

東海大學生命科學系  
碩士論文

指導教授：汪碧涵 博士

Pi-Han Wang, Ph. D.

民生、工業放流水影響筏子溪附著  
性矽藻群落結構

Benthic diatom community structures of Fazi River are  
influenced by domestic effluents and two types of  
industrial effluents

研究生：葉子瑞

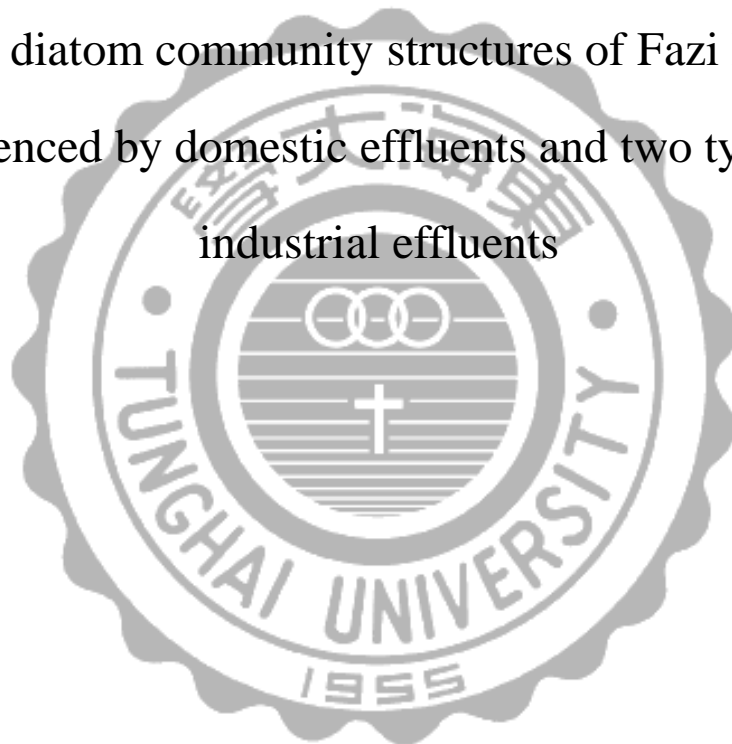
Tzu-Jui Yeh

中華民國 一〇五年三月

# 東海大學生命科學系碩士論文

民生、工業放流水影響筏子溪附著  
性矽藻群落結構

Benthic diatom community structures of Fazi River are  
influenced by domestic effluents and two types of  
industrial effluents



研究生：葉子瑞

Master Student: Tzu-Jui Yeh

指導教授：汪碧涵 博士

Advisor: Pi-Han Wang, Ph. D.

中華民國 一〇五年三月

東海大學  
生命科學系

碩士論文 民生、工業放流水影響筏子溪  
附著性矽藻群落結構

葉子瑞 撰

西元二〇一六年

## 誌 謝

我在完成碩士論文的過程中得到許多人的幫助與精神上的鼓勵，首先要先感謝我的指導教授汪碧涵老師，謝謝老師推薦我加入五年一貫學程，並且從大學部至現在不斷的栽培與指導，在我研究的挫折中鼓勵我，讓我學習如何再爬起來繼續前進。感謝口試委員中央研究院吳俊宗博士，謝謝吳博士指導正確的矽藻酸洗與鑑定知識，並給予論文的指導與建議。感謝口試委員本系劉少倫老師，謝謝劉老師在統計分析、次世代定序與生物資料分析給予的指導與鼓勵，也給了我論文許多的指導與建議。

感謝環工系界面分離實驗室張瓊芬老師、環境生物地質化學實驗室劉雨庭老師，給予重金屬與環境荷爾蒙之相關數據，使研究得以順利。感謝本系林宜靜老師在統計分析上給我的指導，且在每次 Seminar 討論後給我精神上的鼓勵。感謝東海大學生命科學系的老師和同學們，在每次的 Seminar 中指出我的問題並給予建議，讓我的論文更完善且了解自己的不足。

感謝真菌實驗室林宛柔學姊，給予我統計與實驗設計的建議，還有眾多人生經驗與精神鼓勵，實驗室的所有成員，包括蕭詩菁學姊、石豐銘學長和學弟妹們，徐以澄、鄭軒敏、蔡秉謙、李宜儒在研究與生活等提供了許多協助，在實驗室共同奮鬥與成長，分擔我的精神壓

力。

最重要的要感謝我的爸爸、媽媽和姊姊的鼓勵、精神與金錢上的支柱，讓我能解除煩惱與壓力，盡我所能的完成學位。最後感謝筏子溪給我調查的材料，讓我順利完成論文與學位。

# 目 錄

	頁次
中文摘要.....	I
Abstract.....	III
前 言.....	1
一、以附著性矽藻作為生物指標.....	1
二、矽藻與河川汙染.....	2
2.1 優養化.....	2
2.2 環境荷爾蒙.....	2
2.3 重金屬汙染.....	3
三、矽藻藻類指數.....	4
四、總體基因組學與生態多樣性研究.....	8
五、國內研究回顧.....	11
六、研究目的.....	13
材料和方法.....	14
一、樣點選擇與採集方法.....	14
二、以顯微鏡辨識矽藻多樣性.....	15

A. 鏡檢樣本前處理 .....	15
B. 清潔矽藻殼瓣 .....	15
C. 顯微玻片製備及鏡檢計數 .....	16
D. 掃描式電子顯微鏡 .....	16
三、以次世代定序辨識矽藻多樣性 .....	17
A. 核酸分析樣本前處理 .....	17
B. 矽藻 DNA 的萃取 .....	17
C. 聚合酶鏈鎖反應與次世代定序 .....	18
D. 生物資訊處理 .....	19
四、物理與化學因子分析 .....	20
五、統計分析 .....	21
A. 生物多樣性指數 .....	21
B. 矽藻藻類指數 .....	21
C. 群聚結構與族群相似度分析 .....	22
D. 物化因子與矽藻群落之相關性分析 .....	22
結 果 .....	24
一、矽藻多樣性與指標 .....	24

A. 鏡檢計數 .....	24
B. 次世代定序 .....	27
二、群落結構 .....	29
A. 群落結構 .....	29
B. 影響群落結構變化之藻種 .....	30
三、物化因子與矽藻群落結構變化 .....	32
討論與結論 .....	35
一、矽藻多樣性 .....	35
二、放流水對於群落結構的影響 .....	37
三、群落結構改變與重金屬、環境荷爾蒙之關係 .....	38
四、具指標潛力之藻種 .....	39
五、矽藻指數 .....	41
六、鏡檢計數與次世代定序 .....	43
七、結論 .....	45
參考資料 .....	47
表目錄 .....	70
圖目錄 .....	71



附錄目錄..... 72

個人資料..... 104

## 中文摘要

附著性矽藻對水中生態環境極為敏感，群落結構易受物理、化學因子變化而改變，故被用作水質監測指標。本研究以鏡檢計數和次世代定序方法 (Next-generation Sequencing, NGS) 調查匯入三類放流水後，河川附著性矽藻群落結構之變化、群落結構與環境變因之關聯和藻類指數的應用。在台中市筏子溪之東海橋民生放流口、台中工業區與台中精密創新科技園區放流口之上下游分別設置樣點，六個樣點距離在五公里內，分別採集附著性矽藻樣本三個，混合後，以顯微鏡檢計數，分析群落結構，計算矽藻群聚指數 (DAI<sub>po</sub>)、矽藻營養化指數 (TDI)、污染耐受物種百分數 (PTV) 與綜合藻屬指數 (GI)。所獲樣本同時抽取 DNA，以 18S rDNA 矽藻專一性引子增幅後經 454 Pyrosequencing 定序，以 NGS 方法調查矽藻多樣性。兩類數據均以重複分析法 (Redundancy Analysis) 分析群落結構與物化因子的相關性。鏡檢計數紀錄筏子溪矽藻 17 屬 42 種，分子定序分析紀錄 33 屬 164 種。分析發現三種放流水對各矽藻藻屬影響不同，根據樣點間矽藻群落相似度距離分析，證明放流水影響矽藻群落結構。從矽藻群落及物化因子之相關性分析得知矽藻對重金屬及環境荷爾蒙耐受，部分藻屬族群量對二者濃度有偏好，但影響並不顯著。*Navicula cryptocephala*、*Stauroneis phoenicenteron*、*Gomphonema parvulum*、*Nitzschia palea* 和

*N. subacicularis* 等藻種的族群量變化與重金屬與環境荷爾蒙濃度相關。藻類指數反映出筏子溪之生態，DAI<sub>po</sub> 與 PTV 顯示筏子溪三個河段為中度及重度汙染，GI 顯示為重度汙染，TDI 則反映該河段為優中度優養化。

**關鍵字：**工業放流水、民生放流水、附著性矽藻、藻類指數

## Abstract

Benthic diatoms are sensitive to physical and chemical factors in the freshwater ecosystem and are commonly used as biological indicators for monitoring river water quality changes. This study investigated the changes of the benthic diatom communities after three types of effluents and in order to elucidate the relationship between changes of the community and environmental factors, using microscopic observations and next generation sequencing of 18S rDNA. The application of diatom index was studied. Six mixed samples were collected from upstream and downstream sites of three selected discharge points at Donghai Bridge domestic point, Taichung Industrial Park and Taichung City Precision Machinery Innovation Technology Park within a span of five kilometers in Fazi River, Taichung. Diversity and community of diatoms were investigated by morphological diatom and used to calculate DAIpo, TDI, PTV and GI. DNA was extracted from the same samples and 18S rDNA of diatom was amplified and analyzed by 454 Pyrosequencing. Diversity data from microscopy and NGS were both used to analyze the relationship with environments by Redundancy Analysis. Using classic method, 17 genus and 42 species were recorded; whereas 33 genus and 164 species were obtained using molecular survey. Relationship between community similarity and geographic distance show that effluents influenced diatom community. Redundancy analysis show that some diatom were tolerant of endocrine disrupting chemicals and heavy metals and have environmental preference, however, the correlation was not significant. The variations in population of *Navicula*

*cryptocephala*, *Stauroneis phoenicenteron*, *Gomphonema parvulum*, *Nitzschia palea* and *N. subacicularis* were correlated with concentration of endocrine disrupting chemicals and heavy metals. Diatom community index (DAI<sub>po</sub>) and pollution tolerant valves (PTV) indicates the study sites of Fazi River were moderate pollution. Generic index (GI) showed serious pollution. Trophic diatom index (TDI) indicates the meso-eutrophic. These four indices demonstrate the ecological status of Fazi River.

**Keywords:** industrial effluents, domestic effluents, benthic diatoms, diatom indices

## 前 言

### 一、以附著性矽藻作為生物指標

生物指標是以高等植物、動物及微生物物種來預測或指示環境健康的狀 (Asmus et al. 2009; Karr & Dudley 1981; Yagow et al. 2006)，常使用的水質生物指標包括植被、鳥類、無脊椎動物、魚類、兩棲類和藻類 (Sims et al. 2013)。而藻類的物種多樣性和普遍性高，是重要的生物指標 (USEPA 2002)，其中，附著性矽藻因為其移動性低且生活世代短 (Rott 1991; Stevenson & Pan 1999)，其生態多樣性與族群量直接受生態環境之變因連續影響 (Snyder et al. 2002; Chessman et al. 2007)，如養分含量 (Sládeček 1986; Zgrundo & Bogaczewicz-Adamczak 2004; Soininen 2007; Tan et al. 2014)、水溫、pH值及土地利用等 (Pan et al. 1999, 2004; Wilby et al. 1998; Leland & Porter 2000) 的積累作用，迅速在二至三週內反映在群落組成上 (Round 1991; Kelly et al. 1998)，故廣泛的被作為監測淡水與海洋生態系統等水體環境變化的生物指標 (Descy 1979; Kelly et al. 1995; Smol et al. 2005)。

## 二、矽藻與河川汙染

由於水體流域的工業、民生或農業活動產生含有污染物的放流水，造成水域汙染 (Duong et al. 2006; da Silva et al. 2009)。工業與民生放流水給水體帶來有機物、環境荷爾蒙與重金屬等各樣的汙染物 (Kanu & Achi 2011; Bere & Tundisi 2011a, b) 導致水體優養化 (Correll 1998)，尤其環境荷爾蒙與重金屬具有影響生態之毒性 (Blais et al. 1999; Agence de l'Eau 2002; Crane et al. 2006)。

### 2.1 優養化

首先， $\text{PO}_4^{3-}$  及  $\text{NH}_4^+$  等有機汙染物是附著性矽藻養分來源，為影響群落的首要因素 (Leland & Porter 2000; Ponader et al. 2007)，河川與湖泊在中養和寡養環境下，總磷和總氮含量高會使得矽藻有高的生物多樣性 (Schönfelder et al. 2002)。但含高磷與氮的有機汙染物如果過度排放，造成嚴重的優養化現象 (Werner 2009)，則矽藻生物多樣性會先下降再上升，直到皆為能適應優養化藻種為止 (Lotter 2001)。

### 2.2 環境荷爾蒙

環境荷爾蒙為新興的有機汙染物，Muñoz 等人 (2009) 在西班牙

略夫雷加特河的研究中，矽藻之分布與環境荷爾蒙沒有直接的關聯，他們認為可能是環境荷爾蒙的濃度與作用方式不直接影響此類初級生產者。

略夫雷加特河的后續研究 (Ricart et al. 2010)，發現受高含量可溶性活性磷 (soluble reactive phosphorus) 影響的藻種為 *Gomphonema parvulum*、*Nitzschia umbonata*、*Navicula atomus* var. *permitis*、*Navicula subminuscula* 和 *Navicula veneta*；受低含量可溶性活性磷影響之藻種為 *Amphora pediculus* 及 *Navicula cryptocephala*。而 *Rhoicosphenia abbreviata*、*Navicula tripunctata* 和 *Navicula atomus* var. *permitis* 與環境荷爾蒙相關，Ricart 等人指出，雖然顯示矽藻群落受到磷及環境荷爾蒙影響，但只能解釋小部分的變因。

### 2.3 重金屬汙染

Duong 等人 (2008) 於法國洛特河支流，研究矽藻群落與鎘濃度之相關性，結果顯示有些矽藻對於鎘的汙染極其敏感，例如 *Encyonema minutum*、*Nitzschia palea*、*Surirella angusta* 及 *Gomphonema parvulum* 體內的鎘濃度與環境之鎘濃度呈正相關；*Cyclotella meneghiniana*、*Navicula lanceolata*、*Navicula gregaria*、*Surirella brebissonii* 和 *Melosira varuans* 則與鎘濃度呈負相關。



Bere (2014) 於巴西的研究，發現隨著污染程度增加，對污染耐受度較低如 *Neidium*、*Eunotia* 或 *Aulacoseira* 等屬的藻種會被耐受度高之藻種如 *Nitzschia palea*、*Gomphonema parvulum* 或 *Achnanthes lanceolate* 等所取代。Bere 指出不同種的矽藻對不同污染之反應不同，是因為對污染的耐受度不同。且儘管水體中的重金屬含量很低，諸如鉻 (Cr)、鎳 (Ni)、銅 (Cu)、鋅 (Zn)、鎘 (Cd) 和鉛 (Pb) 等金屬，它們的累積效應對附著性矽藻的群落形成極為重要 (Bere 2014; Morin et al. 2014) ，如 *Nitzschia palea*、*Gomphonema parvulum* 與 *Achnanthes lanceolate* 等藻種在重金屬污染環境下仍具優勢 (Bere 2014)。

### 三、矽藻藻類指數

大多數藻類指數之計算是基於 Zelinka 及 Marvan (1961) 的公式：

$$\text{index} = \frac{\sum_{j=1}^n a_j s_j v_j}{\sum_{j=1}^n a_j v_j}$$

在此公式中， $a_j$  代表物種  $j$  的族群量(樣本內所占比例)、 $v_j$  代表指標值、 $s_j$  則代表物種  $j$  對污染的敏感度，而指數的性能取決於常數  $s$  的值，以及常數  $v$  在物種和指數數值從 1 到最大等於常數  $s$  之值。目前為止，已有無數文獻的矽藻藻類指數被用於檢測歐美、亞

洲甚至非洲地區之水質。

英國發展出用於監測河川優養化的矽藻營養化指數 (Trophic Diatom Index, TDI) 及汙染耐受物種百分數 (Pollution Tolerant Value, PTV) (Kelly & Whitton 1995; Kelly 1998)。Atazadeh 等人 (2007) 於伊朗進行測試，結果顯示在下游的 *Navicula* 及 *Nitzschia* 藻屬比起在上游低汙染水域的 *Achnanthes* 與 *Fragilaria* 藻屬之數量還要豐富，顯示 TDI 與人為活動產生的  $PO_4-P$ 、 $NO_3-N$  和溶氧量 (dissolved oxygen, DO) 顯著相關，且能夠應用於乾燥地區的河川。

法國廣泛使用特定汙染敏感指數 (Specific pollution sensitivity index, IPS)，Gomà等人 (2005) 於西班牙山區檢驗四條河流，結果顯示汙染耐受之藻種如 *Eolimna minima*、*Gomphoneis minuta*、*Navicula gregaria* 和 *Nitzschia inconspicua* 隨著往下游的水質變化而出現，且 IPS 適合山區河川的水質檢測。

Triest 等人 (2012) 將 IPS 應用於熱帶非洲河川，結果 *Nitzschia palea* 在所有樣點的族群量最高，且越往下游族群量就會增加，平均相對族群量最高可達 57%，*Gomphonema angustum* 為族群量第二的藻種，平均相對族群量最高可達 22%，IPS 數值從 1.35 - 3.54，且在這些河川的記錄種中，60% 對汙染具有高指標性的藻種皆有出現，證明 IPS 能被用於熱帶河川水質狀況識別上。

矽藻群聚指數 (Diatom Assemblage Index, DAIPo) (Watanabe et al. 1986, 1988) 建立於日本，利用腐水藻種 (*Nitzschia palea*、*Mayamaea atomus* 和 *Gomphonema parvulum* 等) 及活水藻種 (*Nitzschia frustulum*、*Navicula gregaria* 和 *Synedra acus* 等) 評估水體的腐水程度。

Park 等人 (2014) 於韓國新川溪 (Sinchun stream) 之應用研究，未受放流水影響水域的 DAIPo 數值為 93.8 - 77.5，優勢藻種為 *Achnanthes convergens* 與 *Cocconeis placentula* var. *lineata*；受到放流水影響區域的 DAIPo 數值為 70.8 - 45.9，優勢藻種為嗜酸性藻種 *Eunotia exigua* 與 *Achnantheidium minutissimum* 等，屬於  $\beta$  中腐水性 ( $\beta$ -mesosaprobic water) 到  $\alpha$  貧腐水性 ( $\alpha$ -oligosaprobic water) 水質。最後於汙水處理廠的匯流口，檢測到之優勢腐水藻種為 *Fragilaria construens* var. *venter* 及 *Nitzschia amphibia* 等，DAIPo 數值為 33.1 - 21.8，表示屬於  $\alpha$  中腐水性 ( $\alpha$ -mesosaprobic water) 水質，顯示 DAIPo 能被用於水質狀況識別上。

Jakovljević 等人 (2014) 在塞爾維亞測試 DAIPo、BDI、TDI 和 IPS 四種指數藻類指數，DAIPo 數值為 31.66 - 79.48，顯示隨地點改變為多腐水 (polysaprobic water) 到  $\beta$  中腐水性 ( $\beta$ -mesosaprobic water) 水質。Jakovljević 等人提出 DAIPo 可能受到磷含量或是低溶

氧量等較多的水質因子影響。

Passy 和 Bode (2004) 於美國建立矽藻模型親和力指數 (Diatom model affinity, DMA)，利用 *Achnanthes minutissima*、*A. linearis*、*Cymbella*、*Fragilaria*、*Synedra*、*Navicula* 和 *Gomphonema* 等藻屬建立族群模型，藉矽藻群落組成與模型的相似度來判斷水質狀況。並以綜合藻屬指數 (Generic index, GI) (Wu 1999)、污染耐受指數 (Pollution Tolerance Index, PTI) (Bahls 1993) 等指數檢測 DMA 的適用性，結果顯示 DMA 能反映河川的有機物污染。

然而，矽藻類指數仍然有使用限制，因為其中的一些指數只適用於特定區域 (Kelly et al. 1998; Pipp 2002; Rott et al. 2003)。舉例來說，鄧等人 (2012) 在中國東江測試七種藻類指數之適用性，結果指出矽藻生物指數 (Biological Diatom Index, BDI) (Lenoir & Coste 1996) 能解釋之變量為  $\text{NO}_2\text{-N}$ 、過錳酸鹽指數 ( $\text{COD}_{\text{KMnO}_4}$ ) 和溶氧量 (DO)，正確率為 74.1%；矽藻屬指數 (Generic Diatom Index, GDI) (Lecoite et al. 2003) 能解釋之變量為生化需氧量 ( $\text{BOD}_5$ ) 和  $\text{NO}_3\text{-N}$ ，正確率為 63.0%。由矽藻群落顯示 BDI 和 GDI 在物化分析的箱型圖中呈現合理趨勢，顯示 BDI 和 GDI 為東江最適用的指數。

Rakowska 和 Szczepocka (2011) 測試波蘭的布拉楚河的三種矽藻類指數 (IPS、GDI 和 TDI)，結果顯示 IPS 及 GDI 這兩種與

腐水相關的指數，顯著對溫度和磷酸鹽呈負相關，但與溶氧量呈正相關；反之，TDI 與溫度和磷酸鹽呈正相關，但與溶氧量呈負相關。他們發現在布拉楚河中為優勢的中心型矽藻沒有被 TDI 納入計算，使監測結果無法反映真實狀況。

矽藻類指數的使用限制在於辨識矽藻種類的方法與能力 (Archibald 1984; Wu 1999; Morales et al. 2001)，傳統上以顯微鏡鑑定藻種 (Hasle & Fryxell 1970)，但矽藻的辨認需要知識與經驗，且藉形態要鑑定至種對研究人員是極大的挑戰 (Bailey-Watts 1976; Babanazarova et al. 1996)。

#### 四、總體基因組學與生態多樣性研究

總體基因組學 (Metagenomics) 藉從環境樣品中直接提取全部微生物的 DNA，建構總體基因組資料庫，以研究環境樣品中所有微生物之遺傳組成及其群落結構 (Pace et al. 1985; Schmidt et al. 1991; Handelsman et al. 1998; Handelsman 2004)。Venter 等人 (2004) 收集表層海水建立基因組資料庫並分析，測得  $1.05 \times 10^{10}$  個鹼基對，發現至少 1,800 種新紀錄海洋微生物與  $1.21 \times 10^6$  種未被記錄之基因。

以往總體基因組學之研究需先將環境中的基因體，以轉殖技術擴增，再進行定序分析，過程繁瑣冗長且所得之資訊量相對有限 (Tringe

et al. 2005)，隨著定序技術的發展，由於次世代定序技術 (Next Generation Sequencing, NGS) 之程式簡單且節省成本 (Horton & Bruns 2001)，使總體基因組學被廣泛應用，而為解決形態鑑定之問題，鑑定矽藻的分子方法也持續的發展。

為使鑑別不同群體或形態相似之物種有通用的標準方法 (Hebert et al. 2003; Luddington et al. 2012)，DNA生物條碼漸被推廣 (Hebert et al. 2003)，而適當的生物條碼標記需具分辨及調查環境基因多樣性的能力 (Hebert et al. 2003; Moniz & Kaczmariska 2009; Zimmermann et al. 2011; Hamsher et al. 2011)。目前為止被廣泛使用的標記已有四種：粒線體細胞色素氧化酶次單元基因 (mitochondrial cytochrome oxidase I gene, *cox1*) (Evans et al. 2007)、葉綠體 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶基因 (Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase, *rbcL*) (Kaczmariska et al. 2007)、核糖體基因內轉錄間隔區 (internal transcribed spacer, ITS) (Litaker et al. 2007; Moniz & Kaczmariska 2009, 2010) 以及核糖體 18S 次單元基因 (Zimmermann et al. 2011)。

