

# 群体感应抑制剂对海洋生态功能菌 生物膜形成的影响

翟有朋 董昆明 周惠茹 姜芸 丁碧婷 缪莉\*

(扬州大学 环境科学与工程学院 江苏 扬州 225127)

**摘要:**【目的】研究天然群体感应抑制剂(Quorum sensing inhibitors, QSI)分子对海洋生态功能菌生物膜形成的影响。【方法】以对污损生物幼虫附着具有诱导作用的海洋细菌为目标菌,通过在其生物膜的形成过程中添加天然群体感应抑制剂,研究其对目标菌成膜细菌数和浮游细菌数、生物膜形态以及生物膜表面胞外多糖含量的影响。【结果】呋喃酮和吡啶在 50 mg/L 时,对 8 株目标菌的成膜有显著的抑制作用,抑制率在 80% 左右,吲哚、青霉烷酸和香豆素在较高浓度 800 mg/L 才有比较好的抑制活性。生长抑制实验结果显示,同等浓度下, QSI 分子对目标菌成膜的抑制活性明显高于其对浮游细菌生长的抑制活性。结果表明, QSI 分子主要通过干扰目标菌群体感应系统以抑制生物膜的形成。【结论】研究证实 QSI 分子在海洋菌生物膜形成过程中具有一定的调控作用。通过添加 QSI 可能能够间接抑制由生物膜诱导的污损生物附着,从而以新的角度研制新型抗污损物质。

**关键词:** 群体感应抑制剂, 生物膜, 抑制活性

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 41006097); 江苏省高校自然科学基金项目(No. 10KJB170013); 扬州大学科技创新培育基金项目(No. 2011CXJ036, 2012CXJ042); 中国海洋大学海洋药物教育部重点实验室开放基金项目(No. KLMD(OUC)201203); 江苏省研究生科研创新计划(No. CXLX12\_0918); 扬州大学科技创新培育基金项目(No. B12097)

\*通讯作者: Tel: 86-514-89795882; Fax: 86-514-87978626; 信箱: miaoli@yzu.edu.cn

收稿日期: 2012-10-10; 接受日期: 2012-12-28

# The influence of quorum sensing inhibitors against marine functional bacterial biofilm formation

ZHAI You-Peng DONG Kun-Ming ZHOU Hui-Ru JIANG Yun

DING Bi-Ting MIAO Li\*

(School of Environmental Science and Engineering, Yangzhou University,  
Yangzhou, Jiangsu 225127, China)

**Abstract:** [Objective] To study the influence of natural quorum sensing inhibitors (QSI) against marine functional bacterial biofilm formation. [Methods] Some marine bacterial strains, which could induce the larval settlement of fouling organism, were regarded as target bacteria. Through adding natural quorum sensing inhibitors into the target bacterial cultures during their biofilm formation process, the influence of QSI on the biofilm and planktonic bacteria quantity, biofilm morphology as well as the surface extracellular polysaccharide were studied. [Results] Furanone and pyridine significantly inhibited the biofilm formation of all target bacterial strains at the concentration of 50 mg/L, with the inhibition rate of about 80%. However, indole, penicillanic acid and coumarin exhibited good inhibitory activity only at higher concentrations of 800 mg/L. The results of growth inhibition experiment showed that the inhibitory activity of QSI molecules on target bacterial biofilm formation was much higher than them against planktonic bacteria growth at the same concentration, which indicated that the biofilm formation inhibitory effect of QSI molecules was mainly due to their interference on the quorum sensing system of target bacteria. [Conclusion] This study confirmed that QSI molecules may play an important regulatory role in marine bacterial biofilm formation process. The biofilm induced larval settlement of fouling organisms might be indirectly inhibited through the addition of QSI, which may lead to new anti-fouling substances from another point of view.

**Keywords:** Quorum sensing inhibitor, Biofilm, Inhibitory activity

生物膜是指菌体附着到物体表面,当细菌受到各种压力时,如极端的营养缺乏或过剩、低 pH 值、高渗透压、氧化、抗菌剂和抗生素等,大量细菌为了对抗不利的环境,通过自身合成的水合多聚物粘附在固体表面,并在胞外聚合物中生长繁殖而形成的细菌群落<sup>[1]</sup>。致病菌在人体内形成生物膜后,对人类健康具有更大的威胁,许多研

究表明 65% 的细菌感染是由生物膜引起的<sup>[2]</sup>。细菌耐药问题是目前人类面临的重大生存危机,处在成熟生物膜中的细菌对抗生素的耐受性是浮游细菌的 10–1 000,导致严重的临床问题以及宿主免疫系统缺失<sup>[3–4]</sup>。某些细菌的生物膜对医疗系统、水下管道和工业设备等也会产生巨大的危害。如藤壶、贻贝等污损生物幼虫在海洋设施表

