

环境因素对即食海参蜂房哈夫尼菌群体感应的影响

孔西曼, 张公亮, 王佳莹, 朱耀磊, 吴虹燕, 侯红漫

(辽宁省水产品加工质量安全与控制重点实验室, 国家海洋食品工程技术研究中心, 大连工业大学食品学院, 辽宁大连 116034)

摘要: 本文探究了即食海参腐败菌蜂房哈夫尼菌(*Hafnia alvei* H4)生长阶段 N-酰基高丝氨酸内酯(AHLs)的分泌规律及环境因素对 AHLs 分泌的影响。以紫色杆菌 CV026 为报告菌, 采用报告菌平板法检测 H4 分泌 AHLs 含量; 以根瘤农杆菌 KYC55 为报告菌, 采用 β -半乳糖苷酶法检测 AHLs 的活性。研究表明菌株 H4 分泌的 AHLs 含量及其活性具有密度依赖性, 在细菌对数生长后期 ($OD_{600} \approx 1.6$) AHLs 的分泌量达到最高, 此时培养液的 pH 为 5.71。环境因素对 AHLs 分泌影响的结果显示, 在一定浓度范围内, 添加 NaCl 对 H4 分泌 AHLs 有促进作用; 弱酸和弱碱都能使 AHLs 的分泌能力降低, pH 为 7.0 时 AHLs 分泌量最大; H4 分泌 AHLs 的最适温度为 30 °C, 低温下 AHLs 分泌能力较弱。经不同碳源或氮源培养时, H4 分泌 AHLs 的能力有明显差异, 以果糖为碳源时, AHLs 的活性最高, 以硫酸铵为氮源时, AHLs 的活性最高。综上所述, 蜂房哈夫尼菌的群体感应系统具有密度依赖性, 并且受环境因素影响, 呈现规律性变化。

关键词: 蜂房哈夫尼菌; 群体感应; N-酰基高丝氨酸内酯; 环境因素

文章编号: 1673-9078(2017)1-87-92

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.1.014

Influence of Environmental Factors on Quorum Sensing of *Hafnia alvei*

Isolated from Ready-to-eat Sea Cucumber

KONG Xi-man, ZHANG Gong-liang, WANG Jia-ying, ZHU Yao-lei, WU Hong-yan, HOU Hong-man

(Key Laboratory of Quality Safety and Control of Aquatic Products Processing in Liaoning Province, National Engineering Research Center of Seafood, School of Food Science and Technology, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China)

Abstract: This study aimed to investigate the regularity of N-acyl homoserine lactone (AHL) secretion by spoilage bacteria *Hafnia alvei* H4 isolated from ready-to-eat sea cucumber, and the influence of environmental factors on AHL secretion. AHL content secreted by H4 were determined using *Chromobacterium violaceum* CV026, and AHL activity was detected by *Agrobacterium tumefaciens* KYC55 in a β -galactosidase assay. The results showed that the content and activities of AHLs secreted by H4 were density-dependent. AHL activity initially increased, and then decreased with time under appropriate culture conditions, reaching a maximum in the late logarithmic phase ($OD_{600} \approx 1.6$; pH ≈ 5.71). Testing for the influence of environmental factors on AHL secretion revealed that an increased concentration of sodium chloride promoted the secretion of AHLs by H4 within a certain concentration range. Secretion of AHLs was reduced under weakly acidic and alkaline environments, and AHL content was the highest when the environmental pH was 7.0. The optimum temperature for AHL secretion by H4 was found to be 30 °C, and the ability of H4 to secrete AHLs was reduced at low temperatures. The ability of H4 to secrete AHLs was significantly different upon usage of different carbon or nitrogen sources; activities were the highest when fructose was used as the carbon source and ammonium sulfate as the nitrogen source. In conclusion, the quorum sensing system of *Hafnia alvei* H4 was density-dependent, influenced by environmental factors, and showed regular changes.

