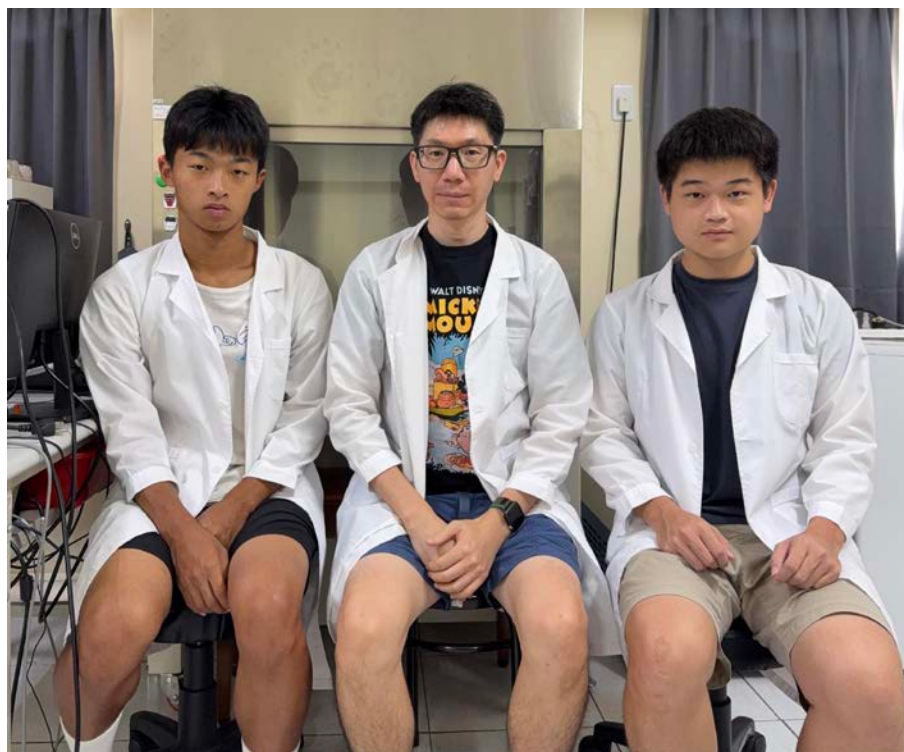


2025年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號	070006
參展科別	微生物學
作品名稱	潮間帶微生物動態：探索隨機中性與環境因子 對細菌與古菌群落演替之影響
就讀學校	嘉義縣私立協同高級中學 國立嘉義高級中學
指導教師	萬民濤
作者姓名	劉秉儒 許睿鈞
關鍵詞	<u>潮間帶、微生物、二代定序</u>

作者簡介



我們分別是協同高中和嘉義高中的高三學生—劉秉儒、許睿鈞，基於我們對於生物研究的熱愛，特別是微生物動態的部分，我們在萬博士的指導下進行了為期兩年關於微生物的研究，很高興能參加本次科展分享成果。

研究報告封面

2025 年臺灣國際科學展覽會

研究報告

區別：

科別：微生物學科

作品名稱：

潮間帶微生物動態：探索隨機中性與環境因子對細菌與古菌群落

演替之影響

關鍵詞：潮間帶、微生物、二代定序

編號：

研究創新性

1. 群落隨機中性模型與環境因子綜合分析：以往的潮間帶微生物群落研究多僅聚焦在環境因子的影響，在本研究中我們嘗試結合隨機中性模型與環境因子的相關分析來探討群落隨機過程與環境因素如何共同影響古菌與細菌的群落演替。這樣的雙重分析方法，不僅加深了我們對微生物群落動態的認識，還開創了一個對微生物群落形成與發展研究的新方向。
2. 細菌與古菌的代謝功能互補與差異分析：本研究採用高通量基因定序技術及 Picrust2 代謝預測進行金門潮間帶環境中細菌與古菌的代謝功能異同的分析。結果顯示，細菌與古菌在多種核心代謝途徑上具備共通性，另外也有屬於各自特定的代謝路徑，這些差異反映了古菌與細菌在不同生態功能上的特別適應性。
3. 細菌與古菌交互作用的共線性網路分析：我們利用共線性網路分析模型來展示細菌與古菌之間的交互關係。我們發現細菌與古菌的交互網路同時存在正相關的代謝協同作用及負相關的競爭關係。此結果能讓我們更全面的瞭解潮間帶微生物群落各物種間的競爭與依賴關係，進而能幫助我們未來探討微生物生態系統的穩定性與功能性。

目錄

中文摘要	4
Abstract	5
壹、前言	6
一、研究動機	6
二、研究目的	7
貳、研究材料與方法	8
一、採樣區域	8
二、水體樣本採樣程序	8
三、水質物化指標偵測	9
四、水樣處理與環境 DNA 萃取	9
五、古菌與細菌 16S rRNA 增幅與標記-PCR	9
六、次世代定序與數據處理	10
七、做圖與統計顯著性分析	10
參、結果	11
一、金門南門海微生物群落組成	11
二、金門南門海潮間帶微生物時空分布	19
三、群落組裝與遷移驅動力--隨機中性與環境因子分析	21
四、金門南門海潮間帶微生物代謝功能分析	25
五、金門南門海潮間帶細菌與古菌交互作用	27
肆、討論	28
伍、結論	31
陸、研究限制	32
一、樣本代表性:	32
二、缺乏微生物群落與環境因子相關性之的直接因果推論:	32
三、古菌與細菌間的相互作用與其生態功能性缺少實證的多元基因體資料:	32
柒、未來方向	33

一、潮間帶微生物的季節性變化：	33
二、環境因子對微生物功能的影響：	33
三、細菌與古菌的交互作用：	33
捌、參考文獻	34

中文摘要

本研究探討了潮間帶環境中細菌與古菌的群落結構及其生態功能，並評估了隨機過程與環境因子對群落演替的影響。我們於金門南門海域的潮間帶進行了五次採樣，我們使用次世代定序(Next Generation Sequencing)進行 16S rRNA 基因的定序技術分析了該區域微生物的豐度變化及其功能特性。結果顯示，細菌群落以變形菌門為優勢群，而古菌群落則以亞硝化菌科為主。隨機中性模型的結果顯示古菌的豐度顯著受到隨機擴散的影響，而細菌群落則主要由鹽度、溫度和溶解氧等環境因子所驅動。經由 Picrust2 代謝路徑預測的結果顯示，古菌與細菌共享多種基本代謝途徑，顯示出它們在生態上的互補性；同時，各自特有的代謝途徑則體現了它們對環境壓力的不同適應方式。本研究為潮間帶微生物群落的動態變化及生態功能提供了新的發現。

關鍵詞：潮間帶、微生物、二代定序

Abstract

This study investigates the community compositions and ecological functions of bacteria and archaea in intertidal zone environments, focusing on the effects of stochastic processes and environmental factors on community succession. We conducted five sampling sessions in the intertidal zone of the Nanmen sea area of Kinmen, using Next Generation Sequencing (NGS) technology to analyze changes in microbial abundance and functional traits through 16S rRNA gene sequencing. The results showed that *Proteobacteria* dominated the bacterial community, while *Nitrosopumilaceae* were the primary archaeal group. The neutral community model indicated that the abundance of archaea was significantly affected by stochastic diffusion, whereas the bacterial community was mainly driven by environmental factors such as salinity, temperature, and dissolved oxygen. The metabolic pathway predictions generated by Picrust2 revealed that both archaea and bacteria share several core metabolic pathways, highlighting their ecological complementarity. At the same time, their distinct metabolic pathways reflected their different adaptations to environmental pressures. This study contributes new insights into the dynamics and ecological functions of microbial communities in intertidal zones.

Keywords : intertidal zone 、 microbial 、 Next Generation Sequencing

壹、前言

一、研究動機

潮間帶 (Intertidal zone) 作為海洋和陸地交界的特殊生態區域，承載著豐富且獨特的微生物多樣性。在這個生態系統中，微生物群落的組成和功能不僅反映了生態系統的健康狀態，也對環境變化具有極高的敏感性。因此，研究潮間帶中古菌與細菌的群落結構和動態變化，對於理解全球變遷下生態系統的響應與適應具有重要意義 [1, 2]。

古菌 (Archaea) 與細菌 (Bacteria) 作為地球上最早出現的生命形式之一，它們在生物地球化學循環中扮演著關鍵角色 [2, 3]。特別是在極端環境中，古菌展現出了令人驚訝的適應性 [4, 5]。然而，相較於其他生態系統，對潮間帶環境中古菌與細菌的研究相對較少，這限制了我們對其生態功能和環境影響的全面理解。近年來，隨著分子生物學技術的進步，特別是高通量 (High-throughput) 基因定序技術的應用，使得我們對於微生物群落的結構與動態有了更進一步的瞭解 [6]。這些技術不僅使我們能夠確定微生物的物種豐富度和相對豐度，還能顯示微生物之間以及微生物與其環境之間的交互作用。此外，環境 DNA (Environmental DNA, eDNA) 分析技術的使用，提供了一種非侵入性的方法來監測和評估生物多樣性，這在動態變化迅速的潮間帶環境中十分重要 [7]。

前人研究顯示，潮間帶微生物群落的組裝和演替受到多種因素的影響。這些因素包括物理化學條件（如溫度、鹽度、pH 值、氧化還原電位）、生物間的交互作用（如競爭、捕食）以及環境中資源的可用性 [2, 8]。這些環境變數不僅影響單一物種的生存和繁殖，還塑造了整個群落的結構和功能 [1, 2]。此外，隨機過程在潮間帶微生物群落的形成中也起著重要角色。例如潮汐的影響，微生物可以通過水流被帶到新的地點，這種「漂浮」事件增加了群落的隨機性，使得微生物群落的組裝過程不完全依賴於傳統的生態位選擇；而極端天氣事件（如颱風、暴雨）亦可能對潮間帶生態系統產生顯著的影響，改變地表物質的流動與分佈，進而影響微生物群落的結構與功能 [4, 6]。

二、研究目的

目前對於環境因子影響微生物群落組裝的研究已有許多資料，然而有關中性隨機過程對微生物群落分布影響的研究則相對缺乏。基於上述的研究背景，本研究之目的為探索潮間帶古菌與細菌的群落演替如何受到隨機過程和環境篩選的共同作用。金門南門海位於金門島的西南沿海，緊鄰臺灣海峽，在地理上與福建省第二大江-九龍江隔海相對，由於九龍江(平均流量 187 立方公尺/秒)輸出含有大量有機物的至金門週邊海域，且其顯著的潮差使得這片區域成為豐富的海洋生物棲息地，在這片廣大的潮間帶中當中包括大量的貝類、軟體動物、海藻和微生物，形成一個高生物多樣性的生態系。南門海的海域環境受季風、海流以及氣候條件的綜合影響，導致水溫、鹽度、電導度、溶氧等物化因子隨著季節的變化而呈現出明顯的波動。這種變化為研究海域微生物群落演替與環境因子之間的相互作用提供了絕佳的環境。本研究中我們利用 16S rRNA (ribosomal RNA, rRNA) 搭配次世代高通量基因定序技術(Next Generation Sequencing, NGS)對金門南門海潮間帶的海水進行微生物群落(Microbial Community)包括細菌(Bacteria)與古菌(Archaea)的鑑定和環境物化參數的分析，我們希望能藉此瞭解(1)影響微生物在潮間帶中分布的驅動力為何，而(2)這些驅動力如何影響這些微生物在群落結構與生態功能上的變化，以及(3)古菌與細菌彼此間是如何的交互作用。

貳、研究材料與方法

一、採樣區域

本研究採樣位置圖顯示於圖一。本研究已於 2022 年 07 月 12 日至 13 日、2022 年 08 月 01 日至 02 日、2022 年 09 月 12 日至 13 日、2022 年 10 月 07 日至 08 日與 2022 年 11 月 07 日至 08 日進行五次環境水體的採樣，總計採樣 45 個水體樣本。



(本圖由作者親自繪製)

圖一、本研究採樣區域。

二、水體樣本採樣程序

每一處環境水樣採樣體積為 2 L，所有的水體樣本皆以已滅菌的 2L 無菌塑膠瓶進行採樣，水體採樣以當日最大漲潮時段為原則進行採樣。採樣瓶以所採集的水樣洗滌 2-3 遍後隨機取 3 至 6 處不同位置的 2L 海水進行水樣混和，之後取混合的 2L 採樣裝滿至瓶口溢流後封口。水體樣本採樣後立即以 4°C 冷藏保存，並隨飛機運送至位於萬雲生物科技有限公司生態健康微生物核心實驗室進行樣本濃縮及後續處理。

