

恩诺沙星对蛭弧菌生长及吸附的影响

邓璐* 曹海鹏* 何珊 杨先乐**

(农业部渔业动植物病原库 上海海洋大学 上海 200090)

摘要: 本实验通过观察不同浓度恩诺沙星对固体培养条件下蛭弧菌产生噬斑和液体培养条件下蛭弧菌增殖的情况, 以及蛭弧菌在不同浓度恩诺沙星下吸附到载体上的情况, 研究了恩诺沙星对蛭弧菌 BDF-H16 生长及吸附的影响。实验发现: 2 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 和 50 $\mu\text{g/mL}$ 恩诺沙星对蛭弧菌 BDF-H16 噬斑的产生及增殖均具有抑制作用($P<0.05$)。在固体培养 72 h 后, 随着恩诺沙星浓度逐渐增大, 蛭弧菌 BDF-H16 产生的噬斑数目逐渐减少; 在液体培养 72 h 后, 随着恩诺沙星的浓度逐渐增高, 蛭弧菌 BDF-H16 的增殖浓度不断减少, 但 10 $\mu\text{g/mL}$ 恩诺沙星并没有改变蛭弧菌 BDF-H16 的生长趋势。此外, 以沸石作为吸附载体, 2 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 和 50 $\mu\text{g/mL}$ 恩诺沙星降低了蛭弧菌 BDF-H16 吸附量, 随着恩诺沙星浓度的增大, 蛭弧菌 BDF-H16 的吸附量逐渐降低, 而蛭弧菌 BDF-H16 的吸附率却在一定恩诺沙星浓度(2 $\mu\text{g/mL}$ ~20 $\mu\text{g/mL}$)下却有所升高($P<0.05$)。以上结果表明, 恩诺沙星对蛭弧菌 BDF-H16 噬斑的产生及增殖具有抑制作用, 但在有载体存在的情况下, 蛭弧菌的吸附能力在一定恩诺沙星浓度范围内有所增强, 添加载体沸石有助于降低恩诺沙星对蛭弧菌 BDF-H16 的不良影响。

关键词: 恩诺沙星, 蛭弧菌, 生长, 吸附

Effects of Enrofloxacin on the Growth and Attachment of *Bdellovibrio* Bacteria

DENG Lu* CAO Hai-Peng* HE Shan YANG Xian-Le**

(Aquatic Pathogen Collection Center of Ministry of Agriculture, SHOU, Shanghai 200090)

Abstract: In the experiment, the production of plaques by *Bdellovibrio* bacteria in solid medium cultivation, the reproduction of *Bdellovibrio* bacteria in liquid medium cultivation and the attachment of *Bdellovibrio* bacteria to carrier were observed, which aimed to study the effects of enrofloxacin on the growth and attachment ability of *Bdellovibrio* bacteria BDF-H16. Results indicated that in solid medium cultivation, the production of plaques by *Bdellovibrio* bacteria BDF-H16 was inhibited by different concentrations (2 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$, 20 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$) of enrofloxacin and the inhibitory effects of enrofloxacin became stronger with the increase of the concentration of enrofloxacin. Similarly, in liquid medium cultivation, the reproduction of *Bdellovibrio* bacteria BDF-H16 was also obviously inhibited by different concentrations of

基金项目: 上海市重点学科建设资助项目(No. Y1101); 上海市优秀青年教师科研专项基金(No. B-8101-08-0017); 上海海洋大学青年科研基金(No. A-0212-07-0251)