Key words: *Hafnia alvei*; quorum sensing; n-acyl-homoserine lactones; environmental factors

群体感应(Quorum sensing, QS)是细菌利用信号分子进行信息交流的一种方式, 定义为细菌细胞中基

收稿日期: 2016-01-18

基金项目: “十二五” 国家科技支撑计划项目 (2015BAD17B00)

作者简介: 孔西曼 (1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 水产品安全研究

通讯作者: 侯红漫 (1964-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品安全研究

因表达的协同作用, 并依赖种群密度, 通过胞外信号之间的交流进而对多种细菌物种特征的多样性产生影响^[1-4]。这些信号分子又称为自体诱导物 (Autoinducers, AIs), AI-1 类信号分子主要进行种内交流, 而 AI-2 类化合物主要进行种间交流, 除此之外, 还有肾上腺素、DPKs 等其它类型的信号分子^[5-7]。目

前关于革兰氏阴性菌产生的 AHLs 类信号分子研究较多,主要是脂肪酸衍生物,而革兰氏阳性菌产生的信号分子主要是肽类衍生物^[8]。目前的报道表明, QS 系统能调节细菌的细胞代谢和生理学活动,如细胞的生长、生物膜的形成、毒力因子的诱导、生物发光、细菌素和抗生素的合成^[9,10]。

蜂房哈夫尼菌(*Hafnia alvei*)是一种能运动、有鞭毛和兼性厌氧的革兰氏阴性条件致病菌,属肠杆菌科^[11]。主要分布于乳制品、肉类和水产品中,在腐败肉类中的分离几率很高,尤其是真空包装食品,是造成肉制品腐败变质,影响风味和贮存时间的主要因素^[12]。蜂房哈夫尼菌耐低温^[13],在冷藏食品中能够正常繁殖,而其它不耐低温的腐败菌生长受到影响,因此该菌是造成食品变质的主要腐败菌之一。有报道称, Jia-Yi Tan 等人从冷藏真空包装鱼酱中分离出蜂房哈夫尼菌^[14]。近年的研究表明,水产品的腐败变质与腐败菌 QS 现象密切相关,而 QS 正是通过信号分子的作用进而参与食品腐败的调控。有研究证实蜂房哈夫尼菌能够形成生物膜,从而抵抗抗生素、食品防腐剂和宿主免疫系统。

本实验室分离的蜂房哈夫尼菌在 GenBank 中的注册号为 KP462723,具有低温耐受特性,能诱导紫色杆菌和根瘤农杆菌两株报告菌产生颜色变化,经过薄层层析(TLC)和高效液相色谱-质谱联用(HPLC-MS)检测至少能产生 N-丁酰基-高丝氨酸内酯(C₄-HSL)和 N-3-氧代-辛酰基-高丝氨酸内酯(3-O-C₈-HSL)两种信号分子,且 C₄-HSL 含量相对较高。本研究从环境因素着手,以腐败即食海参中分离出的蜂房哈夫尼菌为研究对象,通过模拟食品加工和贮藏的环境来培养蜂房哈夫尼菌,对其 QS 系统进行间接监测,研究 AHLs 的分泌规律及环境因素对其影响,以便我们进一步研究 QS 系统的调控机制与食品腐败的关系,为蜂房哈夫尼菌的预防和食品腐败的防治提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料、菌株质粒和培养条件

菌株: *Hafnia alvei* H4 分离于腐败的即食海参中,紫色杆菌(*Chromobacterium violaceum*, CV026)和根瘤农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*, KYC55)由中国农业科学院周志刚教授惠赠。CV026 和 KYC55 本身均不产生 AHLs,当存在外源 AHLs 时,紫色杆菌 CV026 产生紫色杆菌素,根瘤农杆菌 KYC55 表达 *lacZ* 基因,分解 x-gal 产生蓝色。*Hafnia alvei* H4 在 30 °C,细菌基本培养基中生长。CV026 和 KYC55 在 28 °C, LB

肉汤培养基中活化。CV026 需添加 20 μg/mL 的卡那霉素。KYC55 添加 4.5 μg/mL 四环素和 50 μg/mL 壮观霉素。

细菌基本培养基:葡萄糖 0.5%;硫酸铵 0.2%;柠檬酸钠 0.1%;七水硫酸镁 0.02%;磷酸氢二钾 0.4%;磷酸二氢钾 0.6%;pH 7.0~7.2。

1.2 主要试剂与仪器

壮观霉素、四环素、卡那霉素、β-巯基乙醇和 ONPG(邻硝基苯-β-D-半乳糖苷)购自 Solarbio 公司;SDS 购自 Biomol Feinchemikalien GmbH。

UV 2102 型紫外分光光度计,岛津(上海)仪器有限公司;FA(N)/JA(N)系列电子天平,上海民桥精密科学仪器;实验室 pH 计,梅特勒-托利多仪器(上海)公司;TGL-16G 台式冷冻离心机, SIGMA。

