

水溫及光照條件對海門冬四分孢子體成長之影響

許自研* · 陳陽德 · 張軒銘 · 蘇義哲 · 吳豐成

農業部水產試驗所東港養殖研究中心

摘 要

我國屏東海域產有紅藻類之海門冬 (*Asparagopsis taxiformis*)，該藻近年被發現可有效減緩反芻動物排放甲烷，惟其商業養殖技術尚未確立，目前仍以採集野生藻體進行應用為主，但因受季節影響，產量及品質均不穩定。本研究自屏東琉球海域採集海門冬四分孢子體階段之藻體進行培養，探討其最適水溫與光照條件。結果顯示，水溫方面，以 24 – 30°C 藻體生長顯著優於 15 – 21°C，高溫組內雖無顯著差異，但以 24°C 為最佳；光照強度則以 5,000 – 10,000 lux 顯著優於 2,500 lux，強光組內無顯著差異；光照波長培養結果以全波長（白光）生長顯著優於紅、藍、綠光；而光照週期各組之間則沒有顯著差異。另為進一步了解臺灣週邊海域採集之海門冬種類，分別自屏東縣恆春鎮、琉球鄉及臺東縣成功鎮採集海門冬藻體，經分子生物學鑑定結果證實皆為 *A. taxiformis*。未來將持續探討鹽度、營養鹽配方對該藻培養之影響，進而確立海門冬繁養殖技術，以供學術及產業各界參考應用。

關鍵詞：海門冬、四分孢子體、甲烷

前 言

近年來全球平均溫度不斷上升，恐將導致沿海地區遭受淹沒、糧食供應發生短缺等嚴重問題，而全球暖化的原因主要是人類活動排放二氧化碳、甲烷 (methane, CH₄) 等大量溫室氣體而導致溫室效應加劇，自工業革命以降，二氧化碳濃度多了 35%，而甲烷含量則上升了 2.5 倍之多 (GML, 2023)，藉由同位素分析可以判斷，二氧化碳的大幅增加主要因為燃燒石化燃料所產生，另外，則是來自於農業及畜牧產業。根據聯合國糧食及農業組織 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) 的數據，一頭乳牛每年排放的甲烷高達 100 公斤，全球作為牲畜飼養的 35 億頭反芻動物產生的溫室氣體排放量約佔人為溫室氣體排放量的 6% (Beauchemin *et al.*, 2020)。

為了解決甲烷排放問題，近年來有學者收集並篩選多種海藻，測試對反芻動物排放甲烷的影響，

發現在模擬牛胃的體外發酵裝置中添加海門冬 (*Asparagopsis* sp.) 劑量 2% 以上時，可大幅抑制甲烷生成，同時對草料的發酵效率影響最小 (Machado *et al.*, 2014)。而實際應用在大宗畜牧物種乳牛、肉牛、綿羊身上進行試驗，則可以發現只要添加極少量（約 1 – 3% 的日糧乾重），便有極佳的抑制甲烷排放效果，且對綿羊所產羊毛、牛隻自身肉質及乳汁品質與產量皆無顯著影響，同時也沒有殘留溴化物之現象 (Kinley *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2016; Roque *et al.*, 2019, 2021)。海門冬之所以可以減少甲烷排放，主要係因為它們能夠合成鹵化甲烷類似物，如溴仿（三溴甲烷）和二溴氯甲烷，並儲存在腺細胞內，以作為天然防禦機制。而這些類似物可透過結合維生素 B₁₂ 來抑制酶活性，進而減少產甲烷菌的代謝過程所產生的甲烷 (Paul *et al.*, 2006)。

海門冬屬 (*Asparagopsis*) 是一種紫紅色海藻，隸屬於紅藻門 (Rhodophyta)、真紅藻綱 (Florideophyceae)、柏安藻目 (Bonnemaisoniales)、柏安藻科 (Bonnemaisoniaceae)。根據世界海洋物種目錄 (World Register of Marine Species, WoRMS) 所載，該屬中已確認有 *Asparagopsis*

*通訊作者 / 屏東縣東港鎮豐漁街 67 號, Tel: (08) 832-4121 ext. 285; Fax: (08) 832-0234; E-mail: zyxu@mail.tfrin.gov.tw

armata、*A. taxformis* 及 *A. svedelli* 等三個種 (WoRMS, 2023)，*A. taxformis* 常見於熱帶和亞熱帶海域，而 *A. armata* 則分佈在暖溫帶地區。