三、水質物化指標偵測

為了瞭解微生物與水質物化參數之關係，本研究以多參數水質分析儀(U-50，Horiba，日本)蒐集每一次採樣包括酸鹼度(pH)、氧化還原度(Oxidation-Reduction Potential)、導電度(Conductivity)、鹽度(Salinity)、總溶解固體量(Total Dissolved Solids)與溫度(Temperature)等6種水質參數數值；溶氧度(Dissolved Oxygen)則以溶氧計(VZ8403BZ，衡欣，臺灣)進行量測。

四、水樣處理與環境 DNA 萃取

水樣處理依據萬雲生物科技有限公司技術文件第 HF005-1230-01-WYM 號進行處理。敘述如下：將受測水樣 2 L 水體以 0.22 μm PES 濾膜(PALL，臺灣)進行過濾後將濾膜依 DNeasy PowerWater Kit (Qiagen，臺灣)操作手冊進行 eDNA 之抽取。

五、古菌與細菌 16S rRNA 增幅與標記-PCR

本研究使用對細菌與古菌 16S rRNA 基因的 V6–V8 與 V3–V4 可變區域進行的引子進行 PCR 增幅，使用細菌通用引子 968F (5'-AACGCGAAGAACCTTAC-3') 和 1391R (5'-ACGGGCGGTGWGTRC-3') [9]; 古菌通用引子為 A306F (5'-GCCCCGAGATGGGTACTGARA-3') 和 A712R (5'-GCCTTCGCCACWGGTGGTC-3') [10]。反應混合物包含 1 μL 5 U 的 TaKaRa Ex Taq HS (Takara Bio, Japan)，5 μL 10 $\times$ Ex Taq 緩衝液，4 μL 2.5 mM 去氧核苷酸混合物，每個引子 1 μL (10 μM)，以及 1–5 μL (10–20 ng) 的模板 DNA，總體積為 50 μL 。PCR 在以下條件下進行：94 $^{\circ}\text{C}$ 5 分鐘；20 個循環的 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 秒、52 $^{\circ}\text{C}$ 20 秒和 72 $^{\circ}\text{C}$ 45 秒；最後在 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 分鐘。DNA 標記 PCR 被用於標記細菌與古菌 16S rRNA 基因 V6–V8 和 V3–V4 區域的每個 PCR 產物 (Chen et al., 2011)。標記 PCR 則在引子端設計了四個核苷酸條碼(Barcode)；這種排列在細菌與古菌引子的 5' 末端產生了不同排列組合獨特標記，適用於細菌與古菌 DNA。標記 PCR 條件包括初始步驟 94 $^{\circ}\text{C}$ 3 分鐘；5 個循環，94 $^{\circ}\text{C}$ 20 秒、60 $^{\circ}\text{C}$ 15 秒、72 $^{\circ}\text{C}$ 20 秒；最後 72 $^{\circ}\text{C}$ 2 分鐘。標記 PCR 反應後的產物經由膠體純化後回收進行 Qubit 2.0 核酸定量，並將每個樣本取等濃度的純化產物進行混和。

六、次世代定序與數據處理

本研究將製備好含有 Barcode 並經由膠體純化後且混和的 PCR 產物送交威健科技股份有限公司的 Illumina MiSeq 2×300 bp 測序平臺對總數 45 個樣本進行擴增子文庫(Amplicon Library)建立及高通量定序。擴增子數據分析使用萬雲生物科技有限公司技術文件第 WANYUNGS-01-24 號進行處理，其流程簡述如下:以 Usearch11 將定序後的 16S rRNA 基因的 R1.fastq 與 R2.fastq 合併，之後依照樣本 Barcode 進行樣本 assigned，Assigned 後的樣本去除 Barcode 與引子及降噪(Denoise)，並建立 Amplicon Sequence Variants (ASV)。將已建立的 ASV 表進行數據的標準化及對應物種注釋。細菌與古菌 16S rRNA 代謝功能性預測則以 Picrust2 進行。

七、做圖與統計顯著性分析

本研究於微生物相對豐度與熱圖的作圖為採用實驗室 Excel 365 與 R software (Version 4.1.2) 自行編寫的程式進行繪圖。為了瞭解金門南門海潮間帶細菌與古菌的群落組成分布的驅動力來源，本研究使用 R Software 自行編寫程式進行中性群落模型(Neutral Community Model, NCM)、冗餘分析(Redundancy analysis, RDA)進行統計檢驗及進行水質指標與微生物群落組的 Spearman 相關性分析(Spearman Rank Correlation Analysis)，相關強度 <0.1 以下為弱相關；相關強度 0.1-0.39 為低度相關；相關強度 0.4-0.69 為中度相關；相關強度 0.7-0.99 為高度相關；相關強度 1.0 為完全相關。相關性分析完成後以 Cytoscape (Version 3.9.0)進行做圖。此外，為了進一步解析細菌與古菌彼此的交互作用，本研究採用了 Cytoscape 搭配 CoNet 外掛程式進行微生物共線性網絡(Microbial co-occurrence networks)的建構。各項統計檢定設定 $\alpha=0.05$ 為比較差異之顯著水準，若 $P < 0.05$ 則判定為統計上之顯著差異。

參、結果

一、金門南門海微生物群落組成

1.1 微生物群落在門 (Phylum) 分類層級的組成

微生物 Phylum 群落相對豐度的結果顯示於圖二(A)與(B)，在金門南門海的潮間帶中，各採樣點的微生物群落顯示出古菌主要由 *Thaumarchaeota* 和 *Euryarchaeota* 兩個菌門構成。*Thaumarchaeota* 在所有採樣點均為優勢群，其相對豐度範圍為 60.65%至 82.92%，其中在採樣點 G 的豐度最高，達到 82.92%；而在採樣點 E，其豐度則為 60.65%。另一方面，*Euryarchaeota* 作為次優勢菌群，其相對豐度範圍在 14.46%至 38.67%之間，尤其在採樣點 E 中豐度最高，為 38.67%。此外，*Woesearchaeota* 與 *Diapherotrites* 在大多數採樣點中的相對豐度較低，通常不超過 1.5%。各採樣點的豐度前三名分類結果如下：採樣點 A：*Thaumarchaeota* 佔 60.72%，*Euryarchaeota* 佔 38.17%，*Woesearchaeota* 佔 1.08%。採樣點 B：*Thaumarchaeota* 佔 62.65%，*Euryarchaeota* 佔 36.46%，*Woesearchaeota* 佔 0.65%，*Diapherotrites* 佔 0.20%。採樣點 C：*Thaumarchaeota* 佔 62.13%，*Euryarchaeota* 佔 37.02%，*Woesearchaeota* 與 *Diapherotrites* 分別佔 0.56%與 0.25%。其他採樣點也呈現出相似的結構，主要以 *Thaumarchaeota* 和 *Euryarchaeota* 為主，僅在各採樣點中次要菌門的組成略有不同。在細菌群落的組成中，主要菌門包括厚壁菌門 (*Firmicutes*)、擬桿菌門 (*Bacteroidetes*)、變形菌門 (*Proteobacteria*) 以及放線菌門 (*Actinobacteria*)。厚壁菌門在所有採樣點中皆為主要優勢菌群之一，其相對豐度範圍為 18.54%至 77.31%，尤其在採樣點 A 與 D，其豐度分別達到 77.31%與 68.24%。擬桿菌門在採樣點 C 與 E 中佔優勢，分別佔 63.87%與 68.24%，而在其他採樣點中相對豐度則較低。變形菌門在所有採樣點的相對豐度範圍為 7.19%至 77.33%，尤其在採樣點 B 中豐度最高。放線菌門整體而言相對豐度較低，但在某些採樣點如採樣點 E 與 I 中，其豐度達到 8.29%和 16.38%。各採樣點細菌群落的豐度前三名菌門如下：採樣點 A：變形菌門佔 77.31%，藍綠菌門次之，佔 9.15%，擬桿菌門佔 3.79%。採樣點 B：變形菌門佔 77.33%，藍綠菌門佔 7.51%，擬桿菌門佔 3.82%。採樣點 C：變形菌門佔 73.50%，

Parcubacteria 與藍綠菌門分別佔 8.61%與 7.47%。其他採樣點的主要菌群構成也類似，變形菌門在各採樣點均佔主導地位。

1.2 微生物群落在綱 (Class) 分類層級的組成

微生物 Class 群落相對豐度的結果顯示於圖二(C)與(D)，在綱分類層級中，古菌群落主要由 *Nitrososphaeria* 和 *Thermoplasmata* 組成。其中，*Nitrososphaeria* 在所有採樣點中為優勢群，豐度範圍為 60.65%至 82.92%，尤其在採樣點 G，其豐度達到最高值 82.92%。*Thermoplasmata* 和 *Methanobacteria* 則在部分採樣點中相對豐度較高，*Thermoplasmata* 的豐度約為 8.99%至 9.50%，*Methanobacteria* 的豐度則介於 9.99%至 12.11%之間。各採樣點的主要分類綱如下：採樣點 A：*Nitrososphaeria* 佔 60.72%，*Methanobacteria* 佔 12.11%，*Thermoplasmata* 佔 9.15%。採樣點 B：*Nitrososphaeria* 佔 62.65%，*Methanobacteria* 佔 11.06%，*Thermoplasmata* 佔 8.99%。其他採樣點的群落組成大致相似，僅在次要分類綱的豐度上存在些許變異。細菌群落的主要分類綱包括 Alpha 變形菌綱 (*Alphaproteobacteria*)、Gamma 變形菌綱 (*Gammaproteobacteria*)、藍綠菌綱 (*Cyanobacteria*) 及 Delta 變形菌綱 (*Deltaproteobacteria*)。*Alphaproteobacteria* 在所有採樣點中為主要菌群，其相對豐度範圍為 33.87%至 49.51%，尤其在採樣點 A 和 J 中豐度最高，分別為 49.46%和 49.51%。

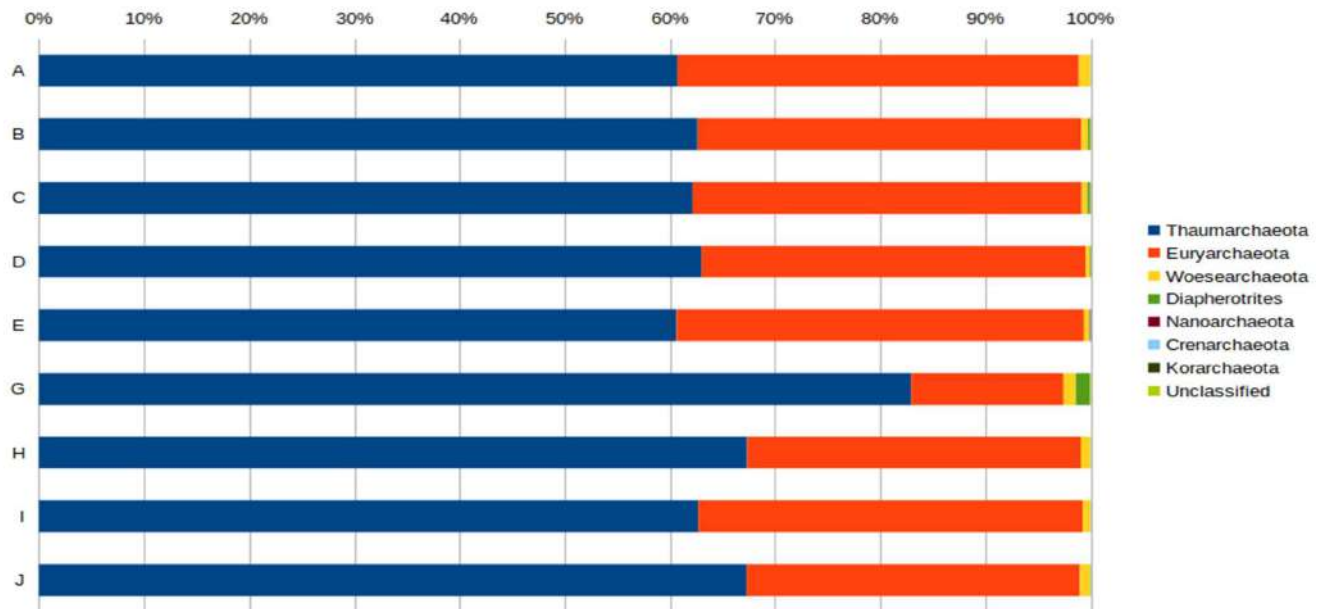
1.3 微生物群落在目 (Order) 分類層級的組成

在目分類層級中，古菌群落主要由 *Nitrosopumilales*、*Methanomassiliicoccales* 和 *Methanobacteriales* 組成。*Nitrosopumilales* 在所有採樣點中均佔主導地位，豐度範圍為 60.65%至 82.92%。*Methanomassiliicoccales* 豐度範圍為 3.05%至 14.97%，在採樣點 C 和 H 中豐度較高 (圖二 (E)與(F))。