面管道内部的附着就是由这些物体表面的细菌生物膜诱导的<sup>[5]</sup>。

研究报道, 细菌生物膜形成受到群体感应(QS)系统的调节<sup>[6]</sup>, 如果群体感应系统缺失, 形成的生物膜比较稀薄<sup>[7]</sup>。QS 系统除了影响成膜细菌的数量以外, 细菌细胞表面的疏水性(Hydrophobicity)以及生物膜胞外多糖聚合物(EPS)的含量等均受到一定程度的影响<sup>[8]</sup>。

最近以群体感应抑制剂(QSI)或 QSI 类似物为研究靶点来抑制或消除生物膜的研究越来越多, 但这些研究主要集中在致病菌上, 对于某些具有生态功能的细菌的研究却鲜见报道。目前, 海洋生物污损给海洋运输以及海洋渔业带来了巨大的损失, 而污损生物的附着与海洋细菌生物膜的形成密切相关, 也可能受到微生物 QS 系统的调控<sup>[9]</sup>。本文研究 5 种天然 QSI 分子(3,4-二溴-2(5H)-呋喃酮、4-硝基吡啶-N-氧化物、吡啶、(+)-6-氨基青霉烷酸、香豆素)对 8 株污损生物附着诱导菌(下称目标菌)生物膜形成过程的影响。通过在目标菌生物膜的形成过程中添加天然 QSI 分子, 研究他们对目标菌成膜细菌数和浮游细菌数、生物膜形态以及生物膜表面胞外多糖含量的影响, 证实 QSI 分子在海洋生物膜形成过程中所具有的调控作用, 探讨利用 QSI 间接抑制污损生物附着的可能性, 为新型抗污损物质的开发提供新的实践基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 样品:** 实验中所用的 8 株对污损生物幼虫附着具有诱导作用的目标菌均由香港科技大学海岸海洋实验室钱培元教授课题组提供。8 株目标菌菌属依次是 *Staphylococcus aureus*、*Micrococcus luteus*、*Rhodovulum* sp.、*Vibrio vulnificus*、*Pseudoalteromonas spongiae*、*Ruegeria* sp.、

*Shewanella algae*、*Vibrio fluvialis*, 编号对应的是 UST950701-005、UST950701-006、UST950701-012、UST001201-001、UST010723-006、UST010723-008、UST010723-014、UST010723-012, 下面编号缩写为 95-005、95-006、95-012、01-001、01-006、01-008、01-014、01-012。这 8 株目标菌中除了 95-005 和 95-006 是  $G^+$ , 其他均是  $G^-$ 。

所用的 5 种天然 QSI 分子通过 Sigma 等试剂公司购买, 分别为 3,4-二溴-2(5H)-呋喃酮、4-硝基吡啶-N-氧化物和(+)-6-氨基青霉烷酸, 简称呋喃酮、吡啶和青霉烷酸。

**1.1.2 MB 培养基:** 蛋白胨 0.5%, 酵母膏提取物 0.3%, 柠檬酸铁 0.01%, NaCl 1.945%,  $MgCl_2$  0.59%,  $MgSO_4$  0.324%,  $CaCl_2$  0.18%, KCl 0.055%, 琼脂 1.5%, pH 7.4–7.6。该培养基主要用于海洋细菌的培养和发酵。

### 1.2 方法

**1.2.1 目标菌株的复苏培养:** 将保存在冻存管中的目标菌株接入 8 mL 无菌 MB 培养基中, 30 °C、140 r/min 摇床培养 1–2 d。

**1.2.2 成膜以及浮游细菌数的测定:** 成膜细菌数的测定: 向 24 孔板中加入 1 mL MB 培养基、10  $\mu$ L 过夜培养的菌液以及 100  $\mu$ L 溶于 DMSO 中不同浓度的 QSI, 使呋喃酮和吡啶的终浓度为 12.5、25.0 和 50.0 mg/L, 吡啶和青霉烷酸的终浓度为 400、600 和 800 mg/L, 香豆素的终浓度为 200、400 和 800 mg/L, 30 °C 静置培养 24 h 后用超纯水润洗孔板 3 次, 加入 400  $\mu$ L 0.4% 结晶紫染色 20 min, 去掉染液、洗涤, 直至流出液澄清, 最后用 1 mL 纯乙醇溶解, 略微振荡, 测定  $OD_{570}$ <sup>[10]</sup>。设置阴性对照(只加培养基、菌液和无菌水)和溶剂对照(只加培养基、菌液和 DMSO)。

