



財團法人
食品工業發展研究所
Food Industry Research and Development Institute

生物資源保存及研究簡訊

第36卷第1期

中華民國 112 年 3 月發行

補助單位：經濟部技術處 / 執行單位：財團法人食品工業發展研究所

本期內容

研發成果 1

- ◎ 酵母菌醃商業資訊化平台
- ◎ 木黴屬真菌資源之收存與產業應用性
- ◎ 台灣東沙島環礁瀉湖分離之新穎性弧菌
- ◎ 台灣黑豬糞便分離之新穎性菌種 *Micrococcus porci*
- ◎ 口腔癌患者唾液分離之新穎性厭氧菌 *Phocaeicola oris*

酵母菌醃商業資訊化平台

生物資源保存及研究中心 / 副研究員
陳姿吟 / 劉靜汝

一、前言

民以食為天，台灣因為特殊的地理位置及文化歷史背景，融合各個族群的文化精華，發展出多元且創新的飲食，在充滿各國食物的美食天堂裡，唯有不斷的創新產品才能在眾多商品中奪目吸引顧客上門。

在食品產業中，我國烘焙及精釀產品相關的產業產值超過千億元，藉由產品不斷的創新及熱賣，其產值及外銷比率日益漸增，然而該兩項產業的核心原料皆為「酵母菌醃」。

酵母菌是在食品產業中應用極為廣泛的微生物，如烘焙蒸炊製品（麵包、饅頭等）、釀造食品（醋、醬油等）、飲品（酒、發酵茶飲）或調味品等，均依賴酵母菌製成，然而台灣的酵母菌醃及周邊原料仍大多以進口為主，進口量占比國內酵母使用量約八成以上，因國際運輸品質不易控制，對於我國相關食品發展不友善，故如何發展國產酵母為現階段優先目標。

二、本土特色酵母菌醃庫

為改善現今酵母技術之缺陷及發展國產酵母，食品所生資中心在經濟部技術處計畫的支持下，建立「酵母菌醃商業資訊化平台」，提供生資中心酵母菌醃技術與生物資源資訊，以酵母菌醃兩大產業應用領域「烘焙酵母」和「啤酒酵母」為主題，提供相關衍生之合作產品與研發技術訊息，並提供聯繫方式，以期促進產業合作。

此平台針對烘培及釀造產業的需求，從台灣本土環境、水果、酸麵糰等素材，系統性的收集與開發台灣特色酵母菌資源，建立其特色菌株及特性資料，並開發具特色如耐凍、耐糖、發酵力佳、抗麵糰老化、風味特殊、魯邦液、啤酒釀造等之本土酵母菌醃庫。

以發展酵母菌醃及酵母菌於烘培及精釀產業應用之相關技術與產品為目標，同時以酵母菌醃庫為基礎，整合製程、產品設計、商業營運模式及法規服務等技術，輔導業界研發優質具特色、有競爭力之高質化特色烘培及釀造產品，以提升我國烘培及釀造應用產業之競爭力。

三、發酵釀造微生物資源資料庫

發酵釀造食品在生活中隨處可見，因此業者對於發酵釀造微生物有一定的需求，尤其是可以衍生出很大商品價值的微生物，因此我們分析整理了生物資源保存中心的生物資源資料庫，並且經過專家系統加值整合出發酵釀造微生物資源資料庫。

此資料庫是從業者的需求端提供一個從產品項目就可以快速找到可應用於發酵或釀造之微生物介面，以利於微生物的資源提供作為後續產品的研發與應用，目前整理出來的項目有酒類發酵、醬類發酵、發酵用乳酸菌、其他發酵食品等，其蒐集的資料說明如下：

1. 酒類發酵：酒類是指由澱粉、醣類經微生物發酵後成為酒精者包括啤酒、水果酒、米酒、高粱酒等，其中啤酒為導入酵母菌的重要產業之一，更能衍伸出龐大的商品價值。
2. 醬類發酵：醬類發酵是以穀、豆類為原料，透過麴菌、酵母、醋酸菌及乳酸菌等微生物共同作用，產生的一類產品，包括醬油、蔭油、味噌、紅麴

紅糟、豆腐乳、豆瓣醬及醋等。過去醬類發酵主要用於調味品，但隨著對這些微生物的了解加深，其應用更為多元。如紅糟及醋類產品已應用於保健產品或飲品。

3. 發酵用乳酸菌：乳酸菌常被應用於乳品及蔬果發酵工業。本發酵用乳酸菌資料庫之建構，係從 BCRC 菌種目錄中，挑選列於衛福部公告之 [可供食品使用原料彙整一覽表] 的乳酸菌菌種，可作為研發乳品或發酵加工之用，能有效縮短研發時程，降低研發成本。
4. 其他發酵食品：係指發酵蔬菜、紅茶菇即名康普茶；(Tea fungus)、酒釀、天貝 (Tempeh)、納豆 (Natto)、烘培酵母等，無法歸類於醬類、酒精性飲品及發酵乳製品的發酵食品。

國內酵母菌市場產值並不算大，但可衍生出龐大的商品價值，例如烘焙、酒品、調味品及營養保健產品等，都是酵母菌導入的重要產業。因此，隨著各式各樣的應用產品興起與產品的開發和創新，連動國內酵母原料的需求量增加，國內相關產業希望得到多元且具特色的酵母菌株。

藉由本目錄對酵母菌特性之

資料收集、歸納、分析，提供產業界更為精準使用的數位參考資料庫，俾讓更多的酵母菌株，增加它的市場流通性。

四、智能客服 Dialogflow

在酵母菌配資訊平台上，為便利使用者在瀏覽及查找酵母菌相關問題時，能快速獲取正確的資訊，故該平台導入 Google Cloud 的開發工具「Dialogflow」來建立對話機器人，並透過 Google 所提供之 API (Application Programming Interface) 串接平台後端，藉由 Google 機器學習演算法的方式來設置即時 AI 線上客服。

其建置方法為預先整理客戶會提出常見且簡易的問與答內容，並於 Dialogflow 開發平台上建立客製化「語言資料庫」，先將常見之問題，建立對話意圖 (Intent)，新增相對應之回應，透過提問情境來執行要求，透過系統化的設計，來做出不同的階層，讓使用者在選擇不同選項時，有不同的回應，來真實解答客戶的問題，協助客戶加速釐清需求，節省人力成本 (圖 1)。

智能客服先以人性化的諮詢使用者稱謂及詢問服務內容，對

圖 1、智能客服

應以提供不同形式的服務功能，包括 (1) 常見問題，此為生資中心酵母菌研發團隊整理較為常見之基本問答項目；(2) 聯絡我們，由使用者留下 email 資訊及欲諮詢的問題內容，屆時後台管理員可以儘快將問題指派給專責酵母菌團隊負責人，加速解決使用者之需求；(3) 與智能客服對話，智能客服事先經由 Dialogflow 進行詞句回覆訓練，會分析使用者輸入的段落中是否有符合「語言資料庫」所建立過的關鍵字，透過關鍵字的關聯就能提供基本的回覆。藉由建置智能客服來模擬真人與客戶自然而準確的互動過程，可快速且有效率的協助客戶

解決問題。

五、結論

該酵母菌醃商業資訊化平台具有自主研發能力的菌醃及衍生產品產業鏈，進而提升整體能力，促進其相關產業發展，除可作為我國發展特色酵母菌醃產業的基礎外，更可應用此特色原料，立足台灣，放眼國際，發展特色且多元的差異化產品。同時讓相關業者可不受時間、區域限制留下問題，藉由資訊技術讓訊息傳遞不中斷，以降低資訊斷點推廣行銷本土特色酵母菌醃、技術產出及亮點成果。

var. *tritici*、*Colletotrichum* spp. 等植物病害真菌所引起的幼苗立枯病、枯萎病、猝倒病、白絹病、疫病等土傳病害以及炭疽病，是優異的生物製劑成分 (Tyśkiewicz *et. al.*, 2022)。

