

根表功能细菌生物膜及其在土壤有机污染控制与修复中的潜在应用价值

刘娟, 凌婉婷, 盛月慧, 顾玉骏, 高彦征*

(南京农业大学土壤有机污染控制与修复研究所, 南京 210095)

摘要:土壤中的有机污染物可从根系进入植物体内,并可进一步通过食物链富集,从而威胁人群健康。植物根际微生物种类繁多、数量巨大,其中很多根际细菌可通过成膜作用在植物根表形成细菌生物膜,协助植物抵抗外界的不良环境或促进植物生长。有机污染物在被植物根系吸收的过程中,多需经过根表细菌生物膜这一特殊界面。综述了根际细菌在植物根表的成膜作用,以及根表功能细菌生物膜对污染物根际环境过程的影响及作用机理,分析了利用根表功能细菌生物膜调控植物吸收有机污染物的可行性,试图为防治土壤有机污染、降低作物污染风险、保障农产品安全等提供理论依据。

关键词:根表;功能细菌;细菌生物膜;植物吸收;有机污染

中图分类号:X172 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)11-2112-06 doi:10.11654/jaes.2013.11.002

Biofilm Formation of Functional Bacteria on Root Surfaces and Its Potential Applications on Organic Contaminant Control and Soil Remediation

LIU Juan, LING Wan-ting, SHENG Yue-hui, GU Yu-jun, GAO Yan-zheng*

(Institute of Organic Contaminant Control and Soil Remediation, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Organic pollutants present in soil may be taken up by plants and accumulated through food chain, thus threatening human health. There are amount of bacterial cells existed in rhizosphere soil, and many of them usually form biofilms on root surfaces, protecting plants from external harsh environments or promoting plant growth. Organic contaminants always need to pass through the biofilm on root surfaces before taken up by plant. In this paper, the formation of bacterial biofilm associated with roots were elucidated. The impacts of functional biofilm on the behavior of contaminants in rhizosphere were elucidated, and the mechanisms involved were clarified. Finally, we proposed a biofilm-mediated technique to eliminate plant organic contamination in polluted soils, hence benefiting agriculture production, food safety, and human and ecological health in contaminated sites.

Keywords: root surface; functional bacteria; bacterial biofilm; plant uptake; organic contamination

我国土壤有机污染严重,且影响范围较广^[1-2]。土壤中的有机污染物能够被植物吸收,并可通过食物链富集,进而威胁人群健康^[1-4]。近年来,随着社会对农产品安全问题的日益关注,如何在污染区生产安全的农产品也逐渐成为研究的热点^[5]。明确植物对有机污染物的吸收规律,弄清环境条件对植物吸收有机污染物

的影响及机理,可以为规避农作物有机污染风险提供科学依据^[1,5]。

根系吸收是植物吸收土壤中有机污染物的一个主要途径,根表则是污染物吸收的重要窗口^[6-8]。近十几年来,科学家们逐渐认识到自然界中的微生物主要是以群体的方式——即生物膜的方式存在^[9]。自然条件下,大多数根际细菌可通过成膜作用在植物根表形成细菌生物膜^[10],以协助植物抵抗外界的不良环境或促进植物生长^[11]。有机污染物在被植物根系吸收的过程中,多需经过根表细菌生物膜这一特殊界面。但目前为止,有关根表细菌生物膜对植物吸收有机污染物的影响和作用机理尚不十分清楚。

收稿日期:2013-03-19

基金项目:国家自然科学基金(41201501;41171380;41071212);江苏省自然科学基金(BK2012370);南京农业大学青年科技创新基金(KJ2012008)

作者简介:刘娟(1984—),女,博士,讲师,主要从事土壤有机污染控制与修复方面的研究。E-mail:liujuan@njau.edu.cn

*通信作者:高彦征 E-mail:gaoyanzheng@njau.edu.cn

基于此,本文拟从根际细菌在植物根表的成膜作用、根表细菌生物膜的生态功能、根表功能细菌生物膜对污染物根际环境过程的影响以及相关机理等方面进行阐述,进而综合地分析利用根表功能细菌生物膜调控植物吸收有机污染物的可行性,并试图为防治土壤有机污染、降低作物污染风险以及保障农产品安全等提供理论依据。