1.3 方法

1.3.1 AHLs 粗提液的制备

菌株 H4 于培养基中 30 °C、150 r/min 过夜培养后,4 °C、8000 r/min 离心 10 min,将上清液浓缩后与酸化的乙酸乙酯(含 0.5%的甲酸)混匀,25 °C、180 r/min 振荡 3 h。静置分层,将有机相蒸干,用适量超纯水溶解 AHLs, -20 °C 保存。

1.3.2 生长曲线及 pH 值测定及不同生长阶段 AHLs 分泌规律

菌株 H4 过夜活化 12 h,按 1:100 比例转接到新鲜培养基中,150 r/min、30 °C 培养。每 6 h 取菌液 100 mL,测量 OD₆₀₀ 值和 pH 值并按照 1.3.1 方法提取 AHLs, -20 °C 保存。将活化的 CV026 与含 0.8%琼脂的 LB 混合均匀,制备报告平板,加样培养不同时间的 AHLs 提取液 100 μL,28 °C 培养 24 h,测量变色圈直径。

1.3.3 β-半乳糖苷酶法检测 AHLs 活性

将 KYC55 活化两次,再用新鲜 LB 液体培养基稀释,分别取 1 mL 分装于离心管中,然后加入各个时间段的上清液 200 μL,过夜培养,在 5 mL 离心管中,依次加入 100 μL 过夜菌液,0.9 mL Z-buffer,15 μL 0.1% SDS,45 μL 氯仿,剧烈震荡 10 s 后,加入 200 μL 4-mg/mL 的 ONPG,摇匀,28 °C 水浴,开始计时,待变黄后加入 600 μL、1 M Na₂CO₃ 终止反应,记变色时间,10000 r/min 离心 5 min,测定上清液 OD₄₂₀,同时测定菌液 OD₆₀₀,根据变色时间计算 β-半乳糖苷酶活性,空白培养基作为阴性对照。根据酶活力 AHLs 的定义,按照下面的公式计算 β-半乳糖苷酶活性:

$$\text{Miller Units} = (1000 \times \text{OD}_{420}) / (\text{OD}_{600} \times T \times V)$$

其中,式中 T 以 min 为单位,V 为反应中的菌液体积(mL)。

1.3.4 环境因素对 AHLs 分泌的影响

制备不同含盐量(0%~5.0%)的细菌基本培养基,将过夜活化的菌液按 1:100 比例转接到制备好的新鲜的培养基中, 30 °C、150 r/min 培养至相同的 OD₆₀₀ 值(OD₆₀₀≈1.0), 离心, 取上清, -20 °C 保存。同时按照 1.3.1 方法提取 AHLs, 按照 1.3.2 报告菌平板法检测 AHLs 的含量, 按照 1.3.3 方法测定 AHLs 的活性。

同时分别制备不同 pH (4.0~9.0)、碳源(葡萄糖、海藻糖、麦芽糖、果糖和木糖)、氮源(氯化铵、硫酸铵、胰蛋白胍和酪蛋白胍)培养基, 碳源的添加量为 0.5%, 氮源为 0.2%。同时将过夜活化的菌液接种于新鲜培养基中, 在 4 °C、10 °C、25 °C、30 °C 和 37 °C 培养至 OD₆₀₀≈1.0。上清液和 AHLs 的提取方法同上。

1.4 数据处理与统计分析

每组处理设三组平行, 结果以平均数±标准偏差表示。用 Excel 统计数据, 采用 SPSS 20.0 软件进行数据方差分析及多重比较。

2 结果与讨论

2.1 蜂房哈夫尼菌 H4 分泌 AHLs 的规律

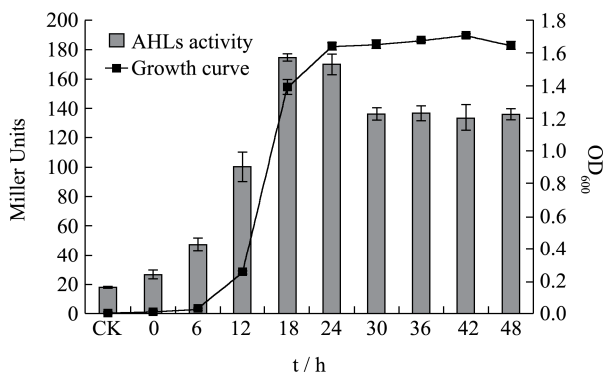


图1 蜂房哈夫尼菌 H4 生长期间 AHLs 活性与 OD₆₀₀ 关系

Fig.1 Relationship between AHL activities of *Hafnia alvei* H4 and OD₆₀₀ during the growth phase