全球真菌生物防治產品的市場目前以木黴菌產品佔大宗，國際間已有 70 餘種木黴菌製劑上市，使用菌種涵蓋 13 個種 36 株菌，分別為 *T. asperellum* (9 株)、*T. afroharzianum* (1 株，曾鑑定為 *T. harzianum*)、*T. atroviride* (8 株)、*T. atrobrunneum* (1 株)、*T. asperelloides* (1 株)、*T. fertile* (1 株)、*T. gamsii* (1 株)、*T. harzianum* (7 株)、*T. hamatum* (1 株)、*T. polysporum* (1 株)、*T. stromaticum* (1 株)、*T. virens* (1 株) 以及 *T. viride* (3 株)，由於木黴屬近年的分類學修訂，產品菌名仍待依據新的分類系統重新鑑定，以精準統計木黴菌製劑使用的菌種學名 (Tyśkiewicz *et. al.*, 2022)。

作物與土壤微生物之間存在共生關係，包括促進植物生長的細菌與真菌，被認為是天然的生物刺激素；木黴菌屬於促進植物生長的真菌，透過強化植物生長和重編程根和芽中的基因表現，幫助植物對於逆境有更好的抗性，例如鹽度以及乾旱 (López-Bucio *et al.* 2015)，木黴菌定殖在植物根部可促進養分的吸收與傳輸，使植株有效利用氮磷鉀及微量元素，也促使植株提高抗病能力；另一方面，木黴屬菌種可產生多種酵素，有助於加速堆肥過程並改善堆肥腐殖化，因此使用木黴菌可提高作物的產量與品質 (Awad-Allah *et al.*, 2022; Tyśkiewicz *et. al.*, 2022)。

在農業領域，木黴屬菌種可抑制植物病原菌、促進作物生

木黴屬真菌資源之收存與產業應用性

生物資源保存及研究中心 / 研究員
劉桂郁 / 魏育慧

木黴屬 (*Trichoderma*) 隸屬於真菌界子囊菌門，廣泛分佈於自然界，是環境中常見的黴菌，其物種多樣且豐富，在土壤、腐木、種籽、植物殘體、有機肥和空氣中，甚至是真菌的子實體上都可發現它們的存在。

木黴菌具有生長迅速、抗病性強及生產成本低廉等優點，是多用途並具有高經濟價值的真菌，除了應用於作物病害之生物防治外，因其分泌多種酵素，這些酵素已被大量開發並應用於酒精、紡織、造紙、飼料等工業與其他相關產業，並產生豐富的二次代謝產物，是值得重視與開發的微生物。

一、木黴屬的應用與經濟價值

(一) 農業

1932 年農業學家 Weindling 發現 *Trichoderma lignorum* (現行菌名為 *Trichoderma viride*) 可以寄生多種土傳病害真菌可防治植物病害，木黴的抗真菌與防治植物病害的特性開始受到矚目。木黴菌減少植物病害發生的機制包括對營養和空間的競爭、抗真菌代謝物的合成、超寄生、產生降解真菌植物病原體細胞壁的裂解酶以及植物抗性的誘導，不同作用機制之間往往存在著協同作用，可防治 *Rhizoctonia solani*、*Fusarium* spp.、*Sclerotium rolfsii*、*Phytophthora* spp.、*Pythium* spp.、*Alternaria* spp.、*Verticillium* spp.、*Gaeumannomyces graminis*

長及提升其對逆境的抗性，並產生多樣化具有生物農藥活性的二次代謝物，可發展成生物製劑、生物肥料和生物刺激素產品。未來整合各種“組學”技術、次世代生物設計、機器學習和人工智慧之最新進展，將可強化木黴屬菌種生物勘探的目標 (Rush *et al.* 2021)。

(二) 工業

木黴屬真菌能夠產生多種酵素，如：纖維素酶 (cellulases)、葡聚糖酶 (glucanases)、果膠酶 (pectinases) 和木聚糖酶 (xylanases) 等，可用於紡織、造紙、食品、去污劑生產及動物飼料加工等。目前，纖維素酶的生產主要是採用微生物發酵的方法，以絲狀真菌為主，商業生產木質纖維分解酵素大多採用里氏木黴 (*Trichoderma reesei*)，已有數十年之生產歷史，被認為是安全的酵素生產菌種 (Arnau *et al.*, 2020)。

(三) 環保

木黴屬菌種 *T. harzianum*、*T. koningii*、*T. viride* 可應用於淤泥、污水與工業廢水的生物降解或生物修復 (Saravanan *et al.* 2019; Verma *et al.*, 2019)，也可分解土壤中殺蟲劑、除草劑或有機汙染物等有毒的化學物質 (Escudero-Leyva *et al.*, 2022; Tyśkiewicz *et al.*, 2022)。

(四) 醫藥

木黴屬真菌可說是二次代謝物的寶庫，產物包括 Terpenoids、Cyclopeptides、Diketopiperazines、Alkaloids 及其他含氮化合物、Polyketides 等類別，曾被研究過的木黴屬菌種包括 *T. harzianum*、

表一、生資中心保存之木黴菌資源

菌種學名	數量	分離來源
<i>Trichoderma afroharzianum</i>	5	底泥、植物葉及根部
<i>Trichoderma aggressivum</i>	1	菇類堆肥
<i>Trichoderma asperelloides</i>	16	土壤、腐木、植物根部、海藻
<i>Trichoderma asperellum</i>	8	土壤、苔蘚、廢水、菇菌子實體、病原真菌之菌核
<i>Trichoderma atroviride</i>	8	土壤、腐木、菇菌子實體
<i>Trichoderma breve</i>	5	土壤
<i>Trichoderma cerinum</i>	1	堅果樹皮
<i>Trichoderma citrinoviride</i>	4	土壤、腐木、灰塵、
<i>Trichoderma crassum</i>	2	土壤、腐木
<i>Trichoderma croceum</i>	1	土壤
<i>Trichoderma effusum</i>	1	土壤
<i>Trichoderma erinaceum</i>	1	土壤
<i>Trichoderma fasciculatum</i>	1	樺木樹皮
<i>Trichoderma fertile</i>	1	土壤
<i>Trichoderma flavofuscum</i>	1	土壤
<i>Trichoderma ghanense</i>	2	木頭
<i>Trichoderma guizhouense</i>	10	土壤、蛭蟪
<i>Trichoderma hamatum</i>	11	土壤
<i>Trichoderma harzianum</i>	19	土壤、沉香木、腐木、腐葉、菇菌子實體
<i>Trichoderma helicum</i>	1	土壤
<i>Trichoderma inhamatum</i>	4	土壤、竹子
<i>Trichoderma konilangbra</i>	1	土壤
<i>Trichoderma koningii</i>	5	土壤、腐木
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	5	土壤、植物葉表
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	2	淤泥、廢水
<i>Trichoderma longipilis</i>	1	榆木
<i>Trichoderma minutisporum</i>	2	土壤
<i>Trichoderma oblongisporum</i>	1	美西側柏木
<i>Trichoderma parapiluliferum</i>	2	土壤
<i>Trichoderma paratroviride</i>	2	土壤
<i>Trichoderma parceramosum</i>	5	土壤及枯木腐葉
<i>Trichoderma petersenii</i>	2	土壤、腐木
<i>Trichoderma polysporum</i>	5	土壤、腐木、腐葉
<i>Trichoderma protrudens</i>	1	土壤
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	2	土壤
<i>Trichoderma pubescens</i>	1	土壤
<i>Trichoderma reesei</i>	9	沉香木、飼料、棉帆布
<i>Trichoderma rossicum</i>	1	土壤
<i>Trichoderma saturnisporum</i>	1	土壤
<i>Trichoderma simmonsii</i>	3	土壤
<i>Trichoderma simplex</i>	1	土壤
<i>Trichoderma sinensis</i>	2	土壤、樹皮
<i>Trichoderma spirale</i>	8	土壤、腐木
<i>Trichoderma strictipile</i>	1	木頭
<i>Trichoderma strigosum</i>	1	土壤
<i>Trichoderma stromaticum</i>	1	枯枝
<i>Trichoderma tomentosum</i>	1	樹皮
<i>Trichoderma trixiae</i>	2	土壤
<i>Trichoderma velutinum</i>	1	土壤
<i>Trichoderma virens</i>	7	土壤、廢水、甘藍根
<i>Trichoderma viride</i>	2	土壤、黃瓜根
<i>Trichoderma viridialbum</i>	1	土壤
<i>Trichoderma spp.</i>	21	土壤、沉香木、樹皮、腐木