浮游细菌数的测定: 吸取上述 24 孔板 30 °C 静置培养 24 h 后的上层菌液, 测定  $OD_{570}$ 。

**1.2.3 目标菌生长曲线及抗菌活性测定:** 生长曲线测定: 向 150 mL 锥形瓶中加入 50 mL 培养基, 500  $\mu$ L 过夜培养菌液以及 5 mL 的 QSI, 使呋喃酮和吡啶的终浓度为 12.5 mg/L, 吡啶、青霉烷酸和香豆素的终浓度为 400 mg/L, 30 °C 摇床培养, 每隔 2 h 测一次  $OD_{570}$ , 直至测到 24 h, 同时如 1.2.2 设置阴性对照和溶剂对照。

抗菌活性测定(滤纸片法): 过夜培养菌液涂布, 吸取 10  $\mu$ L QSI 到无菌滤纸片, 待滤纸片吹干后反扣在培养皿上, 30 °C 静置培养 24 h, 观察有无明显的抑制圈, 确定 QSI 对目标菌株的生长是否有显著的抑制作用<sup>[11]</sup>。

**1.2.4 生物膜的光镜及扫描电镜观察:** 光学显微镜观察: 向 24 孔板中加入 1 mL MB 培养基、10  $\mu$ L 过夜培养的菌液以及 100  $\mu$ L 不同浓度的 QSI, 30 °C 静置培养 24 h 后用超纯水润洗孔板 3 次, 0.4% 结晶紫染色 20 min, 倒置光学显微镜放大 400 倍下观察。

扫描电镜观察: 向 24 孔板中放入无菌玻片 ( $R=1.4$  cm)、1 mL 培养基和 10  $\mu$ L 过夜培养的菌液以及 100  $\mu$ L 不同浓度的 QSI, 30 °C 静置培养 24 h, 扫描电镜观察。

扫描电镜样品前处理步骤: 超纯水润洗成膜的玻片 2-3 次, 2.5% 戊二醛前固定 2 h 后超纯水清洗玻片 3-4 次, 50%、70%、80%、90% 和 100% 纯乙醇依次浓度梯度洗脱 20 min, 加入 1:1 (V/V) 的乙醇和纯戊酯静置 20 min 后再加入纯戊酯静置 20 min, 临界点干燥后喷金处理, 上样扫描观察。

**1.2.5 生物膜胞外多糖含量测定:** 向 24 孔板中加入 1 mL 培养基、10  $\mu$ L 过夜培养的菌液以及 100  $\mu$ L 不同浓度的 QSI, 30 °C 静置培养 24 h, 吸弃上层菌液, 用 0.9% NaCl 润洗 24 孔板, 向 24 孔板加入 0.25 mL 5% 苯酚和 1.25 mL 浓硫酸(含 0.2% 硫酸胍), 30 °C 黑暗培养 1 h, 测  $OD_{490}$ <sup>[12]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 QSI 对目标菌中成膜细菌数及浮游细菌数的影响

通过在 8 株目标菌生物膜的形成过程中添加天然 QSI 分子, 观察 QSI 对目标菌成膜情况的影响。结果表明(图 1), 呋喃酮和吡啶在低浓度时就已经表现出显著的抑制作用, 青霉烷酸、吡啶和香豆素在较高浓度才有显著的抑制作用。呋喃酮和吡啶在浓度为 50 mg/L 时, 对所有目标菌的成膜抑制率几乎均达到 80%, 对目标菌 01-006 的成膜抑制率达到 90% 以上; 在浓度 12.5 mg/L 时这 2 种化合物对目标菌 01-006 和 95-006 的成膜也有 40% 左右的抑制率。吡啶和青霉烷酸对目标菌成膜抑制的趋势差不多, 随着浓度的降低, 抑制率急剧降低。香豆素总体上活性不高, 在 800 mg/L 和 400 mg/L 时, 对目标菌成膜抑制率在 60% 左右, 而在 200 mg/L 时, 对目标菌 01-001 的成膜有 50% 的抑制率。

绝大多数目标菌对 5 种 QSI 的敏感性相似, 但对呋喃酮和吡啶的敏感性高于其他 3 种化合物。而目标菌 95-012 表现出较大的差异性, 其对呋喃酮和吡啶的敏感性显著低于其他菌株, 青霉烷酸对其的抑制作用却显著高于其他菌株, 在 400 mg/L 时青霉烷酸对 95-012 的抑制率仍有 80% 以上, 而对其他目标菌的抑制率只有 30% 左右。