菌株 H4 生长期间 AHLs 的活性检测(图1)表明, AHLs 的活性随菌株 H4 密度变化而变化, 具有密度依赖性。在对数前期便可检测到 AHLs 的产生, 并在细菌密度达到最大时(对数生长后期, 培养 18~24 h), AHLs 的活性最强, 之后 AHLs 的活性随着细菌进入衰亡期逐渐下降。报告平板法结果(图2)与此一致, 18 h 和 24 h 所诱导的变色直径分别达到 46.2 和 46.3 mm。已知 AHLs 在酸性条件下稳定存在, 故本实验在测定蜂房哈夫尼菌 AHLs 分泌情况的同时, 测定了培养基 pH 的变化, 结果如图3所示, 培养液的 pH 值从开始的 6.80 (0 h)

减小到稳定期为 5.71 (24 h), 在稳定后期又逐渐上升, 48 h 为 6.38, 呈先下降又上升规律, 而 AHLs 的活性也是在 pH 处于最小时达到最大。

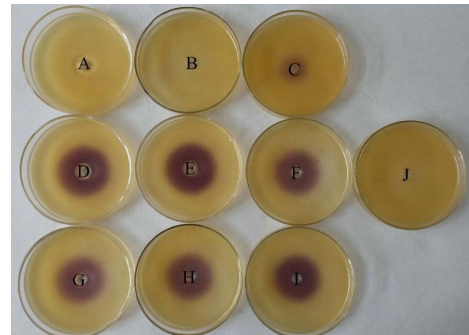


图2 蜂房哈夫尼菌 H4 生长期间 AHLs 含量变化

Fig.2 Changes in AHL content of *Hafnia alvei* H4 during the growth phase

注: A 为 0 h; B 为 6 h; C 为 12 h; D 为 18 h; E 为 24 h;

F 为 30 h; G 为 36 h; H 为 42 h; I 为 48 h; J 为 Negative control.

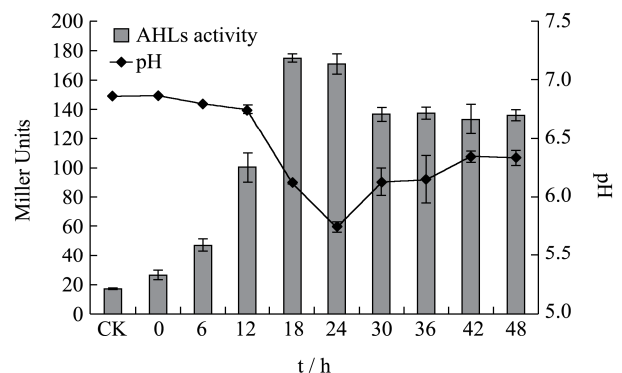


图3 蜂房哈夫尼菌 H4 生长期间 AHLs 活性与 pH 关系

Fig.3 Relationship between AHL activities of *Hafnia alvei* H4 and pH during the growth phase

2.2 环境因素对蜂房哈夫尼菌 H4 分泌 AHLs 的影响

的影响

2.2.1 NaCl 对 AHLs 分泌的影响

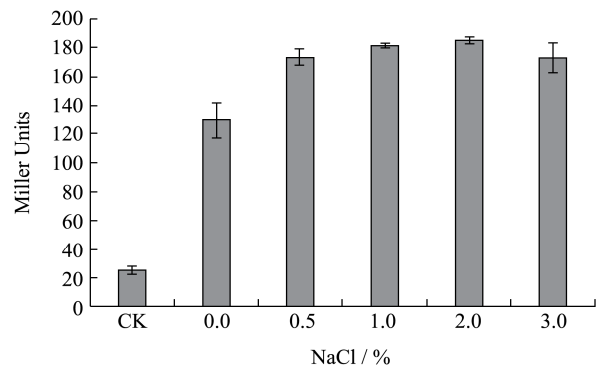


图4 NaCl%对蜂房哈夫尼菌 H4 分泌 AHLs 活性影响

Fig.4 Influence of sodium chloride (%) on the activity of AHLs secreted by *Hafnia alvei* H4