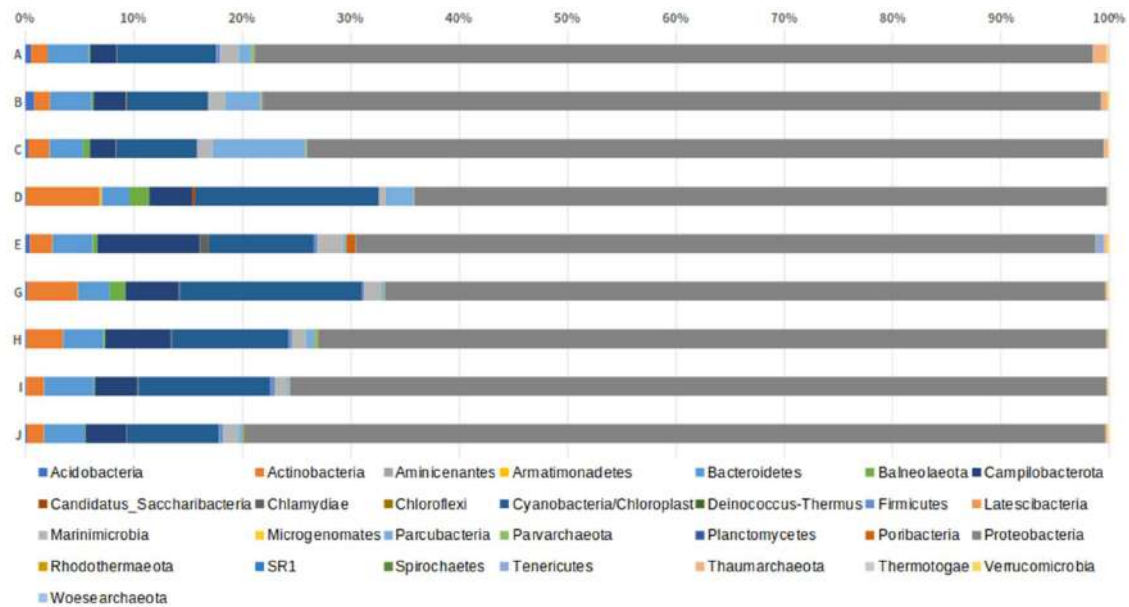
1.4 微生物群落在科 (Family) 和屬 (Genus) 分類層級的組成

在科和屬層級中，古菌群落主要由 *Nitrosopumilaceae*、*Methanomassiliicoccaceae* 和 *Methanobacteriaceae* 組成。在所有採樣點中，*Nitrosopumilaceae* 均佔據主導地位。同樣地，細菌群落主要由 *Rhizobiaceae*、*Pseudomonadaceae*、*Cyanobacteriaceae* 等科構成，其豐度在各採樣點間具有一定變化(圖二 (G)、(H)、(I)與(J))。

(A)



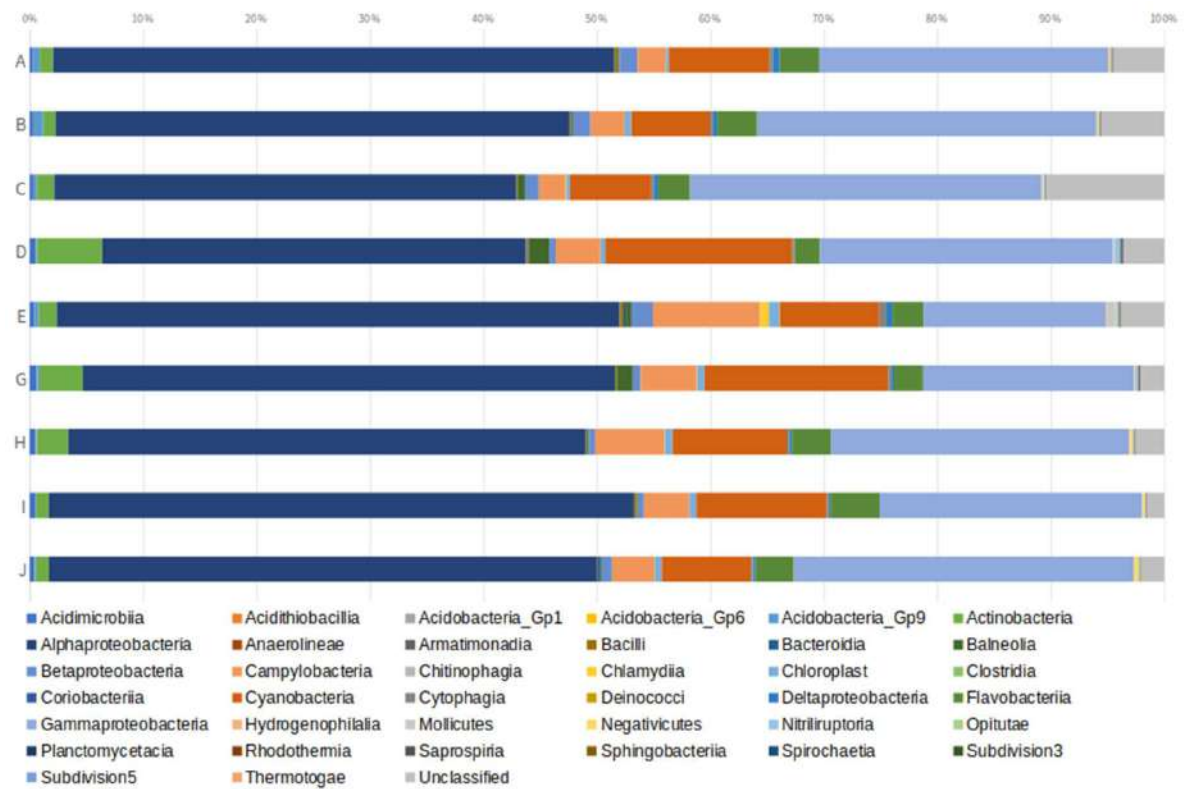
(B)



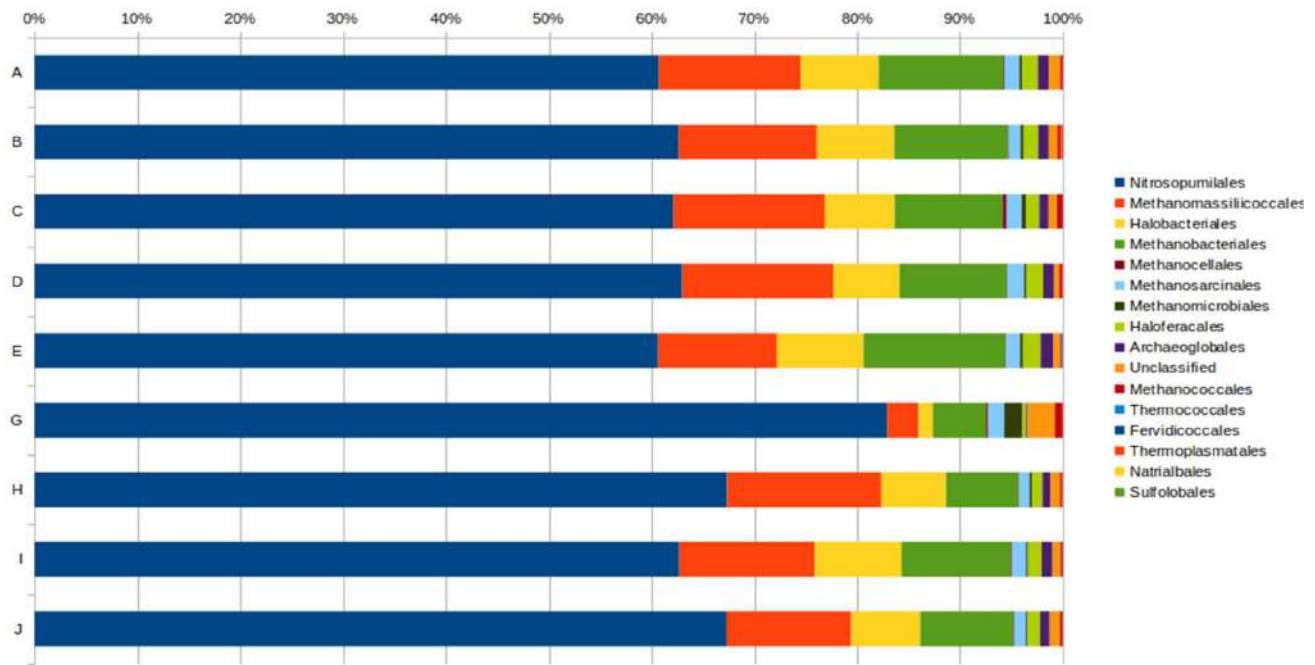
(C)



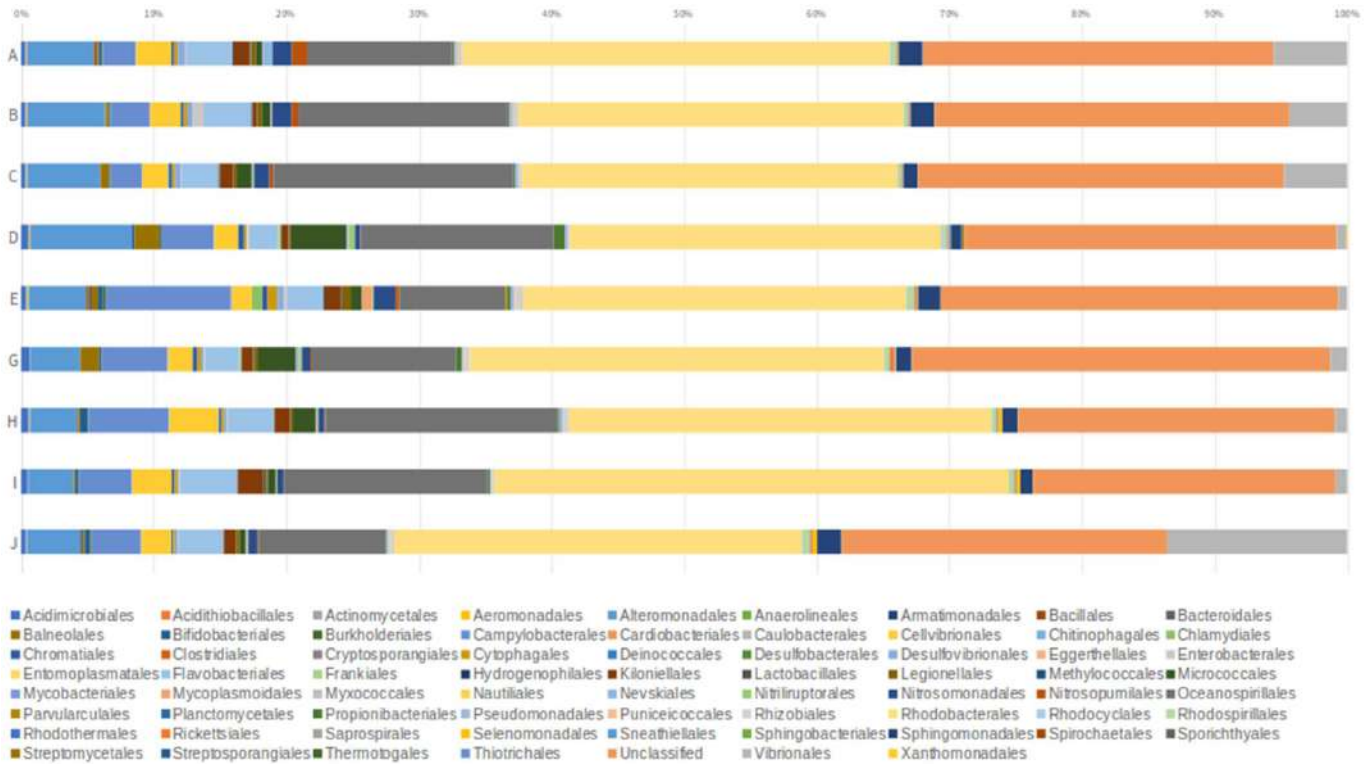
(D)