*共同第一作者

** 通讯作者: Tel: 021-65710870; ✉: xlyang@shfu.edu.cn

收稿日期: 2007-11-12; 接受日期: 2008-03-18

enrofloxacin and higher concentrations of enrofloxacin such as 10 $\mu\text{g/mL}$, 20 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$ had stronger inhibitory effects on the reproduction of BDF-H16. However, the growth tendency of *Bdellovibrio* bacteria BDF-H16 was not inhibited in 10 $\mu\text{g/mL}$ enrofloxacin. Additionally, when zeolite was added, enrofloxacin had also inhibitory effects on the numbers of *Bdellovibrio* bacteria BDF-H16 attached to zeolite. With the increase of the concentrations of enrofloxacin, the numbers of *Bdellovibrio* bacteria BDF-H16 attached to zeolite became smaller and smaller. However, the attachment rate of *Bdellovibrio* bacteria BDF-H16 to zeolite became higher under 2 $\mu\text{g/mL}$ –20 $\mu\text{g/mL}$ enrofloxacin. The results above showed that enrofloxacin had inhibitory effects on the plague production and reproduction of *Bdellovibrio* bacteria BDF-H16, but the attachment ability of *Bdellovibrio* bacteria BDF-H16 was strengthened in liquid medium cultivation with 2 $\mu\text{g/mL}$ –20 $\mu\text{g/mL}$ enrofloxacin and zeolite, and adding zeolite helped to reduce the adverse effects of enrofloxacin on *Bdellovibrio* bacteria BDF-H16.

Keywords: Enrofloxacin, *Bdellovibrio* bacteria, Growth, Attachment

蛭弧菌(*Bdellovibrio* sp.)是一种具有独特噬菌特性和吸附特性的革兰氏阴性细菌,其生活周期包括具有攻击力的游离蛭弧菌阶段和蛭弧体阶段^[1,2];蛭弧菌噬菌范围广,是天然水体生物控制因子,在防治鱼虾蟹细菌性疾病、改善养殖环境、促进水产动物生长方面具有显著的作用^[3]。恩诺沙星(enrofloxacin)是第3代喹诺酮类药物,已广泛应用于我国水产动物细菌性疾病的防治,其通常泼洒给药剂量为2 $\mu\text{g/mL}$ ~4 $\mu\text{g/mL}$,口服给药剂量为10 mg/kg ~20 mg/kg ^[4]。近年来,由于水产养殖者缺乏科学用药知识,在进行水产动物病害防治时,用药剂量往往超出多倍正常使用剂量,如2003年的“恩诺沙星”事件便是我国在水产养殖过程中滥用恩诺沙星现象的最好例证。恩诺沙星在养殖水体中的滥用势必会影响蛭弧菌的生存。目前,关于药物对蛭弧菌的影响,国外始于20世纪70年代初^[5],而国内未见专门报道。

本实验以1株异育银鲫肠道蛭弧菌BDF-H16为研究对象,旨在研究不同浓度恩诺沙星对蛭弧菌BDF-H16生长及吸附造成的影响,为恩诺沙星与蛭弧菌生物制剂在水产动物细菌性疾病防治上的合理应用提供佐证,同时也为水体环境保护提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验菌株

蛭弧菌BDF-H16(*Bdellovibrio* sp. BDF-H16),为本实验室从异育银鲫肠道分离纯化获得菌株^[6];大肠杆菌非致病菌株BYK00105-01-01(*Escherichia coli* BYK00105-01-01),作为蛭弧菌BDF-H16的增殖宿主菌,为上海水产大学农业部渔业动植物病原

库保藏菌株。

1.2 稀释液与培养基

普通营养肉汤(Nutrition broth, NB)(pH 7.2),用于培养大肠杆菌;1/10 NB(pH 7.2),用于培养蛭弧菌;生理盐水(pH 7.2),均在 1×10^5 Pa高压湿热灭菌20 min后备用。

自来水双层琼脂培养基,底层琼脂浓度为1.5%,上层琼脂浓度为0.6%。

1.3 恩诺沙星溶液的配制

称取0.2 g恩诺沙星标准品(购于Sigma公司)于100 mL容量瓶中,用0.1 mol/L的NaOH溶液溶解,定容至100 mL,配成2000 $\mu\text{g/mL}$ 的母液,于4℃冰箱保藏备用。