对各种处理下浮游细菌数的测定结果显示, 5 种 QSI 分子对目标菌成膜的抑制活性明显高于其对浮游细菌生长的抑制活性。50 mg/L 的呋喃酮与吡啶、800 mg/L 的吡啶对目标菌成膜的抑制率均在 80% 左右, 有的甚至达到 90% 以上(图 1A、B、C), 但同浓度下, 其对浮游细菌的抑菌活性只有 40% 左右, 有的更低(图 1a、b、c)。青霉烷酸和香豆素在 800 mg/L 时对目标菌成膜的抑制率在 50% 左右, 有的达 70% 以上(图 1D、E), 而其对浮

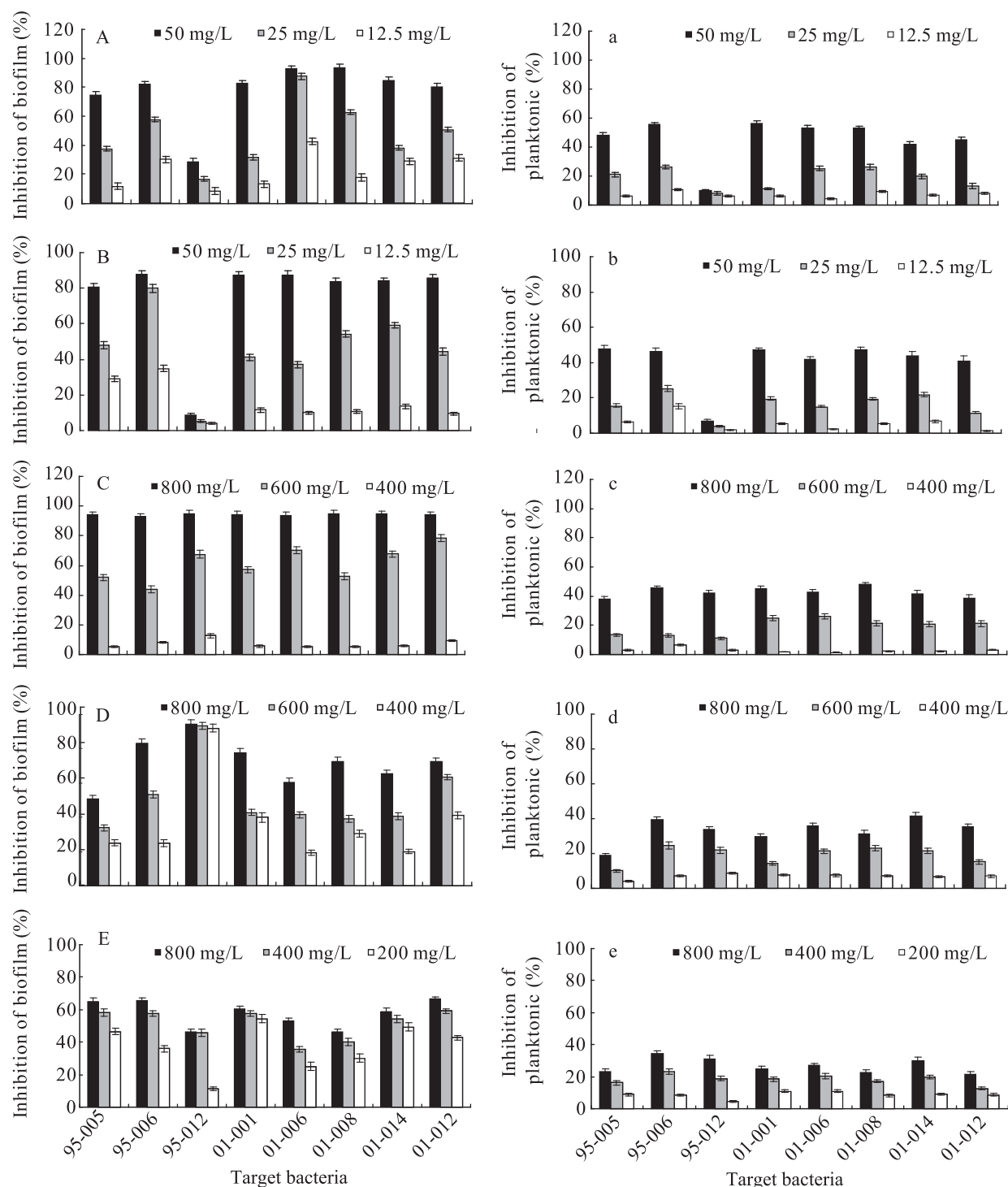


图1 QSI对目标菌中成膜细菌数以及浮游细菌数的影响

Fig. 1 Influence of QSI against target bacterial biofilm and planktonic bacteria count

注: A-E 依次是呋喃酮、吡啶、吲哚、青霉烷酸和香豆素对目标菌成膜细菌数的影响; a-e 依次是呋喃酮、吡啶、吲哚、青霉烷酸和香豆素对目标菌浮游细菌数的影响。

Note: From A to E are the influences of furanone, pyridine, indole, penicillanic acid and coumarin against target bacterial biofilm bacteria count; From a to e are the influences of furanone, pyridine, indole, penicillanic acid and coumarin against planktonic bacteria count.