其中，*cox1* 及 *rbcL* 皆容易做序列比對，且皆具有高辨識度，然而受限於核酸資料庫，以致普遍性不高，目前僅能應用於特定藻屬內的物種 (Evans et al. 2007; Mann et al. 2010)，尤其幾乎只有 *Sellaphora* 屬的藻種能應用 *cox1* 生物條碼鑑定 (Lange-Bertalot

2001)。核酸資料庫累積較多的矽藻 rDNA ITS 序列，因此，以 ITS 序列鑑別矽藻有較豐富的資料庫可供比對。ITS 有許多拷貝，但在多種矽藻中，同種矽藻的 ITS 片段長度有所差異，造成直接定序 ITS 片段的困難 (Mann et al. 2010)。

18S rDNA 具備絕佳的擴增效果且保守性高 (Kooistra & Medlin 1996; Medlin et al. 1996; Beszteri et al. 2001; Friedl & O’Kelly 2002; Sorhannus 2007)，雖然 18S rDNA 之辨識度較 *cox1* 和 *rbcL* 低，但其核酸資料庫的完整性較高 (Kermarrec et al. 2013)，故被廣泛用作藻類演化與分類學的標記。Jahn 等人 (2007) 的先導性研究也對矽藻的核糖體 18S rDNA 進行測試，以 699 條序列與 GenBank 及 AlgaTerra 對比出 62 種「對應最佳種」(相似度 92%)，若將相似度調整至 98% 以上，則物種數會降至 56 種，但八成的藻種皆能自兩個基因資料庫中交叉比對到，除了 *Navicula recens* 及 *Craticula cuspidate* 兩群之相似度低於 96%，且只有一個資料庫有對應到，Jahn 等人認為此結果為 PCR 擴增之誤差所致，並指出雖然有誤差，但矽藻的核糖體 18S rDNA 仍然具有做為標記的潛力。

Moro 等人 (2009) 以核糖體 18S 次單元基因設計引子 BaciF/BaciR，增幅湖泊中的矽藻，發現可以所有種類的矽藻，且其專一性達 96% 以上。且經由分子比對所得之多樣性資料與螢光顯微

鏡觀察結果一致，可見核糖體 18S rDNA 的引子具高度專一性，能應用於矽藻物種多樣性的描述與新物種的檢測。他們研究更利用 BaciF/BaciR 調查 優養湖泊和 中度優養水庫的矽藻多樣性，發現二者矽藻相不同，顯示核糖體 18S rDNA 能用於研究污染環境下藻類群落的動態變化。

## 五、國內研究回顧

藻類之研究早期以分類為主 (Tschen & Li 1974; Li & Chiang 1977, 1979; Huang 1982; Chen & Lai 1984)。爾後開始污染與藻類的研究並應用矽藻作為污染指標，Wu 和 Suen (1985) 調查北部新店溪污染增加與藻類分布模式的關聯，量測腐水度、多樣性指數、氮碳比以及藻類分布，發現 *Fragilaria*、*Gomphonema*、*Cymbella*、*Synedra*、*Surirella*、*Melosira*、*Navicula* 及 *Nitzschia* 等矽藻的群落顯著隨污染改變，其群落組成適合作為水質指標。

Wu (1986) 研究新店溪水質與矽藻族群之相關性，新店溪水質沿溪明顯從貧腐水性 (oligosaprobic water) 污染成  $\alpha$  中腐水性 ( $\alpha$ -mesosaprobic water)，矽藻的豐度及多樣性隨污染增加而減少。採用對優養化耐受度不同的藻種計算無殼縫羽紋型 (araphid pennate) 矽藻對中心型 (centric) 矽藻之比例 (A/C ratio) (Stockner 1972)，發現



A/C 也隨汙染增加而下降。

Lai 和 Chen (1997) 調查中部大甲溪、烏溪及烏溪支流(北港溪、水長流溪、南港溪、木履欄溪)，共紀錄了 19 屬 90 種矽藻，其中只有 *Achnanthes*、*Pleurosira*、*Caloneis*、*Cocconeis*、*Cymatopleura*、*Cymbella*、*Diatoma*、*Diploneis*、*Fragillaria*、*Gomphonema*、*Gyrosima*、*Melosira*、*Navicula*、*Nitzschia*、*Surirella*、*Fragilaria* 和 *Synedra* 等 17 屬的附著性矽藻之相對族群量高於 5%，而附著性矽藻群落組成及族群量，可能由營養量及季節變化主導，此外，Lai 和 Chen 指出透過一些優勢的附著性矽藻有潛力監測汙染。

Wu (1999) 建立綜合藻屬指數 (Generic index, GI) 利用矽藻的群落作為生態指標監測台灣的河川汙染，*Achnanthes*、*Cocconeis* 和 *Cymbella* 為乾淨指標藻屬，族群量隨汙染而下降，*Cyclotella*、*Melosira* 和 *Nitzschia* 為汙染指標藻屬，族群量隨汙染而上升，應用於監測北部基隆河及南部二仁溪上確有成效，能快速辨識河川的汙染程度 (Wu & Kow 2002)。

Hu 等人 (2007) 利用綜合藻屬指數 (GI)、魚類 (Index of Biotic Integrity, IBI) (Karr et al. 1986) 與水生昆蟲 (Family-level Biotic Index, FBI) (Hilsenhoff 1988) 等指標檢測北部的南勢溪，結果顯示南勢溪水質良好，且證實綜合藻屬指數 (GI) 為優秀的水質檢測工具。

二仁溪污染嚴重，有多篇藻類相關研究，Lai 等人 (1994) 發現矽藻可累積銅 (Cu)、鋅 (Zn) 與鉻 (Cr) 等重金屬，且只發現污染耐受的附著性矽藻 *Nitzschia palea* 及 *Nitzschia obtusa* var. *scalpelliformis* 外，沒有其他附著性矽藻類群的紀錄。

Tien (2004) 發現二仁溪下游總磷 (TP)、 $\text{PO}_4^{3-}$ 、鉻 (Cr)、鐵 (Fe)、鎳 (Ni) 與鋅 (Zn) 污染嚴重，耐受污染的矽藻 *Navicula*、*Nitzschia*、*Cyclotella* 和 *Synedra* 出現頻繁。水中的總磷和磷酸鹽濃度和附著性矽藻細胞內的磷之濃度呈負相關，細胞內鉛之濃度與水中鉛之濃度也呈負相關，可能矽藻在水體鉛濃度增加時，能夠主動排出並維持胞內鉛濃度較水中鉛濃度低 (Wood & Wang 1983)，可是 Tien 也指出矽藻細胞內容易累積鎘 (Cd)、汞 (Hg) 和鉛 (Pb)，且矽藻與重金屬濃度有明顯相關性。

## 六、研究目的

筏子溪穿越高度開發的台中市西部，流域內俱為民生及大面積工業用地，在下游五公里內，有三種放流水匯流，本研究旨在以傳統顯微鏡檢計數及次世代定序技術兩種方法，探究這些放流水的物理及化學因子對於指標性生物附著性矽藻在生態多樣性與群落結構上之影響，以及矽藻藻屬指數之應用。

## 材料和方法

### 一、樣點選擇與採集方法

為了解工業廢水、民生廢水對水域生態系的影響，在各污染源匯流口之上下游設定樣區，調查矽藻的多樣性與群聚結構，探討環境或汙染對矽藻群聚結構之影響。選定樣區在台中市筏子溪流域，筏子溪位於台中盆地西側，屬於烏溪水系，發源於大肚台地及潭子、大雅兩鄉之高地，全長 21.25 公里，流域面積 132 平方公里（經濟部水利署，台灣），流經台中市區。筏子溪流域有民生社區、傳統工業與精密工業，五公里內有東海橋民生放流口、台中工業區與台中精密創新科技園區放流口三者的廢汙水排入筏子溪（圖一）。在三個匯流口的上下游各 50 公尺內設置樣區，共設置 6 個調查樣區（表一）。

於 2014 年 7 月 10 日採樣，採集藻類、水體與底泥樣本。採樣時，同步填寫採樣記錄和樣本標籤，包含採集地點、日期、樣品編號與採集人。水體環境與水質資料採樣方法參考行政院環保署環境檢驗所公告之方法 (NIEA W415.53B)。採集矽藻時，於各樣點距岸邊 1 公尺的水中隨機選取 3 顆直徑 15 公分以上的石頭，分別置入樣本盒中，隨即攜回實驗室，採集矽藻群落，混合成一個實驗樣本，三個匯流口上下游共獲得六個混合樣本 (Kelly & Whitton 1995; Wu 1999; Tan et al. 2014)。

## 二、以顯微鏡辨識矽藻多樣性

### A. 鏡檢樣本前處理

鏡檢分析之樣本以牙刷刮取石塊上  $5 \times 5 \text{ cm}^2$  方格範圍內的生物膜樣本，以蒸餾水漂洗數次後混合均勻於離心管中，計有六個樣本。將樣本靜置於  $4^\circ\text{C}$  沉澱一晚，除去多餘水至 10 mL。

### B. 清潔矽藻殼瓣

酸洗去除樣本中與矽藻殼瓣內細胞物質與有機物 (Hasle & Fryxell 1970)，以便得於清晰的環境下辨識矽藻殼瓣形態，處理方法採用 Wu (1999) 之方法如下：

1. 10 mL 樣本於玻璃離心管內均勻混合。
2. 於室溫下以轉速 1,100 g 離心 10 分鐘，小心去除上層水液，留存管內 1 mL 樣本。
3. 於抽風櫃中，在管內加入 2 mL 混合酸 ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ :Acetic acid = 1:9)，並於  $100^\circ\text{C}$  -  $110^\circ\text{C}$  加熱 30 分鐘，分解有機質。
4. 於室溫中冷卻後，以 1,100 g 離心 10 分鐘，除去上層酸液。
5. 加入 ddH<sub>2</sub>O 和樣本混合均勻，以 1,100 g 離心 10 分鐘，除去上層液，保留管內 1 mL 樣本。重複 5 - 6 次，洗淨雜質與酸液，完成後將樣本移置微量離心管，保存於  $4^\circ\text{C}$ 。

### C. 顯微玻片製備及鏡檢計數

取 10  $\mu$ L 混合均勻之樣本，滴於載玻片，抹平風乾後以矽藻專用封片膠 Naphrax<sup>TM</sup> (Northern Biological Supplies Ltd., Ipswich, U.K.) (Wu 1999) 封片。在顯微鏡 (Nikon Eclipse 80i, Nikon, Japan) 1000x 倍率下觀察矽藻的形態、脊溝 (raphe) 或網紋 (areolae)，每片玻片計數至少 400 片殼瓣。

### D. 掃描式電子顯微鏡

輔助藻種鑑定，以掃描式電子顯微鏡 (scanning electron microscope, SEM) 拍攝矽藻形態。取適量樣本滴於  $\varnothing$  12 mm 之圓形蓋玻片上風乾一晚，以導電膠布固定於鋁製載物台，噴鍍 (Ion Sputter E-1045, Hitachi, Japan) 金鉑後，以掃描式電子顯微鏡 (S-4700 SEM, Hitachi, Japan) 拍攝 (Govindasamy & Anantharaj 2012; Taylor et al. 2007; Baytut 2013; Pennesi et al. 2011) 矽藻殼瓣型態。依據 Krammer 和 Lange-Bertalot (1986, 1991a, b)、Krammer (2002)、臺灣淡水矽藻名錄 (王與陳 2000) 鑑定矽藻藻種。

### 三、以次世代定序辨識矽藻多樣性

#### A. 核酸分析樣本前處理

核酸分析樣本以牙刷刮取生物膜樣本，加入液態氮以無菌之研鉢與研磨棒研磨數次後取 0.25mL，存放於  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱直至抽取 DNA。

#### B. 矽藻 DNA 的萃取

樣本以 PowerSoil<sup>®</sup> DNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories, Carlsbad, CA, USA) 萃取核酸，方法參考使用手冊如下：

1. 取 0.25 mL 之均勻樣本置入 PowerBead Tubes 中，溫和震盪使樣本與緩衝液均勻混合。
2. 加入 60  $\mu\text{L}$  C1 溶液，翻轉數次混合後置於震盪器 (Vortex-Genie 2 Mixer, Scientific Industries Inc., USA) 上，以最高轉速震盪 10 分鐘，將細胞打破。
3. 於室溫下以 10,000 g 離心 30 秒，將核酸懸浮液移至 2 ml 微量離心管中，目的為去除泥土等雜質。
4. 加入 250  $\mu\text{L}$  C2 溶液後震盪 5 秒，置入  $4^{\circ}\text{C}$  冰箱 5 分鐘。
5. 以 10,000 g 離心 1 分鐘，將 600  $\mu\text{L}$  上清液移至 2 ml 離心管中，並加入 200  $\mu\text{l}$  C3 溶液，短暫震盪後置入  $4^{\circ}\text{C}$  冰箱 5 分鐘。
6. 以 10,000 g 離心 1 分鐘，將 750  $\mu\text{L}$  上清液移至 2 mL 離心管中。

步驟 4 - 6 之目的為去除腐植酸、細胞碎片與蛋白質。

7. 加入 1200  $\mu\text{L}$  C4 溶液後震盪 5 秒，使其均勻混合，再取 675  $\mu\text{L}$  混合液至 Spin Filter 後，以 10,000 g 離心 1 分鐘，並將滲出液移除。
8. 再加入 675  $\mu\text{L}$  混合液至 Spin Filter，以 10,000 g 離心 1 分鐘，並移除滲出液。將剩餘的混合液加入後以 10,000 g 離心 1 分鐘，移除滲出液。步驟 7 - 8 之目的是以高濃度的鹽溶液使 DNA 能緊附於膜上，並去除非 DNA 之物質。
9. 加入 500  $\mu\text{L}$  C5 溶液後以 10,000 g 離心 30 秒，並移除滲出液。再次以 10,000 g 離心 1 分鐘，將 Spin Filter 小心地移至新的 2 mL 離心管中，避免接觸任何殘留的 C5 溶液，此步驟會洗去殘留的鹽溶液。
10. 加入 100  $\mu\text{L}$  C6 溶液於 Spin Filter 的白色膜上，以 10,000 g 離心 30 秒，將 DNA 溶出。最後移除 Spin Filter，將 DNA 置於  $-20^{\circ}\text{C}$  保存。

### C. 聚合酶鏈鎖反應與次世代定序

以引子 BaciF (5'-AGA TTG CCC AGG CCT CTC G-3') 和 BaciR (5' CCA TCG TAG TCT TAA CCA TAA AC-3') (Moro et al. 2009) (明欣生物科技公司，台灣)，與標示各樣本的 MIDs (Multiplex Identifiers)

(明欣生物科技公司，台灣) 增幅矽藻的 18S rDNA 基因。每個 PCR 反應液中，包含引子各 0.5  $\mu$ M、0.2 mM 的 dNTPs、1.5 mM 的  $MgCl_2$  和 1.25 units 的 *Taq* DNA polymerase。反應條件如下，DNA 先於 94°C 作用 3 分鐘使其變性，之後 94°C 作用 15 秒，引子於 56°C 下煉合 45 秒，72°C 下延伸 1 分鐘，作用 30 個循環，最後於 72°C 下反應 8 分鐘，並降溫維持 4°C 結束反應 (明欣生物科技公司，台灣)。

PCR 產物使用 Agencourt AMPure XP Reagent (Beckman Coulter) 純化，以 Agilent Bioanalyzer instrument 量化(明欣生物科技公司，台灣)。

取當量分子的 PCR 產物混合至一管中，以 454 GS Junior System (Roche Diagnostics Corporation, Germany) 平台進行定序 (明欣生物科技公司，台灣)。

#### **D. 生物資訊處理**

所得之序列資訊中，選擇保留長度大於 250 bp 且完整的序列 (Zimmermann et al. 2011)，用 USEARCH 8.01 軟體 (Edgar 2010)，以 derep\_fulllength 程序獲得到特殊序列，並以 cluster\_otus 程序預設之閾值 97% 進行序列分群，同時去除雜訊與嵌合體，產出 OTUs (operational taxonomic units) (Zimmermann et al. 2015)，若使用高於 97% 之閾值，則可能造成所需 OTUs 之序列被丟棄。分群後的 OTUs 序



列以 NCBI 的 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (Altschul et al. 1990) 比對物種，97% 以上相似度判定為種，以下判定至屬 (Visco et al. 2015)。

#### 四、物理與化學因子分析

利用攜帶式水質檢測計 (Lamotte, USA) 現地測量紀錄水溫、酸鹼度、電導度 (electrical conductivity, EC) 和溶氧量 (dissolved oxygen, DO)。水樣及底泥樣本同時取樣，以乾淨之玻璃瓶與塑膠瓶帶回，保存於 4°C 暗處。環境荷爾蒙及重金屬含量分別由本校環境科學與工程學系之界面分離實驗室與環境生物地質化學實驗室檢測提供數據。

檢測環境荷爾蒙之水樣，經前處理後以電灑游離法 (electrospray ionization, ESI)，採正極模式 (positive mode) 4.5 kV 之電壓，使樣本溶液之正負離子產生電泳現象，往液相層析串聯質譜儀 (UPLC/Q-TOF/MS) 移動，使用 Acclaim<sup>TM</sup> RSLC 120 C18 管柱，以 5 mM 之流洗液、流速每分鐘 0.3 mL 流洗，分析游離離子之層析圖，獲得環境荷爾蒙濃度 (東海大學環境科學與工程學系，界面分離實驗室)。

底泥重金屬檢測方式如下，樣品經風乾磨碎過篩 (1 mm) 後，將已預處理的土壤底泥樣品和硝酸混合，在室溫下靜置萃取 16 小時，

再加熱至 120°C 並迴流 6 小時。萃出消化液經定量，再以感應耦合電漿原子發射光譜儀 (Inductively Coupled Plasma Spectroscopy, ICP-OES) 分析儀分析其濃度 (USEPA 1996) (東海大學環境科學與工程學系，環境生物地質化學實驗室)。

底泥重金屬數據另以內梅羅綜合指標 (Nemerow 1974) 計算重金屬污染程度，內梅羅綜合指標為國際上最早應用於水污染評估，對評量重金屬污染具客觀性。計算公式參照附錄一。

## 五、統計分析

### A. 生物多樣性指數

以 PRIMER 5 (Clarke & Warwick 2001) 軟體計算各樣點矽藻的物種豐富度 (Species richness)、Shannon-Wiener 多樣性指數 (Shannon & Weaver 1949)、Pielou 均勻度 (Pielou 1966) 及 Simpson 指數 (Simpson 1949)。計算公式參照附錄二。

### B. 矽藻藻類指數

依據四種矽藻藻類數指數公式 (附錄二) 計算矽藻群聚指數 (DAI<sub>po</sub>) (Watanabe et al. 1986, 1988)、矽藻營養化指數 (TDI) (Kelly & Whitton 1995)、污染耐受物種百分數 (PTV) (Kelly & Whitton 1995) 及綜合藻屬指數 (GI) (Wu 1999)。

### C. 群聚結構與族群相似度分析

使用 PRIMER 5 軟體計算相似度百分比 (Similarity percentage analysis, SIMPER)，代表分類群 (taxon) 於各樣本中的貢獻度 (Clarke 1993; Clarke & Warwick 2001)，找出優勢物種。以 Bray-Curtis 相似度 (Krebs 1989) 計算各樣點之矽藻群落結構相似度，並以計量多向度量尺 (Metric Multidimensional Scaling, MDS) (Kruskal & Wish 1978) 作圖，以呈現各樣點之差異。另採  $\beta$  similarity 計算族群相似度，計算公式為  $\beta_{sor} = (b + c)/(2a + b + c)$  (Sørensen 1948)，以 R 3.2 vegan package 軟體 (Oksanen et al. 2012) 計算  $\beta_{sor}$ ；將族群相似度與樣點距離作 XY 散佈圖 (Astorga et al. 2012)，獲得群落相似度及距離之相關圖。

### D. 物化因子與矽藻群落之相關性分析

冗餘分析 (Redundancy analysis, RDA) 可將兩組多變量資料，利用複回歸分析找出兩組資料的相關性，自所有變因中去除多餘變因，並歸納主要變因能解釋的比例 (van den Wollenberg 1977)，且有用於分析環境變因與矽藻群落結構之相關性 (Ricart et al. 2010)，由於冗餘分析擅長處理線性模型 (Ramette 2007)，基於同一條河川所作的物化因子可能具有線性關係，故選擇採用冗餘分析。將矽藻多樣性數據與

環境因子、環境荷爾蒙濃度、底泥重金屬濃度等物化因子進行相關性分析 (R 3.2 vegan package 軟體) (Oksanen et al. 2012)，多樣性數據與物化因子分別以 Hellinger 方法與標準化方法 (Legendre & Gallagher 2001) 轉型後，計算 RDA 與作圖。Hellinger 法適合處理物種族群量之數據，且比起卡方分析，更能在線性度與解析度上取得平衡 (Legendre & Gallagher 2001)。另外，矽藻族群量數據會與環境荷爾蒙濃度、底泥重金屬濃度等作 XY 散佈圖，以釐清族群量與環境荷爾蒙、重金屬之關聯。

## 結 果

### 一、矽藻多樣性與指標

#### A. 鏡檢計數

##### 1.1 藻類組成與多樣性

由鏡檢計數結果得知筏子溪有 17 屬 42 種，其中 8 種為未知種矽藻 (表二)。從矽藻群落組成中發現，各樣點間主要的藻屬相近 (表二；圖二)，以 *Nitzschia*、*Mayamaea*、*Gomphonema* 和 *Navicula* 為主要類群，分別佔總族群量的 33%、32%、13% 和 6%，包括 10 種 *Nitzschia*、1 種 *Mayamaea*、4 種 *Gomphonema* 和 6 種 *Navicula*。

*Nitzschia* 為筏子溪主要的優勢藻屬，有最高的種數與族群量，其中以 *Nitzschia palea*、*Nitzschia subacicularis* 與 *Nitzschia amphibia* 族群量較高，分別有 46,649、13,556、8,351 個/m<sup>2</sup>；*Mayamaea*、*Gomphonema* 和 *Navicula* 分別以 *Mayamaea atomus*、*Gomphonema parvulum* 及 *Navicula cryptocephala* 為常見優勢藻種。

在放流水匯入後，藻屬族群量有不同變化 (圖三)，在民生放流水後 (F1U-F1D)，*Amphora* 族群量增加 140 倍，增加幅度最大；*Halamphora* 和 *Cocconeis* 少量增加，分別為 3.95 倍 和 2.71 倍；*Surirella*、*Cymbella*、*Stauroneis* 和 *Cyclotella* 族群量分別減少 0.29

倍、0.18 倍、0.17 倍 和 0.03 倍 (圖三, A)。在傳統工業放流水後 (F2U-F2D), *Achnanthes*、*Hantzschia* 和 *Nitzschia* 族群量增加幅度較大, 分別為 3.95 倍、2.93 倍和 2.20 倍; 其次為 *Halamphora*、*Pinnularia*、*Mayamaea*、*Cymbella* 和 *Navicula* 族群量分別增加 1.71 倍、1.65 倍、1.44 倍、1.38 倍和 1.18 倍; *Stauroneis*、*Diatoma* 和 *Gomphonema* 族群量分別減少 0.77 倍、0.71 倍和 0.32 倍 (圖三, B)。在精密工業放流水後 (F3U-F3D), *Mayamaea* 族群量增加 8.19 倍, 增加幅度最大; *Achnanthes* 和 *Stauroneis* 少量增加分別為 0.77 倍和 0.34 倍; 其餘藻屬多為族群量減少, 其中 *Amphora* 族群量減少 1 倍, 減少幅度最大 (圖三, C)。