1.4 大肠杆菌菌悬液的制备

将大肠杆菌接种到100 mL NB中,在150 r/min、28℃条件下摇床振荡培养18 h~24 h,然后于3600 r/min离心20 min,用无菌生理盐水洗涤3次后制成菌悬液,并调节其终浓度为 1.2×10^{10} CFU/mL,于4℃冰箱保藏备用。

1.5 蛭弧菌菌液的制备

以大肠杆菌为增殖宿主菌,挖取蛭弧菌BDF-H16单个噬斑,接种于100 mL 1/10 NB中,同时加入100 μL 的大肠杆菌菌悬液,于28℃、150 r/min下摇床振荡培养,直至蛭弧菌BDF-H16浓度 $>10^4$ PFU/mL,于4℃冰箱保存。

1.6 恩诺沙星对蛭弧菌生长的影响

1.6.1 不同浓度恩诺沙星对固体培养条件下蛭弧菌噬斑产生的影响:以大肠杆菌为增殖宿主菌,采用自来水双层琼脂平板法^[1],即将等量的蛭弧菌BDF-H16菌液与大肠杆菌菌悬液加入上层半固体软琼脂

中,同时加入恩诺沙星溶液至不同浓度(0 $\mu\text{g/mL}$ 、2 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$),混匀后倾注于自来水平板上,待凝固后 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养 72 h,观察噬斑产生情况。

1.6.2 不同浓度恩诺沙星对液体培养条件下蛭弧菌增殖的影响:将恩诺沙星分别加入 1/10 NB 中至终浓度 0 $\mu\text{g/mL}$ 、2 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$,与此同时加入等量的蛭弧菌 BDF-H16 和大肠杆菌菌悬液,然后于 150 r/min, 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡培养。培养 72 h 后立即检测各浓度恩诺沙星下蛭弧菌 BDF-H16 和大肠杆菌的数目,并以相同恩诺沙星浓度下单独培养的大肠杆菌作为对照。此外,在上述相同条件下,测定在 0 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 恩诺沙星浓度下,蛭弧菌 BDF-H16 和大肠杆菌数量在 13 d 内的变化,并以相同条件下单独培养大肠杆菌的数量变化作为对照。

1.6.3 细菌计数:蛭弧菌数目的测定采用自来水双层琼脂平板法^[1],大肠杆菌数目的测定采用稀释涂布平板法。

1.7 恩诺沙星对蛭弧菌吸附的影响

1.7.1 恩诺沙星对蛭弧菌吸附的影响:以沸石^[7]作为吸附载体,将恩诺沙星分别加入含 1.5%沸石粉的 1/10 NB 中至终浓度 0 $\mu\text{g/mL}$ 、2 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 和 50 $\mu\text{g/mL}$,与此同时加入等量的蛭弧菌 BDF-H16 和大肠杆菌菌悬液(加入量同 1.6.2),然后于 150 r/min, 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡培养。培养 72 h 后立即测定各恩诺沙星浓度下蛭弧菌 BDF-H16 的总浓度,然后在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱静置过夜后再测定上清液中蛭弧菌 BDF-H16 的浓度,计算蛭弧菌的吸附量与吸附率:吸附量 = 蛭弧菌总浓度 - 上清液蛭弧菌浓度;吸附率 = 蛭弧菌吸附量 / 蛭弧菌总浓度 $\times 100\%$ 。

1.7.2 蛭弧菌在不同恩诺沙星浓度下吸附状态的观察:将恩诺沙星分别加入到含载玻片^[8]的 1/10 NB 中至终浓度 0 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 和 50 $\mu\text{g/mL}$,与此同时加入等量的蛭弧菌 BDF-H16 和大肠杆菌菌悬液(加入量同 1.6.2),然后于 150 r/min, 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡培养。液体培养 72 h 后,无菌操作取出载玻片,用无菌水冲洗,自然干燥、固定,然后结晶紫染色,高倍镜(40 \times)观察蛭弧菌 BDF-H16 在含 0 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 和 50 $\mu\text{g/mL}$ 恩诺沙星的 1/10 NB 中吸附到载玻片上的情况。