游细菌的抑菌活性只有 20%左右(图 1d、e)。结果表明,这 5 种天然 QSI 分子主要通过干扰目标菌 QS 系统而不是影响细菌生长来抑制生物膜的形成。

## 2.2 目标菌生长曲线与抗菌活性测定

为了进一步确证这 5 种 QSI 分子是群体感应抑制活性而不是抑菌活性,进行了目标菌生长曲线和抗菌活性实验。结果显示(图 2),添加了 QSI 的目标菌与阴性对照组的生长趋势基本一致。同时采用滤纸片法测定 QSI 对目标菌的抑菌活性,发现在测试浓度下没有明显的抑制圈。从而证实这 5 种 QSI 分子主要通过干扰群体感应以抑制目标菌形成生物膜。

## 2.3 生物膜形态观察

用 0.4%结晶紫染色,在放大 400 倍的倒置光

学显微镜下分别观察了 5 种 QSI 对 8 株目标菌成膜的抑制情况。结果显示,总体的抑制趋势与测定的成膜细菌数一致,成膜细菌密度都是随着 QSI 浓度的升高而降低。以呋喃酮对目标菌 95-005 成膜的抑制作用为例(图 3),阴性对照组有浓密的细菌菌落,但随着呋喃酮浓度的升高,细菌密度明显减小。在 50 mg/L 时只发现稀少的细菌菌落分布。

各实验组样品经前处理后,在扫描电镜下分别观察了 5 种 QSI 对 8 株目标菌成膜的抑制情况。结果显示,总体的抑制趋势与光镜观察的结果一致,生物膜量都是随着 QSI 浓度的升高而降低。以观察呋喃酮对目标菌 95-005 成膜的抑制作用为例,呋喃酮不仅抑制目标菌生物膜量的生成,而且使目标菌形成的生物膜结构疏松。随着呋喃酮浓度

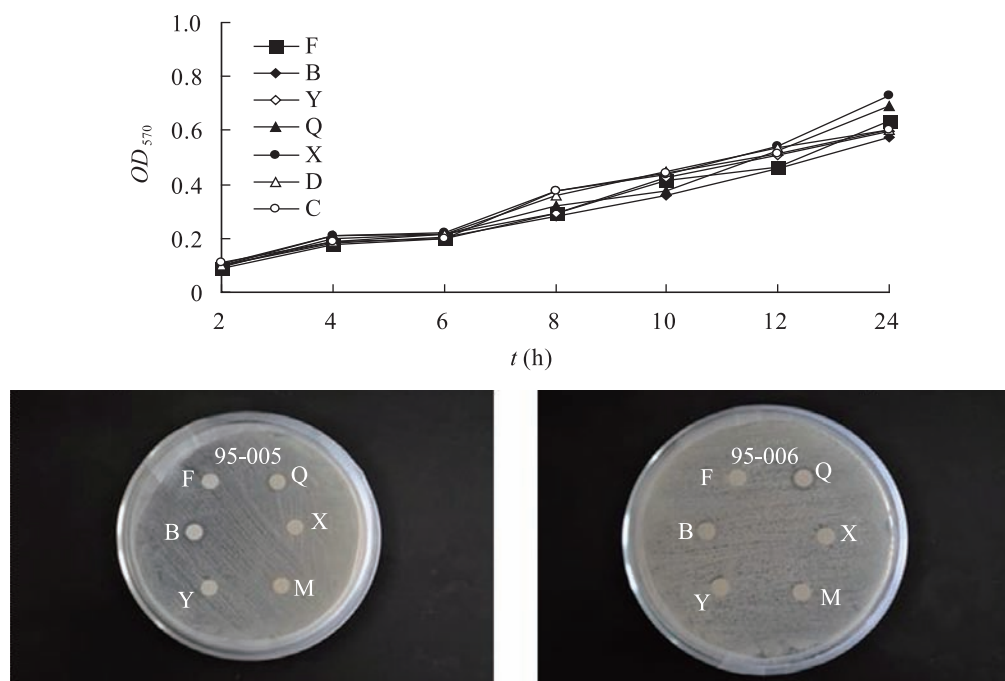


图 2 目标菌生长曲线与抗菌活性测定

Fig. 2 Measure target bacterial growth curve and antimicrobial activity

注: F、B、Y、Q、X、D、C、M 依次是指 12.5 mg/L 的呋喃酮和吡啶、400 mg/L 的吲哚、青霉烷酸、香豆素、溶剂对照 DMSO 和阴性对照甲醇。

Note: F, B, Y, Q, X, D, C, M indicate 12.5 mg/L furanone and pyridine, 400 mg/L indole, penicillanic acid, coumarin, solvent control DMSO and negative control methanol, respectively.