海門冬具有配子體 (gametophyte)、果孢子體 (carposporophyte) 和四分孢子體 (tetrasporophyte) 等三相世代交替 (triphasic alternation of generations) 的生命週期 (Bonin and Hawkes, 1987)。海門冬之配子體於形態上有直立莖、匍匐莖之分，直立莖呈圓柱狀且分枝少，下部不分枝，上部為密集輻射狀的羽狀分枝，再由分枝的頂端長出許多細毛狀小枝，除前述配子體階段外，自配子體細枝上萌生之果孢子體係由雄性配子接觸雌配子體的授精絲 (trichogyne) 後發育而來，並於配子體親本上吸收養分進行生長，並不獨立生活。俟果孢子體成熟後，進行有絲分裂產生果孢子 (carpospores) 再釋放到水中，附著在某處基質 (substrate) 生長為絲狀的四分孢子體，再進行減數分裂，產生四分孢子 (tetraspore) 發育成配子體，從而完成了配子體—果孢子體—四分孢子體三種形態的世代交替。該藻於絲狀的四分孢子體階段比配子體更適合進行無性繁殖，特別是運用在集約化的陸上養殖 (Mata *et al.*, 2011)。

海門冬廣布在全世界暖溫帶和熱帶海域，例如太平洋熱帶海域，韓國、日本、琉球群島、中國東南沿海、臺灣、馬來西亞、菲律賓、夏威夷等，皆可發現其生長蹤跡。在臺灣則主要產於恆春半島、東北部、小琉球、綠島、蘭嶼及澎湖，該藻生長在低潮線至潮下帶的岩石上，每年一至五月為盛產期，夏季則較少出現 (江等, 1990; 農業部, 2023)。

由於過往人工商業養殖技術尚未確立普及，海門冬來源仍倚靠人工野外採集為主，除了族群隨著季節變化消長外，藻體採集量也相當有限，即便只需要添加 1% 的海門冬在牛羊飼料中便能有顯著的甲烷減排效果，但如要滿足畜牧業如此大量的原料需求仍是相當困難，然而隨著全球氣候變遷及棲地改變，各地野生海藻資源恐將逐漸枯竭，當採集量驟減之際，實難以確保海門冬品質之優劣，在產業推廣上也會更為困難，勢將嚴重影響生態平衡及產業發展，因此建立海門冬養殖量產技術，勢必成了落實這項願景的首要之務。

目前國外有關海門冬培養技術相關研究甚少，臺灣國內相關研究則闕如，爰此本研究將鑑定

臺灣周邊海域所產海門冬為哪一種群，同時究明不同溫度與光照條件對於海門冬四分孢子體培養之影響，以作為後續建立海門冬人工繁養殖技術之參考。

材料與方法

一、海門冬藻種來源

本研究所培養試驗海門冬四分孢子體階段之藻體 (Fig. 1)，採自屏東縣琉球地區之海域，人員以水肺潛水方式至潮下帶三米內深處以徒手方式採集藻體後，置入塑膠袋中連同棲地海水帶上水面岸邊，並以置有冰磚之保冰桶進行保存運送，保存運送期間之水溫保持在 22–26°C 之間。海門冬藻體回到實驗室立即更換乾淨新鮮之海水，初步以鑷子進行挑選及清潔，將其他藻類或黑邊海兔 (*Aplysia parvula*) 等附生生物移除，再將藻體轉置入 2 L 錐形瓶中，錐形瓶中預先填裝有 f/2 營養鹽配方 (Guillard and Ryther, 1962) 及二氧化鎢 (GeO_2) 之砂濾海水，並放置於恆溫生長箱打氣培養，持續培養馴化並保存，以作為後續試驗之種原，生長箱之溫度為 22°C，以 T8 日光燈管提供 5,000 lux 光照，光照週期日夜比為 14:10。



Fig. 1 The tetrasporophyte (as indicated by the arrow) of *Asparagopsis taxiformis*. Scale bar = 50 μm .