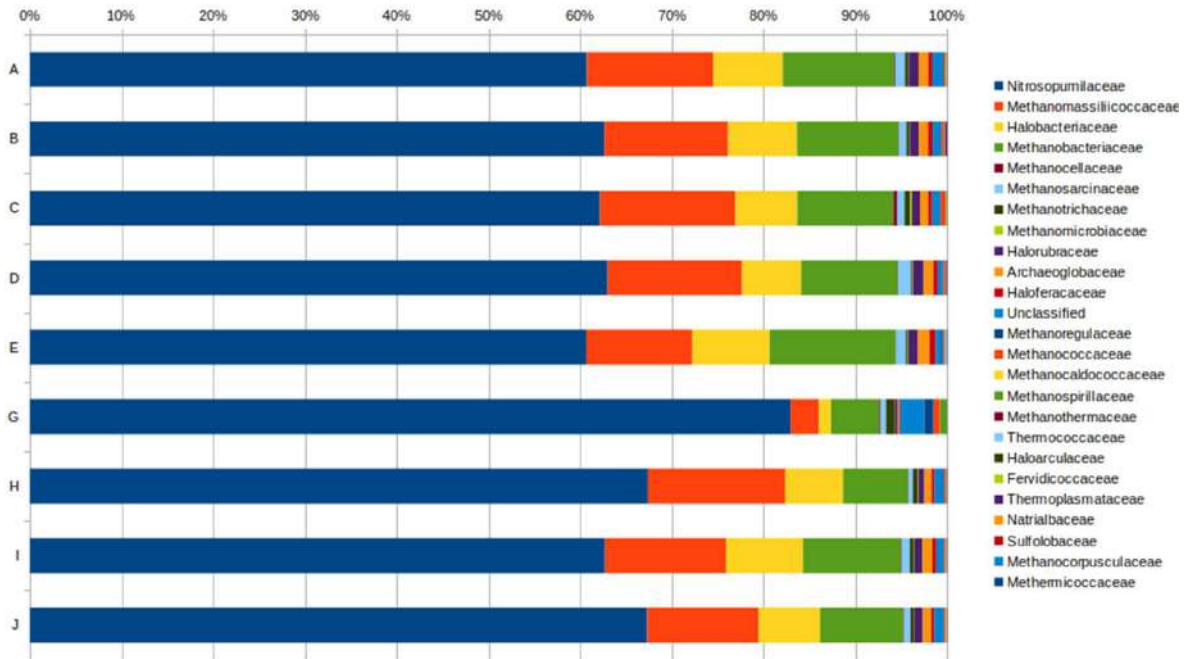
(E)



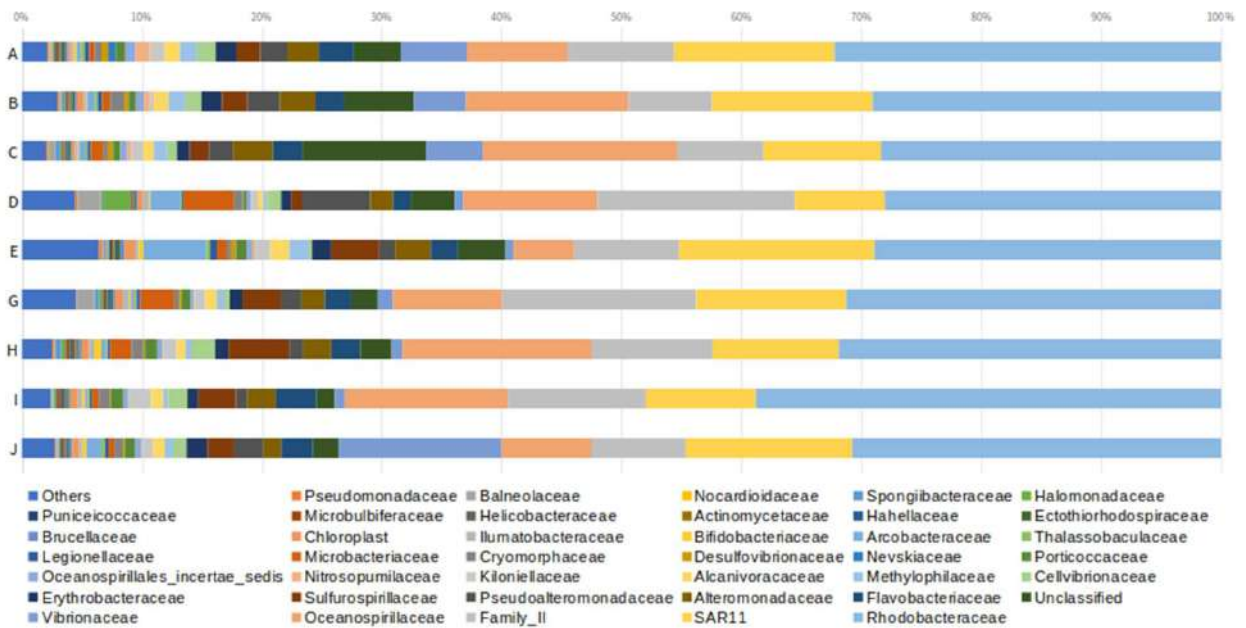
(F)



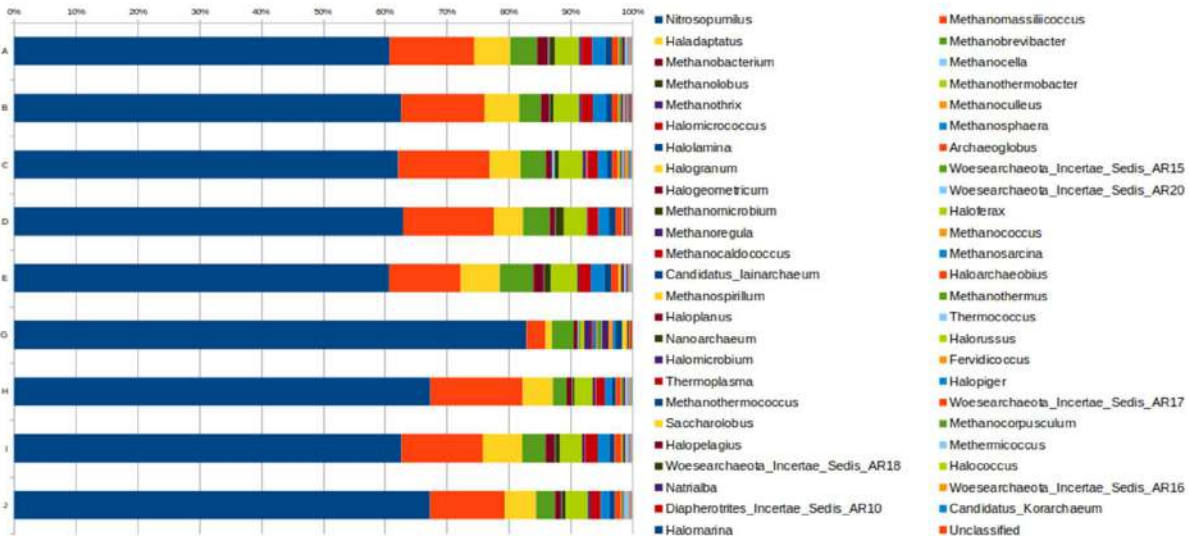
(G)



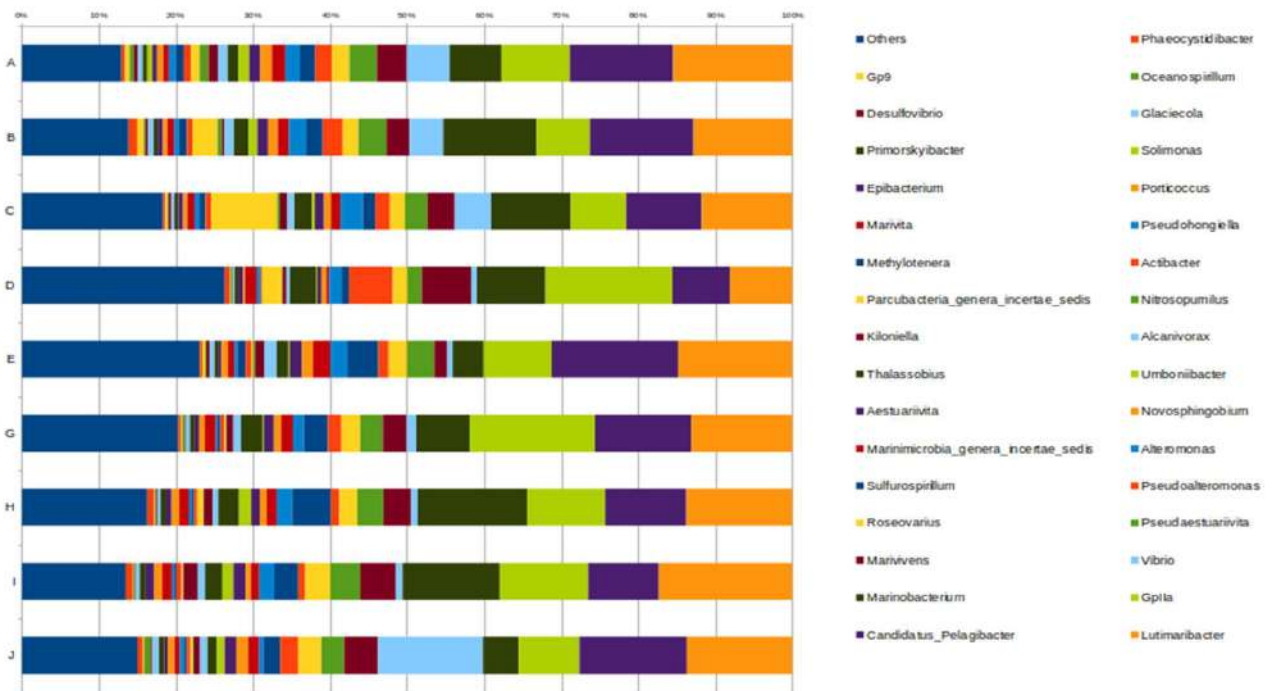
(H)



(I)



(J)



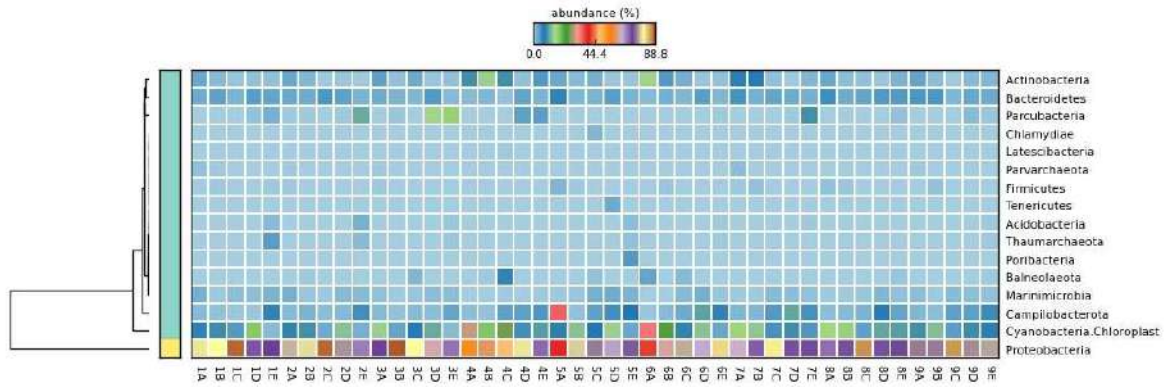
圖二、金門南門海微生物相對豐度組成。(A) Archaea at phylum level; (B) Bacteria at phylum level; (C) Archaea at class level; (D) Bacteria at class level; (E) Archaea at order level; (F) Bacteria at order level; (G) Archaea at Family; (H) Bacteria at Family; (I) Archaea at Genus; Bacteria at Genus。(圖片皆由作者親自繪製)