1.8 实验数据处理方法

所有数据通过 SPSS11.5 软件用 ANOVA 进行方差分析, Duncan's 进行多重比较。

2 结果

2.1 恩诺沙星对蛭弧菌生长的影响

2.1.1 不同浓度恩诺沙星对固体培养条件下蛭弧菌噬斑产生的影响:固体培养 72 h,恩诺沙星对蛭弧菌噬斑产生影响的实验结果表明(图 1),在固体培养条件下,恩诺沙星对蛭弧菌 BDF-H16 噬斑的产生具有抑制作用,主要表现在:随恩诺沙星浓度的升高,噬斑数目逐渐减。当恩诺沙星含量为 2 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 和 10 $\mu\text{g/mL}$ 时,蛭弧菌 BDF-H16 产生的噬斑数目较对照组分别减少了 15.9% ($P>0.05$)、27.3% ($P<0.05$) 和 75.0% ($P<0.05$),尤其在恩诺沙星含量 20 $\mu\text{g/mL}$ 时,蛭弧菌 BDF-H16 不产生噬斑,生长被完全抑制。

2.1.2 不同浓度恩诺沙星对液体培养条件下蛭弧菌增殖的影响:液体培养 72 h,不同浓度恩诺沙星对蛭弧菌增殖影响的实验结果表明(图 2),在液体培养条件下,恩诺沙星对蛭弧菌 BDF-H16 的增殖产生抑制,主要表现在:随恩诺沙星浓度的升高,蛭弧菌 BDF-H16 的浓度逐渐减少。当恩诺沙星含量为 2 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 和 50 $\mu\text{g/mL}$ 时,蛭弧菌 BDF-H16 浓度较对照组分别减少了 31.9% ($P>0.05$)、53.2% ($P<0.05$)、66.8% ($P<0.05$)、

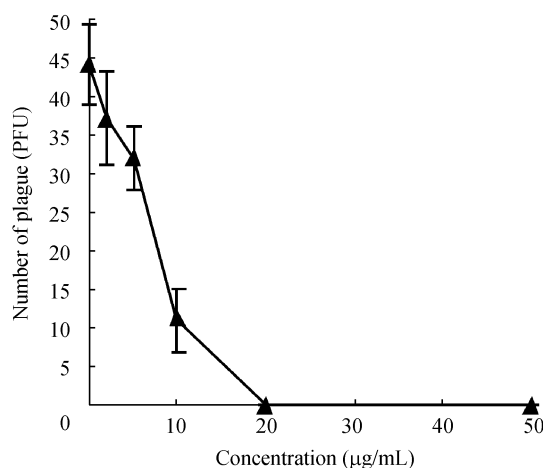


图 1 蛭弧菌 BDF-H16 在含不同浓度恩诺沙星的固体培养基中的出斑情况

Fig. 1 The plaque number of *Bdellovibrio* bacteria BDF-H16 in solid medium cultivation with different concentrations of enrofloxacin

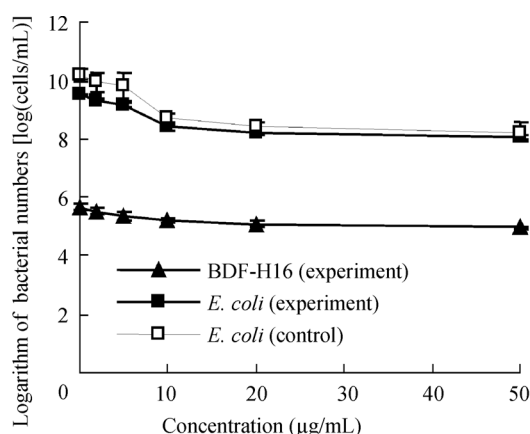


图2 蛭弧菌 BDF-H16 在含不同浓度恩诺沙星的液体培养基中的增殖情况

Fig. 2 The concentration of *Bdellovibrio* bacteria BDF-H16 in liquid medium cultivation with different concentrations of enrofloxacin

