82**	0.71**				
Dni	0.75**	-0.64*	-0.73**	-0.64*	-0.69**	-0.59*			
Dm	-0.74**	0.36	0.60*	0.80**	0.51	0.89**	-0.55		
SI	0.74**	-0.47	-0.74**	-0.85**	-0.68*	-0.88**	0.71**	-0.89**	
PAR	0.29	0.27	-0.59*	-0.56*	-0.62*	-0.78**	0.26	-0.65*	0.62*

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

n=13

表 4-7. 綜合南海所有航次之數據，分析各類單細胞固氮生物的水柱(0-100 m)累計生物量(取對數值)，與各環境因子進行相關係數分析。環境因子包含表水溫度(Temperature)、鹽度(Salinity)、硝酸鹽濃度(N+N)、磷酸鹽濃度(SRP)、氮磷比值(N/P，即[N+N]/SRP)、葉綠素 a 濃度(Chl a)、及硝酸鹽躍層深度(Dni)、混合層深度(Dm)、水體分層程度(SI)、平均日照(PAR)。

Table 4-7. Correlation coefficients of Log(abundance) of various kinds of unicellular diazotrophs integrated from 0-100 m and various environmental variables in the SCS after stations in all cruises were compiled. Environmental variables include surface water temperature, surface water salinity, surface nitrate plus nitrite concentration (N+N), surface phosphorus concentration (SRP), ratio of surface [nitrate+nitrite] to phosphate concentration (N/P, [N+N]/SRP), chlorophyll a concentration (Chl a), the nitracline depth (Dni), depth of mixed layer (Dm), stratification index of water column (SI) and photosynthetically active radiation (PAR).

	Temperature	Salinity	N+N	SRP	N/P	Chl a	Dni	Dm	SI	PAR
1-2 μm C	0.24	-0.53	-0.10	-0.35	0.04	-0.13	0.10	-0.24	0.54	-0.24
>2 μm C	0.07	-0.26	-0.16	-0.36	-0.09	-0.27	0.00	-0.38	0.64	0.02
1-2 μm R	0.23	-0.56	-0.02	-0.27	0.13	-0.10	-0.09	-0.28	0.42	-0.31
>2 μm R	0.04	-0.31	-0.17	-0.30	-0.10	-0.22	-0.10	-0.30	0.54	-0.08
1-2 μm C+R	0.24	-0.53	-0.10	-0.35	0.04	-0.13	0.07	-0.25	0.54	-0.24
>2 μm C+R	0.06	-0.26	-0.17	-0.36	-0.10	-0.27	-0.02	-0.36	0.63	0.00
Total	0.17	-0.43	-0.13	-0.36	-0.02	-0.19	0.03	-0.31	0.59	-0.14

* : $p < 0.05$

n=9

表 4-8. 綜合南海所有航次之數據，分析各類單細胞固氮生物的表水生物量(取對數值)間之相關係數。

Table 4-8. Correlation coefficients between Log(abundance) of various kinds of surface unicellular diazotrophs in the SCS after stations in all cruises were compiled.

	1-2 μm C	>2 μm C	1-2 μm R	>2 μm R	1-2 μm C+R	>2 μm C+R
>2 μm C	0.94**					
1-2 μm R	-0.26	-0.41				
>2 μm R	0.14	0.06	0.44			
1-2 μm C+R	1.00**	0.92**	-0.18	0.16		
>2 μm C+R	0.94**	0.99**	-0.34	0.14	0.93**	
Total	0.98**	0.98**	-0.28	0.14	0.98**	0.99**

** : $p < 0.01$

n=13

表 4-9. 綜合南海所有航次之各類單細胞固氮生物的水柱累計生物量取對數值後進行相關係數分析。

Table 4-9. Correlation coefficients between Log(abundance) of various kinds of unicellular diazotrophs integrated from 0-100 m in the SCS after stations in all cruises were compiled.

	1-2 μm C	>2 μm C	1-2 μm R	>2 μm R	1-2 μm C+R	>2 μm C+R
>2 μm C	0.93**					
1-2 μm R	0.91**	0.81**				
>2 μm R	0.92**	0.94**	0.93**			
1-2 μm C+R	1.00**	0.93**	0.93**	0.93**		
>2 μm C+R	0.94**	1.00**	0.84**	0.96**	0.94**	
Total	0.99**	0.97**	0.90**	0.96**	0.99**	0.98**

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

n=9