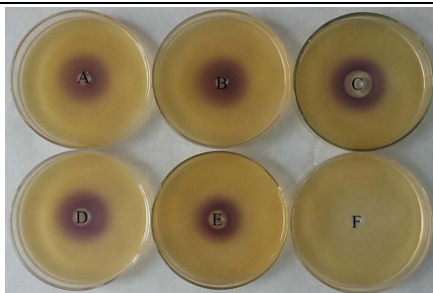


图5 NaCl%与蜂房哈夫尼菌H4分泌AHLs含量关系

Fig.5 Relationship between sodium chloride (%) and content of AHLs secreted by *Hafnia alvei* H4

注: A为0%; B为0.5%; C为1.0%; D为2.0%; E为3.0%; F为Negative control。

添加不同浓度的NaCl后,检测AHLs的活性,结果如图4所示,与阴性对照组比较(NaCl为0%),一定浓度NaCl(0.5%~3%)存在时,可极显著地刺激菌株H4分泌AHLs($p < 0.01$)。当NaCl含量为2.0%时,信号分子活性最高,达到 185.63 ± 1.76 Miller units,而当NaCl为3.0%时,AHLs的分泌量略有降低,这是由于在3%的盐浓度下,菌株H4的生长受到了严重的抑制,最终收集的菌液OD₆₀₀仅能达到0.46,而其它处理组的OD₆₀₀均可达到1.0。当NaCl含量为4.0%和5.0%时,在培养72h的时间里,均未出现细菌生长,故未测定AHLs的活性。报告平板结果(图5)与此一致。此结果验证了当环境胁迫存在,不利于H4生长时,确实会激活H4的群体感应系统,故表现出AHLs的分泌量增加。在食品加工中,NaCl是主要的食品咸味剂,从我们的实验结果不难推测AHLs的活性随食品中含盐量变化而变化,因此控制NaCl添加量显得尤为重要,既要保证食品的风味,又要保证食品的安全。

2.2.2 pH对AHLs分泌的影响

检测不同pH下菌株H4产生的AHLs活性,结果如图6所示,与正常处理组相比(pH为7.0),在弱酸和弱碱下AHLs的分泌能力都有减弱。pH为4.0时,AHLs的活性最低,这是由于菌株H4在pH4.0时生长繁殖已明显受到影响,最终收集菌液的OD₆₀₀仅为0.32,而其它处理组的OD₆₀₀均可达到1.0。pH为7.0时,AHLs的活性最高,达到 149.10 ± 1.07 Miller units,与pH4.5和pH5.0组之间存在显著差异($p < 0.05$)。相比酸性,H4在碱性下分泌AHLs能力更强,这与孙秀娇^[15]等人报道的结果相一致。报告平板结果如图7所示。我们的结果表明AHLs的分泌能力随食品中的pH值变化而变化,但并没有由于环境胁迫而导致分泌量增加,在弱酸性条件下AHLs分泌量较低,因此在食品保存中,保持食品pH呈酸性对食品更加有利,延长其贮藏期。