1 根表是植物吸收有机污染物的重要窗口

有关植物对有机污染物的吸收作用国内外已进行了较系统的研究,包括植物对有机污染物的吸收积累、体内传导、体内代谢以及亚细胞分配等^[5,12-13]。一系列的研究结果表明,植物吸收土壤中有有机污染物的主要途径由根系进行^[6-8],多种有机污染物如农药、多环芳烃(PAHs)、多氯联苯(PCBs)等皆可被植物根系吸收并在根部组织中累积^[5,8]。植物根系吸收土壤中有有机污染物的过程可以分为主动吸收和被动吸收,这取决于植物和有机污染物的种类以及污染物在土壤溶液中的浓度^[1]。一般来说,由于植物体内亲脂性有机污染物的浓度远远低于周围土壤溶液中污染物的浓度,推测绝大多数植物对亲脂性有机污染物的吸收过程皆为被动吸收^[14]。这种吸收作用可看作化合物在土壤-溶液、溶液-根等一系列分配过程的总和^[5],其与污染物辛醇-水分配系数(K_{ow})以及土壤有机质含量呈负相关^[12],而与根脂肪含量呈正相关^[15]。

根表是植物根系与土壤的界面,是植物吸收有机污染物的重要窗口。王戎等^[16]在研究玉米根部对菲和芴吸着与吸收的过程时发现,玉米幼苗根部对菲和芴的吸着量相似,且大部分以强吸着态存在于根表。而据 Kvesitadze 等^[17]报道,植物根系吸收环境有机污染物的过程可分为两个阶段:首先是污染物从周围的环境介质中逐渐扩散至植物根部被根表吸附,而后才逐渐被植物根系吸收并在植物组织中累积。Zhan 等^[1]在研究小麦根系对菲的吸收作用时也验证了这一论断:在小麦根系对菲快速吸收的初始阶段,菲首先被吸附到小麦根表细胞壁,然后向根部组织扩散并随蒸腾流被植物吸收。

根际细菌对植物吸收有机污染物也有着重要影响。首先,污染条件下的很多根际细菌可以自行代谢有机污染物,降低其对植物的毒性,且其代谢产物可作为营养物质被植物吸收利用^[18];其次,根际细菌可以利用植物根系分泌物快速生长繁殖,细菌活动的增强使得其对有机污染物的代谢能力增强,同时也可活

化土壤养分供植物利用,这种植物和根际细菌的共同作用可快速除去土壤中的有机污染物^[19-20];最后,一些根际细菌可以产生生物表面活性剂等物质影响污染物的溶解性和生物可利用性,进而影响植物对有机污染物的吸收^[21-22]。除此之外,生物表面活性剂还有助于根际细菌在植物种子和根表定殖,从而使其在根际环境中稳定存在^[23]。有些根际细菌同时具备降解有机污染物、产生生物表面活性剂以及植物促生物质等功能,可在植物根表定殖、促进植物生长并有效去除土壤中的有机污染物^[24]。

2 植物根表普遍存在细菌成膜作用

2.1 细菌生物膜

细菌生物膜是附着在载体表面或不同介质界面的高度组织化、系统化的微生物膜性聚合物,是细菌在自然环境中普遍存在的一种生存方式^[25]。细菌生物膜由细菌及其产生的胞外多糖(Exopolysaccharide,简称 EPS)以一定的方式聚集而成,其发育过程类似于高等生物的发育周期。以 *Vibrio cholerae* 的成膜作用为例,在信号分子的驱动下,首先是游离的菌体在鞭毛的摆动作用下游向固体表面;而后在菌毛的作用下菌体开始吸附在固体表面,同时鞭毛的摆动使菌体可以在固体表面滑动以选择合适的吸附点,并与其他菌体聚集形成微型菌落;当细菌繁殖聚集到一定数量时,菌体开始向胞外分泌 EPS 形成生物膜的三维结构^[26]。需要说明的是,由于不同细菌产生的 EPS 组分不同,且同一种细菌在不同环境条件下产生的 EPS 组分也有差异,因而所形成生物膜的结构和功能也多有不同^[27]。除单一细菌形成的生物膜外,自然环境中的生物膜多是由多种细菌共同作用形成,其多样性的丰富程度并不亚于物种多样性^[28]。此外,细菌生物膜不是简单的细菌集合体,成膜细菌之间有信息的交流来控制群体的行为,以胞外的信号分子控制生物膜的形成和发育^[29-30]。在成熟的生物膜结构中,由细菌菌体形成的支架起到支撑生物膜的作用,而环绕菌体支架的水通道则可以保证营养物质的进入和有害代谢物质的排出^[31]。