二、不同溫度條件培養試驗

自琉球地區海域採回馴養保存之藻種中取初重約 0.1 g 之海門冬藻體置於 2 L 錐形瓶中，以砂濾海水在恆溫生長箱中以 T8 日光燈管提供 2,000 lux 光源，光照週期日夜比為 12:12，試驗溫度設置六種不同溫度試驗組別，分別為 15°C、18°C、21°C、24°C、27°C、30°C，經培養

14 天後，每日全換水一次，測定末重以計算特殊生長率 (specific growth rate, SGR)，並觀察藻體生長及活存變化，每組均採 3 重複。

三、不同光照條件培養試驗

(一) 不同光照強度

自前述藻種中取初重約 0.1 g 之海門冬藻體置於 2 L 錐形瓶中，在控溫 24°C 之恆溫生長箱中，以鹽度 25 psu 之砂濾海水添加 f/2 配方 (1 ml/L) 及二氧化鎳 (1 ml/L) 進行連續打氣培養，試驗以 T8 日光燈管提供光源並設置三種不同光照強度試驗組分別為 2,500、5,000、10,000 lux 等，光照週期日夜比為 12:12，經培養 14 天，每日全換水一次，測定末重以計算 SGR，並觀察藻體生長及活存變化，每組均採 3 重複。

(二) 不同光照週期

自前述藻種中取初重約 0.1 g 之海門冬藻體置於 2 L 錐形瓶中，在控溫 24°C 之恆溫生長箱中，以鹽度 25 psu 之砂濾海水添加 f/2 配方 (1 ml/L) 及二氧化鎳 (1 ml/L) 進行連續打氣培養，以 T8 日光燈管提供光源 5,000 lux，並設置三種不同光照週期試驗組，分別為 L10 組 (光 10 hr: 暗 14 hr)、L12 組 (光 12 hr: 暗 12 hr)、L14 組 (光 14 hr: 暗 10 hr)，經培養 14 天，每日全換水一次，測定末重以計算 SGR，並觀察藻體生長及活存變化，每組均採 3 重複。

(三) 不同光照波長

自前述藻種中取初重約 0.1 g 之海門冬藻體置於 70 L 之玻璃缸中，以冷水機 (日生，CL280 型) 控制溫度在 28°C，並以鹽度 25 psu 之砂濾海水添加 f/2 配方 (1 ml/L) 及二氧化鎳 (1 ml/L) 進行連續打氣培養，並設置四種不同光照波長之 LED 燈泡試驗組分別為全波長白光、620 nm 波長紅光、540 nm 波長綠光、460 nm 波長藍光，光照週期日夜比為 12:12，經培養 14 天後(每週全換水一次)，測定末重以計算 SGR，並觀察藻體生長及活存變化，每組均採 3 重複。

四、分子生物學鑑種

分別將屏東琉球、恆春地區及臺東成功地區所採集的海門冬樣品，以市售植物組織抽取套組 (taco™ Plant DNA/RNA Extraction Kit) 抽取粒線體 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA)，根據美國國家生物技術信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 資料庫上 *A. taxiformis* 細胞色素 c 氧化酶亞基 I (cytochrome c oxidase I) 基因序列 (accession number: KJ398158.1 及 NC_026843.1)，以 mtDNA COI 基因序列相似度高的保留區域，設計一組引子 ATcox1 F: 5'-AGTGTTAGTCTGTCGCATTAAAGGTTG-3' 及 ATcox1 R: 5'-CAATATGACTAACCATCCCAAAACCAG-3'，再分別取 10 µl 的 PCR Master Mix (KAPA KK1024 KAPA Taq Ready Mix, Merck) 及 10 µl 去離子水，再加入兩種引子各 1 µl，最後加入 1 µl 的 DNA 樣本至 PCR 離心管內 (約 23 µl)，並於儀器中設置升降溫程序以進行聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR)，PCR 循環包括在 94°C 下加熱 5 min 的初始步驟，隨後是 35 個循環，即 95°C 加熱 30 sec、59°C 加熱 30 sec、72°C 加熱 1 min 30 sec，最後在 72°C 下加熱 7 min。將 PCR 產物添加 DNA 染劑後再注入 1.5% 的瓊脂糖凝膠 (agarose gel) 孔洞，同時以 100 bp DNA Ladder (DNA VIEW TT-DNA01, 圖爾思生技) 作為對照，進行電泳 15 min (100 V)，再將膠體放置於紫外光燈箱內，以相機拍攝 DNA 條帶後，將所擴增之 PCR 產物從膠體切出後交由生技公司 (基龍米克斯生物科技股份有限公司) 進行基因定序，最後將定序結果與 NCBI 進行序列比對，以查明可能之物種。