## 1.2 多樣性指數與矽藻藻類指數

各樣區物種數為 25 到 41 種, 從筏子溪上游到下游 (F1-F3), 大致呈現下降趨勢。各放流口後, 物種數變化如下, 民生放流口後增加 5 種, 傳統工業區放流口後增加 1 種, 精密工業園區減少 5 種 (表三)。總族群量由上游往下游遞增, 且三放流口後, 族群量都大幅增加, 尤以傳統工業區放流口後增加 1.6 倍。物種豐富度 (Species richness) 以民生放流口後最高, 達 3.95, 其餘樣點由上游往下游遞減。各樣點 Pielou's 均勻度 (Pielou's Evenness) 與 Simpson 指數分別從 0.39 -

0.74 和 0.51 - 0.91，唯有在精密工業園區放流口後皆大幅降低。

Shannon-Wiener 指數由上游往下游遞減，各放流口後，指數變化如下，民生和傳統工業區放流口後上升，精密工業園區後明顯下降（表三）。

藻類指數 DAI<sub>po</sub>，民生放流口分別為 53.61 和 57.91（表四, A, B），依其判別標準（附錄三），顯示民生放流口河段（F1U-F1D）屬於  $\alpha$  中腐水性 ( $\alpha$ -mesosaprobic) 環境；傳統工業區、精密工業園區放流口上下游分別為 38.85、34.67 和 40.60、13.77，顯示這二個河段屬於多腐水性 (polysaprobic) 環境（表四, A, B）。民生放流口上下游的 TDI 值分別為 84.39 和 83.20、傳統工業區放流口分別為 92.19 和 87.30、精密工業園區放流口分別為 83.78 和 92.65。根據 TDI 之污染判別標準（附錄三），顯示三個河段皆屬於優中度優養化 (meso-eutrophic) 環境（表四, A, B）。

PTV 值在民生放流口分別為 57.9% 和 51.2%、傳統工業區放流口分別為 76.4% 和 71.2%、精密工業園區放流口分別為 63.9% 和 90.0%，依其污染判別標準（附錄三），顯示民生放流口河段屬於有機物污染，其他河段皆屬於嚴重有機物污染（表四, A, B）。民生放流口上下游 GI 值分別為 0.07 與 0.09、傳統工業區放流口分別為 0.06 與 0.07、精密工業園區放流口分別為 0.03 與 0.11，顯示三個河段皆屬於嚴重污染

(附錄三；表四, A, B)。

## B. 次世代定序

### 1.1 藻類組成與多樣性

分子鑑定結果得知筏子溪有 31 屬 164 種，其中 131 種未知種矽藻 (表五)。從矽藻群落組成中發現，各樣點間組成矽藻群落之主要藻屬相近，以 *Nitzschia*、*Navicula*、*Eolimna* 為主要類群，分別佔總族群量 50%、14%、9% 和 7%，包括 27 種 *Nitzschia*、21 種 *Navicula*、5 種 *Eolimna* 和 8 種 *Cyclotella*。

*Nitzschia* 為筏子溪主要的優勢藻屬，有最高的種數與族群量，其中以 *Nitzschia palea* 與 *Nitzschia amphibia* 族群量較高，分別有 152、129 個；*Navicula*、*Eolimna* 和 *Cyclotella* 分別以 *Navicula arenaria*、*Eolimna minima* 及 *Cyclotella meneghiniana* 為常見優勢藻種。

### 1.2 多樣性指數與矽藻藻類指數

各樣區物種數為 27 到 57 種，大致呈現下降趨勢。從筏子溪上游到下游 (F1-F3)，各放流口後，物種數變化如下，民生放流口後增加 3 種，傳統工業區放流口後增加 4 種，精密工業園區放流口後增加 9 種，且放流口前之物種數較其他樣點低 (表六)。總族群量由上游往下游遞增。放流口後矽藻族群量有變化，民生和傳統工業放流口後，



族群量少增加，而精密工業園區放流口後，總族群量增加 1.9 倍。物種豐富度 (Species richness) 由上游往下游遞減，各放流口後，指數變化如下，民生放流口後增加 0.55，傳統工業區放流口後增加 0.5，精密工業園區放流口後增加 0.99。Pielou's 均勻度 (Pielou's Evenness)、Simpson 指數與 Shannon-Wiener 指數分別為 0.69 - 0.86、0.78 - 0.94 和 2.20 - 3.47。民生與傳統工業放流水後，三指數皆增加，而精密工業園區放流口後皆降低 (表六)。

藻類指數 DAI<sub>po</sub>，民生放流口分別為 83.5 和 83.0 (表七, A, B)，顯示民生放流口河段屬於  $\beta$  中腐水性 ( $\beta$ -mesosaprobic) 環境；傳統工業區、精密工業園區放流口上下游分別為 54.0、48.5 和 61.5、11.5，顯示二者放流口前皆屬於  $\alpha$  中腐水性 ( $\alpha$ -mesosaprobic) 環境，放流口後皆屬於多腐水性 (polysaprobic) 環境 (表七, A, B)。民生放流口上下游的 TDI 值分別為 50.42 和 53.49、傳統工業區放流口分別為 71.06 和 69.86、精密工業園區放流口分別為 70.08 和 73.34，皆屬於優中度優養化 (meso-eutrophic) 環境 (表七, A, B)。

PTV 值在民生放流口分別為 62.2% 和 55.3%、傳統工業區放流口分別為 79.1% 和 75.5%、精密工業園區放流口分別為 83.5% 與 93.0%，顯示民生放流口後屬中度有機物污染，其他河段皆屬於重度有機物污染 (表七, A, B)。民生放流口上下游 GI 值分別為 0 和 0.07、傳統工業

區放流口皆為 0.01、精密工業園區放流口皆為 0，顯示三個河段皆屬於嚴重汙染（表七, A, B）。

## 二、群落結構

### A. 群落結構

比較筏子溪各樣點的矽藻群落組成，鏡檢結果顯示樣點間 Bray-Curtis 相似度從 67.8% - 87.0%。放流口前後相比，民生放流水前後相似度為 87.0%，傳統工業相似度為 77.1%，精密工業園區放流水前後相似度為 70.7%。MDS 圖顯示六樣點分散，表示各樣點間矽藻群落結構相異（圖四, A）。

次世代定序結果顯示樣點間 Bray-Curtis 相似度從 33.2% - 72.6%。放流口前後相比，民生放流水前後相似度為 64.4%，傳統工業區相似度為 72.6%，精密工業園區放流水前後相似度為 61.8%。MDS 圖顯示六樣點分散，表示各樣點間矽藻群落結構相異（圖四, B）。

為了解放流水是否對於矽藻群落結構有影響，將各樣點之矽藻群落結構相似度 ( $\beta$  similarity) 與空間距離作圖。無論鏡檢或 NGS 所獲多樣性資料，都顯示樣點間群落結構相似度隨空間距離增加而升高（圖五, A, B）。若是非汙染水質，生物群落結構相似度應與空間距離呈現負相關，本實驗結果顯示，可能有除了空間距離以外的因素，影響

矽藻之群落結構。

## B. 影響群落結構變化之藻種

SIMPER 結果顯示，造成放流口上下游矽藻群落結構變化之藻種如表八。民生放流口上下游有貢獻度的藻種，族群量有不同變化，以 *Navicula cryptocephala* 增加 1,853，為貢獻度最高之物種，為 26.35%。*Nitzschia palea*、*Amphora ovalis*、*Navicula viridula*、*Gomphonema parvulum*、*Pinnularia* sp1、*Mayamaea atomus*、*Navicula gregaria*、*Synedra ulna*、*Halamphora veneta*、*Cocconeis placentula*、*Navicula capitata*、*Gomphonema ventricosum*、*Gomphonema angustatum* 和 *Nitzschia amphibia* 族群量雖有增加，但其貢獻度都低於 10% (表八)。*Nitzschia subacicularis* 與 *Stauroneis phoenicenteron* 民生放流口後族群量分別減少 307、187，貢獻群落結構差異的 4.37% 和 2.66%。

傳統工業區放流口上下游以 *Mayamaea atomus* 和 *Nitzschia palea* 貢獻度最高，分別為 27.11%、23.65%，族群量分別增加 8,204 和 7,156；*Nitzschia subacicularis*、*Nitzschia fonticola*、*Achnanthes exigua*、*Navicula viridula*、*Navicula cryptocephala* 和 *Nitzschia amphibia* 族群量小幅增加，貢獻度都低於 10% (表八)。*Stauroneis phoenicenteron* 與 *Gomphonema parvulum* 族群量減少，分別減少 3,249 與 2,743 (表八)。

精密工業園區放流口上下游以 *Mayamaea atomus* 貢獻度 56.56%

為最高，族群量增加 35,543，*Nitzschia palea* 與 *Nitzschia subacicularis* 貢獻度 14.61%、13.4% 次之，族群量減少 9,182、8,418。*Gomphonema parvulum* 放流口後族群量亦減少，但貢獻度較低僅 6.96%。

以 SIMPER 分析次世代定序之藻屬多樣性資料，結果顯示，造成放流口上下游矽藻群落結構變化之藻屬如表九。民生放流口上下游群落結構變化，以 *Navicula* 和 *Cyclotella* 貢獻度最高，為 15.22%。*Nitzschia*、*Ulnaria*、*Denticula*、*Cocconeis*、*Eunotia*、*Lemnicola*、*Mayamaea*、*Pinnularia*、*Pleurosigma*、*Pleurosira*、*Sellaphora*、*Surirella*、*Thalassiosira*、*Amphora*、*Craticula*、*Cylindrotheca*、*Diprora*、*Eolimna*、*Fallacia* 和 *Frustulia* 之貢獻度都低於 10% (表九)。

傳統工業區以 *Eolimna*、*Nitzschia*、*Ulnaria* 和 *Cyclotella*，貢獻度高，分別為 22.97%、21.62% 與後二者皆為 13.51%。*Navicula*、*Sellaphora*、*Gomphonema*、*Mayamaea* 與 *Phaeodactylum* 貢獻度都低於 10% (表九)。精密工業園區放流口上下游以 *Nitzschia* 與 *Eolimna* 為造成放流口變化之優勢藻屬，貢獻度分別為 59.78% 和 20.65%。*Sellaphora*、*Ulnaria* 和 *Navicula* 貢獻群落結構差異皆低於 5% (表九)。

### 三、物化因子與矽藻群落結構變化

物化因子結果顯示，底泥中鉻 (Cr)、鎳 (Ni)、銅 (Cu)、鋅 (Zn) 和鉛 (Pb) 含量在民生放流口後大幅高於其他樣點 (表十)，鎘 (Cd) 則是在傳統工業放流口前最高，但樣點間差異不大。在傳統工業與精密工業放流口後，鉻 (Cr)、鎳 (Ni)、銅 (Cu) 和鋅 (Zn) 含量皆下降，僅鉛 (Pb) 含量上升。數據由東海大學環境科學與工程學系，環境生物地質化學實驗室提供。

內梅羅綜合指標結果顯示，民生放流口分別為 2.97 和 4.84、傳統工業區放流口分別為 1.61 和 2.62、精密工業園區放流口分別為 1.64 與 1.45，依其污染判別標準 (附錄一)，顯示民生放流口後屬於重度重金屬污染，其他河段皆屬於中度重金屬污染 (表十一)。

環境荷爾蒙 DEP (Diethyl phthalate) 只在精密工業放流口前測得，濃度約 41.83 ppb；DIBP (Di-isobutyl phthalate) 只在於民生放流口前測得，濃度約 20.53 ppb。DMP (Dimethyl phthalate) 在六個樣點皆有發現，濃度在民生與傳統工業放流口後上升，且在傳統工業放流口後大幅增加到 51.02 ppb；精密工業放流口前最高，有 54.15 ppb，但放流口後濃度低於檢量線。數據由東海大學環境科學與工程學系，界面分離實驗室提供。

各樣點水溫與 pH 值並無明顯變化。筏子溪下游樣點，包括 F2U、F2D、F3U、F3D，有較高電導度 (EC)。三個放流水上下游比較，高電導度 (EC) 於民生放流口後下降，傳統工業與精密工業放流口後則上升。含氧量 (DO) 在民生與精密工業放流口後下降，傳統工業放流口後則上升。

矽藻群落結構與物化因子之 RDA 相關性分析結果，以鏡檢計數所得群落資料之分析結果(圖六, A)，x 軸可解釋之變因為 54%，y 軸可解釋之變因為 24%。結果顯示底泥重金屬能區分出民生放流口河段 (F1U – F1D) 與傳統工業放流口前 (F2U)，且 *Navicula*、*Stauroneis*、*Cyclotella* 與 *Gomphonema* 藻屬之群落與重金屬相關。由於民生放流口下游之重金屬大幅高於其他樣點，*Amphora*、*Halamphora* 和 *Cocconeis* 等藻屬族群量於民生放流口下游增加，以 XY 散佈圖得知三者族群量與重金屬含量呈正相關 (圖七)。

環境荷爾蒙 DMP 能區分出傳統工業放流口後與精密工業放流口前，且顯示環境荷爾蒙 DMP 含量自上游往下游 (F2D – F3U) 增加，*Nitzschia* 藻屬之群落與環境荷爾蒙 DMP 相關。由於傳統工業區放流口上游至下游環境荷爾蒙 DMP 也增加。*Stauroneis* 藻屬族群量於放流口後下降；*Achnanthes*、*Halamphora*、*Cocconeis*、*Cyclotella*、*Gomphonema*、*Hantzschia*、*Nitzschia*、*Pinnularia* 和 *Synedra* 族群量

則上升。以 XY 散佈圖得知，*Stauroneis* 族群量與 DMP 濃度呈負相關（圖八）；*Achnanthes*、*Halamphora*、*Cocconeis*、*Cyclotella*、*Hantzschia*、*Nitzschia*、*Pinnularia* 和 *Synedra* 族群量和 DMP 濃度呈現正相關（圖八）。

以次世代定序所得群落資料的分析結果(圖六, B)，x 軸可解釋之變因為 74%，y 軸可解釋之變因為 11%，並發現與鏡檢之 RDA 結果有相同趨勢，然而，無論是鏡檢或次世代定序所得之矽藻群落結構與物化因子相關性分析結果，兩者於統計上都未達顯著標準。

## 討論與結論

### 一、矽藻多樣性

本研究以鏡檢計數法調查筏子溪水域矽藻多樣性，紀錄 17 屬 42 種，相較於水利署 2006 年之調查筏子溪東海橋到烏溪口六個樣點的矽藻多樣性，共有 24 屬 33 種矽藻，二者採鏡檢計數法調查，本研究記錄的矽藻屬較低，物種多樣性較高。然而九年間，筏子溪流域有相當程度的發展，位於筏子溪流域之台中工業區為傳統工業區，設立於 1973 年，台中精密科技園區竣工啟用於 2012 年，本研究為 2006 年繼水利署調查報告後，再度調查筏子溪矽藻藻相的第一篇研究報告，可作為放流水對於環境生態影響的重要文獻。

水利署報告 (2006) 中指出，調查筏子溪多處樣點，岸邊有水泥堤防，水色混濁；本研究樣點水岸邊多為土石，具植物群落，且水色無色或偏綠，所調查的樣點生態環境不同。棲地的生態影響生物多樣性，水色混濁，則光線穿透度低，使藻類光合作用降低，導致多樣性較低 (Steinman et al. 1989 ; Lange et al. 2011)。此外，由於矽藻對生長基質有偏好 (Soininen & Eloranta 2004)，雖然在不同基質上的物種豐富度與多樣性於無顯著差異，但多數矽藻仍偏好生長於有植被之岸邊



(Bere 2010)，本研究的樣區，岸邊有植物群落，相較於無植物群落的水泥堤防邊水體棲地，會有較高的藻類多樣性。

台灣中部紀錄的淡水矽藻有 365 種，其中，烏溪水域有 28 屬 56 種 (王 2000)。Lai 和 Chen (1997) 調查烏溪矽藻多樣性，發現 *Achnanthes*、*Pleurosira*、*Cymbella*、*Diatoma*、*Gomphonema*、*Gyrosigma*、*Melosira*、*Navicula*、*Nitzschia* 和 *Synedra* 為優勢藻屬。本研究發現筏子溪優勢藻屬有 *Nitzschia*、*Mayamaea*、*Gomphonema*、*Navicula*、*Eolimna*；同時水利署 (2006) 調查報告也指出 *Navicula*、*Nitzschia* 和 *Gomphonema* 為筏子溪之優勢藻屬，可見筏子溪和烏溪之矽藻群落結構不相同。

烏溪中發現的優勢藻，包含乾淨指標藻屬 *Achnanthes*、*Cymbella* (Rumeau & Coste 1988; van Dam et al. 1994; Kelly & Whitton 1995; Wu 1999)，與汙染指標藻屬 *Melosira* (Wu 1999; Wu & Kow 2002)、*Navicula*、*Nitzschia* (Lange-Bertalot 1979; Round 1991; Potapova & Charles 2003; Duong 2007) 和指標藻種 *Gomphonema parvulum* (Lange-Bertalot 1979)；而筏子溪之優勢藻屬為也是汙染指標藻屬，例如，*Mayamaea* (Zgrundo & Bogaczewicz-Adamczak 2004)、*Eolimna* (Zgrundo & Bogaczewicz-Adamczak 2004; Duong et al. 2006)、*Navicula*、

*Nitzschia* 與指標藻種 *Gomphonema parvulum*。優勢藻屬反映出二條河川水質差異。

Lai & Chen (1997) 之樣點為烏溪上游與上游之支流，樣點多為山區河川，其流域開發度與人口數較低 (水利署報告，2006)，本研究調查之筏子溪為烏溪水系下游河段，流域包括台中市區與工業區。烏溪調查樣點中有四個是輕微污染或無污染的環境，兩個樣點為中度污染環境 (Lai & Chen 1997)，本研究筏子溪樣點之環境數據無法評估水質，但環保署資料 (2014) 顯示樣點為中度污染環境，水質差異應為矽藻群落相異的主因。

## 二、放流水對於群落結構的影響

Gómez (1998) 研究發現民生與工業放流水降低矽藻物種多樣性與改變群落結構，其中耐受污染藻種會取代易受影響藻種。本研究發現放流口前後群落結構不同，顯示民生和工業放流水影響矽藻群落結構。在小尺度 (< 200 公里) 下環境相近的棲地中的矽藻群落相似度與空間距離相關 (Bennett et al. 2010)，因此在未受污染河川中，樣點間的矽藻相相似度隨空間距離增加而逐漸下降 (Astorga et al. 2012)；若矽藻相相似度非隨空間距離增加而逐漸下降，表示環境因子有所改

變，促使矽藻為快速適應環境變化導致群落結構改變，可作為判斷河川汙染之依據 (Bennett et al. 2010)。本研究發現筏子溪樣點間之矽藻群落結構相似度非隨空間距離增加而下降，是放流水匯入導致矽藻群落結構改變。

Gómez (1998) 研究之河川長 85 公里，自上游到出海口設立 23 個樣點，以鏡檢觀察，能看到放流水對整條河川的矽藻群落結構的影響。本研究之筏子溪自第一樣點到第六樣點為 5 公里，在放流口上下游各 50 公尺內設立樣點，能在短距離內直接看到放流水匯入後矽藻群落結構的改變。

### 三、群落結構改變與重金屬、環境荷爾蒙之關係

民生放流水是水體重金屬的來源之一 (Dawson & Macklin 1998; Demirak et al. 2006)，民生放流口上下游與傳統工業放流口上游有較高的鉛 (Pb)、鎳 (Ni)、銅 (Cu) 含量，據內梅羅指標顯示此三個樣點屬於中度與重度重金屬汙染環境，且此三個樣點之矽藻群落結構較相近，顯示重金屬可能影響整體群落結構。*Amphora*、*Halamphora* 和 *Cocconeis* 等藻屬族群量與重金屬含量呈正相關，可能為耐受重金屬之物種。有研究報告指出 *Amphora coffeaeformis* 耐受重金屬

(Anantharaj et al. 2011)。

傳統工業區放流口上游含有高的環境荷爾蒙 DMP，其矽藻群落結構和其他樣點不同，環境荷爾蒙 DMP 可能影響群落結構。Ricart 等人 (2010) 也發現環境荷爾蒙可解釋部分矽藻群落結構變化。本研究中 *Stauroneis* 藻屬的族群量與 DMP 濃度呈負相關；*Achnanthes*、*Halamphora*、*Cocconeis*、*Cyclotella*、*Hantzschia*、*Nitzschia*、*Pinnularia* 和 *Synedra* 藻屬的族群量和 DMP 濃度呈現正相關。可證各矽藻種類對環境荷爾蒙的反應不同。Pesce 等人 (2011) 顯示環境荷爾蒙會改變矽藻群落結構，且矽藻對環境荷爾蒙有耐受力。

本研究發現重金屬和環境荷爾蒙影響矽藻的群落結構，且某些藻屬族群量可反映重金屬和環境荷爾蒙濃度，有潛力作為水質指標藻屬，值得進一步調查測試。RDA 分析結果雖然未達顯著水準，可能與本研究樣本數較低有關，值得增加樣本數，進一步分析。

#### 四、具指標潛力之藻種

根據 SIMPER 與 RDA 分析結果，發現 *Navicula cryptocephala*、*Stauroneis phoenicenteron*、*Gomphonema parvulum* 在筏子溪中為優勢藻種，且其族群量可反映重金屬濃度。其中，*N. cryptocephala* 偏好

生長在優養化 (eutrophication) 環境 (Watanabe 1986; Wu 1986; van Dam et al. 1994; Triest 2012)，具有高污染耐受度 (Lange-Bertalot 1979)。我的結果發現 *N. cryptocephala* 族群量隨重金屬濃度增加而增加，此藻種的族群量變化，可作為水體重金屬污染的環境指標。

*Stauroneis phoenicenteron* 對重金屬污染的耐受度低 (Bere 2014)，本研究發現其族群量和重金屬濃度呈負相關，可作為水環境受重金屬污染的指標。*Gomphonema parvulum* 生長於多腐水 (polysaprobic) 與優養化環境，對污染耐受度高 (Lange-Bertalot 1979; van Dam et al. 1994)，可用於監測優養化。Duong 等人 (2008) 研究發現 *G. parvulum* 體內鎘濃度和環境中鎘濃度呈現正相關，但是相對族群量在高鎘濃度中僅 2.7%，而低鎘濃度環境中相對族群量有 5%。本研究之結果顯示 *Gomphonema parvulum* 族群量與重金屬呈負相關，顯示雖然 *G. parvulum* 體內會累積鎘，且能耐受重金屬污染，但其族群量還是隨鎘濃度上升而下降。

*Nitzschia* 在有環境荷爾蒙中為優勢藻屬 (Pesce et al. 2011)。我的結果發現 *Nitzschia* 族群量與環境荷爾蒙相關，且 *N. palea* 和 *N. subacicularis* 族群量和環境荷爾蒙濃度呈現正相關。此外，*N. palea* 的族群量與重金屬濃度呈負相關。Morin 等人 (2008) 發現 *N. palea* 的相對族群量和生物膜上累積的鋅濃度呈反比，鋅濃度越高族群量越

低，表示 *N. palea* 雖能耐受重金屬污染，但族群量仍受重金屬影響。  
*Nitzschia palea* 可以作為有機污染、優養化 (Schoeman 1976; Wu 1986; van Dam et al. 1994; Triest et al. 2012) 與重金屬 (Peres et al. 1997; Medley & Clements 1998; Lai et al. 2003; Whitton 2003; Sinitean & Kutasi 2012) 的生物指標。

*Nitzschia subacicularis* 生長在  $\beta$  中腐水 ( $\beta$ -mesosaprobic) 與過優養化 (hypereutrophic) 環境 (van Dam et al. 1994)。*N. subacicularis* 於三個樣區皆有出現，在精密科技放流口上下游之貢獻度大於 10%，族群量隨環境荷爾蒙濃度下降而減少，應能作為環境荷爾蒙的指標。

## 五、矽藻指數

DAIpo 可用來檢測腐水度，根據鏡檢資料將六個樣點區分為  $\alpha$  中腐水、多腐水；PTV 有機物污染檢測指數，將六個樣點區分為有機物污染、重度有機物污染。顯示 DAIpo 和 PTV 可用於反映民生放流水對於矽藻群落的影響，但無法反映二種工業放流水之影響。