T. brevicompactum、*T. virens*、*T. gamsii*、*T. atroviride*、*T. longibrachiatum*、*T. asperellum*、*T. koningiopsis*、*T. koningii*、*T. citrinoviride*、*T. neokongii*、*T. spirale*、*T. afroharzianum*、*T. polypore*、*T. polyalthiae*、*T. erinaceum*以及*T. cremeum*等 17 個種，其中代謝產物較豐富的種為*T. harzianum*與*T. brevicompactum*。這些代謝產物具有抗菌、抗微藻、抗癌、抑制酵素、除草與殺線蟲等生物活性，研究評估較多的生物活性為抗菌 (25.88%)、抗癌 (20.61%) 以及抗微藻 (17.98%)，具有開發新藥的潛力 (Zhang *et al.*, 2021)。

二、生資中心之木黴屬資源與菌種鑑定服務

木黴屬真菌廣泛應用於農業、工業、環保、製藥等領域，所以生資中心也收存豐富的台灣本土木黴菌資源，截至目前收存之木黴菌共 200 株，隸屬於 52 個菌種以及尚未被描述的新種，其中 59.5% 菌株分離自台灣，分離來源以土壤及腐木為主，而*T. asperelloides*、*T. asperellum*、*T. atroviride*、*T. guizhouense*、*T. hamatum*、*T. harzianum*、*T. reesei*、*T. spirale* 與 *T. virens* 等菌種有收存較多量的分離株 (表一)，文獻顯示這些木黴菌具有產業應用潛力。

近年分子類緣分析技術已廣泛應用於木黴菌系統分類與菌種鑑定，國際間使用於商品開發的木黴菌亦陸續被重新鑑定 (Chaverri *et al.*, 2015)，因此菌種經過精準的鑑定方可與國際間木黴菌的開發應用以及安全性評估之資訊接軌。生資中心之微生物學名鑑定服務乃依據多相分類學

技術，結合表現型特徵與識別性 DNA 序列分析結果進行菌名的鑑定，此外為切合不同階段之研發需求，提供客製化鑑定之規劃與服務。生資中心以多樣化的木黴屬資源配合產品研發提供鑑定服務，期能支持國內綠色農業、資源循環與零廢棄之理念與技術，實現生物經濟與永續發展的目標。關於木黴屬真菌收存資源之相關資訊與客製化服務方案，歡迎聯繫劉桂郁研究員 (03-5223191 轉 582) 或電子郵件 (gyl@firidi.org.tw) 洽詢。

參考文獻

- Arnaud, J. *et al.* 2020. In: Nevalainen H. Grand challenges in fungal biotechnology. Springer Nature Switzerland Pte Ltd.
- Awad-Allah, EFA. *et al.* 2022. Agriculture 12:1950.

- Chaverri, P. *et al.* 2015. Mycologia 107:558–590.
- Escudero-Leyva, E. *et al.* 2022. Front. Agron. 3:772170.
- López-Bucio, J. *et al.* 2015. Hortic. Sci. 196:109–123.
- Rush, TA. *et al.* 2021. Front. Fungal Biol. 2:716511.
- Saravanan *et al.* 2019. Desalin. Water Treat. 156:370–377.
- Ty kiewicz, R. *et al.* 2022. Int. J. Mol. Sci. 23:2329.
- Verma, T. *et al.*, 2019. In: Singh, R.L. and Singh, R.P. Advances in Biological Treatment of Industrial Waste Water and their Recycling for a Sustainable Future. Springer Nature Singapore Pte Ltd.
- Zhang JL. *et al.* 2021. Front. Microbiol. 12:723828.

台灣東沙島環礁潟湖分離之新穎性弧菌

生物資源保存及研究中心 / 研究員 / 副研究員
王俐婷 / 林詩婷

近年來，由於生物科技發展迅速，海洋微生物的分離保存與分類鑑定更加簡易，加上海洋微生物發酵工程知識的累積，使得海洋微生物成為許多國家和科學家重視的研究範疇。地球上海水覆蓋的面積約佔 70%，海洋生物資源想必具有豐富之多樣性，應持續探索並予以長期保存，讓海洋微生物資源永續生存，對於生物多樣性保育和支撐台灣未來的生技與製藥科技產業是迫切且重要的研究主題。

東沙環礁國家公園是臺灣第

一座海洋型國家公園，以獨特的環礁地景、繽紛的珊瑚、海草床生態及珊瑚砂島為特色，範圍以東沙環礁為核心，向外延伸 12 海浬，面積 353,668 公頃，目前係以環境資源保育與復育、深化海洋學術研究為發展目標，尚未開放民眾登島遊憩活動，讓東沙島保持最自然的環境。國立台灣大學海洋研究所謝文陽教授與其研究團隊多年來致力於系統性探索與收集保存台灣海洋環境蘊藏的細菌資源，近年來，於人為活動較少的東沙島環礁自然環境探索

新穎性海洋細菌，並將其保存於食品所生資中心，讓這些海洋細菌得以永續保存應用。

謝文陽教授研究團隊於東沙島環礁瀉湖採樣，利用嫌氣增菌培養法從東沙島環礁瀉湖沉積物樣本中分離出四十多株海洋兼性嫌氣性發酵細菌，其中發現兩株分離株 NFV-1^T 和 DNF-1^T 可能為弧菌屬 (*Vibrio*) 的新穎性菌種。目前所知的海洋兼性嫌氣性發酵細菌大多屬於弧菌科 (*Vibrionaceae*) 中的 *Vibrio*、*Photobacterium*、*Aliivibrio*、*Salinivibrio*、*Enterovibrio*、*Grimontia* 等菌屬，另外有十多種兼性嫌氣性發酵細菌是屬於 *Aeromonadaceae* 科中的 *Dongshaea*、*Oceanimonas*、*Oceanisphaera*、*Zobellella* 等菌屬。

弧菌科包含 12 個菌屬，*Aliivibrio*、*Catenococcus*、*Echinimonas*、*Enterovibrio*、*Grimontia*、*Listonella*、*Paraphotobacterium*、*Photobacterium*、*Salinivibrio*、*Thaumasvibrio*、*Veronia* 和 *Vibrio*，可在各種海洋棲地或各種海洋環境中發現。弧菌屬是弧菌科中菌株數量占比最多的屬，截至目前為止，弧菌屬共有 146 個被國際原核生物系統分類委員會承認之有效菌種學名 (<https://lpsn.dsmz.de/genus/vibrio>)。弧菌屬菌株大都為革蘭氏陰性的桿狀細菌，屬於兼性厭氧性細菌，可在有氧或無氧環境下生長繁殖，分佈於淡水、河口和海洋環境中。弧菌屬菌株有特殊之基因組和生物學特徵，其基因組具有兩條染色體，是由重組和水平基因轉移而來，弧菌屬菌株可以藉由水平基因轉移從海洋環境中的其他菌株獲取遺傳物質，因此弧菌屬菌株的基因組差異比較大。在

生物學上，弧菌屬菌株喜歡帶有鹽度且水溫溫暖的環境 (Baker-Austin *et al.*, 2018)。弧菌屬中常見的致病菌有霍亂弧菌 (*Vibrio cholerae*)、副溶血性弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*)、創傷弧菌 (*Vibrio vulnificus*) 和溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*)。這些致病菌的感染明顯有季節性分佈，大多數病例發生在溫暖的月份，感染通常是藉由接觸受污染的水，或食用生的、未煮熟的、受污染的海鮮而引發，並在人類中引起多種症狀。霍亂弧菌會引起嚴重的腹瀉疾病，副溶血性弧菌會導