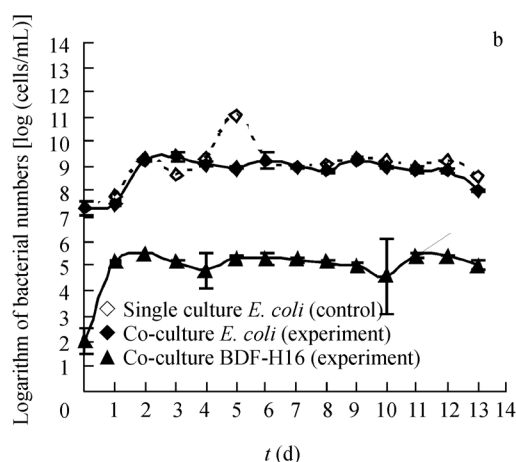
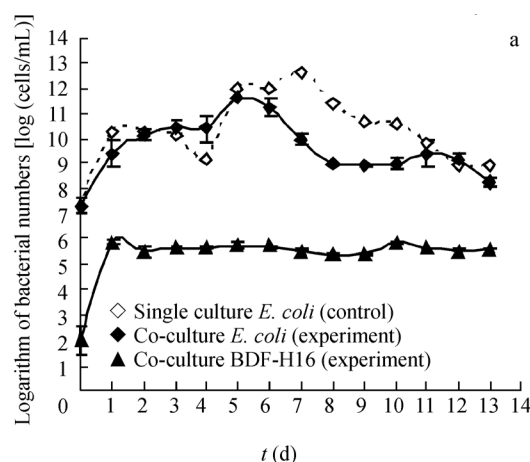


图3 恩诺沙星对液体培养条件下蛭弧菌增殖的影响

Fig. 3 Effect of enrofloxacin on the reproduction of *Bdellovibrio* bacteria BDF-H16 in liquid medium cultivation

a: 蛭弧菌 BDF-H16 在 0 $\mu\text{g/mL}$ 恩诺沙星条件下的生长曲线; b: 蛭弧菌 BDF-H16 在 10 $\mu\text{g/mL}$ 恩诺沙星条件下的生长曲线

a: The growth curve of *Bdellovibrio* bacteria BDF-H16 in liquid medium cultivation with 0 $\mu\text{g/mL}$ of enrofloxacin; b: The growth curve of *Bdellovibrio* bacteria BDF-H16 in liquid medium cultivation with 10 $\mu\text{g/mL}$ of enrofloxacin

2.2 恩诺沙星对蛭弧菌吸附的影响

实验结果表明(图 4、图 5), 以沸石作为吸附载体, 蛭弧菌 BDF-H16 的吸附量随恩诺沙星浓度的增大逐渐降低, 而蛭弧菌 BDF-H16 的吸附率在一定的恩诺沙星浓度下却有所升高。具体表现在: 当恩诺沙星含量为 2 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$ 时, 蛭弧菌 BDF-H16 的吸附量较对照组分别减少了 6.7% ($P>0.05$)、38.3% ($P<0.05$)、64.2% ($P<0.05$)、73.3% ($P<0.05$)、88.3% ($P<0.05$); 当恩诺沙星含量为 2 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 时, 蛭弧菌吸附率却较对照组分别增加了 26.7% ($P<0.05$)、33.5% ($P<0.05$)、37.8% ($P<0.05$)、30.3%

74.5% ($P<0.05$) 和 80.6% ($P<0.05$)。

此外, 10 $\mu\text{g/mL}$ 恩诺沙星对蛭弧菌在 13 d 内液体培养的生长变化影响结果也表明(图 3), 恩诺沙星对蛭弧菌的增殖具有抑制作用, 但恩诺沙星并没有改变蛭弧菌的生长趋势。在液体培养基中培养 13 d 后, 对照组单独培养的大肠杆菌浓度对数值较起始值增加了 1.58 ($P<0.05$), 共培养的大肠杆菌和蛭弧菌浓度对数值较起始值分别增加了 0.97 ($P<0.05$) 和 3.61 ($P<0.05$); 实验组单独培养的大肠杆菌浓度对数值较起始值增加了 1.27 ($P<0.05$), 共培养的大肠杆菌和蛭弧菌浓度对数值较起始值分别增加了 0.70 ($P<0.05$) 和 3.04 ($P<0.05$), 增殖浓度较对照组有所减少。