次世代定序結果來看，DAIpo 顯示民生放流口上下游為  $\beta$  中腐水性 ( $\beta$ -mesosaprobic) 環境，其他樣區放流口前屬於  $\alpha$  中腐水性 ( $\alpha$ -mesosaprobic) 環境放流口後為多腐水性 (polysaprobic) 環境，和鏡檢結果相比，以次世代定序資料分析矽藻指數，有較高解析度。

DAIpo 是使用藻種的相對族群量計算而得，由於鏡檢與定序所得的矽藻多樣性與族群量不同，所得各樣點的DAIpo數值與判讀不同。

以鏡檢或次世代結果計算 TDI 或 GI 指數，呈現筏子溪各樣區 TDI 數值為 83.20 - 92.65，皆屬於為優中度優養化 (meso-eutrophic) 環境和重度汙染環境，顯示筏子溪藻相計算均達 TDI 和 GI 優中度優養化與重度汙染的閾值。有報告指出 TDI 適用於西歐與中歐 (Szczepocka & Szulc 2009; Rakowska & Szczepocka 2011; Rusanov & Stanislavskaya 2011; Belal 2012)，或中東地區乾燥的河川 (Atazadeh et al. 2007)。但台灣的河川生態與藻相和歐洲與中東不同，台灣地區多高山因此河川短、坡度陡且流速快 (鄭 2009)。台灣曾計算武陵地區之高山河流的 TDI，各溪流 TDI 介於 49 - 68，屬於優中度優養化 (meso-eutrophic) 環境，顯示在這幾條高山溪流的 TDI 沒有很大差異 (于 2004)。代表 TDI 能反映河川營養程度。

GI 是為了快速檢測汙染而開發的指數，其採計的藻屬，如 *Cymbella* 與 *Melosira*，在本次調查中前者的族群量低，而後者沒有紀錄。水利署筏子溪調查報告 (2006) 中，此兩類群皆有紀錄，雖然族群量並不高，依 GI 指數，筏子溪全河段為嚴重汙染。武陵地區各溪流理化分析顯示水質良好，2002 與 2003 年 GI 的數值為 2 - 14，屬於輕度到微汙染，2004 年各溪流為 35 - 488，均屬於極輕微汙染水域

(于 2004)。本次研究結果也呈現筏子溪為嚴重汙染，顯示 GI 指數能明確區分汙染程度，且無論高山或平地河川皆符合快速檢測汙染之目的。

## 六、鏡檢計數與次世代定序

鏡檢計數困難處在於矽藻的辨認需要豐富知識與經驗，需要長時間的觀看並累積知識與經驗，相當費時費力，且對於研究人員來說，藉形態鑑定至種級為極大的挑戰，容易因藻種形態相近導致鑑定錯誤 (Bailey-Watts 1976; Babanazarova et al. 1996; Besse-Lototskaya et al. 2006)。

以鏡檢所得數據計算各樣點的群落結構 Bray-Curtis 相似度為 67.8% - 87.0%，次世代定序所得 Bray-Curtis 相似度為 33.2% - 72.6%。本研究中以次世代定序調查到 164 種矽藻，高於鏡檢法的 42 種，足以說明次世代定序對多樣性的解析度較高，可以獲得較高的物種多樣性。由於解析度提高，物種多樣性增加，導致樣點間的群落結構相似度較低。

以次世代定序調查科或屬等較高分類階級的生態多樣性，BLASTn 資料庫是快速且強大的方法，然而 BLASTn 為節省計算時間而使序列比對較不完善，因此並不適合用於分類學研究 (Edgar 2010)，



然可以用在比較不同環境的群落結構之生態學研究。檢測水質時，大部分藻類指數仍要求需鑑別至種 (Zimmermann et al. 2015)，因此在未來，資料庫完備之情況下，應可釐清反映出水質變化的藻種，使以藻類指數檢測水質更為精準。

本研究在結果上出現極低之族群量與大量未知藻種，除了現今序列資料庫不足的問題，聚合酶鏈鎖反應之條件 (Jahn et al. 2007) 也是其原因，欲從生物體提取大量且純淨的 DNA 相當困難，所以須經聚合酶鏈鎖反應擴增，且操作 NGS 平台也需要足夠大量的 PCR 產物。根據 Moro 等人 (2009) 所訂之煉合溫度為 66°C，本研究委託之廠商為了收集大量的 PCR 產物，以滿足後續操作 454 平台所需之 DNA 量，將原本的煉合溫度調降為 56°C，並未考慮引子黏合專一性下降，導致出現過多雜訊與嵌合體，以及大量非矽藻的綠藻和真菌等真核生物序列 (表十二)，結果雖然有大量矽藻類群能辨識至屬級，但族群量也因此降低許多，不利於分析。進行相關研究須審慎測試 PCR 之反應條件，以避免類似問題發生。

## 七、結論

1. 以鏡檢與次世代定序分別紀錄筏子溪有 42 和 140 種矽藻，顯示筏子溪的矽藻物種多樣性高，優勢藻屬為 *Nitzschia*、*Mayamaea*、*Gomphonema*、*Navicula*、*Eolimna*。
2. 筏子溪三處匯流口前後共六個樣點之矽藻群落結構相似度非隨空間距離增加而下降，顯示放流水的匯入導致矽藻群落結構改變。
3. *Amphora*、*Halamphora* 和 *Cocconeis* 等藻屬族群量與底泥重金屬含量呈正相關。*Stauroneis* 藻屬的族群量與水體中 DMP 濃度呈負相關；*Halamphora*、*Cocconeis*、*Cyclotella*、*Hantzschia*、*Nitzschia*、*Pinnularia* 和 *Synedra* 藻屬的族群量和 DMP 濃度則呈正相關。顯示以上矽藻屬對重金屬及環境荷爾蒙耐受，且對環境有偏好，但影響不顯著。
4. *Navicula cryptocephala*、*Stauroneis phoenicenteron*、*Gomphonema parvulum*、*Nitzschia palea* 和 *N. subacicularis* 等藻種，在三種放流水匯入後，豐富度的變化不同，或許具有區辨重金屬與環境荷爾蒙兩類污染源之潛力。

5. 藻類指數 TDI 顯示筏子溪樣區河段屬於優中度優養化，DAI<sub>po</sub> 與 PTV 顯示為中度及重度汙染，GI 則顯示為重度汙染。四種藻類指數反映筏子溪的生態。
6. 次世代定序對多樣性的解析度較高，能獲得較鏡檢法高的物種多樣性，但是定序條件需要校正，同時需要更豐富核酸資料庫。
7. 本研究為繼 2006 年後，再度調查筏子溪矽藻藻相與民生、工業放流水相關性之研究，呈現藻相的變化，是放流水對於溪流生態影響的研究。

## 參考資料

- 王瑋龍、陳伯中。2000。台灣淡水矽藻名錄。水產出版社。
- 于淑芬。2004。武陵地區水質監測及水質評估。內政部營建署雪霸國家公園管理處。
- 行政院農業委員會特有生物研究保育中心。2006。烏溪河系河川情勢調查總報告。經濟部水利署水利規劃試驗所。
- 贺纪正、张丽梅、沈菊培、朱永官。2008。宏基因组学 (Metagenomics) 的研究现状和发展趋势。环境科学学报。28:209–218。
- 鄭森雄。2009。台灣之河川污染及其與生態環境之關係。國立台灣海洋大學。
- 鄧培雁、雷遠達、劉威、王旭濤。2012。七項河流附著矽藻指數在東江的適用性評估。生態學報。32:5014–5024。
- Agence de l'Eau, Rhône-Méditerranée-Corse. 2002. In: Traitement de surfaces – épuration des eaux (in French). SITS.
- Altschul, S. F., W. Gish, W. Miller, E. W. Myers, D. J. Lipman. 1990. Basic local alignment search tool. Journal of Molecular Biology 215:403–410.
- Anantharaj, K., C. Govindasamy, G. Natanamurugaraj, S. Jeyachandran. 2011. Effect of heavy metals on marine diatom *Amphora coffeaeformis* (Agardh. Kutz). Global Journal of Environmental Research 5:112–117.
- Antón-Garrido, B., S. Romo, M. J. Villena. 2013. Diatom species composition and indices for determining the ecological status of coastal Mediterranean Spanish lakes. Anales del Jardín Botánico de Madrid 70:122–135.
- Archibald, R. E. M. 1984. Diatom illustrations—an appeal. Bacillaria 7:173–178.
- Asmus, B., J. A. Magner, B. Vondracek, J. Perry. 2009. Physical integrity: the missing link in biological monitoring and TMDLs. Environmental Monitoring and

Assessment 159:443–463.

- Astorga, A., J. Oksanen, M. Luoto, J. Soininen, R. Virtanen, T. Muotka. 2012. Distance decay of similarity in freshwater communities: do macro- and microorganisms follow the same rules? *Global Ecology and Biogeography* 21:365–375.
- Atazadeh, I., M. Sharifi, M. G. Kelly. 2007. Evaluation of the Trophic Diatom Index for assessing water quality in River Gharasou, western Iran. *Hydrobiologia* 589:165–173.
- Babanazarova, O. V., Y. V. Likhoshway, D. Y. Sherbakov. 1996. On the morphological variability of *Aulacoseira baicalensis* and *Aulacoseira islandica* (Bacillariophyta) of Lake Baikal, Russia. *Phycologia* 35:113–123.
- Bailey-Watts, A. E. 1976. Planktonic diatoms and some diatom-silica relations in a shallow eutrophic Scottish loch. *Freshwater Biology* 6:69–80.
- Bahls, L. L. 1993. Periphyton bioassessment methods for Montana streams. Water Quality Bureau, Department of Health and Environmental Sciences, Helena, Montana, USA.
- Baytut, Ö., Ø. Moestrup, N. Lundholm, A. Gönülol. 2013. Contributions to the Diatom flora of the Black Sea from ultrastructural and molecular studies: new records of *Skeletonema marinoi*, *Pseudo-nitzschia pungens* var. *aveirensis* and *Chaetoceros tenuissimus* for the marine flora of Turkey. *Nova Hedwigia* 96:427–444.
- Belal, M. D. 2012. Epipellic diatoms as a tool for monitoring pollution in River Nile from Aswan to Cairo. Cairo University pp. 220.
- Bennett, J. R., B. F. Cumming, B. K. Ginn, J. P. Smol. 2010. Broad-scale environmental response and niche conservatism in lacustrine diatom

- communities. *Global Ecology and Biogeography* 19:724–732.
- Bere, T. 2010. Benthic diatom community structure and habitat preferences along an urban pollution gradient in the Monjolinho River, São Carlos, SP, Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensia* 22:80–92.
- Bere, T., J. G. Tundisi. 2011a. Influence of land-use patterns on benthic diatom communities and water quality in the tropical Monjolinho hydrological basin, São Carlos-SP, Brazil. *Water SA* 37:93–102.
- Bere, T., J. G. Tundisi. 2011b. The effects of substrate type on diatom-based multivariate water quality assessment. *Water, Air and Soil Pollution* 216:391–409.
- Bere, T. 2014. Ecological preferences of benthic diatoms in a tropical river system in São Carlos-SP, Brazil. *Tropical Ecology* 55:47–61.
- Besse-Lototskaya, A., P. F. Verdonschot, J. A. Sinkeldam. 2006. Uncertainty in diatom assessment: sampling, identification and counting variation. In *The Ecological Status of European Rivers: Evaluation and Intercalibration of Assessment Methods* (pp. 247–260). Springer Netherlands.
- Beszteri, B., E. Acs, J. Makk, G. Kovács, K. Márialigeti, K. T. Kiss. 2001. Phylogeny of six naviculoid diatoms based on 18S rDNA sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51:1581–1586.
- Birkett, K., S. Gardiner. 2005. The use of epilithic and epiphytic diatoms as indicators of organic pollution in the Cheboygan River, Cheboygan County, Michigan.
- Blais, J. 1999. State of the art of technologies for metal removal from industrial effluents. *Revue des Sciences de l'Eau/Journal of Water Science* 12:687–711.
- Cattaneo, A., Y. Couillard, S. Wunsam. 2008. Sedimentary diatoms along a temporal and spatial gradient of metal contamination. *Journal of Paleolimnology*

40:115–127.

- Chen, P. C., S. D. Lai. 1984. Freshwater diatoms of Wu-si River. *Journal of Information Science and Engineering* 21:31–55.
- Chessman, B. C., N. Bate, P. A. Gell, P. Newall. 2007. A diatom species index for bioassessment of Australian rivers. *Marine and Freshwater Research* 58:542–557.
- Clarke, K. R. 1993. Non-parametric multivariate analysis of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology* 18:117–143.
- Clarke, K. R., R. M. Warwick. 2001. An approach to statistical analysis and interpretation. *Change in Marine Communities* 2.
- Correll, D. L. 1998. The role of phosphorus in the eutrophication of receiving waters: A review. *Journal of Environmental Quality* 27:261–266.
- Crane, M., C. Watts, T. Boucard. 2006. Chronic aquatic environmental risks from exposure to human pharmaceuticals. *Science of the Total Environment* 367:23–41.
- Dawson, E. J., M. G. Macklin. 1998. Speciation of heavy metals in floodplain and flood sediments: a reconnaissance survey of the Aire Valley, West Yorkshire, Great Britain. *Environmental Geochemistry and Health* 20:67–76.
- da Silva, E. F., Almeida, S. F., Nunes, M. L., Luís, A. T., Borg, F., Hedlund, M., C. M. de Sá, C. Patinha, P. Teixeira. 2009. Heavy metal pollution downstream the abandoned Coval da Mó mine (Portugal) and associated effects on epilithic diatom communities. *Science of the total environment* 407:5620–5636.
- de Menezes, A., N. Clipson, E. Doyle. 2012. Comparative metatranscriptomics reveals widespread community responses during phenanthrene degradation in soil. *Environmental Microbiology* 14:2577–2588.

- Demirak, A., F. Yilmaz, A. L. Tuna, N. Ozdemir. 2006. Heavy metals in water, sediment and tissues of *Leuciscus cephalus* from a stream in southwestern Turkey. *Chemosphere* 63:1451–1458.
- Descy, J. P. 1979. A new approach to water quality estimation using diatoms. *Nova Hedwigia Beiheft* 64:305–323.
- Duong, T. T., M. Coste, A. Feurtet-Mazel, D. K. Dang, C. Gold, Y. S. Park, A. Boudou. 2006. Impact of urban pollution from the Hanoi area on benthic diatom communities collected from the Red, Nhue and Tolich rivers (Vietnam). *Hydrobiologia* 563:201–216.
- Duong, T. T., A. Feurtet-Mazel, M. Coste, D. K. Dang, A. Boudou. 2007. Dynamics of diatom colonization process in some rivers influenced by urban pollution (Hanoi, Vietnam). *Ecological Indicators* 7:839–851.
- Duong, T. T., S. Morin, O. Herlory, A. Feurtet-Mazel, M. Coste, A. Boudou. 2008. Seasonal effects of cadmium accumulation in periphytic diatom communities of freshwater biofilms. *Aquatic Toxicology* 90:19–28.
- Edgar, R. C. 2010. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics* 26:2460–2461.
- El-Karim, M. S. A. 2014. Epipelagic algal distribution in Ismailia Canal and the possible use of diatoms as bioindicators and a biomonitoring tool. *The Egyptian Journal of Aquatic Research* 40:385–393.
- Evans, K. M., A. H. Wortley, D. G. Mann. 2007. An assessment of potential diatom “barcode” genes (cox1, rbcL, 18S and ITS rDNA) and their effectiveness in determining relationships in Sellaphora (Bacillariophyta). *Protist* 158:349–364.
- Feurtet-Mazel, A., C. Gold, M. Coste, A. Boudou. 2003. Study of periphytic diatom



- communities exposed to metallic contamination through complementary field and laboratory experiments. *Journal de Physique IV* 107:467–470.
- Friedl, T., C. J. O’Kelly. 2002. Phylogenetic relationships of green algae assigned to the genus *Planophila* (Chlorophyta): Evidence from 18S rDNA sequence data and ultrastructure. *European Journal of Phycology* 37:373–384.
- Gold, C. 2002. Etude des effets de la pollution métallique (Cd/Zn) sur la structure des communautés de diatomées périphtiques des cours d’eau. Approches expérimentales in situ et en laboratoire. Thesis, Univ. Bordeaux I Ecole Doct. Sciences du vivant, Géosciences et Sciences de l’Environnement. pp. 175.
- Gomà, J., F. Rimet, J. Cambra, L. Hoffmann, L. Ector. 2005. Diatom communities and water quality assessment in mountain rivers of the upper Segre basin (La Cerdanya, Oriental Pyrenees). *Hydrobiologia* 551:209–225.
- Gómez, N. 1998. Use of epipellic diatoms for evaluation of water quality in the Matanza-Riachuelo (Argentina), a pampean plain river. *Water Research* 32:2029–2034.
- Govindasamy, C., K. Anantharaj. 2012. New distributional record of epiphytic diatom of *Nitzschia longissima* in Palk Strait-Scanning Electron Microscopy (SEM). *African Journal of Basic & Applied Sciences* 4:25–27.
- Hamsher, S. E., K. M. Evans, D. G. Mann, A. Poulíčková, G. W. Saunders 2011. Barcoding diatoms: exploring alternatives to COI-5P. *Protist* 162:405–422.
- Handelsman, J., M. R. Rondon, S. F. Brady, J. Clardy, R. M. Goodman. 1998. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chemistry and Biology* 5:R245–R249.
- Handelsman, J. 2004. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 68:669–685.

- Hasle, G. R., G. A. Fryxell. 1970. Diatoms: cleaning and mounting for light and electron microscopy. *Transactions of the American Microscopical Society* 469–474.
- Hebert, P. D. N., A. Cywinska, S. L. Ball, J. R. de Waard. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London, Biological Sciences* 270:313–321.
- Hillebrand, H., F. Watermann, R. Karez, U. G. Berninger. 2001. Differences in species richness patterns between unicellular and multicellular organisms. *Oecologia* 126:114–124.
- Hilsenhoff, W. L. 1988. Rapid field assessment of organic pollution with a family-level biotic index. *Journal of the North American Benthological Society* 65–68.
- Hirst, H., I. Jüttner, S. Ormerod. 2002. Comparing the response of diatoms and macroinvertebrates to metals in upland streams of wales and cornwall. *Freshwater Biology* 47:1652–1665.
- Horton, T. R., Bruns, T. D. 2001. The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Molecular Ecology* 10:1855–1871.
- Huang, M. H. 1982. The freshwater diatoms of southern parts of Taiwan. *Biological Bulletin National Tainan Normal College* 15: 263-328.
- Hunter, J. 2007. Diatoms as environmental indicators: a case study in the bioluminescent bays of Vieques, Puerto Rico. In *Proceedings of the 20<sup>th</sup> Annual Keck Symp.* Wooster, OH, USA. Available from: <http://keckgeology.org/files/pdf/symvol/20th/puertorico/hunter.pdf>.
- Hu, T. J., H. W. Wang, H. Y. Lee. 2007. Assessment of environmental conditions of Nan-Shih stream in Taiwan. *Ecological Indicators* 7:430–441.

- Ivorra, N., J. Hettelaar, G. M. J. Tubbing, M. H. S. Kraak, S. Sabater, W. Admiraal. 1999. Translocation of microbenthic algal assemblages used for in situ analysis of metal pollution in rivers. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 37:19–28.
- Jahn, R., H. Zetzsche, R. Reinhardt, B. Gemeinholzer. 2007. Diatoms and DNA barcoding: A pilot study on an environmental sample. In W. H. Kusber & R. Jahn (Eds.), *Proceedings of the 1<sup>st</sup> Central European Diatom Meeting 2007* (pp. 63–68). Berlin: Botanic Garden and Botanical Museum Berlin-Dahlem.
- Jakovljević, O. S., J. Ž. Krizmanić, M. V. Cvijan. 2014. Water quality assessment of the DTD canal system by diatom indices. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke* 127:23–33.
- Kaczmarska, I., C. Reid, M. Moniz. 2007. Diatom taxonomy: morphology, molecules and barcodes. *Proceedings of the 1<sup>st</sup> Central-European Diatom meeting* (pp. 69–72). FU-Berlin: Botanic Garden and Botanical Museum Berlin-Dahlem.
- Kanu, I., O. K. Achi. 2011. Industrial effluents and their impact on water quality of receiving rivers in Nigeria. *Journal of Applied Technology in Environmental Sanitation* 1:75–86.
- Karr, J. R., D. R. Dudley. 1981. Ecological perspective on water quality goals. *Environmental Management* 5:55–68.
- Karr, J. R., K. D. Fausch, P. L. Angermeier, P. R. Yant, I. J. Schlosser. 1986. Assessing biological integrity in running waters. A method and its rationale. Illinois Natural History Survey, Champaign, Special Publication 5.
- Kelly, M. G., C. J. Penny, B. A. Whitton. 1995. Comparative performance of benthic diatom indices used to assess river water quality. *Hydrobiologia* 302:179–188.

- Kelly, M. G. & B. A. Whitton. 1995. The Trophic Diatom Index: a new index for monitoring eutrophication in rivers. *Journal of Applied Phycology* 7:433–444.
- Kelly, M. G. 1998. Use of the trophic diatom index to monitor eutrophication in rivers. *Water Research* 32:236–242.
- Kelly, M., A. Cazaubon, E. Coring, A. Dell’Uomo, L. Ector, B. Goldsmith, H. Guasch, J. Hurlimann, A. Jarlman, B. Kawecka, J. Kwadrans, R. Laugaste, E. Lindstrom, M. Leitao, P. Marvan, J. Padisak, E. Pipp, J. Prygiel, E. Rott, S. Sabater, H. Van Dam, J. Vizinet. 1998. Recommendations for the routine sampling of diatoms for water quality assessments in Europe. *Journal of Applied Phycology* 10:215–224.
- Kermarrec, L., A. Franc, F. Rimet, P. Chaumeil, J. F. Humbert, A. Bouchez. 2013. Next-generation sequencing to inventory taxonomic diversity in eukaryotic communities: a test for freshwater diatoms. *Molecular Ecology Resources* 13:607–619.
- Kermarrec, L., A. Franc, F. Rimet, P. Chaumeil, J. M. Frigerio, J. F. Humbert, A. Bouchez. 2014. A next-generation sequencing approach to river biomonitoring using benthic diatoms. *Freshwater Science* 33:349–363.
- Kooistra, W. H. C. F., L. K. Medlin. 1996. Evolution of the diatoms (Bacillariophyta): IV. A reconstruction of their age from small subunit rRNA coding regions and the fossil record. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 6:391–407.
- Krammer, K., H. Lange-Bertalot, Bacillariophyceae, 1. Teil, Naviculaceae, in *Süßwasserflora von Mitteleuropa* (Eds.: H. Ettl, J. Gerloff, H. Heynig, D. Mollenhauer), Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York 1986.
- Krammer, K., H. Lange-Bertalot, Bacillariophyceae, 3. Teil, Centrales, Fragilariaceae,

- Eunotiaceae, in Süßwasserflora von Mitteleuropa (Eds.: H. Ettl, J. Gerloff, H. Heynig, D. Mollenhauer), Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York 1991a.
- Krammer, K., H. Lange-Bertalot, Bacillariophyceae, 4. Teil, Achnanthaceae, Kritische Ergänzungen zu *Navicula* (Lineolatae) und *Gomphonema*, Gesamtliteraturverzeichnis Teil 1–4, in Süßwasserflora von Mitteleuropa (Eds.: H. Ettl, G. Gärtner, J. Gerloff, H. Heynig, D. Mollenhauer), Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York 1991b.
- Krammer, K. Diatoms of Europe, in Diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats (Ed.: H. Lange-Bertalot), Volume 3: *Cymbella*, ARG Gantner Verlag, Ruggell, Liechtenstein 2002.
- Krebs, C. J. 1989. Ecological methodology Harper and Row. New York.
- Kruskal, J. B., M. Wish. 1978. Multidimensional scaling (Vol. 11). Sage.
- Lai, S. D., K. C. Yu, S. T. Ho. 1994. Study on the correlation between the biota and ecological factor of San-Yeh-Kong River. *Journal of Technology* 9:103–114. (in Chinese).
- Lai, S. D., P. C. Chen. 1997. An ecological study on attached diatoms in the rivers of mid-Taiwan. *Diatom* 13:247–259.
- Lai, S. D., P. C. Chen, H. K. Hsu. 2003. Benthic algae as monitors of heavy metals in various polluted rivers by energy dispersive X-ray spectrometer. *Journal of Environmental Science and Health Part A* 38:855–866.
- Lange-Bertalot, H. 1979. Pollution and tolerance of diatoms as criterion of water quality estimation. *Nova Hedwigia* 64:285–304.
- Lange-Bertalot, H. 1997. Frankophila, Mayamaea und Fistulifera: drei neue Gattungen der Klasse Bacillariophyceae. *Archiv für Protistenkunde* 148:65–76.