致胃腸炎，創傷弧菌會經由傷口感染導致繼發性敗血症，溶藻弧菌會從傷口造成感染。儘管霍亂在已開發國家中很少見，但仍然是全世界發病率和死亡率最高的疾病，特別是在亞洲、非洲和拉丁美洲等發展中國家，因為這些區域的人口密度高，衛生條件差，無法獲得安全的飲用水。近幾年在已開發國家陸續發現非霍亂弧菌造成的弧菌炎，主要是因為溫室效應造成海洋溫度升高，這有利於弧菌的生長與傳播 (Baker-Austin *et al.*, 2018)。

生資中心與謝文陽教授研

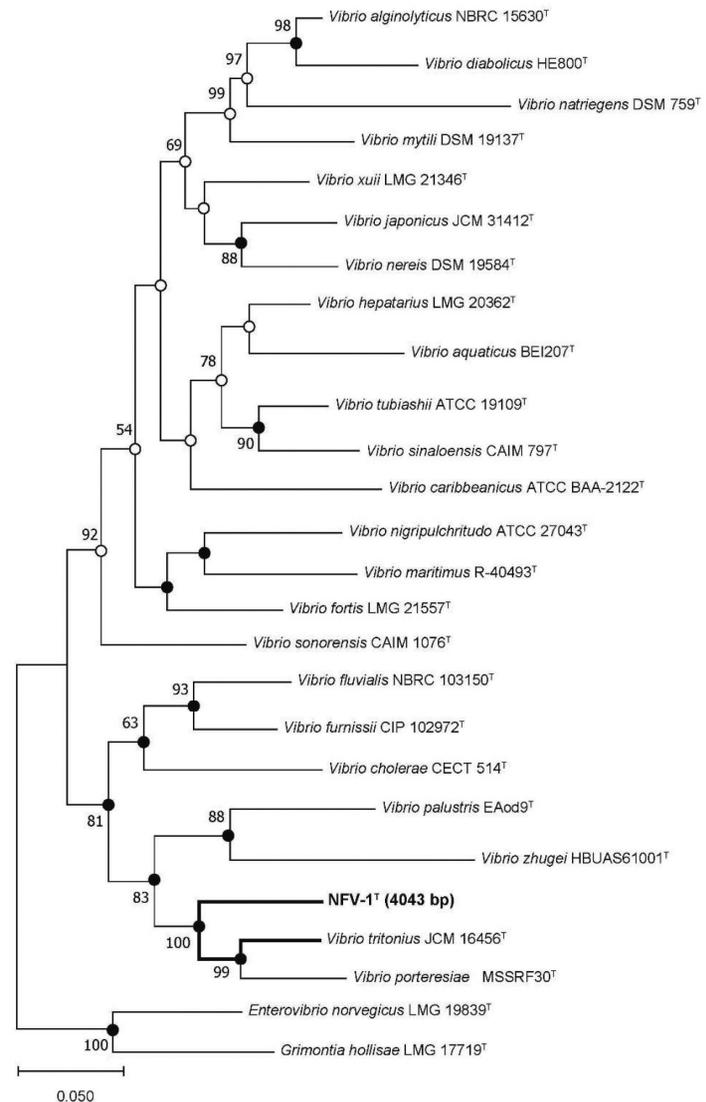


圖 1、分離株 NFV-1^T 與弧菌屬相近菌種之 16S rRNA 基因和持家基因 *gyrB*、*ftsZ*、*mreB*、*gapA*、*topA* 合併建構之類緣演化樹。

究團隊合力針對這兩株分離株 NFV-1^T 和 DNF-1^T 進行特性研究與分類地位探討。根據 16S rRNA 基因序列相似性 (%)，以及 16S rRNA 和持家基因合併建構之類緣演化樹分析 (圖 1 和圖 2)，分離株 NFV-1^T 與 *Vibrio tritonius* JCM 16456^T (97.4%) 和 *Vibrio porteresiae* MSSRF30^T (96.3%) 構成一個分支群，分離株 DNF-1^T 與 *Vibrio albus* E4404^T (94.8%) 構成一個分支群，顯示分離株 NFV-1^T 和 DNF-1^T 都是隸屬於弧菌屬的成員，但可能為不同的新穎性菌種。

根據形態觀察和生理特徵分析，分離株 NFV-1^T 和 DNF-1^T 皆為革蘭氏陰性、兼性厭氧、生長需氯化鈉，有運動性並具有單鞭毛的桿菌 (圖 3)，最佳生長條件是溫度 25~30°C、酸鹼度 pH 7~8 和氯化鈉濃度 2~3 % 之環境。分離株 NFV-1^T 主要的脂肪酸組成為 C_{16:1} ω7c、C_{16:0} 和 C_{18:1} ω7c，而分離株 DNF-1^T 為 C_{14:0}、C_{16:0} 和 C_{16:1} ω7c。分離株 NFV-1^T 主要的極性脂質由 phosphatidylethanolamine 和 phosphatidylserine 組成，而分離株 DNF-1^T 由 phosphatidylethanolamine 和

phosphatidylglycerol 組成。全基因組分析顯示分離株 NFV-1^T 和 DNF-1^T 的基因體大小分別為 5.5 和 4.5 Mb (megabase)，G+C 含量分別為 42.5 和 42.2 mol%，這兩株分離株和弧菌屬菌種的 ANI 值皆小於 73%，而 dDDH 值皆小於 23%。

綜合形態觀察、表現型和基因型特徵分析等分類研究數據，顯示分離株 NFV-1^T 和 DNF-1^T 應為弧菌屬中的二個不同新種，分別將其命名為 *Vibrio nitrifigilis* 和 *Vibrio salinus* 並投稿至國際期刊 *Antonie van Leeuwenhoek* (Huang *et al.*, 2021; Huang *et al.*, 2022)。*Vibrio nitrifigilis* 和 *Vibrio salinus* 的模式菌株 NFV-1^T 和 DNF-1^T 分別寄存於台灣生物資源保存及研究中心 (BCRC 81211^T 和 BCRC 81209^T) 及日本生物資源中心 (JCM 33628^T 和 JCM 33626^T)。*Vibrio nitrifigilis* 和 *Vibrio salinus* 都已通過國際分類期刊 *IJSEM* 審核認可，分別列於 2021 年和 2023 年公告的 Validation List no. 202 和 Validation List no. 209，成為國際原核生物系統分類委員會承認之有效學名。

氮是生物體的限制性營養素，雖然空氣中含有 80% 氮氣，但無法被大多數生物體吸收利用。當氮氣溶解到海洋表面的海水中，氮氣會被微生物吸收並轉化為有用的形式如銨 (NH₄⁺)，這個動作稱為固氮作用，轉成銨形式的氮元素，才能進入生物體內，成為食物鏈中的初級生產者，供其他生物利用。海洋中的自營或異營細菌具有固定氮氣的功能，有少數的弧菌屬菌種是固氮菌，例如 *Vibrio diazotrophicus*、*Vibrio natriegens*、*Vibrio cincinnatiensis*、*Vibrio*