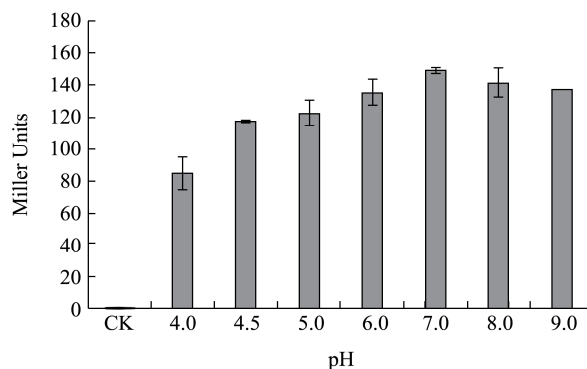


图6 pH对蜂房哈夫尼菌H4分泌AHLs活性影响

Fig.6 Influence of pH on the activity of AHLs secreted by *Hafnia alvei* H4

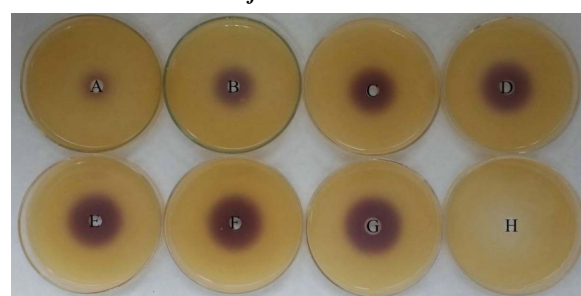


图7 pH与蜂房哈夫尼菌H4分泌AHLs含量关系

Fig.7 Relationship between pH and content of AHLs secreted by *Hafnia alvei* H4

注: A为4.0; B为4.5; C为5.0; D为6.0; E为7.0; F为8.0; G为9.0; H为Negative control。

2.2.3 温度对AHLs分泌的影响

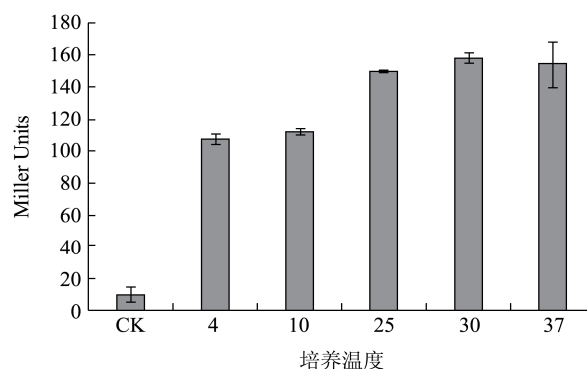


图8 培养温度对蜂房哈夫尼菌H4分泌AHLs活性影响

Fig.8 Influence of culture temperature on activity of AHLs secreted by *Hafnia alvei* H4

检测不同培养温度下H4分泌的AHLs活性,结果如图8所示,与正常处理组相比(培养温度为30℃),培养温度过高或过低都会减弱菌株H4分泌AHLs的能力。低温培养环境下(4℃和10℃),AHLs的活性较低,与25℃、30℃和37℃组之间均有极显著差异($p < 0.01$)。在30℃时菌株H4所分泌的AHLs的活性最高,达到 157.64 ± 3.87 Miller units,37℃下AHLs分泌能力相比25℃稍好。我们的结果表明,菌

株 H4 在不同培养温度下, AHLs 分泌能力最强时的环境培养温度为 30 °C, 这与菌株 H4 的最适生长温度为 30 °C 相一致, 除此之外, 我们的检测结果也证实了可以通过低温贮存的方式控制 AHLs 的分泌, 从而避免由蜂房哈夫尼菌造成的水产品腐败。报告平板结果如图 9 所示, 与上述结果一致。



图 9 培养温度与蜂房哈夫尼菌 H4 分泌 AHLs 含量关系

Fig.9 Relationship between culture temperature and content of AHLs secreted by *Hafnia alvei* H4

注: A 为 4 °C; B 为 10 °C; C 为 25 °C; D 为 30 °C; E 为 37 °C; F 为 Negative control.

2.2.4 碳源对 AHLs 分泌的影响

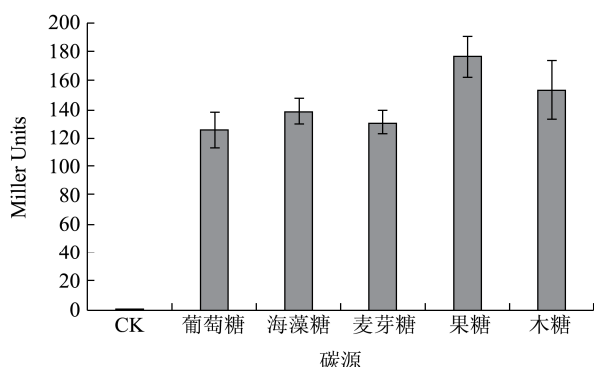


图 10 碳源对蜂房哈夫尼菌 H4 分泌 AHLs 活性影响

Fig.10 Influence of carbon source on the activity of AHLs secreted by *Hafnia alvei* H4

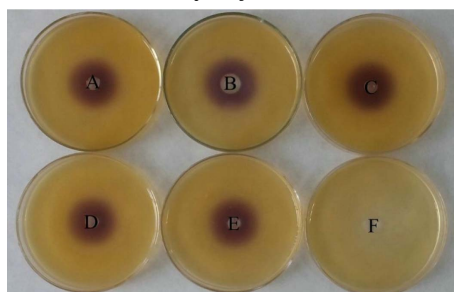


图 11 碳源与蜂房哈夫尼菌 H4 分泌 AHLs 含量关系

Fig.11 Relationship between carbon source and content of AHLs secreted by *Hafnia alvei* H4