($P<0.05$), 但恩诺沙星含量为 50 $\mu\text{g/mL}$ 时, 蛭弧菌吸附率却较对照组低 5.4% ($P>0.05$)。此外, 蛭弧菌 BDF-H16 在不同恩诺沙星浓度下吸附到载玻片上的状态(图 6)也表明, 随恩诺沙星浓度的升高, 蛭弧菌 BDF-H16 吸附到载玻片上数量不断减少。

3 讨论

关于药物对蛭弧菌影响的研究, 国外已有较多报道。Wehr 和 Kelven 曾经研究了除草剂对蛭弧菌活性的影响, 发现 11 种除草剂能够抑制蛭弧菌噬斑的产生^[5]; Thomashow 和 Rittenberg 也研究了部分抗生素对蛭弧菌的影响, 认为蛭弧菌对青霉素、先锋

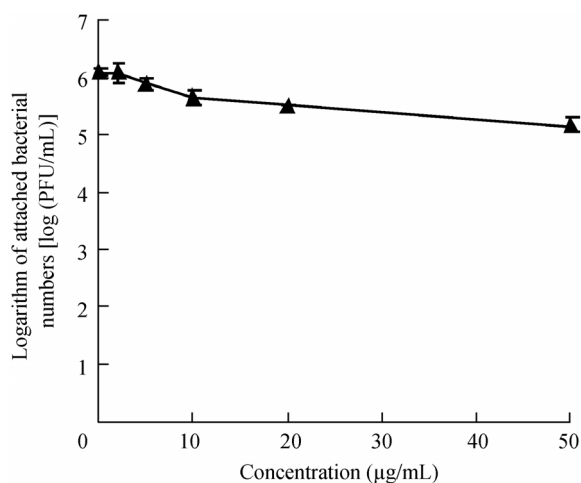


图4 恩诺沙星对蛭弧菌 BDF-H16 吸附量的影响

Fig. 4 Effect of enrofloxacin on the attachment numbers of *Bdellovibrio* bacteria BDF-H16

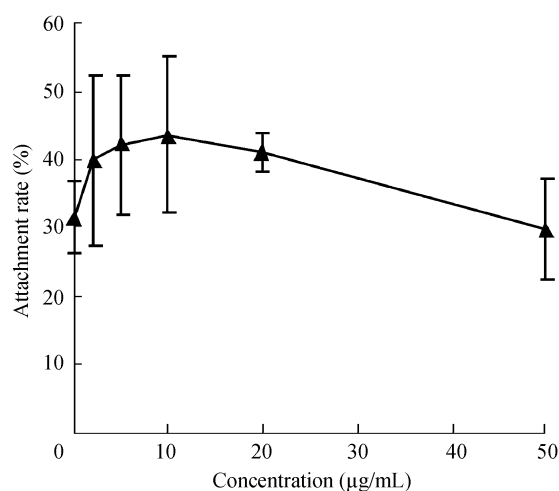


图5 恩诺沙星对蛭弧菌 BDF-H16 吸附率的影响

Fig. 5 Effect of enrofloxacin on the attachment rate of *Bdellovibrio* bacteria BDF-H16