二、金門南門海潮間帶微生物時空分布

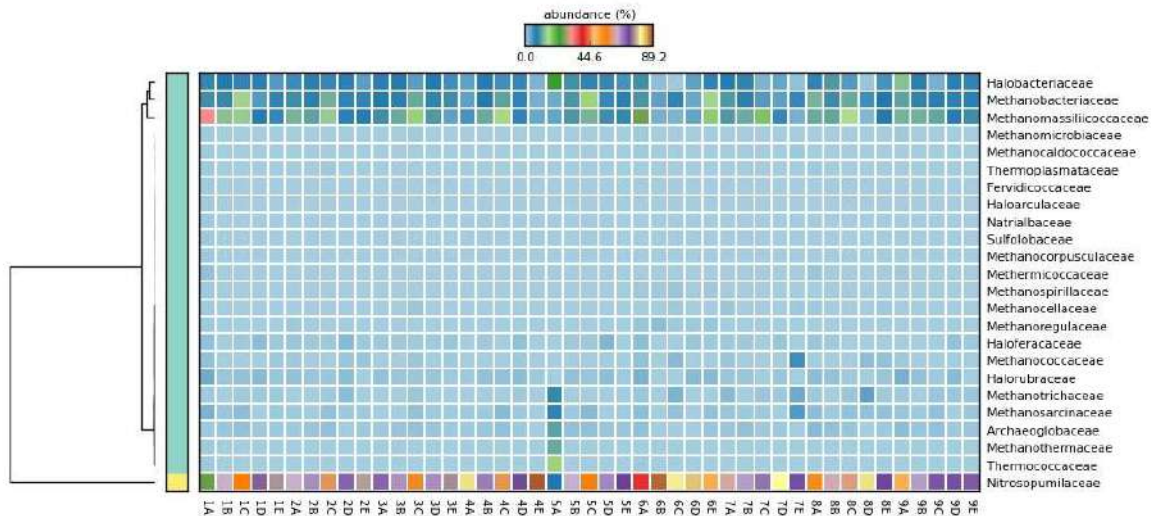
在九處採樣點中，我們發現細菌豐度變化以變形菌（*Proteobacteria*）佔據主導地位，其相對豐度範圍在 63.87%至 87.85%之間(圖三(A))。以 A 點為例，變形菌的相對豐度在 70.93%（4A）至 87.85%（3A）之間波動，顯示了該門在時間軸上的穩定優勢。B 點的變形菌門豐度範圍，為 63.87%（1B）到 81.25%（3B）之間，亦反映了該採樣點群落結構的穩定性。C 點的變形菌豐度範圍則介於 68.29%（1C）和 83.17%（5C）之間，也同樣顯示該門在不同空間及時間點的穩定主導地位。除了變形菌門外，其他細菌門如擬桿菌門（*Bacteroidetes*）和放線菌門（*Actinobacteria*）在特定地點也呈現出顯著的相對豐度。例如，在 A 點，擬桿菌門的相對豐度範圍為 2.64% 至 4.67%，而在 E 點，該門的豐度介於 4.21%（2E）和 6.14%（5E）之間。放線菌門的相對豐度在 A 點的變化範圍為 2.98%（1A）至 4.43%（5A）。然而，在 C 點，放線菌門的相對豐度較為顯著，可達到了 5.87%（4C）。在 E 點，我們發現第五次採樣期間柔膜菌門（*Tenericutes*）和古菌門（*Thaumarchaeota*）顯著增加，分別達到 4.79% 和 7.14%，這與前四次採樣中此二門豐度較低的情況形成明顯的對比。此外，在 A 點，酸桿菌門（*Acidobacteria*）從第一次採樣中的 0.08%（1A）到第五次採樣中的 1.91%（5A）。而在 E 點，曲腸菌門（*Campilobacterota*）在第五次採樣期間達到了最高的相對豐度(7.14%)。而次要的菌門如溫泉菌門（*Balneolaeota*）及衣原體門（*Chlamydiae*）的整體相對豐度則均低於 1%。

古菌群落的豐度分佈同樣顯示出顯著的空間和時間變化(圖三(B))。在所有採樣點中，*Nitrosopumilaceae* 類群佔據優勢，其相對豐度範圍在 26.53% 至 76.52% 之間。在採樣點 A，*Nitrosopumilaceae* 的相對豐度在 26.53%（1A）至 76.52%（5A）之間波動，呈現出隨時間增長的趨勢。採樣點 B 的 *Nitrosopumilaceae* 類群的相對豐範圍為 29.45%（1B）至 71.24%（5B），與採樣點 A 具有類似的上升趨勢。*Methanobacteriaceae* 在採樣 A 點的相對豐度變化範圍從 5.18%（4A）到 15.49%（3A）。在採樣點 C，*Methanobacteriaceae* 的相對豐度範圍在 7.21%（1C）至 11.34%（5C）之間。另一方面，第五次採樣中 *Sulfolobaceae* 和 *Halobacteriaceae* 的相對豐度相較於前四次也顯著增加，分別為 7.14% 和 4.93%，。*Methanospirillaceae* 的相對豐度在所有採樣點均較低，範圍為 0.02% 至 0.18%。

(A)



(B)



(本圖由作者繪製)

圖三、金門南門海細菌(A)與古菌(B)時間序列豐度變化圖。A 到 E 代表不同的採樣時間，數字 1 到 9 為不同的採樣點。

三、群落組裝與遷移驅動力--隨機中性與環境因子分析

為了探討影響古菌和細菌群落的組裝(Assemble)驅動因素，本研究使用中性群落模型(NCM)和冗餘分析(RDA)來檢驗隨機過程與環境因子對群落的影響。NCM結果顯示，隨機過程對古菌群落的豐度變異具有高度解釋力 ($R^2 = 0.94$, Kolmogorov-Smirnov test $D = 0.17778$, $p = 0.4756$)(圖四(A))，此一結果顯示隨機擴散過程能有效解釋古菌物種的豐度變化如 *Archaeoglobaceae*、*Halorubraceae*、*Methanobacteriaceae*、*Methanomassiliicoccaceae* 和 *Nitrosopumilaceae*。相對的，細菌豐度的變化並不適用 NCM 模型 ($R^2 = 0.076$)(圖四(B))，此一結果顯示隨機擴散的過程對細菌豐度的影響並不大。然而，我們也發現環境篩選對於一些古菌物種的豐度，如 *Halobacteriaceae* 和 *Methanosarcinaceae* 具有影響，這些物種的豐度主要受鹽度、溫度和溶解氧等環境因子的影響。相對的，細菌群落的豐度變異主要受環境因子驅動。RDA 結果顯示了環境因子解釋 38.48% 的細菌群落變異 ($F = 3.3065$, $p = 0.005$, data not shown)。例如，*Proteobacteria* 的豐度與溫度和溶解氧顯著相關；*Bacteroidetes* 則與鹽度和溫度相關。其他細菌，如 *Firmicutes* 和 *Campilobacterota*，也受到導電度和溶解氧的顯著影響。

我們進一步探潮間帶細菌和古菌與各種環境因子的關係，其結果顯示於圖五，本研究發現鹽度、導電度和總溶解固體物是影響許多微生物群落的重要因素，特別是對於適應極端環境的菌群；溫度對不同微生物群的影響各異，許多菌群在高溫環境中生長較好，但也有部分對溫度呈現負相關；溶解氧則通常對古菌有抑制作用，亦即古菌偏好低氧環境，而部分細菌則能適應有氧環境；pH 對細菌與古菌的影響相對較小，但對某些菌群的豐度仍有顯著作用。整體而言，這些環境因子對不同微生物群的豐度變化具有統計上的顯著影響，這對於生態功能具重要意涵，並表現出因不同群落相異的關聯，詳細敘述如下：

2.4.1 鹽度

與鹽度呈現正相關的細菌物種為 *Acidobacteria* ($r=0.31$); *Bacteroidetes* ($r=0.32$); *Balneolaeota* ($r=0.37$); *Chlamydiae* ($r=0.43$); *Latescibacteria* ($r=0.58$)。與鹽度呈現正相關的古菌物種為 *Archaeoglobaceae* ($r=0.63$); *Halobacteriaceae* ($r=0.58$); *Haloferacaceae* ($r=0.58$); *Halorubraceae* ($r=0.59$); *Methanobacteriaceae* ($r=0.62$); *Methanocaldococcaceae* ($r=0.62$); *Methanocellaceae* ($r=0.68$); *Methanococcaceae* ($r=0.55$); *Methanocorpusculaceae* ($r=0.45$); *Methanomassiliicoccaceae* ($r=0.64$); *Methanomicrobiaceae* ($r=0.61$); *Methanoregulaceae* ($r=0.68$); *Methanosarcinaceae* ($r=0.60$); *Methanospirillaceae* ($r=0.68$); *Methanotrichaceae* ($r=0.66$); *Methermicoccaceae* ($r=0.53$); *Natrialbaceae* ($r=0.62$); *Nitrosopumilaceae* ($r=0.61$); *Thermoplasmataceae* ($r=0.62$)。

2.4.2 溫度

與溫度呈現正相關的細菌物種為 *Actinobacteria* ($r=0.39$); *Balneolaeota* ($r=0.36$); *Cyanobacteria/Chloroplast* ($r=0.30$); *Firmicutes* ($r=0.51$); *Latescibacteria* ($r=0.35$); *Parvarchaeota* ($r=0.34$)。與溫度呈現正相關的古菌物種為 *Archaeoglobaceae* ($r=0.41$); *Halobacteriaceae* ($r=0.44$); *Haloferacaceae* ($r=0.39$); *Halorubraceae* ($r=0.42$); *Methanobacteriaceae* ($r=0.38$); *Methanocaldococcaceae* ($r=0.40$); *Methanocellaceae* ($r=0.42$); *Methanomassiliicoccaceae* ($r=0.42$); *Methanomicrobiaceae* ($r=0.38$); *Methanoregulaceae* ($r=0.38$); *Methanosarcinaceae* ($r=0.35$); *Methanospirillaceae* ($r=0.44$); *Methanotrichaceae* ($r=0.38$); *Methermicoccaceae* ($r=0.54$); *Nitrosopumilaceae* ($r=0.43$); *Thermoplasmataceae* ($r=0.31$)。

2.4.3 總溶解固體物

與總溶解固體物呈現正相關的細菌物種為 *Actinobacteria* ($r=0.40$); *Balneolaeota* ($r=0.32$); *Firmicutes* ($r=0.41$); *Latescibacteria* ($r=0.31$); *Parvarchaeota* ($r=0.30$)。與總溶解固體物呈現正相關的古菌物種為 *Archaeoglobaceae* ($r=0.59$); *Halobacteriaceae* ($r=0.57$); *Haloferacaceae* ($r=0.51$); *Halorubraceae* ($r=0.54$); *Methanobacteriaceae* ($r=0.57$); *Methanocaldococcaceae* ($r=0.57$); *Methanocellaceae* ($r=0.64$); *Methanococcaceae* ($r=0.46$); *Methanocorpusculaceae* ($r=0.41$); *Methanomassiliicoccaceae* ($r=0.58$); *Methanomicrobiaceae* ($r=0.59$); *Methanoregulaceae* ($r=0.57$); *Methanosarcinaceae* ($r=0.59$); *Methanospirillaceae* ($r=0.59$); *Methanotrichaceae* ($r=0.61$); *Methermicoccaceae* ($r=0.61$); *Natrialbaceae* ($r=0.46$); *Nitrosopumilaceae* ($r=0.56$); *Thermoplasmataceae* ($r=0.50$)。

2.4.4 導電度

與導電度呈現正相關的細菌物種為 *Balneolaeota* ($r=0.35$); *Firmicutes* ($r=0.45$); *Latescibacteria* ($r=0.40$)。與導電度呈現正相關的古菌物種為 *Archaeoglobaceae* ($r=0.61$); *Halobacteriaceae* ($r=0.58$); *Haloferacaceae* ($r=0.50$); *Halorubraceae* ($r=0.54$); *Methanobacteriaceae* ($r=0.58$); *Methanocaldococcaceae* ($r=0.57$); *Methanocellaceae* ($r=0.64$); *Methanococcaceae* ($r=0.48$); *Methanocorpusculaceae* ($r=0.42$); *Methanomassiliicoccaceae* ($r=0.58$); *Methanomicrobiaceae* ($r=0.60$); *Methanoregulaceae* ($r=0.58$); *Methanosarcinaceae* ($r=0.61$); *Methanospirillaceae* ($r=0.61$); *Methanotrichaceae* ($r=0.63$); *Methermicoccaceae* ($r=0.60$); *Natrialbaceae* ($r=0.45$); *Nitrosopumilaceae* ($r=0.56$); *Thermoplasmataceae* ($r=0.50$)。