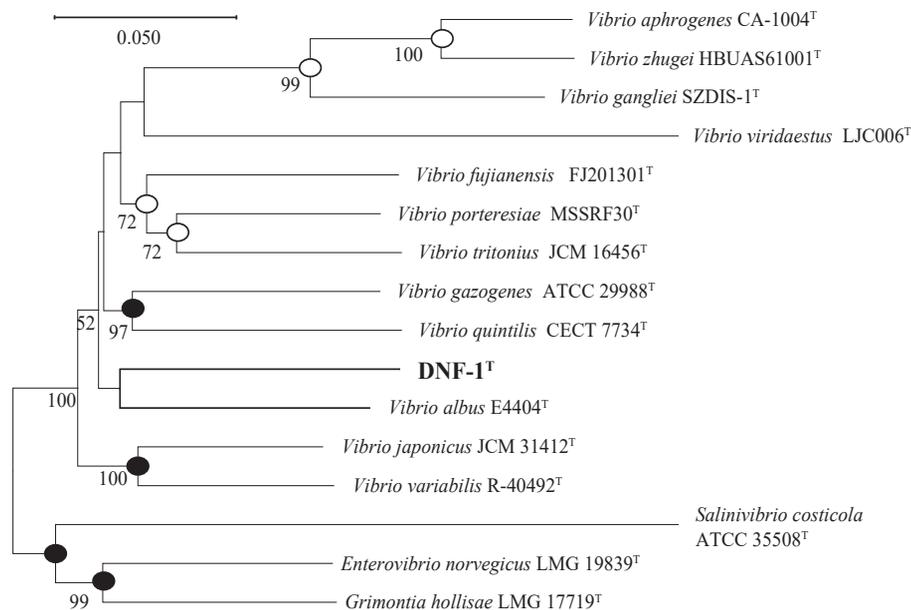


圖 2、分離株 DNF-1^T 與弧菌屬相近菌種之 16S rRNA 基因和持家基因 *gapA*, *pyrH*, *recA*, *gyrB* 合併建構之類緣演化樹。

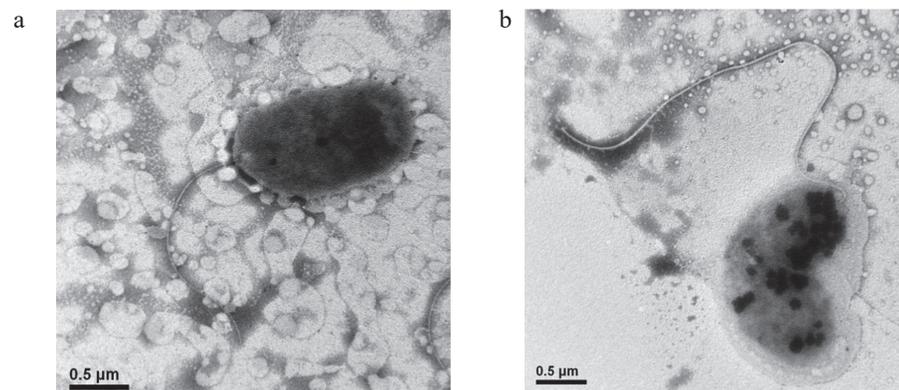


圖 3、電子顯微照片。a. 分離株 NFV-1^T 菌體；b. 分離株 DNF-1^T 菌體。

oceanisediminis、*Vibrio pelagius* 和 *Vibrio plantisponsor*，目前已知這些弧菌屬細菌在海洋氮平衡上盡一些棉薄之力。根據固氮實驗結果顯示 NH_4Cl 可以作為有氧和厭氧生長的唯一氮源，而 N_2 是厭氧生長的唯一氮源，表明分離株 NFV-1^T 和 DNF-1^T 在厭氧環境下會進行固氮作用。此外，這兩株分離株皆具有將硝酸鹽還原為氮氣（脫氮作用 Denitrification）之能力，但是無法將硝酸鹽還原為亞硝酸鹽，可見這兩株分離株在東沙島環礁瀉湖中的氮循環扮演一定之角色。弧菌屬新種 *Vibrio nitrifigilis* 與 *Vibrio salinus* 的發現，意謂東沙島環礁瀉湖中還有

不少未知的新穎海洋細菌有待去探索與發掘。

參考文獻

- Baker-Austin C. *et al.*, 2018. Nat Rev Dis Primers. 4:8-26.
 Huang, WS. *et al.*, 2021. Antonie van Leeuwenhoek. 114:933-945.
 Huang, WS. *et al.*, 2022. Antonie van Leeuwenhoek. 115:1203-1214.
 Oren A., Garrity GM. 2021. Validation list no. 202. Int J Syst Evol Microbiol. 71:5096.
 Oren A., Göker M. 2023. Validation list no. 209. Int J Syst Evol Microbiol. 73:5709.

陸續發現豬隻的生長特性與其腸道微生物菌群的關聯性，並且通過對豬的因果研究證實普氏菌 (*Prevotella copri*) 可以促進脂肪積累 (Chen *et al.*, 2021)。近年來國外學者已陸續進行豬隻的腸道菌群培養項目。

2021 年藉由執行農委會計畫與畜試所合作，藉由採集高雄種畜繁殖場中“高畜黑豬”之糞便樣品作為標的，進行台灣本土黑豬之腸道厭氧微生物之菌種資源庫建立。畜試所選育出的高畜黑豬 (圖一)，是利用具有多產特性的梅山豬及高產肉特性的杜洛克豬作為種原，歷經 7 個世代選育，並進行基因型分析鑑定，成為國內第一頭利用基因選種，帶有純合型多產基因 (MM) 與抗緊迫基因 (AA) 之黑豬，並在 2009 年 10 月 30 日通過命名 (擷取自 2010 年，農學報導—多產又抗壓，基因選種誕生「高畜黑豬」)。

此糞便樣品經系列稀釋、厭氧培養、質譜篩選及菌株單離後，再經 16S rRNA 基因序列分析，初步鑑定共得 76 株分離株，其中包括 37 個菌屬，70 個菌種別，內含 24 個新種。分離株 KD337-

台灣黑豬糞便分離之新穎性菌種

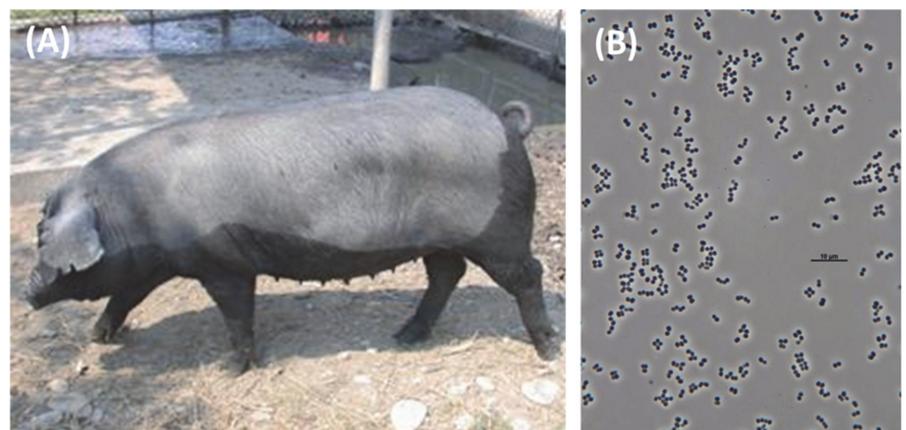
Micrococcus porci

生物資源保存及研究中心 / 副研究員
李艾芸

豬肉於亞洲飲食文化中佔據非常重要的地位，以往亞洲國家口味偏好肌內脂肪量高於 2% 的豬肉，多以 LYD 商用洋白豬種為最首要，即由藍瑞斯 (L) 和約克夏 (Y) 雜交生下的母豬，再與杜洛克 (D) 公豬配種所生下豬仔做為肉豬，然而隨著時代演變，兼具美味又相對健康的黑豬肉逐漸成為國人新盛的選項。

黑豬生長期較白豬長，其腸道消化系統分解粗纖維的能力較佳。肉色鮮紅富含鐵質，肉質鮮甜、嫩度佳，且其肌內油質富含健康的不飽和脂肪酸等優點皆使黑豬肉成為老饕的最愛。然而豬不僅是人類飲食的重要蛋白質來源，且其為人類可運用之最接