2.2 植物根表普遍存在细菌生物膜

植物根表普遍存在细菌成膜作用,根表细菌生物膜是很多根际细菌常见的一种生存方式^[10]。植物根系通过根表不断向根际分泌多糖、氨基酸及低分子量有机酸等根系分泌物,根际细菌竞相定殖在植物根表以获得这些营养物质,并在根表形成微型克隆、聚集体以

及细胞簇。这些多细菌共同作用形成的结构在很多方面展现出了细菌生物膜的特征^[32],因而研究者将其与成熟的细菌生物膜一起统称为根表细菌生物膜^[11]。很多根际细菌可以在根表定殖并形成稳定的生物膜结构,如 *Pseudomonas fluorescens*^[33-34]、*Pseudomonas putida*^[35-36]、*Bacillus subtilis*^[37]、*Enterobacter agglomerans*^[38]、*Burkholderia* sp.的一些植物促生菌^[39]、*Cyanobacteria* sp.与 *Azospirillum* sp.的自生固氮菌^[40-41]以及水稻根表的氨氧化细菌^[42]等。与在茎叶表面形成生物膜的细菌多对植物有致病性不同,在根表成膜的细菌多对植物生长有益^[11,43]。

2.3 根表细菌生物膜的生态功能

根表细菌生物膜具有促进作物增产、提高植物抗逆性、降低植物病虫害发生等生理生态功能,且由于根表细菌生物膜可在根际环境中稳定存在,常作为生防菌和外源基因的重要载体^[11]。已证实,成膜细菌可以牢固地定殖在植物根系表面甚至进入植物组织内部与植物共生,协助植物抵抗外界的不良环境并促进植物生长^[44];同时,根表细菌生物膜增强了植物和根际微生物的相互作用以及根部和根际土壤的营养交换^[42]。此外,根表细菌生物膜中的 EPS 可以改善根际土壤结构^[45-46],在植物与菌根真菌的相互作用中也扮演了重要的角色^[34]。而在湿地系统以及水生环境中,根表细菌生物膜在植物根系固定到岩石表面的过程中起着重要作用,一些水生植物的根表细菌生物膜厚度可达到 100 μm 以上^[47]。

3 根表细菌生物膜影响污染物的根际环境过程

近些年来,有关根表细菌生物膜的环境效应已成为国内外环境领域研究的一个热点,首先表现在重金属污染问题上。Hansel 等^[48]在研究湿地系统的水生植物时发现,根表铁膜的形成在一定程度上是由于定殖在植物根表的细菌在成膜过程中分泌产生的 EPS 吸附由铁氧化细菌所形成的铁氧化物以及 Mn、Pb、Zn 等金属的碳酸盐所形成的复合物,该复合物可以调控水生植物根际系统中金属的生物可利用性及迁移能力。Liu 等^[49]研究水稻根系中元素砷在根土界面以及植株中的分配过程时发现,在成熟的水稻根际系统中,元素砷的分配优先富集在根表铁膜,其次才是水稻的根系、茎叶、谷壳和米粒。此外,根表铁膜数量的高低也直接影响着米粒中无机砷的含量,根表铁膜数量越高,则米粒中无机砷含量越低,对人体健康的风险也就越低。Wu 等^[50]将金属结合肽 EC20 的编码基

因导入植物根际细菌 *Pseudomonas putida* 06909 使其表达,并将该细菌定殖到向日葵的根部使其在根表成膜与植物共生,然后利用该植物-细菌共生体对镉污染土壤进行修复。结果发现,该植物-细菌共生体系明显增强了植物根系对镉的吸附作用,并使镉在植物根部的积累量增加了 40%,且有效降低了土壤中镉对植物的毒性。

针对有机污染物,根表细菌生物膜的作用和功能在 20 世纪末一经提出便引起了研究者的关注。Cunningham 和 Berti^[51]在 1993 年提出,植物根系表面有活跃的细菌生物膜,它们同菌根真菌一起,扩大了植物根系和土壤的接触面,增加了根际营养物质的交换,并增强了植物对根际有机污染物的代谢能力。Sarand 等^[33]在利用植物和菌根真菌联合修复石油污染土壤时发现,在土壤和菌根界面上形成了典型的生物膜结构,该生物膜主要由 *Pseudomonas* sp.的细菌组成,其中的 *Pseudomonas fluorescens* 含有单一苯环芳香族化合物的降解基因 *xylE* 和 *xylMA*,可降解甲基苯甲酸酯和二甲苯;且该基因可以在生物膜内水平转移至 *Pseudomonas putida* 中,使其具有类似的代谢能力,从而提高生物膜对污染物的降解效率。Villacieros 等^[52]利用可以在多种植物根表定殖成膜并含有 PCBs 降解基因 *F113pcb* 的 *Pseudomonas fluorescens* F113 作为宿主菌,将源自 *Burkholderia* sp. strain LB400 的 PCBs 降解基因 *bph* 操纵元克隆到该宿主菌中,构建了工程菌株 F113L::1180。该工程菌株对 PCBs 的降解速度比原宿主菌快了很多,且由于保留了在植物根表定殖并成膜的能力,可以在根际环境中稳定存在,持续有效地降解环境中的 PCBs。此外,在水生环境中,Yamaga 等^[53]从线叶藻根表分离获得了一株苯酚降解菌 *Acinetobacter calcoaceticus* P23,并发现其可以很好地在在线叶藻根表定殖成膜与植物共生并具有促生能力,该共生体对水体中的苯酚具有持续高效的降解能力,同时这也为治理水污染提供了一条新的思路。