五、統計分析

本試驗結果皆以變異數分析 (analysis of variance, ANOVA) 進行統計檢定，當檢定結果達顯著差異 ($p < 0.05$) 時，再以杜凱法 (Tukey's test) 進行事後檢定，以檢定各組間差異之顯著性 ($p < 0.05$)。

結果與討論

在不同溫度條件培養試驗中，海門冬各試驗組之 SGR 範圍為 0.25 – 16.6% (Fig. 2)，結果發現，海門冬的生長情形隨水溫的增加而有顯著增加的趨勢 ($p < 0.05$)，其中以培養在水溫 24°C 的試驗組之生長率最佳 ($16.6 \pm 1.02\%$)，顯著高於培養水溫低於 21°C 的各試驗組者，但與培養在水溫 27°C 及 30°C 的試驗組海門冬的生長率間並無顯著差異，所有試驗組中之培養水溫為 15°C 的試驗組之生長情形最差 ($0.25 \pm 2.44\%$)，且發現其中有藻體泛白糜爛凋亡的現象，顯見該溫度條件下，不適合海門冬生存。

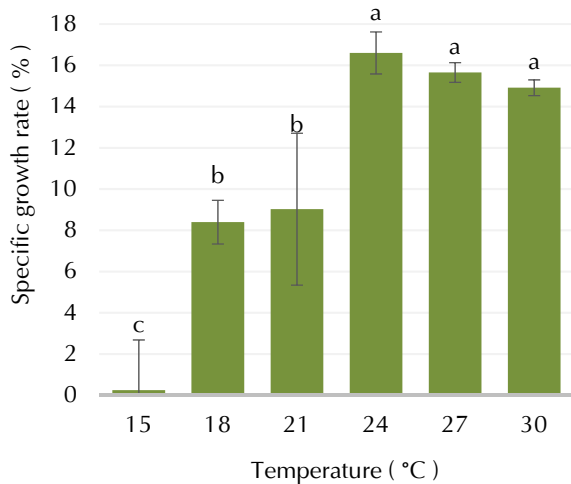


Fig. 2 The specific growth rates of *Asparagopsis taxiformis* cultured under different temperature conditions, namely, 15, 18, 21, 24, 27 and 30 °C, for 14 days. Data are presented as means $\pm$ standard deviations. Different letters are significantly different ($p < 0.05$).

Mata *et al.* (2017) 在澳洲昆士蘭州 (Queensland) 鄰近兩處海域採集海門冬四分孢子體測試在不同溫度條件下對生長影響之研究，結果顯示溫度在 20.2°C 其生長率最高，而在 28.1°C 生長率最低；Batista (2020) 則在葡萄牙亞速爾群島 (Azores) 採集海門冬配子體測試在 15°C、20°C 及 25°C 條件下生長情形，結果顯示藻體僅在 15°C 有正成長 (positive growth)，其餘兩組則皆呈現負成長 (negative growth) 甚至逐漸凋亡。但由本研究結果發現，採自臺灣屏東琉球周邊海域之海門

冬四分孢子體具有適應高溫的能力，該生命階段在夏季水溫 30°C 之環境下仍能維持一定生長，推測可能原因應與棲地生態環境有關。另 Mata *et al.* (2017) 採集海門冬四分孢子體之海域 (澳洲昆士蘭州) 水溫約在 20 – 28°C 間，本研究採集海域之水溫則是介於 24 – 30°C (臺灣琉球鄉)，在此範圍內藻體皆能生長，但兩項研究皆以適溫範圍內最低溫組 (分別為 20.2°C 與 24°C) 生長情形最佳；至於 Batista (2020) 採集藻體之海域 (葡萄牙亞速爾群島) 水溫在春季約為 15°C 左右，但其所採集海門冬為配子體階段，較不適於夏季水溫活存生長，故試驗結果與採集棲地環境水溫相符，以 15°C 組生長情形最佳。目前已發表文獻認為海門冬野外族群不耐夏季高溫 (Mata *et al.*, 2017; Batista, 2020)，本研究結果具有重要生態意義，但仍有待日後更進一步的研究來證實。

由海門冬四分孢子體在不同光照強度培養試驗結果 (Fig. 3) 顯示 2,500 lux 組生長率最低 ($11.05 \pm 0.48\%$)，顯著低於 5,000 lux 及 10,000 lux 等試驗組者 ($p < 0.05$)；5,000 lux 組的生長率最高 ($15.94 \pm 1.01\%$)，但與 10,000 lux 組 ($15.37 \pm 2.54\%$) 並無統計差異。