近人體生理的哺乳類動物，以豬隻做為動物模式的相關科學研究也顯得越來越重要。近代科學已

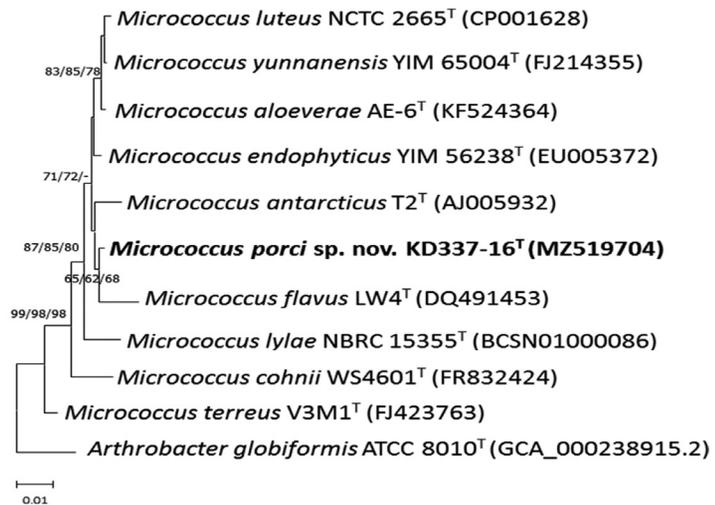


圖一、從台灣本土黑豬—高畜黑豬糞便分離之 *Micrococcus porci* KD337-16^T (BCRC 81318^T)。(A) 高畜黑豬 (圖片引用至 <https://kmweb.coa.gov.tw/subject/subject.php?id=20804>); (B) 分離株 KD337-16^T 之菌體顯微照片。

16^T 以 MALDI-TOF MS 質譜分析進行菌種鑑別時，質譜分數低於 1.7 分，無法得到可靠的菌名判別，進一步使用 16S rRNA 基因序列之親緣演化樹分析，顯示其隸屬於 *Micrococcus luteus* 菌群中 (圖二)。

截至目前為止，*Micrococcus* 屬被國際原核生物系統分類委員會承認之有效學名共有 9 個菌種，*M. aloeverae*、*M. antarcticus*、*M. cohnii*、*M. endophyticus*、*M. flavus*、*M. luteus*、*M. lylae*、*M. terreus* 和 *M. yunnanensis* (<https://lpsn.dsmz.de/genus/micrococcus>)

。有鑑於本實驗室的先前研究發現，在基因型和表現型特徵上，*M. aloeverae*、*M. endophyticus*、*M. luteus*、*M. yunnanensis*、*M. antarcticus* 和 *M. lylae* 物種密切相關，共同構成 *M. luteus* 群，此菌群無法單以 16S rRNA 基因進行種間區分，而使用 *gyrB*、*recA* 和 *rpoB* 等持家基因可得到較良好的菌種區分力 (Huang *et al.*, 2019)。進一步利用持家基因串聯



圖二、*Micrococcus porci* KD337-16^T 與 *Micrococcus* 屬相近菌種之 16S rRNA 基因親緣演化樹。

序列 (表一)、全基因體序列的 ANI 及 dDDH 分析 (表二) 等方法，確立分離株 KD337-16^T 應為 *Micrococcus* 屬中的新穎性菌種。整併生理生化試驗、細胞壁脂肪酸組成及極性脂質分析等實驗數據，綜合新種研究結果，將其命名為 *Micrococcus porci* 並投稿至 Life 期刊 (Lee, *et al.*, 2022)。模式菌株為分離株 KD337-16^T，同時寄存於台灣生物資源保存及研

究中心 (BCRC 81318^T) 及日本生物資源中心 (NBRC 115578^T)。此菌名已通過國際分類期刊 IJSEM 審核認可，將公告於 2023 年 Validation List no. 211，成為國際原核生物系統分類委員會承認之有效學名。

M. porci KD337-16^T 的基因組大小為 2.64 Mb，G+C 含量為 73.0 mol%；可在 15-40 °C、pH 6-11 及 0-10% (w/v) NaCl 等環

表一、*Micrococcus porci* KD337-16^T 與 *Micrococcus* 相近菌種之持家基因序列相似度

Species	Strain No.	Other Deastination	Sequence similarity (%) with strain KD337-16 ^T				
			16S	<i>gyrB</i>	<i>recA</i>	<i>rpoB</i>	MLSA
<i>M. endophyticus</i>	BCRC 16908 ^T	YIM 56238 ^T	99.5	86.9	96.3	92.9	91.6
<i>M. luteus</i>	BCRC 80739 ^T	NCTC 2665 ^T	99.1	86.7	94.4	91.8	90.6
<i>M. yunnanensis</i>	BCRC 80243 ^T	YIM 65004 ^T	99.1	87	94.4	91.7	90.5
<i>M. aloeverae</i>	BCRC 80870 ^T	AE-6 ^T	99.1	85.8	94.6	91.7	90.1
<i>M. antarcticus</i>	T2 ^T	CGMCC 1.2372 ^T	98.9	ND	ND	ND	ND
<i>M. flavus</i>	BCRC 80069 ^T	LW4 ^T	98.7	86.5	93.9	92.3	90.1

表二、*Micrococcus porci* KD337-16^T 與 *Micrococcus* 相近菌種之 ANI 及 dDDH 值

Species	Strain	Accession no	1	2	3	4	5	6
1 <i>M. porci</i> sp. nov.	KD337-16 ^T	CP083691	100.0	34.0	24.4	34.9	34.4	24.6
2 <i>M. endophyticus</i>	BCRC 16908 ^T	SPKR00000000	86.6 ^a / 83.2 ^b	100.0	43.3	44.2	44.0	32.7
3 <i>M. luteus</i>	NCTC 2665 ^T	GCA_900475555.1	82.1 / 78.1	90.9 / 89.9	100.0	77.8	77.9	23.2
4 <i>M. yunnanensis</i>	BCRC 80243 ^T	SMVL00000000	86.3 / 86.1	91.0 / 91.7	97.1 / 97.6	100.0	85.0	30.9
5 <i>M. aloeverae</i>	BCRC 80870 ^T	SMVK00000000	86.6 / 86.0	90.6 / 91.4	97.5 / 97.8	98.1 / 98.6	100.0	31.0
6 <i>M. flavus</i>	BCRC 80069 ^T	SPKS00000000	82.2 / 80.2	86.4 / 83.6	80.6 / 77.4	84.9 / 84.4	85.4 / 84.2	100.0

境中生長，其生理生化特性可以下列鑑定套組及其測試反應，將其與相近菌種進行區分，例如 *M. porci* KD337-16^T 於 API ZYM 和 API 20E 套組中的 Cystine arylamidase 及 Gelatinase 測試為陽性反應；於 Biolog GEN III 系統中的 4% NaCl、8% NaCl、D-Maltose、D-Turanose、 α -D-Glucose、p-Hydroxy-phenylacetic acid、L-Lactic acid 及 α -Hydroxy butyric acid 反應皆為陽性。

從先前的研究發現 *Micrococcus* 屬菌株的棲息地廣布，包括人體皮膚、永久低溫樣品、活性污泥、植物的內部組織、土壤、乳製品廢物、空氣和幾種魚類的腸道，甚至被描述為具有成為伺機性病原菌的可能性。而從近年 *Micrococcus* 屬的相關研究來看，也具有商業開發的可能性，包括生產具有抗菌抗癌效果的細菌色素—海膽酮 (echinenone)，用於發展抗癌藥物 (Shahin *et al.*, 2022)；探討其生物降解的能力，可用於減少高密度聚乙烯 (HDPE) 造成的塑料汙染 (Gupta *et al.*, 2022)，或減少馬拉硫磷類 (Malathion) 農業殺蟲劑的

殘留 (Dar *et al.*, 2022)；甚至是作為植物生長促進劑，影響植物根系的生長等，應用性值得學者更進一步的研究與開發。

參考文獻

- 2010 年。農學報導—多產又抗壓，基因選種誕生「高畜黑豬」。https://kmweb.coa.gov.tw/theme_data.php?theme=news&sub_theme=variety&id=53283
- Chen, C. *et al.* 2021. *Microbiome*. 9:175. doi: 10.1186/s40168-021-01110-0.
- Dar, MA. *et al.* 2022. *Arch Microbiol.* 204:482. doi: 10.1007/s00203-022-03106-2.
- Gupta, KK. *et al.* 2022. *Arch Microbiol.* 204:402. doi: 10.1007/s00203-022-03023-4.
- Huang, CH. *et al.* 2019. *Int J Syst Evol Microbiol.* 69:3512-3518. doi: 10.1099/ijsem.0.003654.
- Lee, AY. *et al.* 2022. *Life.* 12:1749. https://doi.org/10.3390/life12111749.
- Shahin, YH. *et al.* 2022. *Biology.* 11:1171. doi: 10.3390/biology11081171.