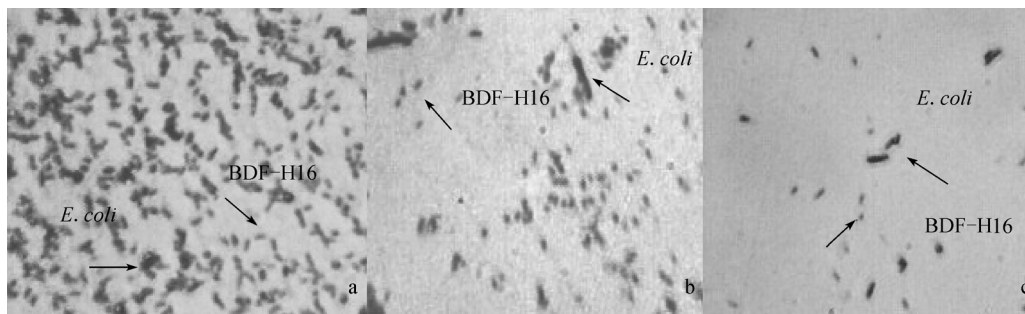


图6 蛭弧菌 BDF-H16 在不同的恩诺沙星浓度的 1/10 NB 中吸附到载玻片上的情况

Fig. 6 *Bdellovibrio* bacteria BDF-H16 attached to slide in 1/10 NB with different concentrations of enrofloxacin

Note: a: 0 μg/mL; b: 10 μg/mL; c: 50 μg/mL

霉素、杆菌肽素、氯霉素等药物敏感^[9]。但目前关于蛭弧菌与恩诺沙星相互作用的研究还没有专门报道。

国内外学者研究表明,蛭弧菌在宿主浓度大于 10^4 个/mL 时能够增殖,而且也能在致死的宿主菌液中生长增殖^[10,11]。本实验结果表明,在大肠杆菌的浓度一直大于 10^7 个/mL 时,不同浓度恩诺沙星对蛭弧菌的生长及吸附具有不良影响。在固体培养条件下,不同浓度恩诺沙星能够降低蛭弧菌 BDF-H16 产生的噬斑数目,产生这一结果的原因可能是在固体培养条件下,为了抵抗恩诺沙星的损害,蛭弧菌吸附到琼脂颗粒表面上而使其自身的某些基因表达发生改变,从而长时间停留在蛭弧体阶段而不裂解宿主菌^[12],从而噬斑数目相应减少;此外,在液体培养条件下,恩诺沙星也能够降低蛭弧菌 BDF-H16 的增殖浓度和吸附量。研究表明,蛭弧菌虽然是寄生

性细菌,但其也含有与 DNA 合成有关的酶类,如胸腺嘧啶脱氧核苷酸合成酶、胸腺嘧啶核苷酸磷酸酶、胸腺嘧啶激酶等^[13],而恩诺沙星的主要作用机理是通过作用于与细菌 DNA 合成有关的酶,而使细菌无法分裂而死亡。因此,恩诺沙星对液体培养条件下蛭弧菌增殖的抑制机理是否也可能通过抑制蛭弧菌 DNA 合成酶的活性而使其无法复制,从而降低了其增殖浓度,进而减少了其吸附到载体上的数量,均还有待进一步研究^[4]。

吸附率是评价吸附能力的主要参数^[14]。本实验发现,以沸石作为吸附载体,蛭弧菌 BDF-H16 的吸附率在一定恩诺沙星浓度范围内有所升高,表明在一定恩诺沙星浓度范围内蛭弧菌的吸附能力有所增强。国外学者认为,蛭弧菌是一种具有吸附特性的细菌,处于吸附状态的蛭弧菌能够改变某些特性及基因表达,以增强了其对外界环境的适应能力^[12]。

国外学者研究也表明, 处于吸附状态的蛭弧菌对环境因素如温度、盐度、镉、苯酚、尿素的敏感性低, 具有抵抗外界不良环境影响的能力^[15-17]。因此, 蛭弧菌BDF-H16的吸附率升高可能是其抵抗恩诺沙星损害的一种现象, 通过吸附于沸石表面, 使其改变自身的某些特性及基因表达, 以达到抵抗恩诺沙星损害进行自身保护的目的^[12]。