- Lange-Bertalot, H. 2001. *Navicula sensu stricto* 10 genera separated from *Navicula sensu lato* *Frustulia*. *Diatoms of Europe. Diatoms of the European inland waters and comparable habitats* 2:526.
- Lange, K., A. Liess, J. J. Piggott, C. R. Townsend, C. D. Matthaei. 2011. Light, nutrients and grazing interact to determine stream diatom community composition and functional group structure. *Freshwater Biology* 56:264–278.
- Lecointe, C., M. Coste, J. Prygiel. 2003. Omnidia 3.2. Diatom Index Software Including Diatom Database with Taxonomic Names, References and Codes of 11645 Diatom Taxa.
- Lee, B. Y., S. J. Park, M. Paule, W. Jun, C. H. Lee. 2012. Effects of impervious cover on the surface water quality and aquatic ecosystem of the Kyeongan stream in South Korea. *Water Environment Research* 84:635–645.
- Legendre, P., E. D. Gallagher. 2001. Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia* 129:271–280.
- Leland, H. V., S. D. Porter. 2000. Distribution of benthic algae in the upper Illinois River basin in relation to geology and land use. *Freshwater Biology* 44:279–301.
- Lenoir, A., M. Coste. 1996. Development of a practical diatom index of overall water quality applicable to the French National Water Board network. In: *Use of Algae for Monitoring Rivers II* Whitton B A and Rott E (Eds.). Institut für Botanik. Universität Innsbruck. 29–43.
- Levkov, Z. 2009. *Amphora sensu lato*. In *Diatoms of Europe, Volume 5*. (H. Lange-Bertalot, ed). A.R.G. Gantner Verlag K.G. pp. 916.
- Li, C. W., Y. M. Chiang. 1977. The fine structure of the frustule of a centric diatom *Hydrosera triquetra* Wallich. *British Phycological Journal* 12:203–213.

- Li, C. W. 1978. Notes on marine littoral diatoms of Taiwan I. some diatoms of pescadores. *Nova Hedwigia* 29:787–812.
- Li, C. W., Y. M. Chiang 1979. A euryhaline and polymorphic new diatom, *Proteucylindrus taiwanensis* gen. et sp. nov. *British Phycological Journal* 14:377–384.
- Litaker, R. W., M. W. Vandersea, S. R. Kibler. 2007. Recognizing dinoflagellate species using ITS rDNA sequences. *Journal of Phycology* 43:344–355.
- Liu, Y., Y. Guan, Q. Gao, N. F. Y. Tam, W. Zhu. 2010. Cellular responses, biodegradation and bioaccumulation of endocrine disrupting chemicals in marine diatom *Navicula incerta*. *Chemosphere* 80:592–599.
- Lobo, E. A., V. L. Callegaro, C. E. Wetzel, G. Hermany, D. Bes. 2004. Water quality study of the Condor and Capivara streams (Porto Alegre Municipal District, RS, Brazil) using epilithic diatom biocenoses as bioindicators. *Oceanological and Hydrobiological Studies* 33:77–93.
- Lotter, A. F. 2001. The effect of eutrophication on diatom diversity: examples from six Swiss lakes.
- Luddington, I. A., I. Kaczmarek, C. Lovejoy. 2012. Distance and character-based evaluation of the V4 region of the 18S rRNA gene for the identification of diatoms (Bacillariophyceae). *PloS One* 7:e45664.
- Mann, D. G., S. Sato, R. Trobajo, P. Vanormelingen, C. Souffreau. 2010. DNA barcoding for species identification and discovery in diatoms. *Cryptogamie. Algologie* 31:557-577.
- Mayama, S., H. Kobayasi. 1988. Morphological variations in *Navicula atomus* (Kütz.) Grun. In F.E. Round (ed.). *Proceedings of the 9th International Diatom Symposium*. Bristol, England 1986 pp. 427–435.

- Medley, C. N., W. H. Clements. 1998. Responses of diatom communities to heavy metals in streams: The influence of longitudinal variation. *Ecological Applications* 8:631–644.
- Medlin, L. K., W. H. Kooistra, R. Gersonde, U. Wellbrock. 1996. Evolution of the diatoms (Bacillariophyta). II. Nuclear-encoded small subunit rRNA sequence comparisons confirm a paraphyletic origin for the centric diatoms. *Molecular Biology and Evolution* 13:67–75.
- Moro, C. V., O. Crouzet, S. Rasconi, A. Thouvenot, G. Coffe, I. Batisson, J. Bohatier. 2009. New design strategy for development of specific primer sets for PCR-based detection of Chlorophyceae and Bacillariophyceae in environmental samples. *Applied and Environmental Microbiology* 75:5729–5733.
- Moniz, M. B. J., I. Kaczmarska. 2009. Barcoding diatoms: Is there a good marker? *Molecular Ecology Resources* 9:65–74.
- Moniz, M., I. Kaczmarska. 2010. Barcoding of Diatoms: Nuclear Encoded ITS Revisited. *Protist* 161:7–34.
- Morales, E. A., P. A. Siver, F. R. Trainor. 2001. Identification of diatoms (Bacillariophyceae) during ecological assessments: Comparison between light microscopy and scanning electron microscopy techniques. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 151:95–103.
- Morin, S., N. Corcoll, B. Bonet, A. Tlili, H. Guasch. 2014. Diatom responses to zinc contamination along a Mediterranean river. *Plant Ecology and Evolution* 147:325–332.
- Morin, S., T. T. Duong, A. Dabrin, A. Coynel, O. Herlory, M. Baudrimont, F. Delmas, G. Durrieu, J. Schäfer, P. Winterton, G. Blanc, M. Coste. 2008. Long-term



- survey of heavy-metal pollution, biofilm contamination and diatom community structure in the Riou Mort watershed, South-West France. *Environmental Pollution* 151:532–542.
- Muñoz, I., J. C. Lopez-Doval, M. Ricart, M. Villagrasa, R. Brix, A. Geiszinger, A. Ginebreda, H. Guasch, M. J. Lopez De Alda, A. M. Romani, S. Sabater, D. Barcelo. 2009. Bridging levels of pharmaceuticals in River water with biological community structure in the Llobregat River basin (Northeast Spain). *Environmental Toxicology and Chemistry* 28:2706–2714.
- Nemerow, N. L. 1974. *Scientific Stream Pollution Analysis*. McGraw-Hill Education 1–358.
- Oksanen, J., F. G. Blanchet, R. Kindt, P. Legendre, P. R. Minchin, R. B. O’Hara, G. L. Simpson, P. Solymos, M. H. H. Stevens, H. Wagner. 2012. Package ‘vegan’. *Community Ecology Package Version 2*.
- Pace, N. R., D. A. Stahl, D. J. Lane, G. J. Olsen. 1985. Analyzing natural microbial populations by rRNA sequences. *ASM News* 51:4–12.
- Pandey, L. K., D. Kumar, A. Yadav, J. Rai, J. P. Gaur. 2014. Morphological abnormalities in periphytic diatoms as a tool for biomonitoring of heavy metal pollution in a river. *Ecological Indicators* 36:272–279.
- Pan, Y., A. Herlihy, P. Karfmann, J. Wigington, J. van Sickle, T. Moser. 2004. Linkages among land-use, water quality, physical habitat conditions and lotic diatom assemblages: a multi-spatial scale assessment. *Hydrobiologia* 515:59–73.
- Pan, Y., R. J. Stevenson, B. H. Hill, P. R. Kaufmann, A. T. Herlihy. 1999. Spatial patterns and ecological determinants of benthic algal assemblages in Mid-Atlantic streams, USA. *Journal of Phycology* 35:460–468.

- Park, Y. J., J. S. Choi, H. S. Kim. 2014. Water quality assessment of the Sinchun stream based on epilithic diatom communities. *Journal of Environmental Biology* 35:1053.
- Passy, S. I., R. W. Bode. 2004. Diatom model affinity (DMA), a new index for water quality assessment. *Hydrobiologia* 524:241–252.
- Pennesi, C., M. Poulin, M. De Stefano, T. Romagnoli, C. Totti. 2011. New insights to the ultrastructure of some marine *Mastogloia* species section *Sulcatae* (Bacillariophyceae), including *M. neoborneensis* sp. nov. *Phycologia* 50:548–562.
- Peres, F., M. Coste, F. Ricard, A. Boudou. 1997. Effects of methylmercury and inorganic mercury on periphytic diatom communities in freshwater indoor microcosms. *Journal of Applied Phycology* 9:215–227.
- Pesce, S., S. Morin, S. Lissalde, B. Montuelle, N. Mazzella. 2011. Combining polar organic chemical integrative samplers (POCIS) with toxicity testing to evaluate pesticide mixture effects on natural phototrophic biofilms. *Environmental Pollution* 159:735–741.
- Pielou, E. C. 1966. The measurement of diversity in different types of biological collections. *Journal of Theoretical Biology* 13:131–144.
- Pipp, E. 2002. A regional diatom-based trophic state indication system for running water stations in Upper Austria and its regional applicability. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie* 27:3376–3380.
- Ponader, K. C., D. F. Charles, T. J. Belton. 2007. Diatom-based TP and TN inference models and indices for monitoring nutrient enrichment of New Jersey streams. *Ecological Indicators* 7:79–93.

- Poretzky, R. S., I. Hewson, S. Sun, A. E. Allen, J. P. Zehr, M. A. Moran. 2009. Comparative day/night metatranscriptomic analysis of microbial communities in the North Pacific subtropical gyre. *Environmental Microbiology* 11:1358–1375.
- Potapova, M. G., D. F. Charles. 2002. Benthic diatoms in USA rivers: distributions along spatial and environmental gradients. *Journal of Biogeography* 29:167–187.
- Potapova, M., D. F. Charles. 2003. Distribution of benthic diatoms in US rivers in relation to conductivity and ionic composition. *Freshwater Biology* 48:1311–1328.
- Potapova, M., D. F. Charles. 2007. Diatom metrics for monitoring eutrophication in rivers of the United States. *Ecological Indicators* 7:48–70.
- Proia, L., V. Osorio, S. Soley, M. Köck-Schulmeyer, S. Pérez, D. Barceló, A. M. Romaní, S. Sabater. 2013. Effects of pesticides and pharmaceuticals on biofilms in a highly impacted river. *Environmental Pollution* 178:220–228.
- Rakowska, B., E. Szczepocka. 2011. Demonstration of the Bzura River restoration using diatom indices. *Biologia* 66:411–417.
- Ramette, A. 2007. Multivariate analyses in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology* 62:142–160.
- Ricart, M., H. Guasch, D. Barcelo, R. Brix, M. H. Conceição, A. Geislinger, M. J. L. de Alda, J. C. Lopez-Doval, I. Muñoz, C. Postigo, A. M. Romani, M. Villagrasa, S. Sabater. 2010. Primary and complex stressors in polluted Mediterranean rivers: pesticide effects on biological communities. *Journal of Hydrology* 383:52–61.
- Rott, E., E. Pipp, P. Pfister. 2003. Diatom methods developed for river quality

- assessment in Austria and a cross-check against numerical trophic indication methods used in Europe. *Algological Studies* 110:91–115.
- Rott, E. 1991. Methodological aspects and perspectives in the use of periphyton for monitoring and protecting rivers. In: Whitton BA, Rott E and Friedrich G (eds.) *Use of Algae for Monitoring Rivers*. E. Rott, Institut für Botanik, Univ. Innsbruck. 9–16.
- Round, F. E. 1991. Diatoms in river water-monitoring studies. *Journal of Applied Phycology* 3:129–145.
- Ruggiu, D., A. Luglie, A. Cattaneo, P. Panzani. 1998. Paleoecological evidence for diatom response to metal pollution in Lake Orta (N. Italy). *Journal of Paleolimnology* 20:333–345.
- Rumeau, A., M. Coste. 1988. Initiation a` la syste´matique des diatome´es d'eau douce pour l'utilisation pratique d'un indice diatomique ge´ne´rique. *Bulletin Franc,ais de la Peˆche et de la Pisciculture* 309:1–69.
- Rusanov, A. G., E. V. Stanislavskaya. 2011. River pollution in ladoga basin: Estimation based on diatom index. *Water Resources* 38:95–106.
- Schmidt, T. M., E. F. DeLong, N. R. Pace. 1991. Analysis of a marine picoplankton community by 16S rRNA gene cloning and sequencing. *Journal of Bacteriology* 173:4371–4378.
- Schoeman, F. R. 1976. Diatom indicator groups in the assessment of water quality in the jukskei-crocodile river system (transvaal, republic of south africa. *Journal of the Limnological Society of southern Africa* 2:21–24.
- Schönfelder, I., J. Gelbrecht, J. Schönfelder, C. E. Steinberg. 2002. Relationships between Littoral Diatoms and Their Chemical Environment in Northeastern German Lakes and Rivers. *Journal of Phycology* 38:66–89.

- Shannon, C. E., W. Weaver. 1949. *The Mathematical Theory of Communication*.  
University of Illinois Press, Urbana, IL.
- Shehata, S. A., M. R. Lasheen, I. A. Kobbia, G. H. Ali. 1999. Toxic effect of certain metals mixture on some physiological and morphological characteristics of freshwater algae. *Water, Air and Soil Pollution* 110:119–135.
- Simpson, E. H. 1949. Measurement of diversity. *Nature* 163:688.
- Sims, A., Y. Zhang, S. Gajaraj, P. B. Brown, Z. Hu. 2013. Toward the development of microbial indicators for wetland assessment. *Water Research* 47:1711–1725.
- Sinitean, A., R. Kutasi. 2012. A study of the benthic diatom flora of the cefa nature park (crisana, romania). *Transylvanian Review of Systematical and Ecological Research* (13) 1.
- Sládeček, V. 1986. Diatoms as indicators of organic pollution. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica* 14:555–566.
- Smetacek, V. 1999. Diatoms and the carbon ocean cycle. *Protist* 150:25–32.
- Smol, J. P., A. P. Wolfe, H. J. B. Birks, M. S. V. Douglas, V. J. Jones, A. Korhola, R. Pienitz, K. Rühland, S. Sorvari, D. Antoniades, S. J. Brooks, Marie-Andrée Fallu, M. Hughes, B. E. Keatley, T. E. Laing, N. Michelutti, L. Nazarova, M. Nyman, A. M. Paterson, B. Perren, R. Quinlan, M. Rautio, É. Saulnier-Talbot, S. Siitonen, N. Solovieva, J. Weckström. 2005. Climate-driven regime shifts in the biological communities of arctic lakes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102:4397–4402.
- Snyder, E. B., C. T. Robinson, G. W. Minshall, S. R. Rushforth. 2002. Regional patterns in periphyton accrual and diatom assemblage structure in a heterogeneous nutrient landscape. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59:564–577.

- Soininen, J., P. Eloranta. 2004. Seasonal persistence and stability of diatom communities in rivers: are there habitat specific differences? *European Journal of Phycology* 39:153–160.
- Soininen, J. 2007. Environmental and spatial control of freshwater diatoms—a review. *Diatom Research* 22:473–490.
- Sørensen, T. A. 1948. A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species content, and its application to analyses of the vegetation on Danish commons. *Kongelige Danske Videnskabernes Selskabs Biologiske Skrifter* 5:1–34.
- Sorhannus, U. 2007. A nuclear-encoded small-subunit ribosomal RNA timescale for diatom evolution. *Marine Micropaleontology* 65:1–12.
- Steinberg, C., S. Schiefele. 1988. Biological indication of trophy and pollution of running waters. *Zeitschrift für Wasser-und Abwasser-Forschung* 21:227–234.
- Steinman, A. D., C. D. McIntire, S. V. Gregory, G. A. Lamberti. 1989. Effects of irradiance and grazing on lotic algal assemblages1. *Journal of Phycology* 25:478–485.
- Stevenson, R., Y. Pan. 1999. Assessing environmental conditions in rivers and streams with diatoms. In: STOERMER EF and SMOL JP (1999) *The Diatoms: Applications for the Environmental and Earth Sciences*. Cambridge University Press, Cambridge 11–40.
- Stockner, J. G. 1972. Paleolimnology as a means of assessing eutrophication.
- Szabó, K., K. T. Kiss, G. Taba, E. Ács. 2005. Epiphytic diatoms of the Tisza River, Kisköre Reservoir and some oxbows of the Tisza River after the cyanide and heavy metal pollution in 2000. *Acta Botanica Croatica* 64:1–46.

- Szczepocka, E., B. Szulc. 2009. The use of benthic diatoms in estimating water quality of variously polluted rivers. *Oceanological and Hydrobiological Studies* 38:17–26.
- Tan, X., P. Ma, X. Xia, Q. Zhang. 2014. Spatial pattern of benthic diatoms and water quality assessment using diatom indices in a subtropical river, China. *CLEAN–Soil, Air, Water* 42:20–28.
- Taylor, J. C., W. R. Harding, C. G. M. Archibald. 2007. A methods manual for the collection, preparation and analysis of diatom samples. Water Research Commission Report TT281/07. Water Research Commission. Pretoria.
- Tien, C. J. 2004. Some aspects of water quality in a polluted lowland river in relation to the intracellular chemical levels in planktonic and epilithic diatoms. *Water Research*, 38:1779–1790.
- Triest, L., H. Lung'ayia, G. Ndiritu, A. Beyene. 2012. Epilithic diatoms as indicators in tropical African rivers (Lake Victoria catchment). *Hydrobiologia* 695:343–360.
- Tringe, S. G., C. von Mering, A. Kobayashi, A. A. Salamov, K. Chen, H. W. Chang, M. Podar, J. M. Short, E. J. Mathur, J. C. Detter, P. Bork, P. Hugenholtz, E. Rubin. 2005. Comparative metagenomics of microbial communities. *Science* 308:554–557.
- Tschen, J., C. W. Li. 1974. Diatom from Nan-Tow and Chia-Yi Counties, Taiwan. *Journal of Information Science and Engineering* 11:1–24.
- USEPA, 2002. Methods for Evaluating Wetland Condition: Using Algae To Assess Environmental Conditions in Wetlands. Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency Washington, D.C.
- van Dam, H., A. Mertens, J. Sinkeldam. 1994. A coded checklist and ecological

- indicators of freshwater diatoms for The Netherlands. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology* 28:117–133.
- van den Wollenberg, A. L. 1977. Redundancy analysis an alternative for canonical correlation analysis. *Psychometrika* 42:207–219.
- Venter, J. C., K. Remington, J. F. Heidelberg, A. L. Halpern, D. Rusch, J. A. Eisen et al. 2004. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science* 304:66–74.
- Vila-Costa, M., J. M. Rinta-Kanto, S. Sun, S. Sharma, R. Poretsky, M. A. Moran. 2010. Transcriptomic analysis of a marine bacterial community enriched with dimethylsulfoniopropionate. *The ISME Journal* 4:1410–1420.
- Visco, J. A., L. Apothéloz-Perret-Gentil, A. Cordonier, P. Esling, L. Pillet, J. Pawlowski. 2015. Environmental monitoring: inferring the diatom index from Next-Generation Sequencing data. *Environmental Science Technology* 49:7597–7605.
- Watanabe, T., K. Asai, A. Houki. 1986. Numerical Estimation to Organic Pollution of Flowing Water by Using Epilithic Diatom Assemblage, Diatom Assemblage Index (DAI<sub>po</sub>). *Science of the Total Environment* 55:209–218.
- Watanabe, T. 1986. Saprophylic and euryhalobous diatom taxa to organic water pollution and diatom assemblage index (DAI<sub>po</sub>). *Diatom* 2:23–73.
- Watanabe, T., K. Asai, A. Houki. 1988. Numerical index of water quality using diatom assemblages. 4<sup>th</sup> IUBS International Symposium on Biomonitoring of the State of the Environment. Tokyo, 6–7. November 1987, Tokyo University Press 179–194.
- Werner, W. 2009. Fertilizers, 6. Environmental Aspects. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*.



- Whitton, B.A. 2003. Use of plants for monitoring heavy metals in freshwaters. In: Ambasht, R.S., Ambasht, N.K. (Eds.), *Modern Trends in Applied Aquatic Ecology*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp. 43–63.
- Wilby, R. L., L. E. Cranston, E. J. Darby. 1998. Factors governing macrophyte status in Hampshire chalk streams: implications for catchment management. *Water and Environment Journal* 12:179–187.
- Wu, J. T., W.C. Suen. 1985. Change of algal associations in relation to water pollution. *Botanical Bulletin Academia Sinica* 26:203–212.
- Wu, J. T. 1986. Relation of change in river diatom assemblages to water pollution. *Botanical Bulletin Academia Sinica* 27:234–245.
- Wu, J. T. 1999. A generic index of diatom assemblages as bioindicator of pollution in the Keelung River of Taiwan. *Hydrobiologia* 397:79–87.
- Wu, J. T., L. T. Kow. 2002. Applicability of a generic index for diatom assemblages to monitor pollution in the tropical River Tsanwun, Taiwan. *Journal of Applied Phycology* 14:63–69.
- Wu, R. Y. 1993. Studies on the microbial ecology of the Tansui Estuary. *Botanical Bulletin Academia Sinica* 34:13–30.
- Wood, J. M., H. K. Wang. 1983. Microbial resistance to heavy metals. *Environmental Science Technology* 17:582A–590A.
- Yagow, G., B. Wilson, P. Srivastava, C. C. Obropta. 2006. Use of biological indicators in TMDL assessment and implementation. *Transactions of the ASABE* 49:1023–1032.
- Zelinka, M., P. Marwan. 1961. Zur Präzisierung der biologischen Klassifikation der Reinheit fließender Gewässer. *Archiv für Hydrobiologie* 57:159-174.
- Zimmermann J., R. Jahn, B. Gemeinholzer. 2011. Barcoding diatoms: evaluation of

the V4 subregion on the 18S rRNA gene including new primers and protocols. *Organisms Diversity & Evolution* 11:173–192.

Zimmermann, J., G. Glöckner, R. Jahn, N. Enke, B. Gemeinholzer. 2015.

Metabarcoding vs. morphological identification to assess diatom diversity in environmental studies. *Molecular Ecology Resources* 15:526–542.

Zgrundo, A., B. Bogaczewicz-Adamczak. 2004. Applicability of diatom indices for monitoring water quality in coastal streams in the Gulf of Gdansk Region, northern Poland. *Oceanological and Hydrobiological Studies* 33:31–46.