就可能誘發齲齒、牙周病和口腔念珠菌病等口腔疾病 (Lamont *et al.*, 2018)。文獻指出，許多癌症和全身性疾病的發展，都與口腔微生物群有關，如頭頸癌、胰腺癌和結直腸癌，以及類風濕性關節炎、高血壓、阿茲海默症和紅斑性狼瘡等 (Li *et al.*, 2022)。

口腔鱗片細胞癌 (oral squamous cell carcinomas, OSCC) 屬於廣義的頭頸癌，該癌症是台灣男性主要癌症死亡原因的第四位，其死亡及發生率逐年上升，且患者年齡有年輕化的趨勢 (Huang *et al.*, 2015)。目前為止，侵入式活體切片檢查是當前診斷 OSCC 的黃金標準。可靠且可預測口腔癌前病變的生物標記，目前依舊闕如。

食品所生資中心與成功大學、奇美醫院三方合作，執行國科會 108 年度人體微生物相專案研究計畫，主題為「鑑定高風險惡轉口腔癌前病變的微生物菌相以發展早期診斷之應用」，目標從口腔微生物，找出可預測癌變的生物標記。生資中心負責之子計畫為「唾液菌相培養體學分析與活體菌庫建立」，期能利用微生物培養體學概念，建立唾液活體菌庫，供後續實證研究利用。

此研究計畫中的唾液樣品來自奇美醫院的口腔癌患者，採樣後 2 小時內送至生資中心厭氧操作艙，以各式培養條件，盡可能將樣品中的微生物培養出來，並輔以 MALDI-TOF MS 質譜分析快速鑑別分離株的菌種身份。在厭氧條件培養之後，共分離出 715 株分離株，隸屬於 26 個菌屬 (圖 1)。其中分離株 14-104^T，經由 16S rRNA 基因序列相似性比對分析顯示，

口腔癌患者唾液分離之新穎性厭氧菌

Phocaeicola oris

生物資源保存及研究中心 / 研究員
施朝仁

口腔微生物群是人類微生物組中，僅次於腸道，最豐富的族群。根據最新擴增版人類口腔微生物組資料庫 (expanded Human Oral Microbiome Database version 3.1, eHOMD V3.1) 顯示，目前

已有 774 種口腔微生物被鑑定出身份，包含細菌、古菌、真菌、病毒和原生動物。人類透過各種雙向交流和調節機制，與口腔微生物群落之間維持著穩定平衡的狀態。一旦口腔微生物群失調，

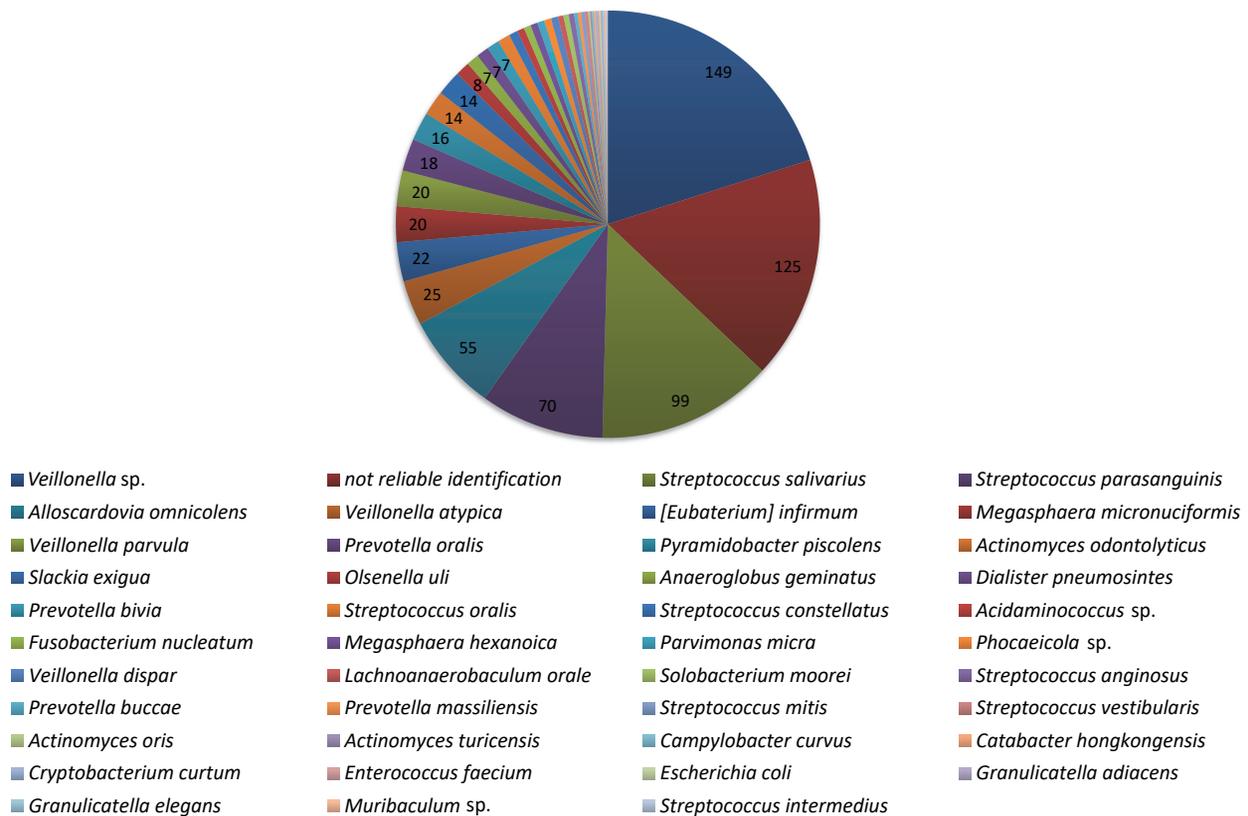


圖 1、分離自口腔癌患者唾液之 715 株厭氧分離株，以 MALDI-TOF MS 質譜分析進行菌種鑑別之歸群結果。

最接近的標準菌種為 *Bacteroides caecigallinarum* C13EG111^T (86.70%) 和 *Phocaeicola abscessus* CCUG 55929^T (86.58%)，推測此分離株可能為新穎性菌種。

進一步以類緣演化樹分析，分離株 14-104^T 和 *P. abscessus* CCUG 55929^T 被歸群為親緣關係最相近的群組 (圖 2)，顯示分離株 14-104^T 可能是 *Phocaeicola* 屬的新成員。全基因組分析顯示分離株 14-104^T 的基因體大小為 2.98 Mb，G+C 含量為 39.6 mol%。它和 *P. abscessus* CCUG 55929^T 的平均核苷酸一致性小於 71%，平均氨基酸一致性小於 76%，這些數據支持分離株 14-104^T 為 *Phocaeicola* 屬的新穎性菌種。