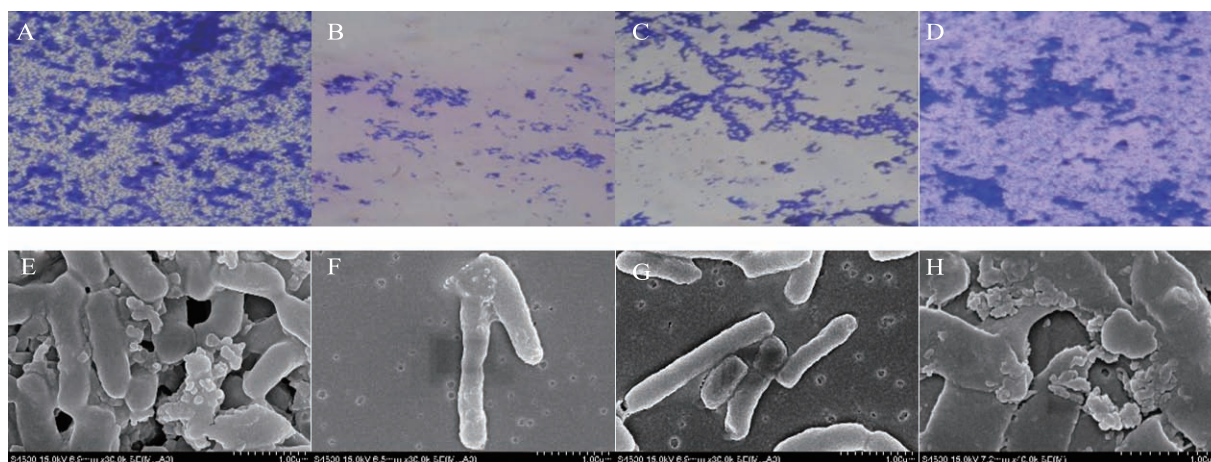


图3 呋喃酮对目标菌 95-005 生物膜形态的影响

Fig. 3 Influence of furanone against target bacterial biofilm formation

注: A-D 为结晶紫染色后的光镜照片, 放大 400 倍; E-H 为扫描电镜照片, 放大 30.0 K 倍; 从左至右依次表示阴性对照, 50、25、12.5 mg/L 的呋喃酮处理。

Note: From A to D are lens photos of crystal violet dye (400 $\times$ ); From E to H are scanning electron microscopy photos (30 000 $\times$ ); From left to right are negative control, 50, 25, 12.5 mg/L furanone treatments.

增加, 目标菌生物膜的疏松程度增加。这与叶联华等<sup>[13]</sup>的研究结果基本一致。尤其是 50 mg/L 和 25 mg/L 的呋喃酮, 可以明显抑制生物膜的形成。

通过光学显微镜与扫描电镜观察, 再次证实呋喃酮和吡啶在 50 mg/L 时对目标菌成膜有显著的抑制作用, 吡啶、青霉烷酸和香豆素在较高浓度, 800 mg/L 时对目标菌成膜也具有显著的抑制作用。

## 2.4 生物膜中胞外多糖含量

通过在目标菌成膜过程中添加天然 QSI 分子, 观察 QSI 对目标菌生物膜中胞外多糖含量的影响。结果表明(图 4), 呋喃酮与吡啶在低浓度时就对目标菌生物膜 EPS 含量有明显的抑制作用, 青霉烷酸、吡啶和香豆素在较高浓度才有显著抑制 EPS 含量的作用。呋喃酮和吡啶在 50 mg/L 时对目标菌 95-005 和 95-006 生物膜 EPS 含量分别有 60% 与 70% 的抑制率, 在浓度 25 mg/L 时对以上 2 株目标菌也有 60% 的抑制率(图 4A、B)。在 800 mg/L 时, 吡啶和青霉烷酸对目标菌生物膜

EPS 含量的抑制率普遍只有 40% (图 4C、D), 香豆素对有些目标菌(95-005 和 95-006)分别有 60% 与 70% 的抑制率(图 4E)。

在同等浓度下, 对同一目标菌生物膜 EPS 的抑制效果, 呋喃酮优于吡啶, 香豆素优于吡啶和青霉烷酸。最近, Jiang P. 等<sup>[14]</sup>研究显示海洋菌胞外多糖可以控制生物膜相关的感染, 降低 EPS 含量, 也可能是 QSI 分子抑制目标菌生物膜形成的机制之一。