## 表目錄

表一、筏子溪六個樣點之座標位置 .....	73
表二、以鏡檢計數所獲之矽藻物種組成 .....	74
表三、六個採樣點樣本以鏡檢計數所得矽藻多樣性指數 .....	76
表四、以鏡檢計數之矽藻資料計算六個樣點之四種矽藻指數 .....	77
表五、以次世代定序所獲之六個樣點的矽藻物種組成 .....	78
表六、六個採樣點樣本以次世代定序所得之矽藻多樣性指數 .....	83
表七、以次世代定序之矽藻資料計算六個樣點之四種矽藻指數 .....	84
表八、以 SIMPER 分析造成匯流口上下游矽藻群落結構變化之藻種， 鏡檢計數所得具貢獻度藻種的族群變化量 .....	85
表九、以 SIMPER 分析造成匯流口上下游群落結構變化之藻屬，次 世代定序所得具貢獻度藻屬與其貢獻度 .....	86
表十、各樣點之底泥重金屬、水體環境荷爾蒙濃度與環境參數 .....	87
表十一、以各樣點之底泥重金屬濃度計算筏子溪六個樣點的內梅羅綜 合指標數值 .....	88
表十二、次世代定序所獲之序列數量 .....	89

## 圖目錄

圖一、筏子溪流域採樣點示意圖 .....	90
圖二、六個樣點矽藻多樣性之屬級組成 .....	92
圖三、民生放流水 (A)、傳統工業 (B)、精密工業 (C) 放流水匯流後， 筏子溪中矽藻屬相對族群量變化 .....	94
圖四、以鏡檢計數 (A) 與次世代定序 (B) 所得之六個樣點矽藻群落 結構組成所獲之 MDS 圖 .....	95
圖五、鏡檢計數(A)和次世代定序(B)所得之樣點間矽藻群落結構相似 度和空間距離之相關性.....	96
圖六、以 RDA 分析矽藻群落結構和重金屬、環境賀爾蒙 (DMP)、溶 氧量 (DO)之相關性.....	97
圖七、 <i>Amphora</i> 、 <i>Halamphora</i> 和 <i>Cocconeis</i> 族群量與重金屬濃度之 XY 散佈圖 .....	98
圖八、 <i>Stauroneis</i> 、 <i>Achnanthes</i> 、 <i>Halamphora</i> 、 <i>Cocconeis</i> 、 <i>Cyclotella</i> 、 <i>Hantzschia</i> 、 <i>Nitzschia</i> 、 <i>Pinnularia</i> 和 <i>Synedra</i> 族群量與環境荷爾 蒙 DMP 濃度之 XY 散佈圖 .....	100

## 附錄目錄

附錄一、內梅羅綜合指數之計算公式、評析基準值與標準分級 ....	101
附錄二、各多樣性指數與矽藻藻類指數之計算公式 .....	102
附錄三、各矽藻藻類指數之汙染判別標準 .....	103

表一、筏子溪六個樣點之座標位置。

Table 1. Location of six sampling sites in Fazi River.

排放水類型	樣 點	GPS 座標
民生廢水	F1U	24° 10'38.85" N, 120° 37'39.32" E
	F1D	24° 10'37.10" N, 120° 37'37.43" E
傳統工業	F2U	24° 09'18.81" N, 120° 37'18.07" E
	F2D	24° 09'16.83" N, 120° 37'17.29" E
精密工業	F3U	24° 07'57.12" N, 120° 37'07.07" E
	F3D	24° 07'54.25" N, 120° 37'08.21" E

表二、以鏡檢計數所獲之矽藻物種組成 (個/m<sup>2</sup>)。

Table 2. Diatom species compositions (individual number / m<sup>2</sup>) identified by morphological method.

Species	F1U	F1D	F2U	F2D	F3U	F3D
<i>Achnanthes exigua</i>	489	511	227	1,124	689	1,222
<i>Amphora ovalis</i>	4	564	9	9	4	0
<i>Halamphora veneta</i>	44	218	49	133	54	13
<i>Cocconeis placentula</i>	49	182	106	120	120	18
<i>Cyclotella meneghiniana</i>	1,880	1,818	991	1,240	1,365	391
<i>Cymbella</i> sp.	49	40	13	31	0	0
<i>Diatoma</i> sp.	116	191	333	98	164	102
<i>Diatoma vulgare</i>	4	4	4	0	0	0
<i>Gomphonema angustatum</i>	0	116	31	40	9	0
<i>Gomphonema parvulum</i>	2,284	2,662	8,116	5,373	6,511	2,138
<i>Gomphonema</i> sp.	27	18	4	4	0	0
<i>Gomphonema ventricosum</i>	169	293	262	333	471	76
<i>Gyrosigma scalproides</i>	4	4	0	0	0	0
<i>Hantzschia amphioxys</i>	102	133	155	609	311	173
<i>Mayamaea atomus</i>	3,094	3,409	5,698	13,902	4,342	39,885
<i>Navicula capitata</i>	302	427	133	378	120	35
<i>Navicula cryptocephala</i>	1,098	2,951	689	1,426	422	285
<i>Navicula gregaria</i>	53	320	62	18	9	0
<i>Navicula menisculus</i>	0	0	0	36	4	0
<i>Navicula rhynchocephala</i>	258	360	329	284	227	378
<i>Navicula viridula</i>	840	1,329	200	938	115	22
<i>Nitzschia amphibia</i>	1,253	1,365	1,013	1,707	1,640	1,373
<i>Nitzschia clausii</i>	45	9	80	62	49	9
<i>Nitzschia fonticola</i>	480	413	556	1,525	1,111	476
<i>Nitzschia frustulum</i>	107	75	53	84	67	151
<i>Nitzschia palea</i>	3,653	4,320	3,031	10,187	17,320	8,138
<i>Nitzschia pusilla</i>	49	35	44	102	22	4
<i>Nitzschia</i> sp2	4	0	0	4	0	0
<i>Nitzschia paleacea</i>	36	84	9	40	0	0
<i>Nitzschia</i> sp4	0	22	0	0	0	0
<i>Nitzschia subacicularis</i>	605	298	293	2,520	9,129	711

續表二

Table 2. Continued.

Species	F1U	F1D	F2U	F2D	F3U	F3D
<i>Pinnularia abaujensis</i>	80	62	4	0	0	0
<i>Pinnularia borealis</i>	0	9	0	0	0	0
<i>Pinnularia</i> sp1	587	947	347	938	387	93
<i>Pinnularia acrosphaeria</i>	0	4	0	0	0	0
<i>Pinnularia viridis</i>	0	49	4	4	0	0
<i>Stauroneis phoenicenteron</i>	1,094	907	4,236	987	1,355	1,809
<i>Surirella</i> sp.	31	22	4	4	0	0
<i>Synedra parasitica</i>	4	9	0	4	4	0
<i>Synedra rumpens</i>	111	53	27	227	22	4
<i>Synedra</i> sp.	4	4	13	80	574	253
<i>Synedra ulna</i>	458	635	747	613	902	453



表三、六個採樣點樣本以鏡檢計數所得矽藻多樣性指數。

Table 3. Diversity indices of diatoms results in six sites. Species data identify by morphological method.

sites	Total species	Total individuals	Species richness	Pielou's evenness	Simpson index	Shannon-Wiener index
F1U	36	19,467	3.54	0.74	0.90	2.64
F1D	41	24,876	3.95	0.74	0.91	2.74
F2U	35	27,872	3.32	0.62	0.83	2.22
F2D	36	45,184	3.27	0.63	0.83	2.27
F3U	30	47,519	2.69	0.61	0.80	2.06
F3D	25	58,212	2.19	0.39	0.51	1.26

表四、以鏡檢計數之矽藻多樣性資料計算筏子溪六個樣點之四種矽藻

指數。(A) 計算所得之數值、(B) 六個樣點之汙染層級。

Table 4. Classification of water quality in Fazi River calculated using four diatom indices. Species data obtained from morphological method.

(A) Values of indices. (B) Classification of water quality level.

(A)

	F1U	F1D	F2U	F2D	F3U	F3D
DAIpo	53.61	57.91	38.85	34.67	40.60	13.77
TDI	84.39	83.20	92.19	87.30	83.78	92.65
PTV	57.9%	51.2%	76.4%	71.2%	63.9%	90.0%
GI	0.07	0.09	0.06	0.07	0.03	0.11

(B)

	F1U	F1D	F2U	F2D	F3U	F3D
DAIpo	α-mesosaprobic		polysaprobic			
TDI	meso-eutrophic		meso-eutrophic			
PTV	organic polluted		serious organic pollution			
GI	serious pollution		serious pollution			

表五、以次世代定序所獲之六個樣點的矽藻物種組成(個)◦相似度 97%

以上判至種。

Table 5. Diatom species compositions (individual number) identified by Next-generation Sequencing. If the similarity under 97 % but over 90 %, we gave them matched genus name.

Species	F1U	F1D	F2U	F2D	F3U	F3D
<i>Amphora copulata</i>	0	2	0	0	0	0
<i>Amphora</i> sp1	1	0	0	0	0	0
<i>Cocconeis placentula</i>	0	1	1	0	0	0
<i>Cocconeis</i> sp1	0	1	0	1	0	0
<i>Craticula accomoda</i>	0	0	0	1	0	0
<i>Craticula cuspidata</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Cyclotella meneghiniana</i>	9	13	2	6	2	1
<i>Cyclotella</i> sp1	0	0	1	3	1	0
<i>Cyclotella</i> sp2	1	1	0	1	0	1
<i>Cyclotella</i> sp3	0	1	0	0	0	0
<i>Cyclotella</i> sp4	1	1	0	1	0	0
<i>Cyclotella</i> sp5	0	1	0	0	0	0
<i>Cyclotella</i> sp6	1	1	0	2	0	0
<i>Cyclotella</i> sp7	0	1	0	0	0	0
<i>Cylindrotheca</i> sp1	0	1	0	0	0	0
<i>Denticula kuetzingii</i>	1	0	1	0	0	2
<i>Denticula</i> sp1	1	0	0	2	1	1
<i>Denticula</i> sp2	0	0	0	0	1	0
<i>Denticula</i> sp3	0	0	1	1	1	0
<i>Denticula</i> sp4	1	0	1	0	1	0
<i>Denticula</i> sp5	0	0	1	0	0	1
<i>Denticula</i> sp6	0	0	1	1	0	0
<i>Diprora haenaensis</i>	0	1	0	0	0	0

續表五

Table 5. Continued.

Species	F1U	F1D	F2U	F2D	F3U	F3D
<i>Eolimna minima</i>	0	0	11	26	1	18
<i>Eolimna</i> sp1	0	0	0	0	0	1
<i>Eolimna</i> sp2	0	0	0	1	0	0
<i>Eolimna</i> sp3	0	0	0	1	0	1
<i>Eolimna</i> sp4	1	0	0	0	0	0
<i>Eunotia bilunaris</i>	0	1	0	0	0	0
<i>Eunotia</i> sp44	0	1	0	0	0	0
<i>Eunotia</i> sp63	0	0	0	1	0	0
<i>Fallacia</i> sp1	1	0	0	0	0	0
<i>Fistulifera saprophila</i>	1	0	0	0	0	1
<i>Fistulifera</i> sp1	0	1	0	0	0	0
<i>Fistulifera</i> sp2	0	0	0	0	0	1
<i>Frustulia vulgaris</i>	0	1	0	0	0	0
<i>Gomphoneis</i> sp1	0	0	1	0	0	0
<i>Gomphoneis</i> sp2	1	0	0	0	0	0
<i>Gomphonema parvulum</i>	0	1	1	3	0	1
<i>Gomphonema</i> sp1	1	0	0	0	0	0
<i>Gomphonema</i> sp2	0	0	0	1	0	1
<i>Gomphonema</i> sp3	0	1	0	0	0	0
<i>Hantzschia</i> sp1	0	1	0	0	0	0
<i>Hydrosera</i> sp CYTX025	0	1	0	0	0	0
<i>Lemnicola hungarica</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Mayamaea atomus</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Mayamaea</i> sp1	0	0	1	0	0	0
<i>Navicula arenaria</i>	30	23	1	1	0	0
<i>Navicula cryptocephala</i>	2	2	0	1	1	0
<i>Navicula lanceolata</i>	0	2	0	0	0	0
<i>Navicula phyllepta</i>	0	1	0	0	0	0
<i>Navicula</i> sp TN-2014	0	0	0	1	0	0
<i>Navicula</i> sp1	0	0	0	0	1	0
<i>Navicula</i> sp2	1	0	0	0	1	0
<i>Navicula</i> sp3	1	4	0	1	0	0
<i>Navicula</i> sp4	0	0	1	0	0	0
<i>Navicula</i> sp5	0	1	0	0	0	0

續表五

Table 5. Continued.

Species	F1U	F1D	F2U	F2D	F3U	F3D
<i>Navicula</i> sp6	0	2	0	1	0	0
<i>Navicula</i> sp7	5	4	0	1	0	0
<i>Navicula</i> sp8	2	0	0	0	0	0
<i>Navicula</i> sp9	1	0	0	0	0	0
<i>Navicula</i> sp10	1	0	0	0	0	0
<i>Navicula</i> sp11	0	0	0	1	0	0
<i>Navicula</i> sp12	1	0	0	0	0	0
<i>Navicula</i> sp13	1	0	0	0	0	0
<i>Navicula</i> sp14	1	0	0	0	0	0
<i>Navicula</i> sp15	1	0	0	0	0	0
<i>Navicula</i> sp16	0	1	0	0	0	0
<i>Nitzschia acidoclinata</i>	0	0	0	1	0	0
<i>Nitzschia amphibia</i>	0	0	50	27	21	31
<i>Nitzschia inconspicua</i>	0	0	3	1	1	1
<i>Nitzschia palea</i>	4	4	18	30	25	71
<i>Nitzschia</i> sp MBIC11128	0	1	0	0	0	0
<i>Nitzschia</i> sp1	0	0	2	1	5	2
<i>Nitzschia</i> sp2	0	0	1	0	3	0
<i>Nitzschia</i> sp3	0	0	0	0	1	0
<i>Nitzschia</i> sp4	1	2	0	1	3	2
<i>Nitzschia</i> sp5	0	0	0	2	0	1
<i>Nitzschia</i> sp6	0	0	0	0	0	1
<i>Nitzschia</i> sp7	0	0	0	0	0	2
<i>Nitzschia</i> sp8	0	0	1	3	0	2
<i>Nitzschia</i> sp9	0	0	0	0	0	1
<i>Nitzschia</i> sp10	1	3	0	1	1	0
<i>Nitzschia</i> sp11	0	0	1	0	0	0
<i>Nitzschia</i> sp12	0	0	2	0	2	2
<i>Nitzschia</i> sp13	1	0	1	0	0	0
<i>Nitzschia</i> sp14	0	0	0	0	1	0
<i>Nitzschia</i> sp15	0	0	0	0	0	1
<i>Nitzschia</i> sp16	1	0	0	0	0	0
<i>Nitzschia</i> sp17	0	0	1	0	0	0
<i>Nitzschia</i> sp18	0	0	0	0	0	1

續表五

Table 5. Continued.

Species	F1U	F1D	F2U	F2D	F3U	F3D
<i>Nitzschia</i> sp19	0	0	1	0	0	0
<i>Nitzschia</i> sp20	0	0	1	0	0	0
<i>Nitzschia</i> sp21	0	0	1	0	0	0
<i>Nitzschia supralitorea</i>	0	1	0	0	0	0
<i>Phaeodactylum</i> sp1	0	0	1	0	0	0
<i>Pinnularia acrosphaeria</i>	0	1	1	0	0	0
<i>Pinnularia acuminata</i>	0	1	0	0	0	0
<i>Pinnularia microstauron</i>	6	3	0	1	0	0
<i>Pinnularia</i> sp1 CS-2011	1	0	0	1	0	0
<i>Pinnularia</i> sp2 CS-2011	2	0	0	0	0	0
<i>Pinnularia</i> sp3	0	0	0	0	1	0
<i>Pinnularia</i> sp4	1	0	0	0	0	0
<i>Pinnularia</i> sp5	1	0	0	0	0	0
<i>Pinnularia</i> sp6 CS-2011	0	1	0	0	0	0
<i>Pinnularia</i> sp7	0	1	0	0	0	0
<i>Pinnularia</i> sp8	1	0	0	0	0	0
<i>Pinnularia</i> sp26	0	0	1	0	0	0
<i>Pinnularia subanglica</i>	1	4	0	1	0	0
<i>Pinnularia viridiformis</i>	0	1	0	0	0	0
<i>Plagiogramma</i> sp 1	0	0	1	0	0	0
<i>Pleurosigma</i> sp102	1	0	0	0	0	0
<i>Pleurosira laevis</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Pseudo-nitzschia</i> sp1	0	0	0	1	0	0
<i>Sellaphora pupula</i>	2	0	0	0	0	0
<i>Sellaphora seminulum</i>	0	0	1	7	0	1
<i>Sellaphora</i> sp1	0	0	0	0	0	1
<i>Sellaphora</i> sp2	0	0	1	0	0	0
<i>Sellaphora</i> sp3	0	0	0	0	0	1
<i>Sellaphora</i> sp4	0	1	0	0	0	1
<i>Sellaphora</i> sp5	0	1	0	0	0	0
<i>Sellaphora</i> sp6	0	0	1	0	0	0
<i>Sellaphora</i> sp7	0	1	0	0	0	0
<i>Surirella brebissoni</i>	0	1	0	0	0	0

續表五

Table 5. Continued.

Species	F1U	F1D	F2U	F2D	F3U	F3D
<i>Synedra</i> sp1	0	0	0	0	0	1
<i>Thalassiosira</i> sp1	0	1	0	0	0	0
<i>Ulnaria ulna</i>	0	0	1	1	3	1
<i>Ulnaria</i> sp1	0	0	0	0	1	0
<i>Ulnaria</i> sp2	0	1	1	0	1	0
<i>Ulnaria</i> sp3	0	0	2	1	0	0
<i>Ulnaria</i> sp4	0	0	1	0	0	0
<i>Ulnaria</i> sp5	1	0	1	0	0	0
<i>Ulnaria</i> sp6	3	0	4	0	0	0
<i>Ulnaria</i> sp7	0	0	1	0	0	0
<i>Ulnaria</i> sp8	0	0	1	0	0	0
Uncultured diatom clone	1	0	0	0	0	0
Bacillariophyta sp1	0	1	0	0	0	0
Bacillariophyta sp2	0	0	0	0	0	1
Bacillariophyta sp3	0	0	0	1	0	0
Bacillariophyta sp4	0	0	1	1	1	1

表六、六個採樣點樣本以次世代定序所得之矽藻多樣性指數。

Table 6. Diversity indices of diatoms results in six sites. Species data identify by Next-generation Sequencing.

sites	Total species	Total individuals	Species richness	Pielou's evenness	Simpson index	Shannon-Wiener index
F1U	54	109	11.30	0.82	0.91	3.27
F1D	57	113	11.85	0.86	0.94	3.47
F2U	44	131	8.82	0.70	0.83	2.65
F2D	48	155	9.32	0.76	0.91	2.93
F3U	27	86	5.84	0.75	0.85	2.48
F3D	36	168	6.83	0.61	0.78	2.20



表七、以次世代定序方法所得矽藻多樣性資料計算筏子溪六個樣點之四種矽藻指數。(A) 計算所得之數值、(B) 六個樣點之污染層級。

Table 7. Classification of water quality in Fazi River calculated using four diatom indices. Species data obtained from Next-generation Sequencing. (A) Values of indices. (B) Classification of water quality level.

(A)

	F1U	F1D	F2U	F2D	F3U	F3D
DAIpo	83.5	83.0	54.0	48.5	61.5	11.5
TDI	50.42	53.49	71.06	69.86	70.08	73.34
PTV	62.2%	55.3%	79.1%	75.5%	83.5%	93.0%
GI	0	0.07	0.01	0.01	0	0

(B)

	F1U	F1D	F2U	F2D	F3U	F3D
DAIpo	$\beta$ -mesosaprobic		$\alpha$ -meso-saprobic	poly-saprobic	$\alpha$ -meso-saprobic	poly-saprobic
TDI	meso-eutrophic			meso-eutrophic		
PTV	serious organic pollution	organic polluted	serious organic pollution			
GI	serious pollution			serious pollution		

表八、以 SIMPER 分析造成匯流口上下游矽藻群落結構變化之藻種，表中列出鏡檢計數所得具貢獻度藻種的族群變化量（增加/減少）與貢獻度（%）。

Table 8. SIMPER analyze based on diversity data from morphological method. Results show the contribution of dominant diatoms and their variation in abundance.

F1U / F1D	變化量	貢獻度	F2U / F2D	變化量	貢獻度	F3U / F3D	變化量	貢獻度
<i>Navicula cryptocephala</i>	1,853	26.35	<i>Mayamaea atomus</i>	8,204	27.11	<i>Mayamaea atomus</i>	35,543	56.56
<i>Nitzschia palea</i>	667	9.48	<i>Nitzschia palea</i>	7,156	23.65	<i>Nitzschia palea</i>	-9,182	14.61
<i>Amphora ovalis</i>	560	7.96	<i>Stauroneis phoenicenteron</i>	-3,249	10.74	<i>Nitzschia subacicularis</i>	-8,418	13.4
<i>Navicula viridula</i>	489	6.95	<i>Gomphonema parvulum</i>	-2,743	9.06	<i>Gomphonema parvulum</i>	-4,373	6.96
<i>Gomphonema parvulum</i>	378	5.37	<i>Nitzschia subacicularis</i>	2,227	7.36			
<i>Pinnularia sp1</i>	360	5.12	<i>Nitzschia fonticola</i>	969	3.2			
<i>Mayamaea atomus</i>	315	4.48	<i>Achnanthes exigua</i>	897	2.96			
<i>Nitzschia subacicularis</i>	-307	4.37	<i>Navicula viridula</i>	738	2.44			
<i>Navicula gregaria</i>	267	3.8	<i>Navicula cryptocephala</i>	737	2.44			
<i>Stauroneis phoenicenteron</i>	-187	2.66	<i>Nitzschia amphibia</i>	694	2.29			
<i>Synedra ulna</i>	177	2.52						
<i>Halamphora veneta</i>	174	2.47						
<i>Cocconeis placentula</i>	133	1.89						
<i>Navicula capitata</i>	125	1.78						
<i>Gomphonema ventricosum</i>	124	1.76						
<i>Gomphonema angustatum</i>	116	1.65						
<i>Nitzschia amphibia</i>	112	1.59						

表九、以 SIMPER 分析造成匯流口上下游群落結構變化之藻屬，表中列出次世代定序所得具貢獻度藻屬與其貢獻度 (%)。

Table 9. SIMPER analyze based on diversity data from Next-generation Sequencing. Results show the contribution of dominant diatoms.