分離株 14-104^T 的菌形多變，當以液體培養時，細胞呈革蘭氏染色陽性且多為桿狀或

長鏈狀形態，單顆細胞長約 1.2-2.2 μm，寬約 0.3-0.5 μm，鏈長可達 8.0 μm (圖 3a)。若是培養在平板培養基上，細胞則多數變成大小不一的紡錘形，長寬約 0.5-2.3×2.8-20.2 μm，且革蘭氏染色傾向於陰性 (圖 3b)。當在含有 100 μg/mL 萬古黴素的液體培養基中培養時，分離株 14-104^T 的生長會被完全抑制，這與革蘭氏陽性菌的培養結果一致，因為革蘭氏陽性菌通常對萬古黴素敏感 (Kell et al. 2008)。有趣的是，在分離株 14-104^T 的基因組中可找到革蘭氏陰性菌的相關基因。截至目前為止，發表 *Phocaeicola* 屬的 14 個菌種都是革蘭氏陰性菌。根據基因組分析，分離株 14-104^T 應該是在特定生理狀態下為革蘭氏陽性菌，這種形態學和革蘭氏染色多形性可能是分離株 14-104^T 對環境條

件變化的特殊反應 (Meriläinen et al., 2015)。分離株 14-104^T 的細胞壁特性會隨著生長條件變化而改變的獨特性，值得更進一步的研究。

根據生理特性分析顯示，分離株 14-104^T 的最適生長酸鹼度為 pH 6-7，最佳生長溫度為 30 °C，在好氧及微好氧環境下則無法生長。即使在培養基添加 MnCl₂ 並經 45°C 熱休克誘導，分離株 14-104^T 依舊無孢子產生。

根據生化特性分析顯示，分離株 14-104^T 可以代謝葡萄糖、乳糖、蔗糖、麥芽糖、水楊苷、木糖、阿拉伯糖、纖維二糖、甘露糖、松三糖、棉子糖和海藻糖，但無法利用甘露糖醇、甘油、山梨糖醇和鼠李糖。具有 β-葡萄糖苷酶 (β-glucosidase) 活性，但不具脲酶、蛋白酶和過氧化氫酶活性，且不會產生吲哚 (indole)。

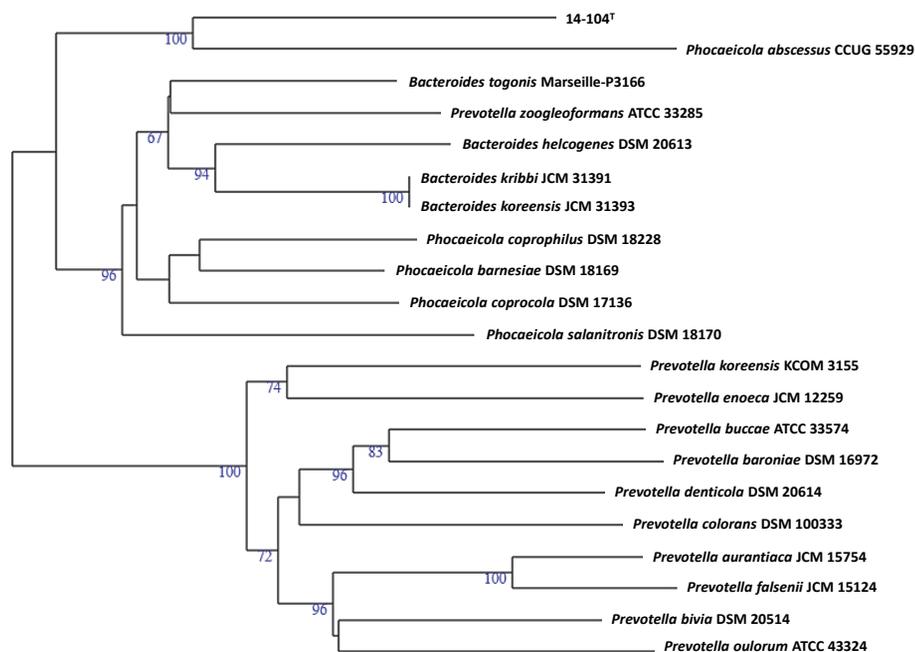


圖 2、分離株 14-104^T 與擬桿菌科內代表菌種之 16 rRNA 基因類緣演化樹。

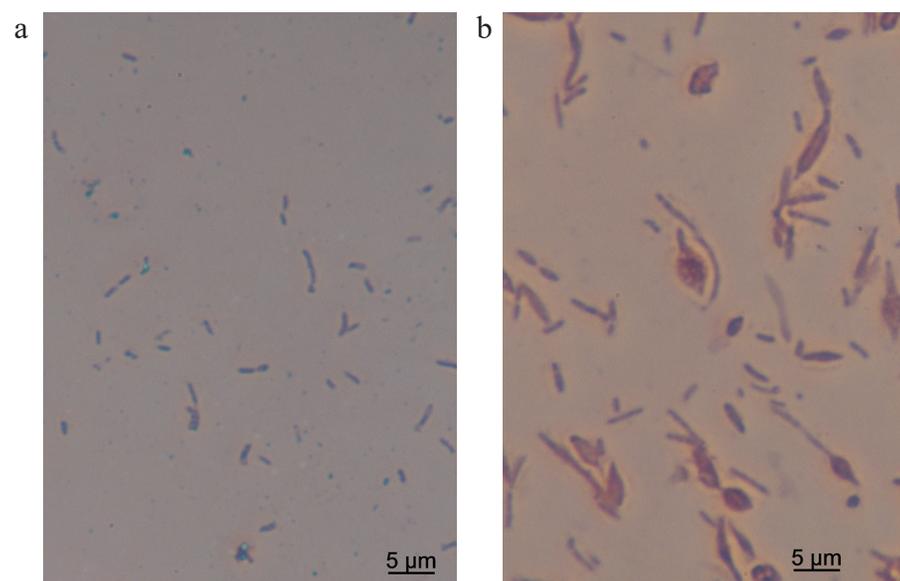


圖 3、分離株 14-104^T 經革蘭氏染色後的細胞形態。a 為液態培養細胞，b 為固態培養細胞。

主要脂肪酸組成爲 anteiso-C_{15:0} (27.8%) 及 C_{15:0} (20.0%)，此組成與 *Phocaeicola* 屬菌種相似。

總結來說，根據基因組、系統演化、形態學、生理學和生化學之分類數據，研判分離自口腔鱗片細胞癌患者唾液之分離株 14-104^T 應被歸類為 *Phocaeicola* 屬的新穎性菌種，是一株嗜中性、中溫、不產孢子、形態多變的絕對厭氧菌，將其命名為 *Phocaeicola oris* 並投稿至國際分類期刊 IJSEM (Chen *et al.*, 2023)。模式菌株為分離株 14-104^T，同時寄存於台灣生物資源保存及研究中心 (BCRC 81305^T) 及日本生物資源中心 (NBRC 115041^T)。此菌株與口腔鱗片細胞癌的關聯性則有待學者進一步的分析與研究。

參考文獻

- Chen, JW. *et al.* 2023. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 73:005703.
 Huang, CC. *et al.* 2015. *Oral Oncol.* 51:349-354.
 Kell, AJ. *et al.* 2008. *ACS Nano* 2:1777-1788.
 Lamont, RJ. *et al.* 2018. *Nat. Rev. Microbiol.* 16:745-759.
 Li, X. *et al.*, 2022. *Front. Microbiol.* 13. DOI: 10.3389/fmicb.2022.895537.
 Meriläinen L. *et al.* 2015. *Microbiology.* 161:516-527.

生物資源保存及研究簡訊 第133期

發行者：財團法人 食品工業發展研究所
 發行人：廖啓成所長
 主編：陳倩琪
 編輯：王俐婷、黃喬盈、吳明德、許璣文

本著作權依補助契約歸屬財團法人 食品工業發展研究所

地址：新竹市食品路 331 號
 電話：(03)5223191-6
 傳真：(03)5224171-2
 承印：國大打字行
 電話：(03)5264220
 ISSN：1021-7932
 GPN：2009001214
 中華郵政新竹誌字第0030號
 交寄登記證登記為雜誌交寄