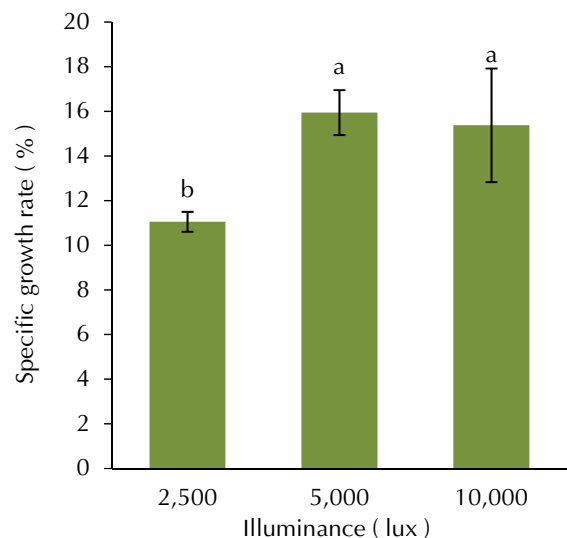


Fig. 3 The specific growth rates of *Asparagopsis taxiformis* cultured under different illuminance conditions, namely, 2500, 5000, and 10000 lux, for 14 days. Data are presented as means $\pm$ standard deviations. Different letters are significantly different ($p < 0.05$).

依據 Batista (2020) 比較海門冬配子體在光照強度 20 及 40 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 下的生長情形，其使用的光照強度換算為本試驗所使用光照單位，約為 1,480 及 2,960 lux (Thimijan and Heins, 1982)，由該試驗結果顯示以 40 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 培養成長效果最佳，顯著高於 20 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 試驗組者 ($p < 0.05$)，但由於該研究只設定兩種光照強度，且以配子體階段進行試驗，雖與本研究擇定條件有所差異，但可互補參照，本研究的結果顯示 5,000 lux 光照強度培育海門冬四分孢子體優於 2,500 lux，與 10,000 lux 間無顯著差異，因此若在可調控的生產環境下，建議提供光照強度為 5,000 lux 即可滿足海門冬四分孢子體生長所需，以減少生產過程中無謂的能量及成本投入。

光週期現象 (photoperiodism) 係指生物對光照和黑暗週期之相對長度的生長反應，也稱光週期反應 (photoperiodic reaction)，狹義來說是指動物、植物生活史的某些方面受光、暗時間長度的控制。本研究在不同光照週期條件培養試驗中，結果顯示培養在光照 10 hr (L10)、12 hr (L12) 及 14 hr (L14) 等不同光照週期下培養 14 天後，各試驗組間無論光照時間長或短，對於海門冬的生長情形皆無顯著差異，其平均 SGR 分別為 $14.91 \pm 0.55\%$ 、 $15.58 \pm 0.39\%$ 及 $16.16 \pm 1.90\%$ (Fig. 4)。雖然統計分析顯示，較長光照時間對於藻體生長增殖雖沒有顯著影響，但仍可觀察到平均 SGR 會隨著光照時間增加而微幅上升，由本研究結果做為商業化人工生產模式之參考，建議提供 10 - 14 hr 的光照，可得較佳之投入成本與藻體產量之邊際效用 (marginal utility)。

光照條件對包含藻類在內的植物生長和發育非常重要，除了可作為光合作用的能量來源以外，光照也掌控了植物的光形態發生 (photomorphogenesis) 一系列發育過程。在本研究不同光照波長培養試驗結果顯示，海門冬生長情形以白光組海門冬的生長情形最佳，顯著高於綠光組 (540 nm)、紅光組 (620 nm) 以及藍光組 (460 nm) 等試驗組 ($p < 0.05$)，各試驗組之平均 SGR 依序為 $15.63 \pm 0.27\%$ 、 $4.80 \pm 0.56\%$ 、 $5.1 \pm 1.73\%$ 以及 $4.95 \pm 0\%$ ，而紅光組、綠光組及藍光組間的 SGR 間無顯著差異 (Fig. 5)。由此推知單一光源似仍無法有效滿足海門冬生長所需，後續研