F1U / F1D	貢獻度	F1U / F1D	貢獻度	F2U / F2D	貢獻度	F3U / F3D	貢獻度
<i>Navicula</i>	15.22	<i>Pleurosira</i>	2.17	<i>Eolimna</i>	22.97	<i>Nitzschia</i>	59.78
<i>Cyclotella</i>	15.22	<i>Sellaphora</i>	2.17	<i>Nitzschia</i>	21.62	<i>Eolimna</i>	20.65
<i>Nitzschia</i>	6.52	<i>Surirella</i>	2.17	<i>Ulnaria</i>	13.51	<i>Sellaphora</i>	4.35
<i>Ulnaria</i>	6.52	<i>Thalassiosira</i>	2.17	<i>Cyclotella</i>	13.51	<i>Ulnaria</i>	4.35
<i>Denticula</i>	6.52	<i>Amphora</i>	2.17	<i>Navicula</i>	6.76	<i>Navicula</i>	3.26
<i>Cocconeis</i>	4.35	<i>Craticula</i>	2.17	<i>Sellaphora</i>	5.41		
<i>Eunotia</i>	4.35	<i>Cylindrotheca</i>	2.17	<i>Gomphonema</i>	4.05		
<i>Lemnicola</i>	2.17	<i>Diprora</i>	2.17	<i>Mayamaea</i>	1.35		
<i>Mayamaea</i>	2.17	<i>Eolimna</i>	2.17	<i>Phaeodactylum</i>	1.35		
<i>Pinnularia</i>	2.17	<i>Fallacia</i>	2.17				
<i>Pleurosigma</i>	2.17	<i>Frustulia</i>	2.17				

表十、各樣點之底泥重金屬、水體環境荷爾蒙 (Diethyl phthalate, DEP)、(Di-isobutyl phthalate, DIBP)、(Dimethyl phthalate, DMP) 濃度與環境參數。數據由東海大學環境科學與工程學系，界面分離實驗室、環境生物地質化學實驗室提供。

Table 10. Summary of physic and chemical variables taken in six sites of Fazi River, including the heavy metals in sediment and endocrine disruptor substance (DEP, DIBP and DMP) in water.

sites	Cr (mg kg <sup>-1</sup> )	Ni (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	Cd (mg kg <sup>-1</sup> )	Pb (mg kg <sup>-1</sup> )	DEP (ppb)	DIBP (ppb)	DMP (ppb)	Temp. (°C)	pH	☆EC (μS/cm)	‡DO (ppm)
F1U	42.94	12.79	37.40	210.59	1.30	9.73	n/c	20.53	18.51	32.1	8.13	30.6	8.35
F1D	71.82	46.39	56.26	333.01	1.56	37.58	n/c	⊙n/c	20.80	31.4	7.36	29.0	7.70
F2U	32.47	14.08	21.58	174.21	1.75	8.12	n/c	n/c	19.53	37.8	8.60	31.1	10.1
F2D	31.08	3.99	18.16	100.67	0.29	28.36	n/c	n/c	51.02	33.7	8.16	37.1	11.4
F3U	30.29	2.79	17.13	98.15	1.00	6.52	41.83	n/c	54.15	33.6	8.40	31.6	8.70
F3D	21.14	0.00	12.50	74.45	1.28	11.76	n/c	n/c	n/c	30	⊙na	32.4	7.80

☆EC 為電導度 Electrical Conductivity 縮寫

‡DO 為溶氧量 Dissolved oxygen 縮寫

⊙n/c 為濃度低於檢量線

⊙na 為未檢測

表十一、以各樣點之底泥重金屬濃度計算筏子溪六個樣點的內梅羅綜

合指標數值 ( $P_N$ )。白色表中度重金屬汙染、灰色表重度重金

屬汙染。

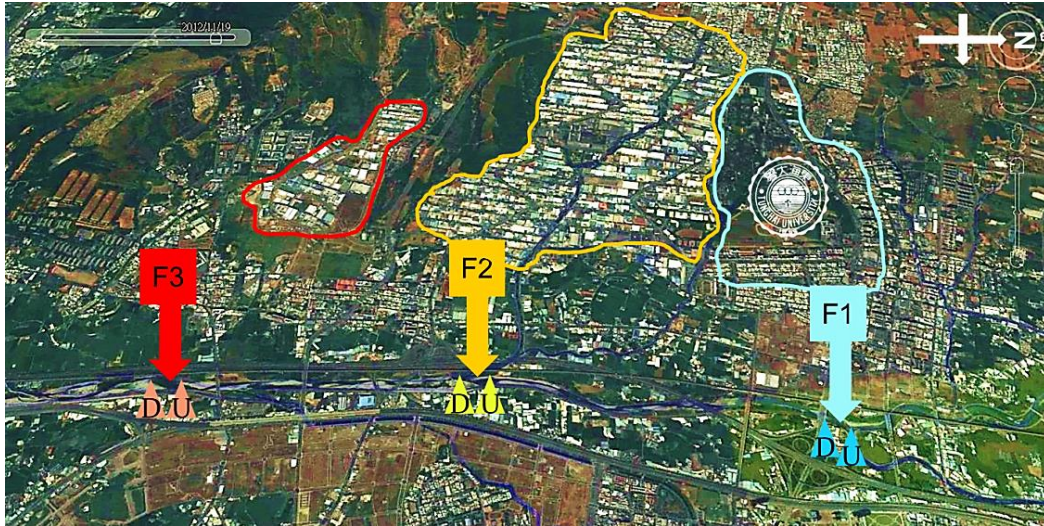
Table 11. Classification of water quality in Fazi River calculated using Nemerow index. White represents moderate heavy metal pollution. Gray represents serious heavy metal pollution.

Sites	$P_N$
F1U	2.97
F1D	4.84
F2U	2.62
F2D	1.61
F3U	1.64
F3D	1.45

表十二、次世代定序所獲之序列數量 (條)。

Table 12. Number of sequences obtained from Next-generation Sequencing.

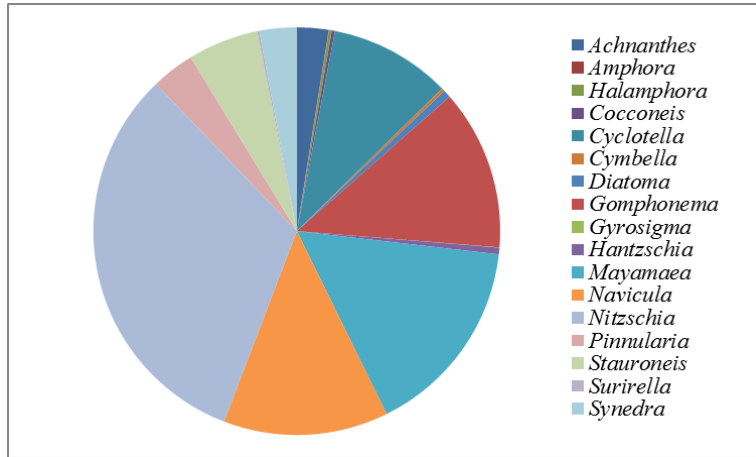
	F1U	F1D	F2U	F2D	F3U	F3D
raw reads	11,390	11,199	17,803	14,424	11,573	14,852
>250 bp	7,117	6,958	7,315	7,808	6,496	8,072
noising/chimeric	6,955	6,781	7,153	7,583	6,393	7,870
Diatom	109	113	131	155	86	168
OTUs (identity 97%)	54	57	44	48	27	36



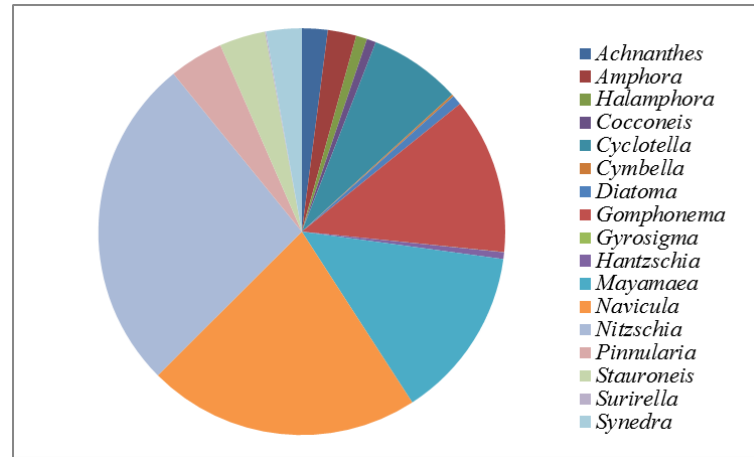
圖一、筏子溪流流域採樣點示意圖，F1 為東海橋民生放流口，F2 為台中工業區放流口，F3 為台中精密創新科技園區放流口，取上游 U 及下游 D 為樣點。

Fig. 1. Location of six sampling sites. F1 is the discharge point of Donghai Bridge domestic point. F2 is the discharge point of Taichung Industrial Park. F3 is the Taichung City Precision Machinery Innovation Technology Park.

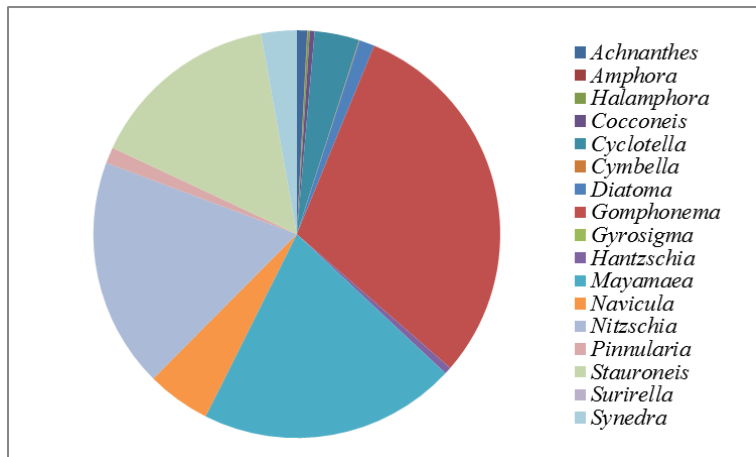
(A)



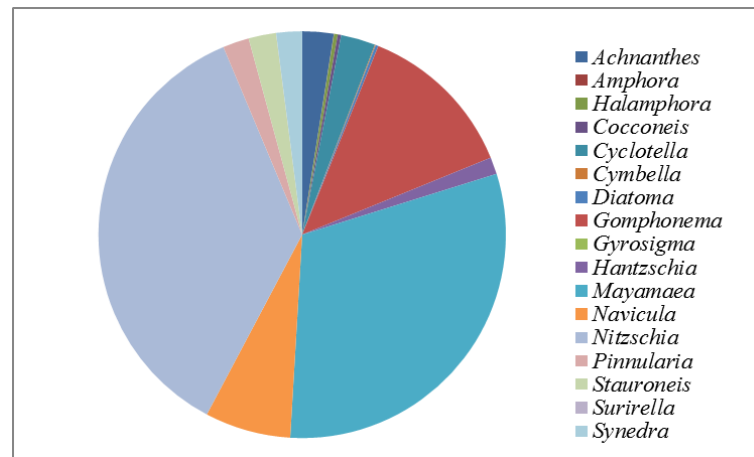
(B)



(C)

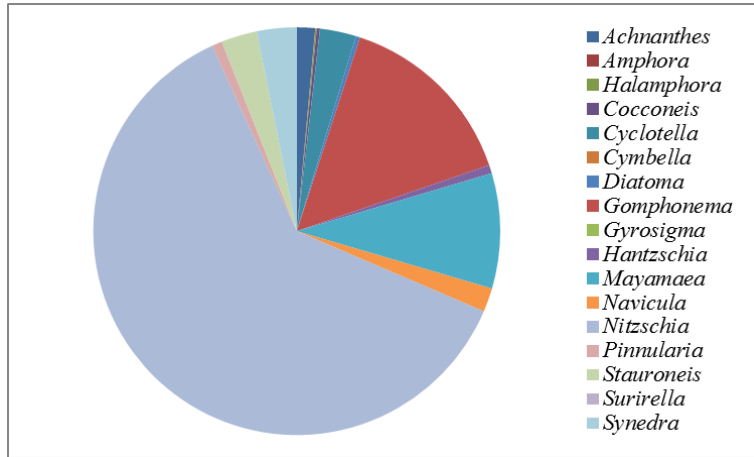


(D)

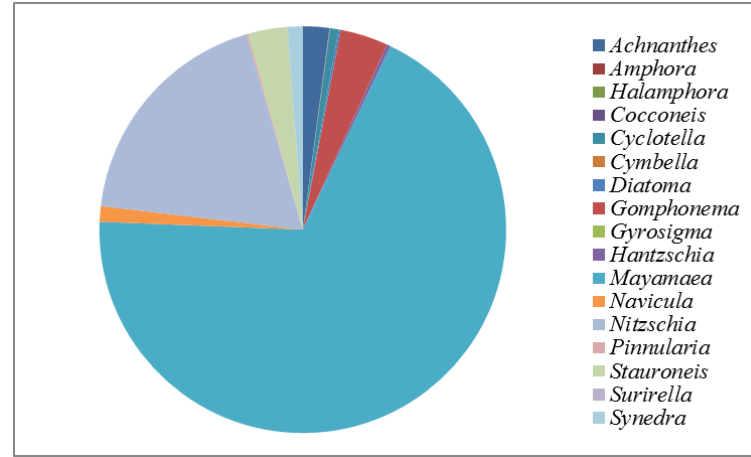




(E)



(F)



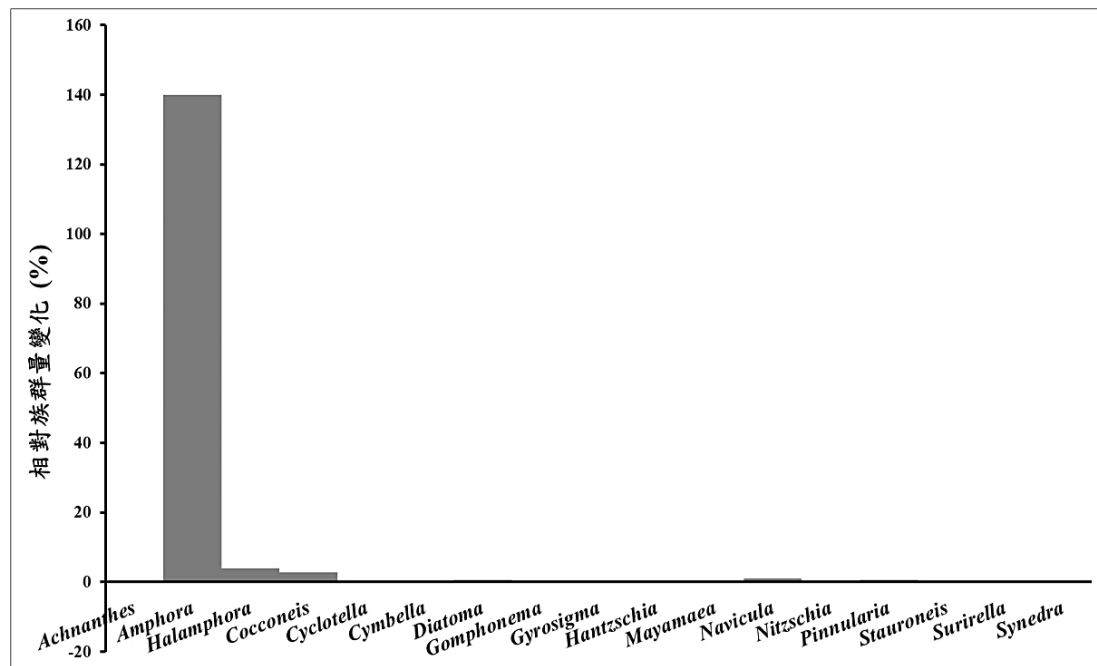
圖二、六個樣點矽藻多樣性之屬級組成。(A) F1U ; (B) F1D ; (C) F2U ; (D) F2D ;

(E) F3U ; (F) F3D

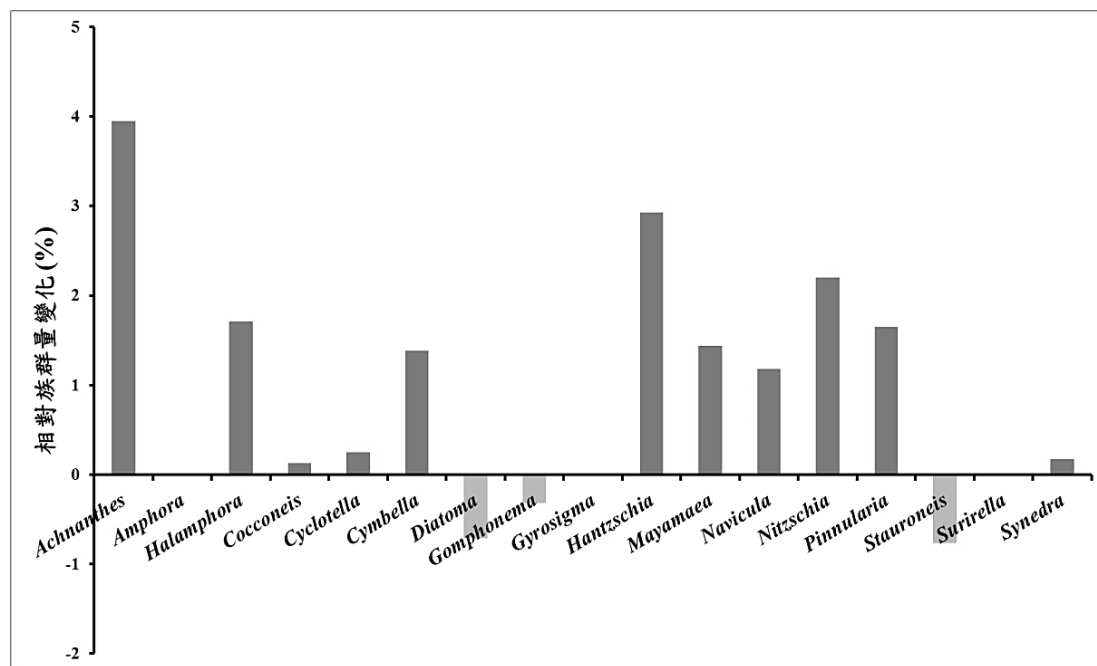
Fig. 2. The communities structure of diatoms genus in six sites. (A) F1U ; (B) F1D ; (C) F2U ; (D) F2D ;

(E) F3U ; (F) F3D

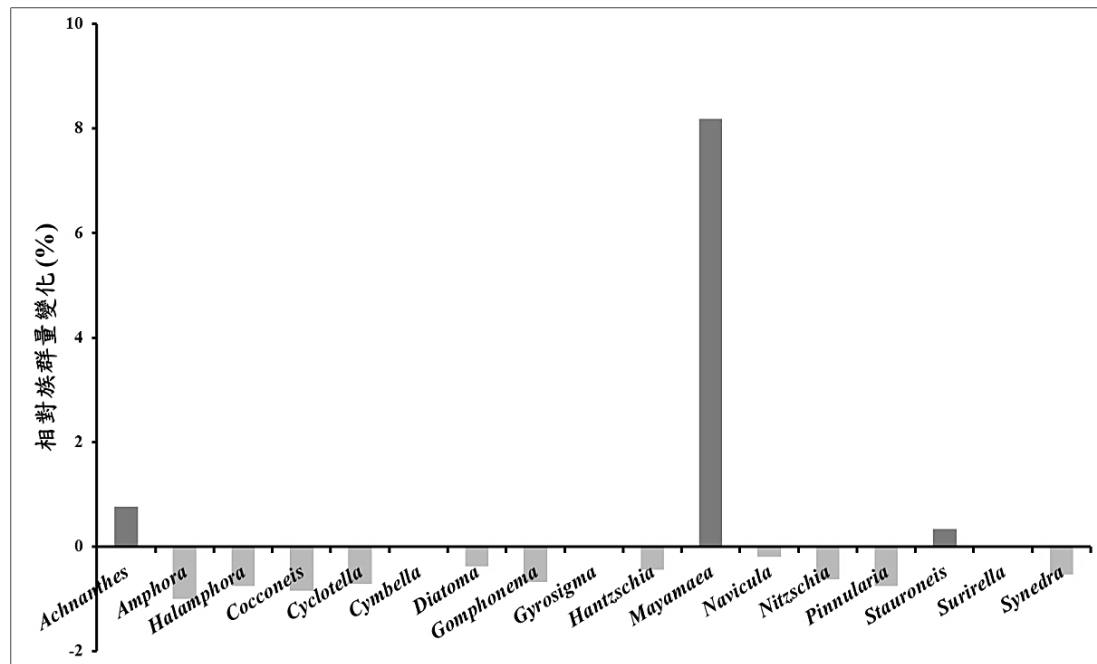
(A)



(B)



(C)

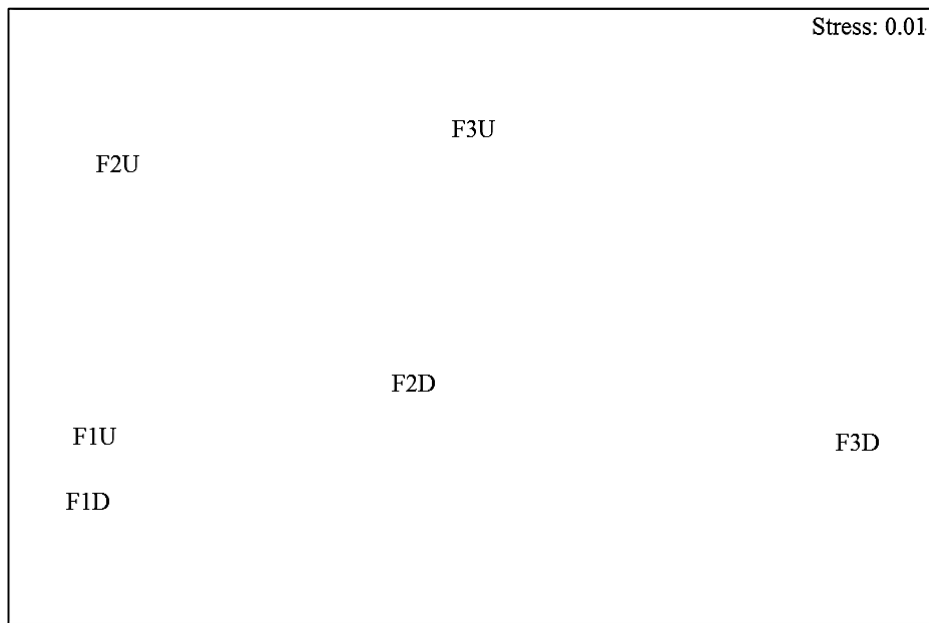


圖三、民生放流水 (A)、傳統工業 (B)、精密工業 (C) 放流水匯流後，

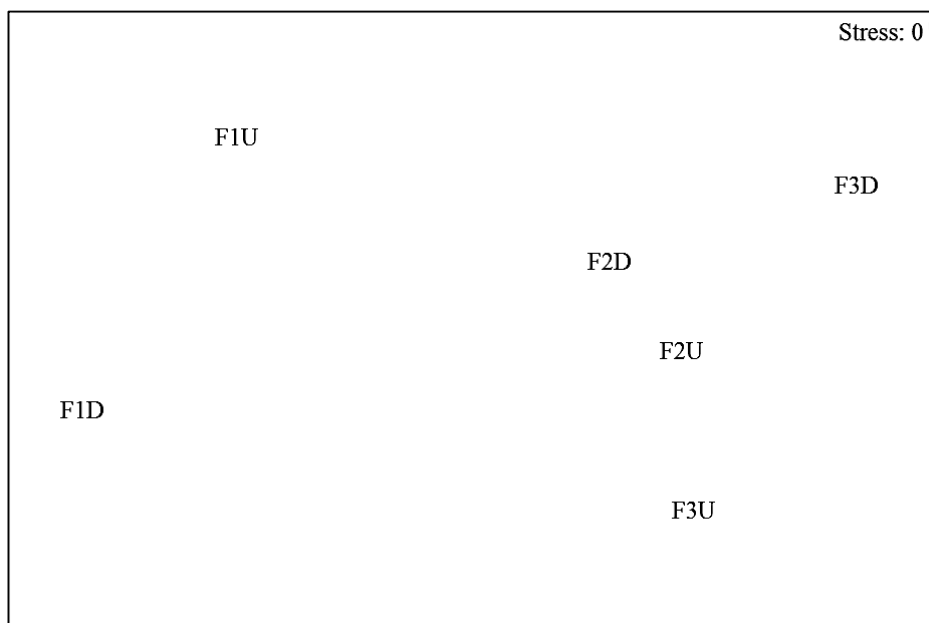
筏子溪中矽藻藻屬相對族群量變化。深灰色表上升，灰色表下降。

Fig. 3. The changes of relative abundance changes of diatoms after the effluents discharge. Domestic effluents (A), Taichung Industrial Park (B), Taichung City Precision Machinery Innovation Technology Park (C)

(A)



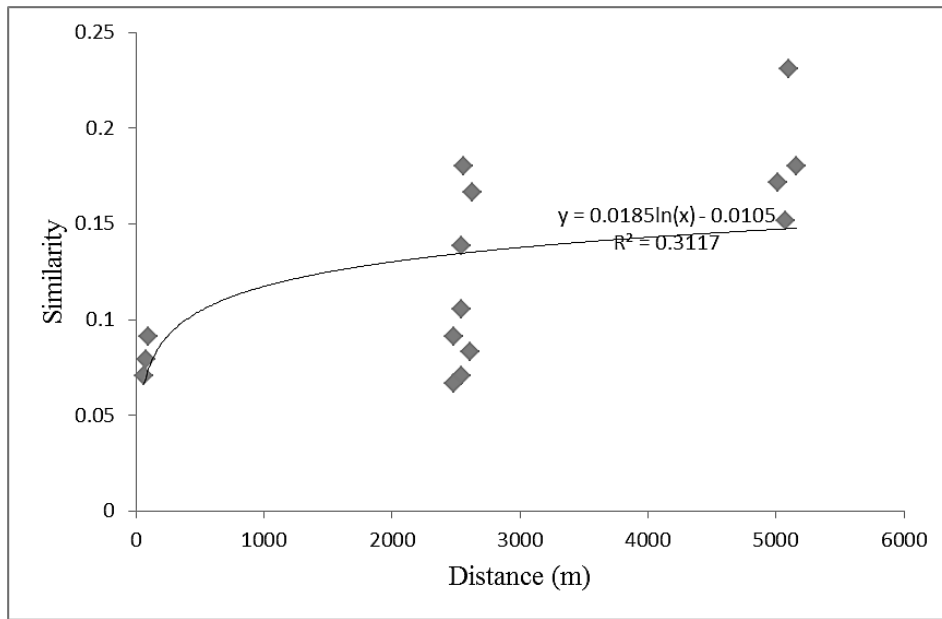
(B)



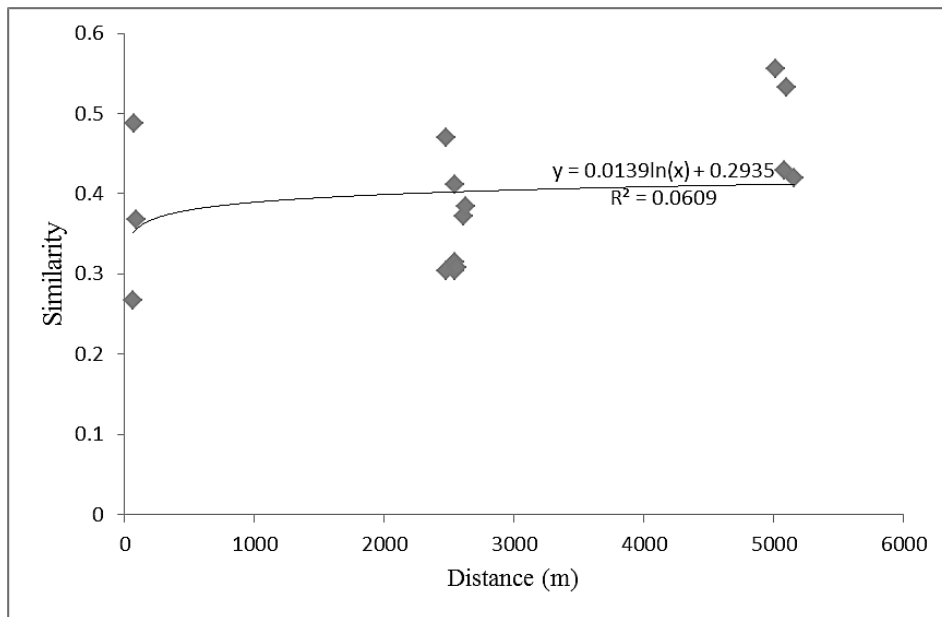
圖四、以鏡檢計數 (A) 與次世代定序 (B) 所得之六個樣點矽藻群落結構組成所獲之 MDS 圖。

Fig. 4. A Metric Multidimensional Scaling (MDS) based on the diatom communities structures in six sites. (A) Diversity data from morphological method; (B) Diversity data from NGS.