2.5.5 溶解氧

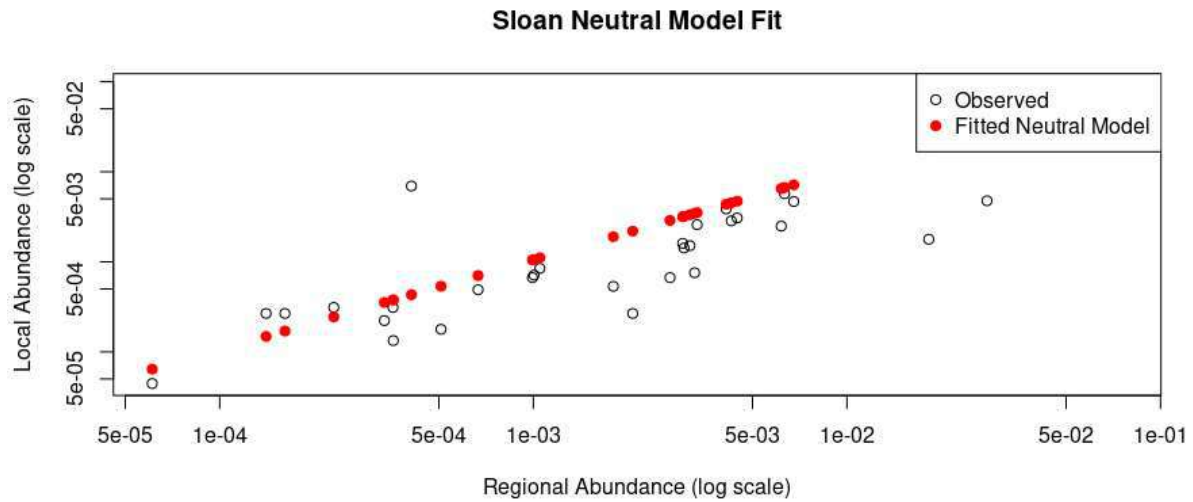
與溶解氧呈現負相關的細菌物種為 *Actinobacteria* ($r=-0.33$); *Balneolaeota* ($r=-0.31$); *Firmicutes* ($r=-0.30$); *Chloroflexi* ($r=0.32$)。與溶解氧呈現負相關的古菌物種為 *Archaeoglobaceae* ($r=-0.44$); *Halobacteriaceae* ($r=-0.48$); *Haloferacaceae* ($r=-0.41$); *Halorubraceae* ($r=-0.44$); *Methanobacteriaceae* ($r=-0.44$); *Methanocaldococcaceae* ($r=-0.44$); *Methanocellaceae* ($r=-0.44$); *Methanococcaceae* ($r=-0.35$); *Methanocorpusculaceae* ($r=-0.35$); *Methanomassiliicoccaceae* ($r=-$

0.46); *Methanomicrobiaceae* ($r=-0.47$); *Methanoregulaceae* ($r=-0.41$); *Methanosarcinaceae* ($r=-0.45$); *Methanospirillaceae* ($r=-0.44$); *Methanotrichaceae* ($r=-0.39$); *Methermicoccaceae* ($r=-0.48$); *Nitrosopumilaceae* ($r=-0.48$); *Thermoplasmataceae* ($r=-0.51$)。

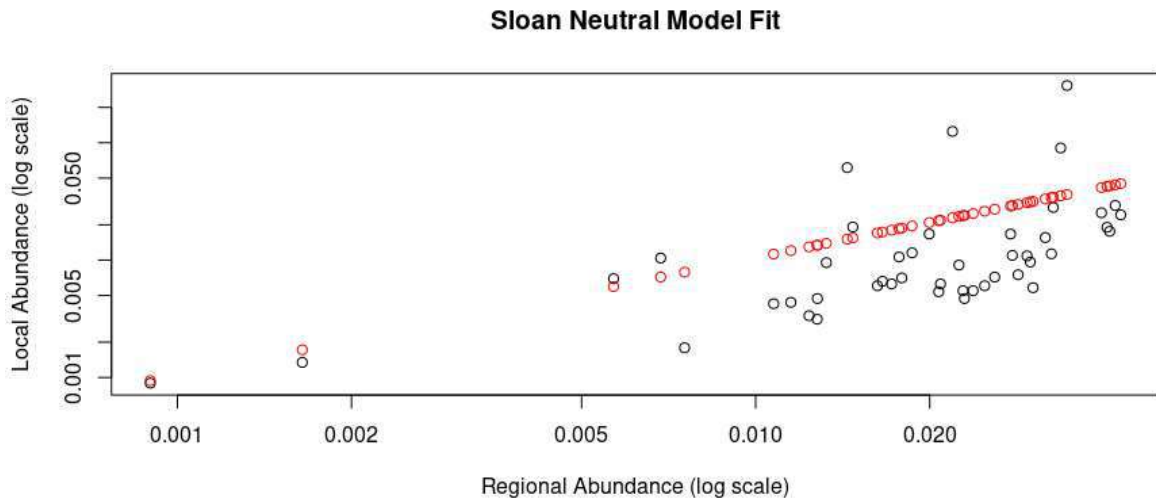
2.6.6 pH

與 pH 呈現正相關的細菌物種為 *Firmicutes* ($r=0.37$)。與 pH 呈現正相關的古菌物種為 *Methanocellaceae* ($r=0.31$); *Methanotrichaceae* ($r=0.35$); *Natrialbaceae* ($r=0.31$)。

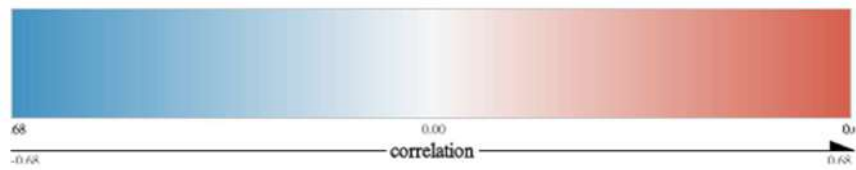
(A)



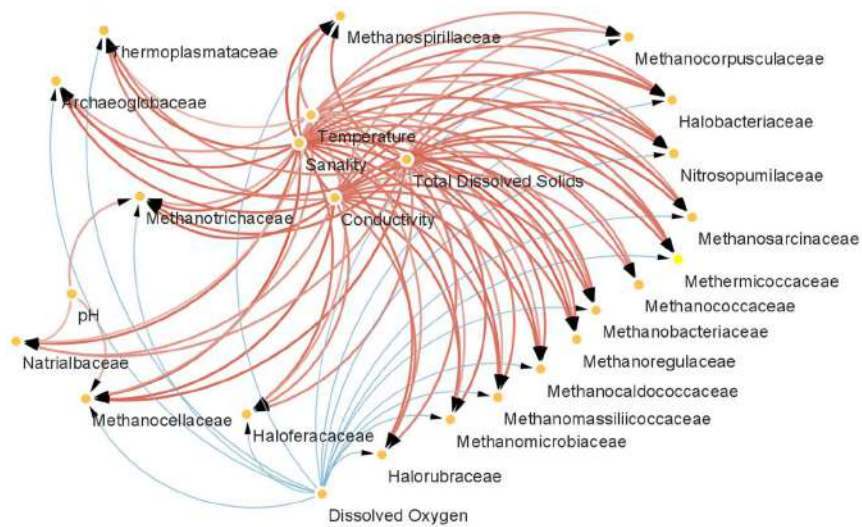
(B)



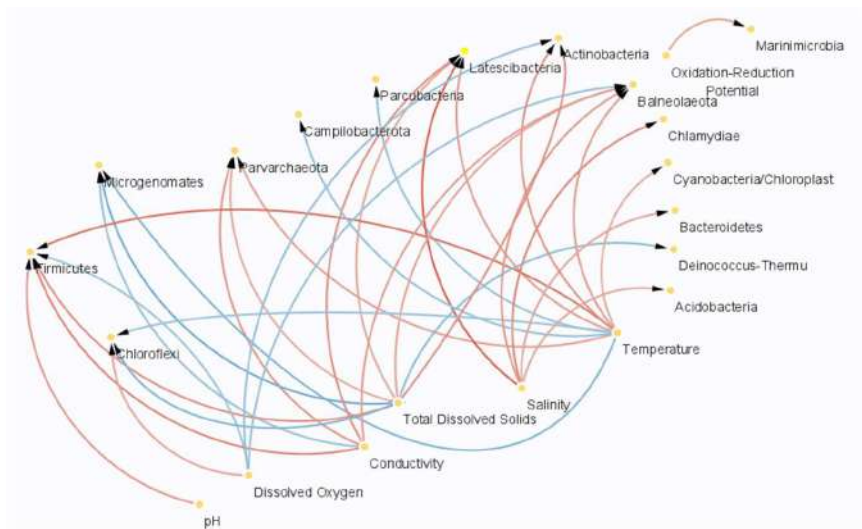
圖四、群落中性模型於古菌(A)與細菌(B)豐度擬合分析。



(A)



(B)



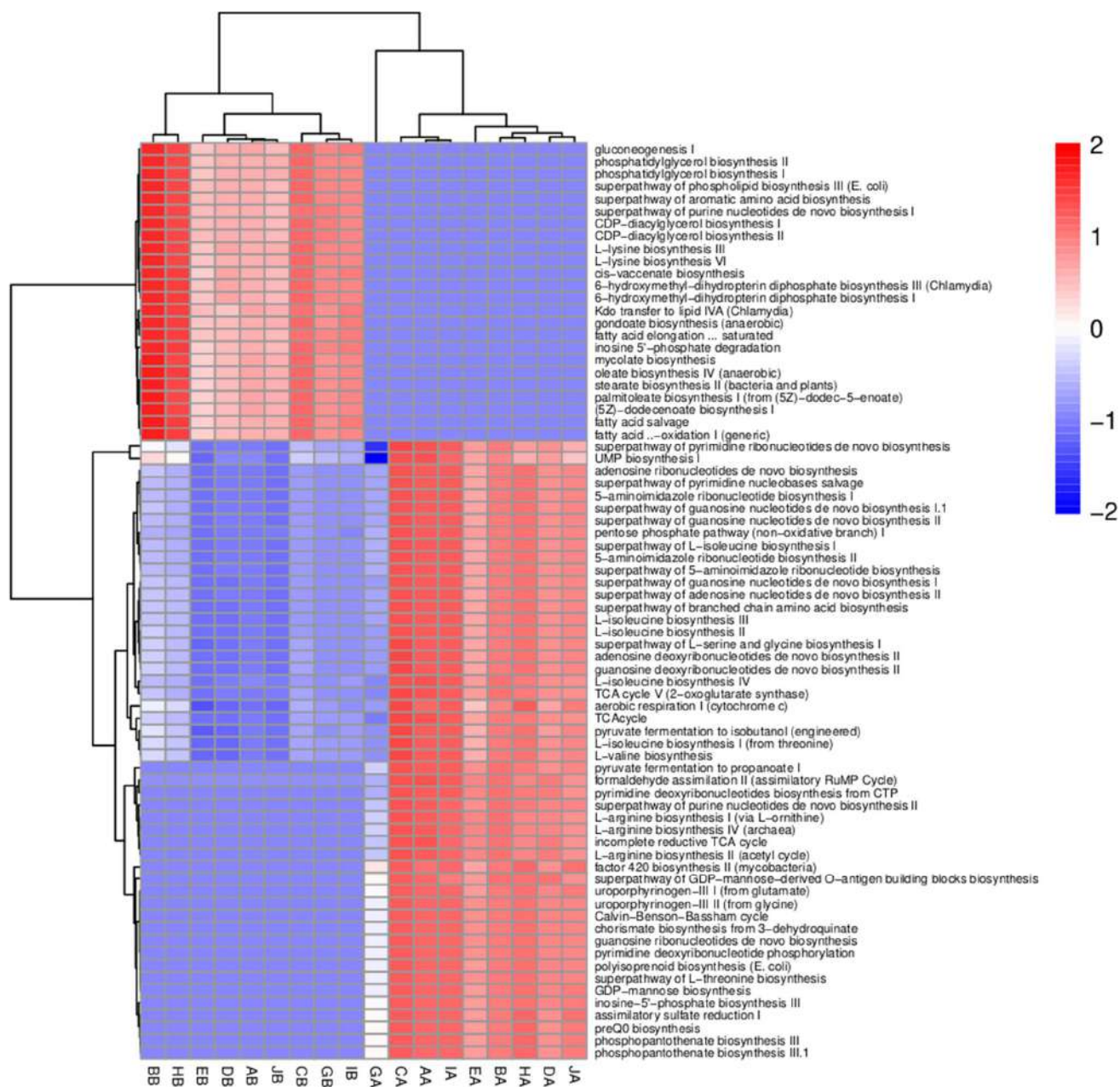
圖五、環境因子與古菌(A)及細菌(B)相關性分析。藍線:負相關;紅線:正相關。線的粗細代表相關強弱。

(圖片皆由作者繪製)