注: A 为葡萄糖; B 为海藻糖; C 为麦芽糖; D 为果糖; E 为木糖; F 为阴性对照。

由于微生物生长以及某些特性的表达也受到营养物质的影响, 因此我们研究了碳源对菌株 H4 分泌

AHLs 的影响。添加不同碳源后检测 AHLs 活性, 结果如图 10 所示, AHLs 的活性从高到低所利用的碳源依次是果糖、木糖、海藻糖、麦芽糖和葡萄糖。以果糖为碳源时 AHLs 的活性高达 176.08±14.16 Miller units, 除与木糖组之间无显著性差异, 与其余三组之间差异极显著($p<0.01$)。其次是以木糖为碳源, AHLs 的活性为 152.96±20.41 Miller units。以葡萄糖、海藻糖和麦芽糖为碳源时, AHLs 的活性接近且相对较低。报告平板结果(图 11)与上述结果一致。因此, 在水产品加工过程中, 应尽量选用葡萄糖和麦芽糖等为原料, 以减少由 AHLs 介导的食品腐败的发生。

2.2.5 氮源对 AHLs 分泌的影响

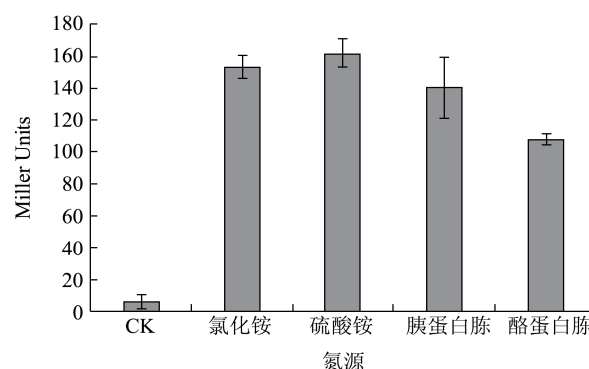


图 12 氮源对蜂房哈夫尼菌 H4 分泌 AHLs 活性影响

Fig.12 Influence of nitrogen source on the activity of AHLs secreted by *Hafnia alvei* H4

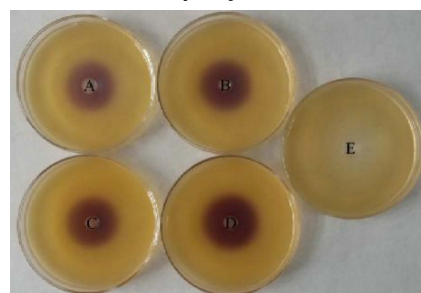


图 13 氮源与蜂房哈夫尼菌 H4 分泌 AHLs 含量关系

Fig.13 Relationship between nitrogen source and content of AHLs secreted by *Hafnia alvei* H4

注: A 为氯化铵; B 为硫酸铵; C 为胰蛋白胨; D 为酪蛋白胨; E 为阴性对照。

添加不同氮源后检测 AHLs 活性, 结果如图 12 所示, AHLs 的活性从高到低所利用的氮源依次是硫酸铵、氯化铵、胰蛋白胨和酪蛋白胨。当以硫酸铵为氮源时, AHLs 活性高达 160.42±11.10 Miller units。当以氯化铵为氮源时 AHLs 活性也相对较高, 为 153.13±7.37 Miller units。以酪蛋白胨为氮源时, AHLs 的活性最低, 为 106.87±4.20 Miller units, 与其他三组均有显著差异, 与氯化铵和硫酸铵组差异极显著($p<0.01$)。报告平板结果如图 13 所示。

3 结论

3.1 本文探究了即食海参腐败菌蜂房哈夫尼菌生长期间 AHLs 的分泌规律, 结果表明 H4 在对数初期就可产生 AHLs, 在对数后期达到最大, 在稳定期含量下降但仍然能维持较长时间, 具有明显的密度依赖性。本文还研究了常见的环境因素对蜂房哈夫尼菌 H4 分泌信号分子能力的影响, 评估了环境因素与 AHLs 之间的关系, 实验结果阐明了菌株 H4 自身的群体感应系统受环境因素的调控。当环境胁迫存在时, 如高盐浓度下, 可能由于菌株 H4 感知到外界环境的不利, 从而启动相关基因, 刺激自身分泌大量 AHLs, 达到一定阈值后, 与胞内受体蛋白结合, 调控相关基因的表达, 进而达到自我保护的目的^[16], 而低温对其分泌 AHLs 影响不显著。