究方向將更進一步探討同時使用多種光照波長組合進行量產培養的可行性評估。

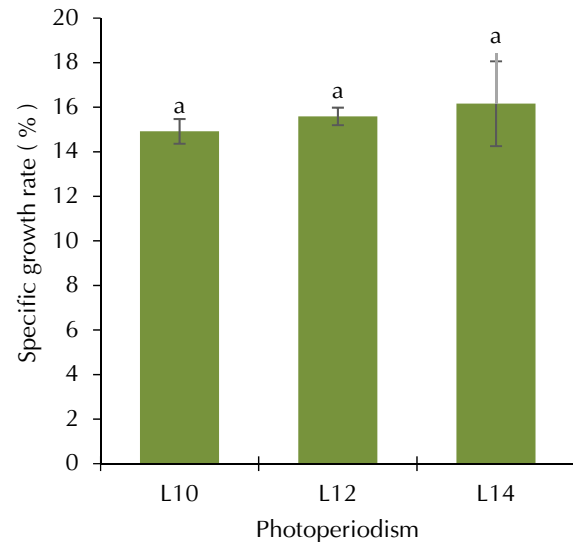


Fig. 4 The specific growth rates of *Asparagopsis taxiformis* cultured under different light-dark cycle conditions, namely, L10 (10 hours of light), L12 (12 hours of light), and L14 (14 hours of light), for 14 days. Data are presented as means $\pm$ standard deviations. Different letters are significantly different ($p < 0.05$).

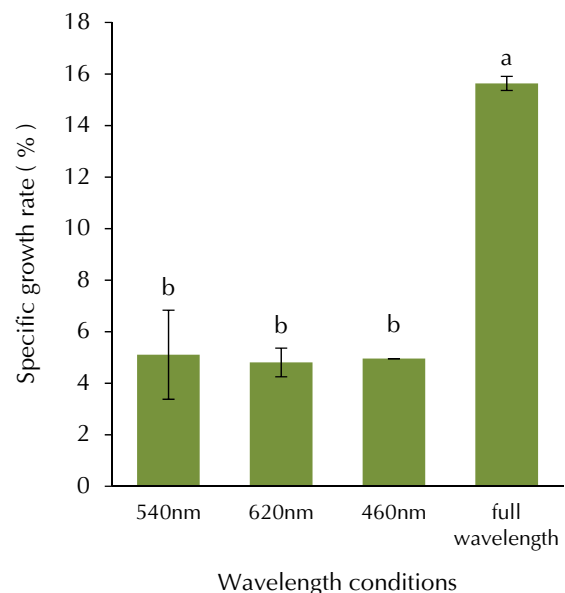


Fig. 5 The specific growth rates of *Asparagopsis taxiformis* cultured under different optical wavelength conditions, namely, 540 nm (green light), 620 nm (red light), 460 nm (blue light), and full wavelength light (white light), for 14 days. Data are presented as means $\pm$ standard deviations. Different letters are significantly different ($p < 0.05$).

Table 1 Percent identity matrix for samples of *Asparagopsis taxiformis* collected from different areas

	AB774223.1*	KJ960344.1*	LQ	HM915860.1**	EU146155.1**	CG	HC	JN642177.1**
AB774223.1*	100.00	100.00	86.18	86.80	86.02	86.49	86.49	86.12
KJ960344.1*	100.00	100.00	86.42	86.90	86.02	86.57	86.57	86.14
LQ	86.18	86.42	100.00	95.63	94.72	93.44	93.66	95.02
HM915860.1**	86.80	86.90	95.63	100.00	96.58	96.69	96.69	97.20
EU146155.1**	86.02	86.02	94.72	96.58	100.00	97.83	97.83	98.09
CG	86.49	86.57	93.44	96.69	97.83	100.00	97.68	99.07
HC	86.49	86.57	93.66	96.69	97.83	97.68	100.00	99.07
JN642177.1**	86.12	86.14	95.02	97.20	98.09	99.07	99.07	100.00