四、金門南門海潮間帶微生物代謝功能分析

為了釐清細菌與古菌於該潮間帶可能具有的代謝功能，本研究採用基於 16S 微生物豐度經由 PICRUST2 預測後得到的細菌與古菌前 50 名 Predicted metagenome 代謝功能性結果，其結果顯示於圖六。我們發現潮間帶海水樣本中細菌和古菌之間代謝途徑的活性具有重疊與差異性，其中共有 26 個代謝途徑是兩者都具有的。這些重複的代謝途徑包括葡萄糖異生 I、磷脂甘油生物合成 II、超途徑的磷脂酰甘油生物合成 III (*E. coli*)、芳香族氨基酸生物合成的超途徑、嘌呤核苷酸從頭合成的超途徑 I、CDP-甘油二磷酸生物合成 II、L-賴氨酸生物合成 II、異亮氨酸生物合成 II、丙酸生物合成、6-羥基甲基二氫蝶啶二磷酸生物合成 III (*Chlamydia*)、甘油磷酸代謝、醣代謝（糖分解途徑）、脂肪酸延長的超途徑、UMP 生物合成、超途徑的嘧啶核苷酸從頭合成、腺苷脫氧核苷酸生物合成 I、L-絲氨酸和甘氨酸生物合成、不完全還原的 TCA 循環、甘氨酸生物合成、甲基三氫葉酸代謝、磷酸戊糖途徑、丙酮酸代謝、氮循環、磷酸脂代謝、琥珀酸酯生物合成以及嘌呤代謝。這些共同的代謝途徑反映了兩類微生物可能在基本生理功能上的重疊性。

相對的，細菌和古菌也各自擁有 24 個獨特的代謝途徑。細菌的獨有代謝途徑主要集中於核苷酸合成、脂肪酸代謝及氨基酸異化代謝，如硬脂酸生物合成 II、脂肪酸合成 II、乙酸代謝、L-蘇氨酸生物合成、亞氨酸代謝、乳酸循環、泛酸生物合成 III、醋酸酯代謝和氧化等。另一方面，古菌的獨特代謝途徑偏向於能量代謝、氨基酸合成及甲醛代謝相關功能，包括 L-精氨酸生物合成 IV、甲醛同化 II (RuMP 循環)、異亮氨酸和纈氨酸生物合成、單醣磷酸化、還原型三羧酸循環、硫磷代謝、單碳代謝以及 L-丙氨酸生物合成等。本結果顯示了在代謝途徑上，古菌樣本更傾向於表達與能量代謝、氨基酸合成相關的代謝途徑；相對的，細菌的代謝途徑表達更偏向於核苷酸合成、脂肪酸合成和氨基酸生物合成。

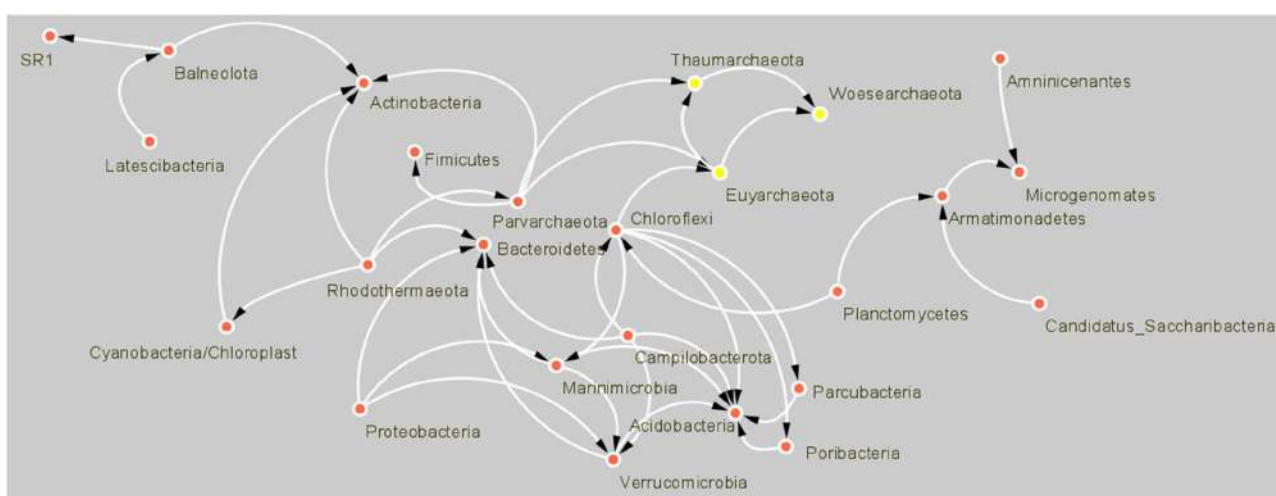


圖六、金門南門海古菌與細菌代謝功能豐度圖。樣本字尾 A 為古菌代謝功能性豐度; 樣本字尾 B 為細菌代謝功能性豐度。

(圖片由作者繪製)

五、金門南門海潮間帶細菌與古菌交互作用

本研究使用 Cytoscape 搭配 CoNet 進行了古菌與細菌的共線性網路分析，藉以推斷潮間帶微生物群落中的互動關係，結果顯示於圖七。此網路圖展示了不同細菌與古菌的門之間的正相關與負相關，並以方向性邊 (edge) 表示其交互作用。整體而言，變形菌門 (*Proteobacteria*) 位於網路的中心位置，其代表的意義顯示變形菌門在此一潮間帶微生物群落中具有高度的影響力。進一步分析發現 *Proteobacteria* 與 *Chloroflexi*、*Rhodothermaeota*、*Marinimicrobia* 等形成正相關。我們也發現 *Thaumarchaeota* 與 *Woesearchaeota* 有正相關；與 *Euryarchaeota*、*Bacteroidetes* 存在負相關。*Chloroflexi* 與 *Proteobacteria*、*Parvarchaeota*、*Rhodothermaeota* 有正相關。*Parvarchaeota* 與 *Chloroflexi*、*Euryarchaeota* 存在正相關；與 *Bacteroidetes* 存在負相關。*Rhodothermaeota* 與 *Proteobacteria*、*Chloroflexi* 存在正相關。*Woesearchaeota* 與 *Thaumarchaeota* 形成正相關。*Marinimicrobia* 與 *Proteobacteria* 存在正相關。*Firmicutes* 與 *Bacteroidetes* 存在正相關。*Cyanobacteria/Chloroplast* 與 *Proteobacteria* 存在正相關。*Bacteroidetes* 與 *Firmicutes*、*Chloroflexi*、*Rhodothermaeota* 存在正相關；與 *Thaumarchaeota* 存在負相關。古菌方面，*Euryarchaeota* (廣古菌門) 與細菌的 *Parvarchaeota*、*Chloroflexi* 有正相關；與 *Thaumarchaeota* 存在負相關。此外，*SR1* 與 *Aminicenantes* 在網路中較為孤立，缺乏顯著的正負相關。*Planctomycetes*、*Acidobacteria*、*Poribacteria*、*Campilobacterota* 與 *Balneolota* 則未見顯著的正負相關，可能這些菌群在該網路中扮演次要角色。



(圖片由作者繪製)

圖七、古菌與細菌共線性網路分析。紅點為細菌，黃點為古菌。箭頭為影響方向。

肆、討論

本研究分析了潮間帶海水環境的九個採樣點於五個不同時間點的細菌群落相對豐度，潮間帶作為海洋與陸地之間的過渡地區，環境條件隨潮汐劇烈變化，對微生物群落的組成和功能產生了深遠影響。研究結果顯示，細菌與古菌的豐度在不同採樣點和時間點之間存在顯著變化，這與潮間帶特有的環境特徵密切相關。在細菌群落中，變形菌門（*Proteobacteria*）在九個採樣點中均為相對豐度最高的細菌門，並且在不同時間點間保持相對穩定。這顯示了變形菌門對潮間帶多變的環境具有高度的適應性，能夠在營養有限且條件波動劇烈的環境中生存 [2, 4]。古菌群落中，亞硝單胞菌科（*Nitrosopumilaceae*）在各採樣點中也顯示出優勢地位，並且豐度隨時間有增長趨勢。這可能與潮間帶環境因子對其適應性的選擇壓力有關，例如在氮氧化和氮循環中發揮了重要作用 [8]。

我們也發現特定群落的增長趨勢與時空環境變化具有關聯，例如 E 採樣點的第五次採樣中細菌的柔膜菌門（*Tenericutes*）與古菌的奇古菌門（*Thaumarchaeota*）的相對豐度相較於前四次採樣有顯著增加，此一結果顯示這些微生物可能對環境變化具有敏感的反應。在潮間帶這樣的動態環境中微生物的豐度變化與其生態功能密切相關，例如，*Nitrosopumilaceae* 作為氮氧化功能相關的古菌之一，可能在潮間帶的氮循環中發揮重要作用，因此其豐度變化可能反映了氮循環過程在不同環境條件下的差異；而變形菌門的持續優勢可能與其在碳和硫循環中的作用有關。另外，雖然一些細菌門的相對豐度較低如溫泉菌門（*Balneolaeota*）與衣原體門（*Chlamydiae*），但它們的持續存在可能暗示著這些低豐度微生物可能在潮間帶生態系統中能發揮特定的生態功能。我們的研究顯示，由於古菌和細菌在相同環境中對類似的環境因子具有不同的反應，這可能意味著它們在潮間帶環境中佔據不同的生態棲位，並由於古菌和細菌之間可能存在交互作用進而影響微生物群落的穩定性和功能 [5]。

前人研究顯示選擇壓力對微生物群落結構具有明顯的影響 [11]，我們的群落中性模型顯示，隨機擴散過程對古菌群落的豐度變異具有高度解釋力（ $R^2=0.94$ ），這表示古菌可能依賴隨機過程來維持其群落結構。而冗餘分析結果顯示，環境因子解釋了 38.48% 的細菌群落變異，這意味著細菌更傾向於適應特定的環境條件來維持其生態位。此結果指出古菌群落的豐度主要受到隨機擴散和群落自我演替的影響，而細菌群落則更多受到環境因子的驅動。我們進一步發現鹽度、溫度、溶解氧和導電度等環境因子對微生物群落的豐度具有顯著影響 [6]。例如，溶解氧對古菌具有明顯的抑制作用，特別是對 *Methanobacteriaceae* 和 *Nitrosopumilaceae*，

這本研究顯示這些古菌更偏好厭氧或低氧環境。溫度對細菌群落的影響則因菌門而異，變形菌門在高溫環境中表現出較高的適應性，而擬桿菌門 (*Bacteroidetes*) 和放線菌門 (*Actinobacteria*) 也呈現出與溫度顯著相關的趨勢，此結果反映出這些菌門對高溫環境的適應能力。

微生物的代謝功能與生態系統息息相關 [12]，我們發現潮間帶環境中細菌與古菌在代謝途徑上出現明顯的差異，暗示著了兩類微生物在代謝策略上的選擇有所不同。這些發現反映了它們在環境適應中的不同角色。首先，26 個重複的代謝途徑表明，細菌與古菌在潮間帶環境中可能共享某些基本的生理需求，如糖類代謝、氨基酸合成和核苷酸代謝等。這些代謝途徑的共同存在可能為了適應共同的環境壓力或資源限制而發展出類似的代謝路徑。由於這些基本代謝途徑對於維持細胞生長和能量供應至關重要。因此，這些途徑的表達可能反映了它們在潮間帶環境中生存的共同性需求。然而，兩者之間也有顯著的代謝特異性。細菌獨有的 24 個代謝途徑集中於核苷酸合成、脂肪酸代謝及多種氨基酸的異化代謝上，如硬脂酸生物合成、脂肪酸合成 II 和乙酸代謝等，這些功能反映了細菌在多樣化的碳源利用和能量代謝上的優勢。潮間帶環境的變化和高生產力可能為細菌提供了豐富的有機碳源，使它們在脂肪酸和核苷酸合成方面表現出較高的代謝活性，以快速適應環境的變動。相對地，古菌的代謝特異性則偏向於能量代謝、氨基酸合成和甲醛同化相關的途徑，這些代謝特徵顯示古菌在潮間帶環境中的特殊適應性。由於古菌常被認為具有極端環境耐受性，這些代謝途徑可能反映出它們在低氧或高鹽度環境中的生存策略，通過利用少量可利用的能量資源來維持生長。整體而言，這些代謝途徑的差異反映了細菌與古菌在潮間帶環境中的互補性。細菌的代謝活動更集中於利用多樣的有機物，適應快速變動的環境；而古菌則顯示在能量有限或環境壓力較大的情況下，利用特異性代謝途徑的能力。這種代謝上的分化可能促進了細菌與古菌在潮間帶生態系統中的共同生存與穩定性，進一步突顯了微生物群落在環境中的多樣性及其功能分化。

在共現網絡中，變形菌門 (*Proteobacteria*) 位於網絡的中心，與多個菌門 (如 *Chloroflexi*、*Rhodothermaeota* 和 *Marinimicrobia*) 形成正相關，顯示了其在潮間帶微生物群落中具有高度的影響力。這些正相關暗示著 *Proteobacteria* 可能在營養循環和有機物分解中扮演重要角色，例如作為碳源的主要消耗者或營養供應者，協助維持其他微生物群落的生存。另外，*Bacteroidetes* (擬桿菌門) 也是一個重要的物種，與 *Firmicutes*、*Chloroflexi* 和 *Rhodothermaeota* 存在正相關，本結果顯示了出其在有機物降解過程中的協同作用。這些正相關指向 *Bacteroidetes* 作為潮間帶有機物質分解的關鍵角色，可能負責更高分子量或難降解的有機質的降解。另一方面，負相關顯示菌門間的競爭動態，例如資源利用或生態位重疊的情況。這些競爭限制了某些菌門的過度增長，有助於維持群落的多樣性和結構的穩定性。另