(A)



(B)

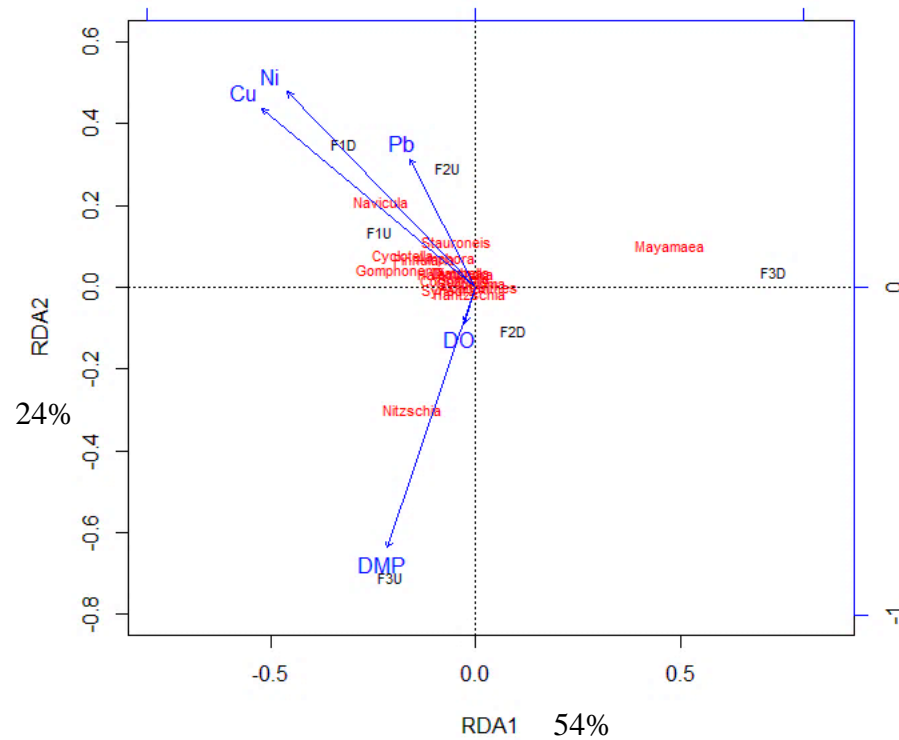


圖五、鏡檢計數(A)和次世代定序(B)所得之樣點間矽藻群落結構相似度和空間距離之相關性。

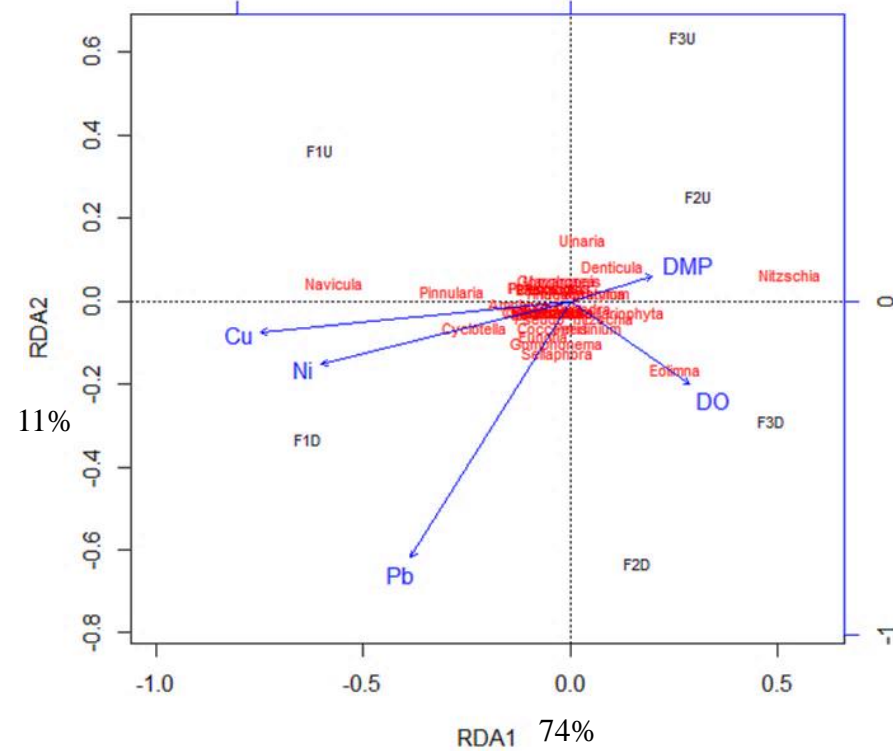
Fig. 5. Relationship between diatoms community similarity and distance.

(A) Data from morphological method; (B) Data from Next-generation Sequencing.

(A)

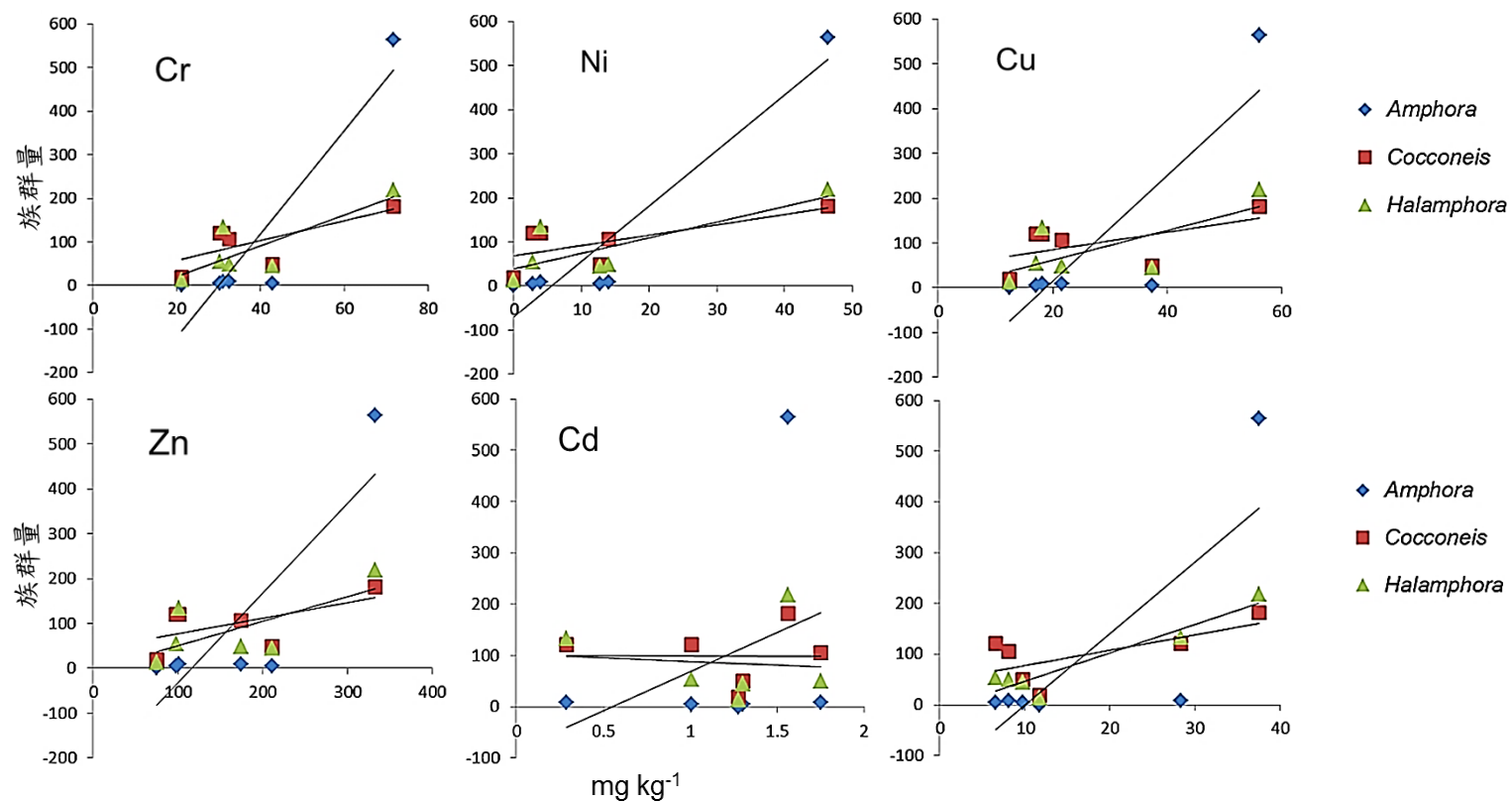


(B)



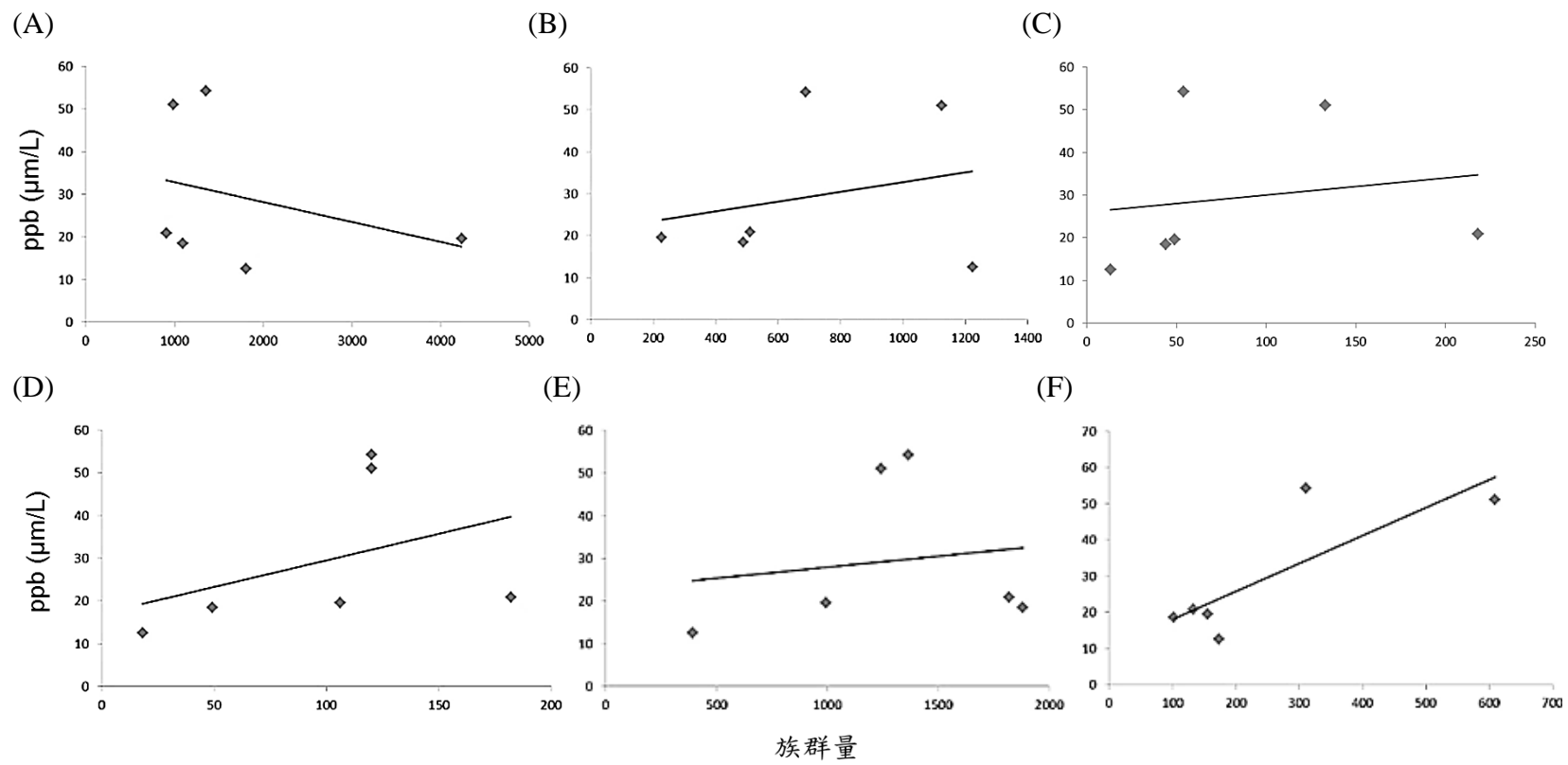
圖六、以 RDA 分析矽藻群落結構和重金屬：銅 (Cu)、鎳 (Ni)、鉛 (Pb)、環境賀爾蒙 (Dimethyl phthalate, DMP)、溶氧量 (DO)之相關性。藻屬以紅字表示。樣點以黑字表示。鏡檢計數所得之群落資料 (A) 次世代定序所得之群落資料 (B)

Fig. 6. Redundancy analysis of diatom communities and environmental factors. Black words represents diatom communities from different sites. Blue arrows represents environmental factors, including concentration of Cu, Ni, Pb and DMP. Red words represents diatom genera. (A) Data from morphological method; (B) Data from Next-generation Sequencing.

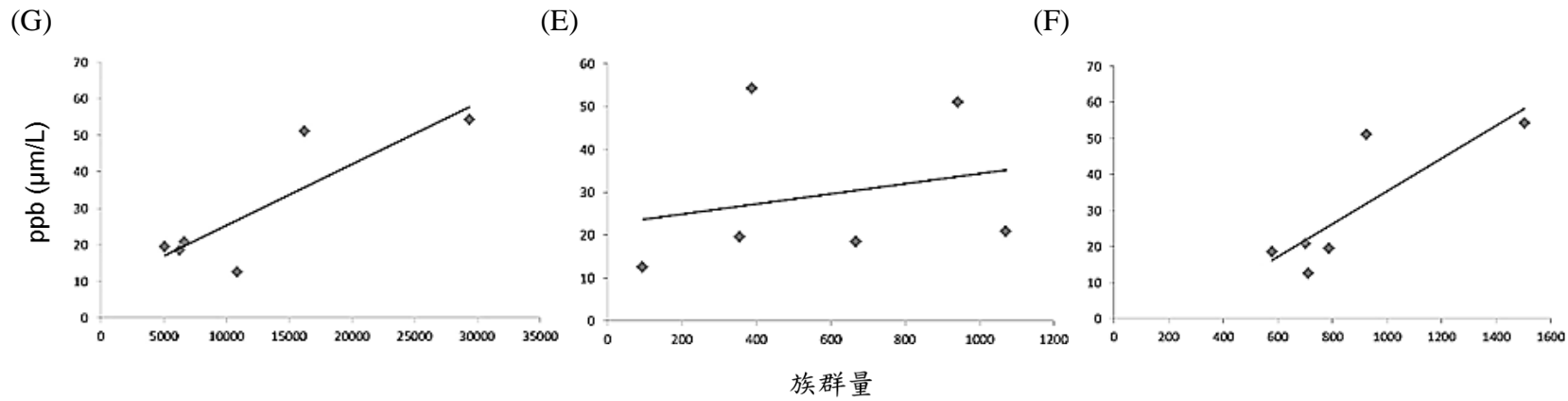


圖七、*Amphora*、*Halamphora* 和 *Cocconeis* 族群量與重金屬鉻 (Cr)、鎳 (Ni)、銅 (Cu)、鋅 (Zn)、鎘 (Cd) 與鉛 (Pb) 濃度之 XY 散佈圖。

Fig. 7. XY Scatter plot based on abundance of *Amphora*, *Halamphora*, *Cocconeis* and the concentration of Cr, Ni, Cu, Zn, Cd and Pb.







圖八、*Stauroneis* (A)、*Achnanthes* (B)、*Halamphora* (C)、*Cocconeis* (D)、*Cyclotella* (E)、*Hantzschia* (F)、*Nitzschia* (G)、*Pinnularia* (H) 和 *Synedra* (I) 族群量與環境荷爾蒙 DMP 濃度之 XY 散佈圖。

Fig. 8. XY Scatter plot based on abundance of *Stauroneis* (A), *Achnanthes* (B), *Halamphora* (C), *Cocconeis* (D), *Cyclotella* (E), *Hantzschia* (F), *Nitzschia* (G), *Pinnularia* (H), *Synedra* (I) and the concentration of DMP.

附錄一、內梅羅綜合指數之計算公式、評析基準值與標準分級 (Nemerow 1974)。

Appendix 1. The water quality measured scores and levels of Nemerow index (Nemerow 1974).

$$P_N = \sqrt{\frac{1}{2} \left[ \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left( \frac{C_i}{C_{si}} \right)^2 + \left( \frac{C_2}{C_{s2}} \right)^2 + \dots + \left( \frac{C_n}{C_{sn}} \right)^2 \right]}$$

$P_N$ ：內梅羅綜合指標

$C_i$ ：i 污染物的實測濃度值

$C_{si}$ ：i 污染物的評析基準值

n：受評估污染物的數量

內梅羅綜合指標-評析基準值 ( $C_{si}$ )

重金屬項目	Cr	Ni	Cu	Zn	Cd	Pb
(mg kg <sup>-1</sup> )	10.0	10.0	20.0	25.0	0.39	15.0

污染標準分級

$P_N$	水質
$< 0.7$	清潔
$0.7 \leq P_N < 1.0$	尚清潔
$1.0 \leq P_N < 2.0$	輕度污染
$2.0 \leq P_N < 3.0$	中度污染
$\geq 3$	重度污染

附錄二、各多樣性指數與矽藻類指數之計算公式。

Appendix 2. Diversity indices and diatom indices based the following formulas.

- ◆ Shannon-Wiener 多樣性指數： $H' = -\sum_{i=1}^R p_i \ln p_i$   
 $p_i$  為第  $i$  個物種之個體數所佔之比例， $R$  為物種豐富度。
- ◆ Simpson 指數： $1 - \lambda = 1 - \sum_{i=1}^R [Ni(Ni - 1)/N(N - 1)]$   
 $N_i$  為第  $i$  個物種之個體數。
- ◆ Pielou 均勻度： $J' = H' / \log S$   
 $H'$  由 Shannon-Wiener 得知， $S$  為物種數。

矽藻類指數，包含矽藻群聚指數 (Diatom Assemblage Index, DAIPo)、矽藻營養化指數 (Trophic Diatom Index, TDI)、污染耐受物種百分數 (Pollution Tolerant Value, PTV) 與綜合藻屬指數 (Generic index, GI) 之計算公式。

- ◆ 矽藻群聚指數： $DAIPo = 100 - \sum_{i=1}^m S_i - 1/2 \sum_{j=1}^n E_j$   
 $\sum_{i=1}^m S_i$  為腐水藻種之相對族群量的總和  
 $\sum_{j=1}^n E_j$  為活水藻種之相對族群量的總和
- ◆ 矽藻營養化指數： $WSM = \frac{\sum_{j=1}^n a_j s_j v_j}{\sum_{j=1}^n a_j v_j}$   
 $TDI = (WSM \times 25) - 25$   
 $a_j$  為物種族群量  
 $s_j$  為物種對映的汙染敏感度數值  
 $v_j$  為物種之指標數值
- ◆ 污染耐受物種百分數： $\%PTV = \text{耐受汙染藻種族群量} / \text{全部物種族群量}$
- ◆ 綜合藻屬指數： $GI = \frac{[Achnanthes + Cocconeis + Cymbella]}{[Cyclotella + Melosira + Nitzschia]}$

附錄三、各矽藻藻類指數之汙染判別標準。矽藻營養化指數 (Trophic Diatom Index, TDI) (Kelly & Whitton 1995) (A)、汙染耐受物種百分數 (Pollution Tolerant Value, PTV) (Kelly & Whitton 1995) (B)、矽藻群聚指數 (Diatom Assemblage Index, DAipo) (Watanabe et al. 1988) (C)、綜合藻屬指數 (Generic index, GI) (Wu 1999) (D)。

Appendix 3. The water quality measured scores and levels of diatom indices. Trophic Diatom Index (TDI) (Kelly & Whitton 1995) (A), Pollution Tolerant Value (PTV) (Kelly & Whitton 1995) (B), Diatom Assemblage Index (DAipo) (Watanabe et al. 1988) (C) and Generic index (GI) (Wu 1999) (D).

(A)

TDI	Water quality
< 10	oligotrophic
10 - 35	mesotrophic
35 - 100	meso-eutrophic
> 100	polytrophic

(B)

% PTV	Water quality
< 20%	absence of organic pollution
21 - 40%	slightly organic pollution
41 - 60%	organic polluted
> 60%	heavily organic pollution

(C)

DAipo	Water quality
85 - 100	oligosaprobic
70 - 85	$\beta$ -mesosaprobic
50 - 70	$\alpha$ -mesosaprobic
< 50	polysaprobic

(D)

GI	水質
> 30	極輕微汙染
11 - 30	微汙染
1.5 - 11	輕度汙染
0.3 - 1.5	中度汙染
< 0.3	嚴重汙染