*NCBI *Asparagopsis armata* COI seq**NCBI *Asparagopsis taxiformis* COI seq

LQ: Collected from Liuhui Township, Pingtung County

CG: Collected from Chenggong Town, Taitung County

HC: Collected from Hengchun Township, Pingtung County

本研究實地調查發現，臺灣周遭海域的海門冬分布相當零散，在澎湖縣觀音亭、屏東縣琉球鄉、恆春半島、東北角及臺東沿岸等皆可發現其族群。本研究以琉球鄉（代號為 LQ）、恆春鎮（HC）及成功鎮（CG）所採集的海門冬樣品進行基因定序，並利用歐洲生物資訊研究所（European Bioinformatics Institute, EBI）歐洲分子生物學實驗室（European Molecular Biology Laboratory）網站的多重序列比對（multiple sequence alignment）軟體與 NCBI 資料庫之多條已知海門冬基因序列進行比對（Kanz *et al.*, 2005），結果顯示琉球鄉、恆春鎮及成功鎮採得的海門冬樣品 *cox-I* 基因序列相似度與 *A. taxiformis* 較高（94 – 97%），而與 *A. armata* 的相似度僅 86%，其中恆春樣本與成功樣本的序列相似度較高（99%），琉球樣本則與其他兩處樣本相似度僅為 94%（Table 1），由此推測臺灣本島成功與恆春兩處之海門冬族群因地理位置與生長環境相似，應屬同一種群（population），然琉球採得之海門冬則可能因地理區隔導致發生異域種化（allopatric speciation），目前尚未證實，仍須進一步研究才能確認。本研究發現琉球鄉所採得之海門冬樣本不僅在基因序列上與其它兩處有所差異外，外觀形質上亦有些許不同，如琉球採獲之海門冬葉狀小枝較為圓潤濃密，恆春及成功所採得海門冬葉狀小枝則較為尖細且稀疏，在顏色方面琉球樣本偏紅褐色，恆春及成功樣本較為鮮紅（Fig.

6），因此有關屏東恆春、琉球及臺東成功等三處所採得之海門冬的溴化物含量、培養條件及生長速度等，後續將再進一步探討。

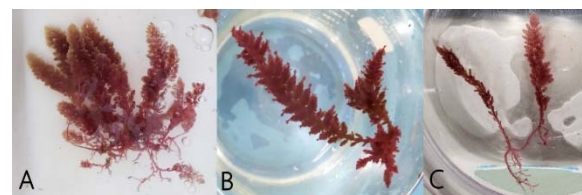


Fig. 6 Differences in the appearances of *Asparagopsis taxiformis* specimens collected from three regions. (A) Collected from Liuhui Township, Pingtung County. (B) Collected from Hengchun Township, Pingtung County. (C) Collected from Chenggong Town, Taitung County.

參考文獻

- 江永棉, 王瑋龍, 黃淑芳 (1990) 臺灣海藻簡介. 臺灣省立博物館出版部, 88 pp.
- 農業部 (2023) 大型藻主題館 (<https://reurl.cc/80Xog4>).
- Batista, M. M. (2020) Reproduction and cultivation of *Asparagopsis taxiformis* (Delile) Trevisan. Master's Thesis, University of the Algarve, 34 pp.
- Beauchemin, K. A., E. M. Ungerfeld, R. J. Eckard and M. Wang (2020) Review: Fifty years of research on rumen methanogenesis: lessons learned and future challenges for mitigation. *Animals*, 14(1): 2-16.
- Bonin, D. R. and M. W. Hawkes (1987) Systematics and life histories of New Zealand Bonnemaisoniaceae