外，我們的結果指出在網絡中，某些菌門如 *Planctomycetes*、*Acidobacteria*、*Poribacteria*、*Campilobacterota* 和 *Balneolota*，並未顯示出顯著的正負相關，暗示著它們在這個生態系統中可能扮演次要角色，而這些孤立的菌門可能在特殊情況下扮演「生態保險」的角色，當主要菌門受到擾動時，他們可以迅速填補生態功能上的空缺以維持生態系統的穩定性。

共現網絡分析顯示了潮間帶微生物群落中複雜的生態關係，體現出協同與競爭對於維持生態系統穩定的顯著性和生態意涵。正相關的菌門之間往往在代謝上有互補性，例如在有機物降解和營養循環中各自扮演不同的角色。這種互補有助於增強生態系統的功能冗餘性，使系統在環境變化（如溫度、pH、鹽度波動）下仍能保持穩定的功能表現。本研究的結果顯示，細菌和古菌之間存在多樣化的正負相關，反映了它們在潮間帶微生物群落中的多層次交互作用。在正相關的合作例如，*Thaumarchaeota*（奇古菌門）與 *Woesearchaeota* 之間的正相關，本研究顯示這些古菌可能在氨氧化或硝化過程中有代謝協同作用。這些合作有助於提升厭氧環境下的氮循環效率；相對的，負相關的競爭例如 *Euryarchaeota*（廣古菌門）與 *Thaumarchaeota* 之間的負相關，可能反映出這些古菌在某些資源（如氨或甲烷）的利用上存在競爭。另外，*Bacteroidetes* 與 *Thaumarchaeota* 之間的負相關，顯示出這些菌門在特定營養基質上的競爭關係，可能有助於維持系統的多樣性。綜合上述，潮間帶微生物群落中的多樣化互動，能促使生態系統在動態環境中保持高度的適應能力和功能彈性，尤其在潮間帶這種變化多端的生態系統中，其影響力尤為明顯。

伍、結論

潮間帶環境中微生物群落具有總體的多樣性及其生態功能的複雜性。不同採樣點的細菌和古菌群落組成存在顯著差異，且受到溫度、鹽度和溶解氧等環境因子的強烈影響。在所有採樣點中，變形菌門（*Proteobacteria*）均佔據主導地位，這反映了它們在多變環境中的高度適應性和多樣的代謝能力。此外，厚壁菌門和擬桿菌門的高豐度分別顯示了他們在抗逆性和有機物分解中的重要生態角色。在古菌方面，*Thaumarchaeota* 和 *Euryarchaeota* 在潮間帶氮循環和甲烷代謝中發揮了關鍵作用。共現網絡與預測代謝功能分析顯示，細菌與古菌之間存在多層次的協同與競爭關係，如代謝互補的正相關和資源競爭的負相關，這些生態互動有助於維持群落的穩定性和多樣性，而代謝功能分析進一步指出了細菌與古菌在潮間帶生態系統中的功能分工。綜合上述，本研究的結果顯示了潮間帶微生物群落在多變環境中的適應能力及其在生態功能上的重要性。

陸、研究限制

本研究具有以下限制：

一、樣本代表性：

本研究目前僅針對金門南門海特定的潮間帶區域進行了採樣，並未涵蓋更廣泛的空間範圍，而金門南門海的潮間帶是否可能存在不同的微生物分佈狀況仍然未知，且本研究的結果是否可普遍推及於其他地區的潮間帶仍有待長期的且大範圍的調查。

二、缺乏微生物群落與環境因子相關性之的直接因果推論：

本研究雖然進行了微生物群落的豐度差異與環境因子之間的相關性分析，但並未詳細分析這些環境變量與微生物群落之間的因果關聯，缺乏這部分的因果分析可能使得結果難以直接工微生物群落變化的明確驅動機制證據。

三、古菌與細菌間的相互作用與其生態功能性缺少實證的多元基因體資料：

本研究嘗試以微生物共線性網路描述細菌-細菌與細菌-古菌之間的交互作用，由於古菌與細菌之間的代謝耦合或競爭關係可能對群落結構的變化起到重要作用，然而目前僅能從基於16S 豐度的預測資料進行推論，因此是否推論有所偏差仍是未知。未來仍有待直接以實際環境樣本的多元基因體資訊搭培微生物豐度資料進行生態功能的驗證。

柒、未來方向

基於本研究現階段的成果，未來的研究可以從以下幾個方向進一步深入探討：

一、潮間帶微生物的季節性變化：

由於潮間帶環境受季節變化的影響較大，未來應進行長期的時間序列研究，以更全面地了解微生物群落在不同季節中的動態變化。這將有助於解析微生物群落在季節性變化中的適應機制，並評估全球氣候變遷對潮間帶生態系統的潛在影響。

二、環境因子對微生物功能的影響：

本研究發現溫度、pH、鹽度等環境因子顯著影響了微生物群落的豐度和結構，但對於這些因子如何影響微生物的具體代謝途徑和功能，特別是在資源有限或極端條件下，微生物如何調整其代謝路徑以生存和維持生態功能仍需進一步研究。未來的研究可以通過多組學（如代謝組學、轉錄組學）的方式來研究這些環境因子對微生物代謝功能的深層影響。

三、細菌與古菌的交互作用：

本研究的結果初步顯示了細菌與古菌之間的協同和競爭關係，但其具體的代謝互補性及生態功能仍有待進一步挖掘。未來可以通過實驗性研究或模擬系統來解析細菌與古菌之間的物質交換和能量流動，並研究它們在營養循環中的協同作用。

捌、参考文献

1. Campana S, Demey C, Busch K, Hentschel U, Muyzer G, de Goeij JM. Marine sponges maintain stable bacterial communities between reef sites with different coral to algae cover ratios. *FEMS Microbiol Ecol*. 2021 Aug 20;97(9):fiab115. doi: 10.1093/femsec/fiab115. PMID: 34351429; PMCID: PMC8378938.
2. Slobodkina G, Ratnikova N, Merkel A, Kevbrin V, Kuchierskaya A, Slobodkin A. Lithoautotrophic lifestyle of the widespread genus *Roseovarius* revealed by physiological and genomic characterization of *Roseovarius autotrophicus* sp. nov. *FEMS Microbiol Ecol*. 2022 Oct 10;98(10):fiac113. doi: 10.1093/femsec/fiac113. PMID: 36166357.
3. Siebers R, Schultz D, Farza MS, Brauer A, Zühlke D, Mücke PA, Wang F, Bernhardt J, Teeling H, Becher D, Riedel K, Kirstein IV, Wiltshire KH, Hoff KJ, Schweder T, Urich T, Bengtsson MM. Marine particle microbiomes during a spring diatom bloom contain active sulfate-reducing bacteria. *FEMS Microbiol Ecol*. 2024 Apr 10;100(5):fiac037. doi: 10.1093/femsec/fiac037. PMID: 38490736; PMCID: PMC11008741.
4. Howe KL, Seitz KW, Campbell LG, Baker BJ, Thrash JC, Rabalais NN, Rogener MK, Joye SB, Mason OU. Metagenomics and metatranscriptomics reveal broadly distributed, active, novel methanotrophs in the Gulf of Mexico hypoxic zone and in the marine water column. *FEMS Microbiol Ecol*. 2023 Jan 24;99(2):fiac153. doi: 10.1093/femsec/fiac153. PMID: 36520069; PMCID: PMC9874027.
5. Karimi E, Dittami SM. Maintaining beneficial alga-associated bacterial communities under heat stress: insights from controlled co-culture experiments using antibiotic-resistant bacterial strains. *FEMS Microbiol Ecol*. 2023 Nov 13;99(12):fiad130. doi: 10.1093/femsec/fiad130. PMID: 37833238.
6. Retter A, Griebler C, Nilsson RH, Haas J, Birk S, Breyer E, Baltar F, Karwautz C. Metabarcoding reveals ecologically distinct fungal assemblages in river and groundwater along an Austrian alpine to lowland gradient. *FEMS Microbiol Ecol*. 2024 Oct 10:fiac139. doi: 10.1093/femsec/fiac139. Epub ahead of print. PMID: 39390678.
7. Kerkhof LJ. Is Oxford Nanopore sequencing ready for analyzing complex microbiomes? *FEMS Microbiol Ecol*. 2021 Mar 10;97(3):fiab001. doi: 10.1093/femsec/fiab001. PMID: 33444433; PMCID: PMC8068755.
8. Robicheau BM, Tolman J, Rose S, Desai D, LaRoche J. Marine nitrogen-fixers in the Canadian Arctic Gateway are dominated by biogeographically distinct noncyanobacterial communities. *FEMS Microbiol Ecol*. 2023 Nov 13;99(12):fiad122. doi: 10.1093/femsec/fiad122. PMID:

- 37951299; PMCID: PMC10656255.
9. Tandon K, Wan MT, Yang CC, Yang SH, Baatar B, Chiu CY, Tsai JW, Liu WC, Ng CS, Tang SL. Aquatic microbial community is partially functionally redundant: Insights from an in situ reciprocal transplant experiment. *Sci Total Environ*. 2021 Sep 10;786:147433. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.147433. Epub 2021 Apr 30. PMID: 33971597. XXX
 10. Yang N, Tian C, Lv Y, Hou J, Yang Z, Xiao X, Zhang Y. Novel primers for 16S rRNA gene-based archaeal and bacterial community analysis in oceanic trench sediments. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2022 Apr;106(7):2795-2809. doi: 10.1007/s00253-022-11893-3. Epub 2022 Mar 29. PMID: 35348850.
 11. Niegowska M, Sanseverino I, Navarro A, Lettieri T. Knowledge gaps in the assessment of anti-microbial resistance in surface waters. *FEMS Microbiol Ecol*. 2021 Oct 20;97(11):fiab140. doi: 10.1093/femsec/fiab140. PMID: 34625810
 12. Dawson HM, Connors E, Erazo NG, Sacks JS, Mierzejewski V, Rundell SM, Carlson LT, Deming JW, Ingalls AE, Bowman JS, Young JN. Microbial metabolomic responses to changes in temperature and salinity along the western Antarctic Peninsula. *ISME J*. 2023 Nov;17(11):2035-2046. doi: 10.1038/s41396-023-01475-0. Epub 2023 Sep 15. PMID: 37709939; PMCID: PMC10579395.

【評語】 070006

本研究以金門南門海為樣區進行五次採樣，以 16S rRNA 基因為標的，利用次世代定序技術，分析探索潮間帶古菌與細菌的群落演替，如何受到隨機過程和環境篩選的作用而變化。研究結果呈現細菌群落以變形菌門為優勢群，而古菌群落則以亞硝侏儒菌科為主。細菌群落受鹽度、溫度和溶解氧等環境因子之影響以變形菌門為優勢種；古菌群落豐度則受隨機擴散影響，以亞硝侏儒菌科為主。功能預測顯示，古菌與細菌共享多種基本代謝途徑，具有生態互補性；而其特有代謝途徑則反映出不同的環境適應策略。研究樣區地點特殊，且為有趣的潮間帶微生物生態的研究，高中生能探索此主題，難能可貴，值得肯定及鼓勵。

惟就研究內容及論文撰寫，建議如下：

1. 結果顯示，古菌的豐度顯著受到隨機擴散的影響，而細菌群落則主要由鹽度、溫度和溶解氧等環境因子所驅動，其成因解釋，應多方思考，強化生態意義！
2. 細菌與古菌在多種核心代謝途徑上具備共通性，另亦有屬於各自特定的代謝路徑，在結果呈現上應舉例說明，支持古菌與細菌在不同生態功能上特別適應性的結論。

3. 16S rRNA 為次世代定序的標的，其於細胞中的功能及演化特徵，以及廣泛應用的優點，應予瞭解。
4. 所有結果皆由軟體分析及輸出，然大多數圖形之解析度不佳，且圖說未詳加說明圖示之涵義，故難以鑑別敘述之正確性。
5. 基於基因序列預測代謝路徑，是否能清楚了解背後的原理並支持其論述，最好需進一步實驗驗證其功能表現。
6. 整體結果多為次世代定序及軟體分析數據，就論文書寫可更有邏輯性及故事性。