## 3 讨论

通过测定 5 种 QSI 对 8 株目标菌成膜细菌数、生物膜 EPS 含量的抑制作用, 发现呋喃酮和吡啶在低浓度 50 mg/L 时对目标菌成膜就已有显著的抑制作用, 吡啶、青霉烷酸和香豆素在较高浓度 800 mg/L 时才有明显的抑制作用。刘国勇等<sup>[15]</sup>研究显示, 3,4-二氯-2(5H)-呋喃酮在浓度 16 mg/L 时, 对铜绿假单胞的生物膜就有 42.0% 的抑制率, 再次验证呋喃酮在低浓度对有些菌株的成膜就有很好的抑制活性。

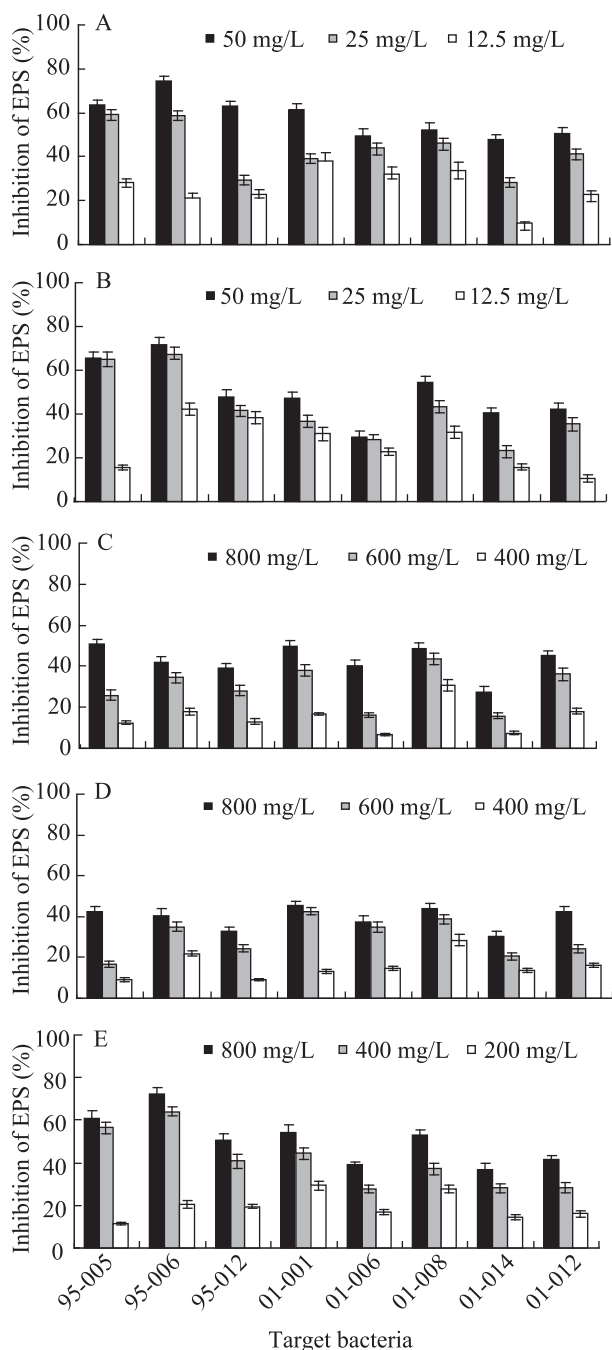


图4 QSI对目标菌生物膜胞外多糖含量的影响

Fig. 4 Inhibition of EPS production of target bacteria with QSI at different concentrations

注: A-E 依次是测定不同浓度呋喃酮、吡啶、吲哚、青霉烷酸和香豆素对目标菌生物膜 EPS 含量的影响。

Note: From A to E are the influences of different concentrations of furanone, pyridine, indole, penicillanic acid and coumarin on the EPS productions of target bacteria biofilm.

玻片表面目标菌生物膜的形成主要包括玻片表面初始附着和聚集两个阶段, 在本研究中发现目标菌经过 24 h 后就形成了成熟的生物膜。呋喃酮处理的目标菌与呋喃酮未处理的目标菌相比, 生物膜量明显稀疏。呋喃酮在 50 mg/L 时, 玻片表面只分布着少量的胞外多糖和细菌群落碎片。Vestby 等<sup>[16]</sup>研究表明, 溴化呋喃酮可明显降低多种肠道沙门氏菌生物膜的形成, 与本文中呋喃酮抑制目标菌生物膜形成的研究结果基本一致。