3.2 目前, 食品中的腐败菌产生 AHLs 的现象较为普遍, 但是关于 AHLs 的影响因素的研究相对较少, 本文也为食品基质中由不同温度、pH、含盐量以及碳源和氮源所引起的 AHLs 的变化而导致的食品腐败奠定了基础。本研究有利于我们更深入的了解群体感应系统的调控机制, 搞清群体感应与食品腐败之间的关系, 进而选择更适合的食品加工和储藏条件以减少由优势腐败菌所引起的食品腐败。蜂房哈夫尼菌是水产品的主要腐败菌之一, 尤其是真空包装食品, 国内关于蜂房哈夫尼菌群体感应的报道还非常少, 研究主要集中于铜绿假单胞菌和不动杆菌, 因此本研究也为后续蜂房哈夫尼菌的预防以及水产品保鲜提供了一定的理论基础, 为抑制食品腐败及保鲜剂的研究开拓了新思路。

参考文献

- [1] Fuqua C, Parsek M R, Greenberg E P. Regulation of gene expression by cell-to-cell communication: acyl-homoserine lactone quorum sensing [J]. Annu. Rev. Genet., 2001, 35(1): 439-468
- [2] Von Bodman S B, Dietz Bauer W, Coplin D L. Quorum sensing in plant-pathogenic bacteria. Annu [J]. Rev. Phytopathol, 2003, 41(1): 455-482
- [3] Waters C M, Bassler B L. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria [J]. Annu. Rev. Cell Dev. Biol., 2005, 21(21): 319-346
- [4] Williams P, Winzer K, Chan W C, et al. Look who's talking: communication and quorum sensing in the bacterial world [J]. Philo. Trans. R. Soc. London, 2009, 362(1483): 1119-1134
- [5] Atkinson S, Williams P. Quorum sensing and social networking in the microbial world [J]. J. R. Soc. Interface, 2009, 6(40): 959-978
- [6] Bassler B L. Small talk: Cell-to-cell communication in bacteria [J]. Cell, 2002, 109(4): 421-424
- [7] Vendeville A, Winzer K, Heurlier K, et al. Making "sense" of metabolism: Autoinducer-2, LUXS and pathogenic bacteria [J]. Nat. Rev. Microbiol., 2005, 3(5): 383-396
- [8] Ali E McClean, Breck A, Duerkop E. Peter Greenberg, et al. AHL signals induce rubrifacine production in a brui mutant of *Brenneria rubrifaciens* [J]. Bacteriology, 2012, 102(2): 195-203
- [9] Whitehead N A, Barnard A M L, Slater H, et al. Quorum sensing in gram-negative bacteria [J]. FEMS Microbiol. Rev., 2001, 25(4): 365-404
- [10] Shanmugam N Prashanth, Giuliana Bianco, Tommaso R I Cataldi, et al. Acylhomoserine lactone production by bacteria associated with cultivated mushrooms [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2011, 59(21): 11461-11472
- [11] Eliseth Souza Viana, Maria Emilene Martino Campos, Adriana Reis Ponce, et al. Biofilm formation and acyl homoserine lactone production in *Hafnia alvei* isolated from raw milk [J]. Biological Research, 2009, 42(4): 427-436
- [12] 张旭东, 闫超杰, 孙剑, 等. 冷鲜牛肉中蜂房哈夫尼亚菌 (*Hafnia alvei*) 的分离与鉴定 [J]. 微生物学杂志, 2010, 30(3): 106-108
ZHANG Xu-dong, YAN Chao-jie, SUN Jian, et al. Isolation and identification of *Hafnia alvei* in refrigerated fresh beef [J]. Journal of Microbiology, 2010, 30(3): 106-108
- [13] Daniel Padilla, Sara Remuzgo-Martínez, Felix Acosta, et al. *Hafnia alvei* and *Hafnia paralvei* taxonomy defined but still far from virulence and pathogenicity [J]. Veterinary Microbiology, 2013, 163(1-2): 200-201
- [14] Jia-Yi Tan, Wai-Fong Yin, Kok-Gan Chan. Quorum sensing activity of *Hafnia alvei* isolated from packed food [J]. Sensors, 2014, 14(4): 6788-6796
- [15] 孙秀娇, 朱素芹, 张彩丽, 等. 凡纳滨对虾源不动杆菌群体感应信号分子分离鉴定及其调控 [J]. 微生物学通报, 2015, 42(2): 437-443
SUN Xiu-Jiao, ZHU Su-Qin, ZHANG Cai-Li, et al. Isolation, identification and regulation of quorum sensing signal molecules of *Acinetobacter* in *Litopenaeus vannamei* [J]. Microbiology China, 2015, 42(2): 437-443

(下转第 105 页)