总之, 本实验结果表明, 恩诺沙星对蛭弧菌BDF-H16噬斑的产生及增殖具有抑制作用, 但在有载体存在的情况下, 蛭弧菌的吸附能力在一定恩诺沙星浓度范围内有所增强, 添加载体沸石有助于降低恩诺沙星对蛭弧菌BDF-H16的不良影响。因此, 在水产养殖用药过程中, 切勿将蛭弧菌与恩诺沙星混合使用, 也不要将过量恩诺沙星投入水体中; 而为了提高蛭弧菌制剂的质量和效果, 如何将蛭弧菌进行吸附固定化将是今后蛭弧菌研发的重点。

参 考 文 献

- [1] Stolp H, Petzold H. Untersuchungen über einen obligat parasitischen microorganismus mit lyseher aktivität für *Pseudomonas* bakterien. *Phytopathol*, 1962, **45**: 364-390.
- [2] 秦生巨. 噬菌蛭弧菌分子生物学特性研究进展. *微生物学通报*, 1993, **20**(4): 237-241.
- [3] 杨先乐, 曹海鹏, 钱云云. 噬菌蛭弧菌——水产动物病害生物防治的新工具. *淡水渔业*, 2006, **36**(2): 55-60.
- [4] 刘开永, 汪开毓. 恩诺沙星在水产中的应用与研究. *中国兽药杂志*, 2004, **38**(10): 32-34.
- [5] Wehr NB, Kelven DA. Herbicide effects on *Bdellovibrio bacteriovorus* parasitism of a soil pseudomonad. *Soil Biology and Biochemistry*, 1971, **3**(2): 143-149.
- [6] 曹海鹏, 杨先乐, 钱云云, 等. 异育银鲫肠道蛭弧菌的分离及其生物学特性的研究. *微生物学通报*, 2007, **34**(1): 52-56.
- [7] 刘幽燕, 何育才, 李青云, 等. 沸石固定化细胞降解氰化物的实验研究. *高校化学工程学报*, 2005, **19**(4): 532-535.
- [8] Nunez ME, Martin MO, Chan PH, *et al.* Predation, death, and survival in a biofilm: investigating *Bdellovibrio* by atomic force microscopy. *Colloids and Surfaces B: Bio-interfaces*, 2005, **42**: 263-271.
- [9] Thomashow MF, Rittenberg SC. Attachment of diamino-pimelic acid to bdelloplast peptidoglycan during intraperiplasmic growth of *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J. *Journal of Bacteriology*, 1978, **133**(3): 1484-1491.
- [10] Rice TD, Williams HN, Turng BF. Susceptibility of bacteria in estuarine environments to autochthonous *Bdellovibrios*. *Microbial Ecology*, 1998, **35**(3): 256-264.
- [11] 赵孝先, 白毓谦. 蛭弧菌在细胞匀浆中增殖的初步研究. *山东大学学报(自然科学版)*, 1990, **25**(2): 270-274.
- [12] Markelova NY, Gariev IA. Predatory bacteria *Bdellovibrio* survival strategy. *Process Biochemistry*, 2005, **40**: 1089-1094.
- [13] 秦生巨. 噬菌蛭弧菌对宿主菌细胞寄生和裂解机制的研究现状. *微生物学通报*, 1992, **19**(6): 357-362.
- [14] 马小玲, 杨守洁. 合成方法对粉煤灰沸石吸附剂吸附性能的影响研究. *科学研究*, 2007, **4**: 36-40.
- [15] Kelly JJ, Turng BF, Williams HN, *et al.* Structure analysis of a soil community of predatory bacteria using culture-dependent and culture-independent methods reveals a hitherto undetected diversity of *Bdellovibrio*-and-like organisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, **63**(1): 84-90.
- [16] Gómez-suárez C, Busscher HJ, Van der mei HC. Analysis of bacterial detachment from substratum surfaces by the passage of air-liquid interfaces. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, **67**(6): 2531-2537.
- [17] Markelova NY. A comparative study of the effect of certain pollutants on free-living and immobilized *Bdellovibrio* *Microbiology*, 2004, **73**(1): 57-61.