4 根表细菌生物膜影响污染物根际环境过程的机理

细菌生物膜自身的一些结构特征,使其在有机污染物分解以及重金属的代谢过程中起着非常重要的作用,可用于降解工业化带来的各种污染物^[54]。

4.1 EPS

由于生物膜内的细菌包被在由其自身形成的 EPS 中,具备更强的抵抗不良生存环境和微生物抑制

物的能力,可以在环境中稳定存在^[54]。很多研究者指出,在自然环境中存在的一些典型生物膜结构,其中的 EPS 可以和微生物抑制物相互作用,阻止其进入生物膜结构中或是降低生物膜结构中微生物抑制物的浓度^[55]。Mah 等^[56]总结了生物膜耐受微生物抑制物的机理:一是由于生物膜的慢速生长以及由 rpoS 介导的诱导性胁迫应答;二是 EPS 的特殊理化结构以及生物膜的一些特殊结构使得其可以将微生物抑制物排出体外;三是成膜细菌可以产生基于生物膜特异性的耐受微生物抑制物的表型。

细菌生物膜中的 EPS 具有吸附和富集农药等有机污染物以及重金属等无机污染物的功能^[57-59],并可将污染物包埋在生物膜中,然后通过膜内细菌的共同作用将其代谢^[60]。Schorer 等^[61]早在 1997 年就发现细菌生物膜可以吸附并富集 Cu、Zn、Pb 等重金属以及 PAHs 和 PCBs 等有机物。Lawrence 等^[62]利用来自河水的细菌生物膜在生物反应器中处理除草剂阿特拉津和禾草灵,发现该生物膜可以快速吸附积累并降解这两种除草剂,且在生物膜中检测到了其中间代谢产物。最近,Harish 等^[63]发现一株 Cr(VI)的耐受菌 *Enterobacter cloacae* SUKCr1D,随着环境中 Cr(VI)的浓度升高,该菌株所产生的 EPS 也逐渐增多,且该 EPS 可吸附 Cr(VI)并在功能菌株的作用下将其还原成 Cr(III)。

4.2 膜内细菌的共同代谢

自然条件下,细菌生物膜大多由多种细菌共同作用形成,这些细菌通常具备不同的代谢能力,可以共同完成一系列复杂的代谢过程,从而使复杂难降解污染物的代谢更加方便和快速^[60]。Borja 等^[64]利用从 PCBs 污染土壤中分离获得的细菌生物膜种群在生物反应器中处理 PCBs,并以联苯作为生物膜的碳源使其快速生长,发现该生物膜种群在一天内对污水中 PCBs 的去除率可达 80%以上。Smith 等^[65]以乳酸作为碳源和能源,在硫酸存在的条件下,利用多种硫酸还原细菌形成的生物膜处理 Cr(VI),发现该生物膜在 48 h 内可以将超过 88%的初始浓度为 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cr(VI)还原成 Cr(III),使其从溶液中沉淀出来。

4.3 功能基因的水平转移

由于生物膜结构中的各细菌紧密结合在一起,功能基因等遗传物质在细菌同一种属或不同种属间的相互传递也更为便利,增强了生物膜中各细菌间的协同作用以及对污染物的代谢能力^[48,60,66]。如前所述,Sarand 等^[33]发现,在石油污染土壤和菌根界面上形成