目前国内外主要研究 QSI 对铜绿假单胞菌等致病菌生物膜形成过程的影响, 对其他非致病菌的研究却鲜有报道。同时关于呋喃酮对细菌成膜的抑制作用研究比较多, 但对本文中的其他 4 种 QSI 对细菌成膜影响的研究却比较少。本论文针对在海洋生物污损过程中具有特殊生态作用的菌株, 测定 5 种 QSI 对它们成膜的抑制活性, 为群体感应效应在非致病菌生物膜形成过程中的作用研究提供实践基础, 同时亦为今后有关吡啶、吲哚、青霉烷酸和香豆素对其他细菌成膜的影响研究提供参考, 尤其是吡啶在低浓度下对目标菌成膜就有显著的抑制活性。

N-酰基高丝氨酸内酯(N-acyl homoserine lactones, AHL)是 G<sup>-</sup>菌中 QS 系统的信号分子。黄妙琴等<sup>[17]</sup>研究发现 10 株具有 AHLs 活性的革兰氏阴性菌, 其中 90% 的菌株具有很强的生物膜形成能力, 其研究表明, 具有 AHLs 活性的菌株往往形成结构完整、稠密的生物膜。本文中的 8 株目标菌 75% 是 G<sup>-</sup>菌, 有关细菌生物膜中 AHL 的定性(分子结构)及定量分析是后续实验的重点。

## 参考文献

- [1] 唐俊妮, 史贤明, 王红宁, 等. 细菌生物膜调控机制[J]. 生物学杂志, 2009, 26(2): 48-50.
- [2] Nithya C, Begum MF, Pandian SK. Marine bacterial isolates inhibit biofilm formation and disrupt



- mature biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 88(1): 341–358.
- [3] Brooun A, Liu S, Lewis K. A dose-response study of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2000, 44(3): 640–646.
- [4] Potera C. Forging a link between biofilms and disease[J]. Science, 1999, 283(5409): 1837–1839.
- [5] Lau S, Mak K, Chen F, et al. Bioactivity of bacterial strains isolated from marine biofilms in Hong Kong waters for the induction of larval settlement in the Marine polychaete hydroids *elegans*[J]. Marine Ecology-progress Series, 2002, 226: 301–310.
- [6] Pumbwe L, Skilbeck CA, Wexler HM. Presence of quorum-sensing systems associated with multidrug resistance and biofilm formation in *Bacteroides fragilis*[J]. Microbial Ecology, 2008, 56(3): 412–419.
- [7] Davies DG, Parsek MR, Pearson JP, et al. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm[J]. Science, 1998, 280(5361): 295–298.
- [8] Parsek MR, Greenberg EP. Acyl-homoserine lactone quorum sensing in gram-negative bacteria: a signaling mechanism involved in associations with higher organisms[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2000, 97(16): 8789–8793.
- [9] Qian PY, Xu Y, Fusetani N. Natural products as antifouling compounds: recent progress and future perspectives[J]. Biofouling, 2010, 26(2): 223–234.
- [10] You J, Xue X, Cao L, et al. Inhibition of *Vibrio* biofilm formation by a marine actinomycete strain A66[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 76(5): 1137–1144.
- [11] 单文荣, 李俊霞, 刘花粉. 滤纸片法筛选不同活性物对棉花黄萎病菌抑制效果研究[J]. 中国农学通报, 2010, 26(19): 285–289.
- [12] e-Bonté S, Köhler T, Delden CV. Biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*: role of the C4-HSL, cell-to-cell signaling and inhibition by azithromycin[J]. Antimicrobial Chemotherapy, 2003, 52(4): 598–604.
- [13] 叶联华, 许赓, 黄云超, 等. 溴代呋喃酮对聚氯乙烯材料表面大肠杆菌生物膜形成的影响[J]. 中国修复重建外科杂志, 2010, 24(7): 871–874.
- [14] Jiang P, Li J, Han F, et al. Antibiofilm activity of an exopolysaccharide from marine bacterium *Vibrio* sp. QY101[J]. PLoS One, 2011, 6(4): e18514.
- [15] 刘国勇, 王泳珊, 程超, 等. 细菌生物膜抑制剂 3,4-二氯呋喃-2(5H)-酮联合庆大霉素对铜绿假单胞菌的抑制作用[J]. 中国新药杂志, 2010, 19(4): 327–331.
- [16] Vestby LK, Lönn-Stensrud J, Møretrø T, et al. A synthetic furanone potentiates the effect of disinfectants on *Salmonella* in biofilm[J]. Journal of Applied Microbiology, 2010, 108(3): 771–778.
- [17] 黄妙琴, 郭峰, 柯才焕. 近岸海洋细菌的群体感应与生物膜形成关系[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2010, 49(6): 863–870.