- (Bonnemaisoniales, Rhodophyta) : I. The genus *Asparagopsis*. N. Z. J. Bot., 25: 577-590.
- GML (2023) Global Monitoring Laboratory at <https://gml.noaa.gov/dv/iadv/graph.php?code=MLO&program=ccgg&type=ts>. (Accessed 17 Jan. 2023).
- Guillard, R. R. L. and J. H. Ryther (1962) Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* Cleve. Can. J. Microbiol., 8: 229-239.
- Kanz, C., P. Aldebert, N. Althorpe, W. Baker, A. Baldwin, K. Bates, P. Browne, A. van den Broek, M. Castro, G. Cochrane, K. Duggan, R. Eberhardt, N. Faruque, J. Gamble, F. G. Diez, N. Harte, T. Kulikova, Q. Lin, V. Lombard, R. Lopez, R. Mancuso, M. McHale, F. Nardone, V. Silventoinen, S. Sobhany, P. Stoeher, M. A. Tuli, K. Tzouvara, R. Vaughan, D. Wu, W. Zhu and R. Apweiler (2005) The EMBL Nucleotide Sequence Database. Nucleic Acids Res., 33: 29-33.
- Kinley, R. D., R. de Nys, M. J. Vucko, L. Machado and N. W. Tomkins (2016) The red macroalgae *Asparagopsis taxiformis* is a potent natural antimethanogenic that reduces methane production during *in vitro* fermentation with rumen fluid. Anim. Prod. Sci., 56(3): 282-289.
- Li, X., H. C. Norman, R. D. Kinley, M. Laurence, M. Wilmot, H. Bender, R. de Nys and N. Tomkins (2016) *Asparagopsis taxiformis* decreases enteric methane production from sheep. Anim. Prod. Sci., 58(4): 681-688.
- Machado, L., M. Magnusson, N. A. Paul, R. de Nys and N. Tomkins (2014) Effects of marine and freshwater macroalgae on *in vitro* total gas and methane production. PLoS One, 9(1): e85289.
- Mata, L., H. Gaspar, F. Justino and R. Santos (2011) Effects of hydrogen per-oxide on the content of major volatile halogenated compounds in the red alga *Asparagopsis taxiformis* (Bonnemaisoniaceae). J. Appl. Phycol., 23(5): 827-832.
- Mata, L., R. J. Lawton, M. Magnusson, N. Andreakis, R. de Nys and N. A. Paul (2017) Within-species and temperature-related variation in the growth and natural products of the red alga *Asparagopsis taxiformis*. J. Appl. Phycol., 29(3): 1437-1447.
- Paul, N. A., L. Cole, R. de Nys and P. D. Steinberg (2006) Ultrastructure of the gland cells of the red alga *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniaceae). J. Phycol., 42(3): 637-645.
- Roque, B. M., J. K. Salwen, R. Kinley and E. Kebreab (2019) Inclusion of *Asparagopsis armata* in lactating dairy cows' diet reduces enteric methane emission by over 50 percent. J. Clean. Prod., 234: 132-138.
- Roque, B. M., M. Venegas, R. Kinley, R. de Nys, T. L. Neoh, T. L. Duarte, X. Yang, J. K. Salwen and E. Kebreab (2021) Red seaweed (*Asparagopsis taxiformis*) supplementation reduces enteric methane by over 80 percent in beef steers. PLoS One, 16(3): e0247820.
- Thimijan, R. W. and R. D. Heins (1982) Photometric, radiometric, and quantum light units of measure: a review of procedures for interconversion. HortScience, 18: 818-822.
- WoRMS (2023) World Register of Marine Species at <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdet&id=143809> (Accessed 17 Jan. 2023).

Effects of Temperature and Illumination Conditions on the Growth of Tetrasporophyte of *Asparagopsis taxiformis*

Zi-Yan Xu*, Yang-De Chen, Hsuan-Ming Chang, Yi-Che Su and Feng-Cheng Wu

Tungkang Aquaculture Research Center, Fisheries Research Institute

ABSTRACT

A red algae species called *Asparagopsis taxiformis* inhabit the waters of Taiwan's Pingtung. In recent years, the species has been discovered to effectively mitigate methane emissions from ruminant animals, but a commercial cultivation technique has yet been established. Currently, the main method of acquiring *A. taxiformis* is through the collection of wild algae, resulting in unstable production and quality due to seasonal variations. This study investigated the cultivation conditions and found that the algae's growth was significantly better at water temperatures of 24-30°C compared to 15-21°C. No significant differences were observed within the higher temperature range, but 24°C was the optimal temperature. In terms of light intensity, the cultivation results showed a significant improvement at 5,000-10,000 lux compared to 2,500 lux, and no significant differences were observed within the high intensity group. Regarding light wavelengths, full spectrum (white light) showed significant superiority in growth compared to red, blue, and green light. No significant differences were observed among the different photoperiods. Furthermore, molecular biology identification confirmed that the *A. taxiformis* collected from Hengchun Township and Liuqiu Township in Pingtung County as well as Chenggong Township in Taitung County were all of the same species. Going forward, further investigation on the effects of salinity and nutrient formulations on the cultivation of this algae could establish cultivation techniques for *A. taxiformis*, providing valuable references for academia and various industries.

Key words: *Asparagopsis taxiformis*, tetrasporophyte, methane

*Correspondence: No. 67, Fongyu St., Tungkang, Pingtung 92845, Taiwan. TEL: (08)8324121 ext. 285; FAX: (08)8320234; E-mail: zyxu@mail.tfrin.gov.tw