的生物膜结构中,*Pseudomonas fluorescens* 含有的单一苯环芳香族化合物的降解基因 *xyIE* 和 *xyIMA* 可在生物膜内水平转移至 *Pseudomonas putida* 中,使其具有类似的代谢能力,从而提高生物膜对污染物的降解效率。而全向春等^[67]的研究也表明,在生物膜系统中,携带 2,4-D 降解基因簇的质粒 pJP4 可以从宿主菌 *Pseudomonas putida* SM1443::gfp2x (pJP4::dsRed)水平转移至生物膜系统的其他细菌中,且该基因的水平转移有效提高了生物膜系统对 2,4-D 的降解能力。

4.4 增强有机物的溶解性

除此之外,细菌成膜作用还可以增强难溶性有机污染物的溶解性,从而使其进一步为细菌利用。PAHs 类化合物是土壤环境中普遍存在的一类具有代表性的持久性有机污染物,其难于降解、易在土壤中累积且毒性较强,严重危害农产品安全和人群健康^[2-4]。从已有的资料来看,细菌成膜作用可增强 PAHs 的溶解性。Johnsen 和 Karlson^[68]经过研究发现,绝大部分供试 PAHs 降解细菌皆可在 PAHs 晶体表面形成生物膜,且成膜作用是其克服晶体 PAHs 分子转移限制并利用难溶性 PAHs 生长的主要机制。无独有偶,Seo 和 Bishop^[69]在研究非降解菌在不溶性非表面的成膜作用时发现,通过产生 EPS 进而形成生物膜是细菌利用难溶性 PAHs 的主要手段。显然,细菌成膜作用可以增强 PAHs 的溶解性,并为细菌进一步利用 PAHs 生长提供便利。

5 问题与展望

综上所述,筛选具有有机污染物降解功能的根表成膜细菌、并将其定殖在目标作物根表,有望改变有机污染物的根际环境过程,从而提高植物对根际环境中有机污染物的降解作用,并降低植物面临的有机污染风险。

但迄今为止,有关功能细菌在根表的成膜作用及其对植物吸收有机污染物影响的研究才刚开始,急需运用多学科的知识 and 手段来共同解决该领域一些重要科学问题:有机污染下植物根表细菌生物膜的群落结构和种群特性;植物根表具有有机污染物降解功能的成膜细菌的分离、筛选与鉴定;筛选的功能细菌的成膜能力及其在植物根表的定殖与成膜过程;功能细菌在根表的成膜作用对植物生长的影响以及对植物吸收有机污染物的影响;根表功能细菌生物膜对根际有机污染物的吸附和降解作用;根际和植物体内有机污染物代谢相关酶系对根表功能细菌成膜作用的响

应等。

在此基础上,综合探讨根表功能细菌成膜作用对植物吸收有机污染物的影响及作用机理,分析利用根表功能细菌生物膜调控植物吸收有机污染物的可行性,试图为防治土壤有机污染、保障污染区农产品安全、降低农作物有机污染风险、合理利用污染土壤资源等提供重要依据。

参考文献:

- [1] Zhan X H, Ma H L, Zhou L X, et al. Accumulation of phenanthrene by roots of intact wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings: Passive or active uptake? [J]. *BMC Plant Biology*, 2010, 10(52): 11–18.
- [2] Jiao X C, Xu F L, Dawson R, et al. Adsorption and absorption of polycyclic aromatic hydrocarbons to rice roots [J]. *Environmental Pollution*, 2007, 148: 230–235.
- [3] Wu Y C, Teng Y, Li Z G, et al. Potential role of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) oxidation by fungal laccase in the remediation of an aged contaminated soil [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40: 789–796.
- [4] Zhu L Z, Chen Y Y, Zhou R B. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in water, sediment and soil in drinking water resource of Zhejiang Province, China [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 150: 308–316.
- [5] Collins C, Fryer M, Grosso A. Plant uptake of non-ionic organic chemicals [J]. *Environmental Science and Technology*, 2006, 40(1): 45–52.
- [6] Khan S, Aijun L, Zhang S Z, et al. Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals in lettuce grown in the soils contaminated with long-term wastewater irrigation [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 152: 506–515.
- [7] Eapen S, Singh S, D'Souza S F. Advances in development of transgenic plants for remediation of xenobiotic pollutants [J]. *Biotechnology Advances*, 2007, 25: 442–451.
- [8] Su Y H, Zhu Y G. Transport mechanisms for the uptake of organic compounds by rice (*Oryza sativa*) roots [J]. *Environmental Pollution*, 2007, 148: 94–100.
- [9] Flemming H C, Wingender J. The biofilm matrix [J]. *Nature Reviews*, 2010, 8: 623–633.
- [10] Weller D M, Thomashow L S. Current challenges in introducing beneficial microorganisms into the rhizosphere [C]//Gara F O', Dowling D N, Boesten B (ed.). *Molecular ecology of rhizosphere microorganisms*. VCH, New York, N. Y. 1994: 1–18.
- [11] Rudrappa T, Biedrzycki M L, Bais H P. Causes and consequences of plant-associated biofilms [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 64: 153–166.
- [12] Chiou C T, Sheng G, Manes M. A partition-limited model for the plant uptake of organic contaminants from soil and water [J]. *Environmental Science and Technology*, 2001, 35(7): 1437–1444.
- [13] Gao Y Z, Collins C D. Uptake pathways of polycyclic aromatic hydrocarbons in white clover [J]. *Environmental Science and Technology*, 2009, 43(16): 6190–6195.
- [14] Vanier C, Planas D, Sylvestre M. Equilibrium partition theory applied to PCBs in macrophytes [J]. *Environmental Science and Technology*, 2001, 35(24): 4830–4833.
- [15] Gao Y Z, Shen Q, Ling W T, et al. Uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Trifolium pretense* L. from water in the presence of a nonionic surfactant [J]. *Chemosphere*, 2008, 72: 636–643.
- [16] 王戎, 何杞双, 王雁, 等. 可溶性有机物对玉米根部菲与苊吸着与吸收过程的影响 [J]. *农业环境科学学报*, 2009, 28(1): 35–39.
WANG Rong, HE Qi-shuang, WANG Yan, et al. Impact of dissolved organic matter on sorption and absorption of fluorene and phenanthrene to maize root [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(1): 35–39.
- [17] Kvesitadze E, Sadunishvili T, Kvesitadze G. Mechanisms of organic contaminants uptake and degradation in plants [J]. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 2009, 55: 458–468.
- [18] Chaudhry Q, Blom-Zandstra M, Gupta S, et al. Utilising the synergy between plants and rhizosphere microorganisms to enhance breakdown of organic pollutants in the environment [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2005, 12(1): 34–48.
- [19] El Shatnawi M K J, Makhadmeh I M. Ecophysiology of the plant-rhizosphere system [J]. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 2001, 187: 11–19.
- [20] Toyama T, Furukawa T, Maeda N, et al. Accelerated biodegradation of pyrene and benzo[a]pyrene in the *Phragmites australis* rhizosphere by bacteria-root exudate interactions [J]. *Water Research*, 2011, 45: 1629–1638.
- [21] Lafrance P, Lapointe M. Mobilization and co-transport of pyrene in the presence of *Pseudomonas aeruginosa* UG2 biosurfactants in sandy soil columns [J]. *Ground Water Monitoring and Remediation*, 1998, 18: 139–147.
- [22] Zhu L Z, Zhang M. Effect of rhamnolipids on the uptake of PAHs by ryegrass [J]. *Environmental Pollution*, 2008, 156: 46–52.
- [23] Nielsen T H, Nybroe O, Koch B, et al. Genes involved in cyclic lipopeptide production are important for seed and straw colonization by *Pseudomonas* sp. strain DSS73 [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(7): 4112–4116.
- [24] Golubev S N, Schelud'ko A V, Muratova A Y, et al. Assessing the potential of rhizobacteria to survive under phenanthrene pollution [J]. *Water Air and Soil Pollution*, 2009, 198: 5–16.
- [25] Watnick P I, Kolter R. Biofilm, city of microbes [J]. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(10): 2675–2679.
- [26] Watnick P I, Kolter R. Steps in the development of a *Vibrio cholerae* El Tor biofilm [J]. *Molecular Microbiology*, 1999, 34(3): 586–595.
- [27] Sutherland I W. The biofilm matrix—an immobilized but dynamic microbial environment [J]. *Trends in Microbiology*, 2001, 9(5): 222–227.
- [28] Branda S S, Vik Å, Friedman L, et al. Biofilms: The matrix revisited [J]. *Trends in Microbiology*, 2005, 13(1): 20–26.
- [29] Davies D G. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm [J]. *Science*, 1998, 280: 295–298.
- [30] Zhu J, Mekalanos J J. Quorum sensing-dependent biofilms enhance colonization in *Vibrio cholerae* [J]. *Developmental Cell*, 2003, 5: 647–656.
- [31] López D, Vlamakis H, Kolter R. Biofilms [J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2010, 2, doi:10.1101/cshperspect.a000398.
- [32] Ramey B E, Koutsoudis M, Bodman S B, et al. Biofilm formation in plant-microbe associations [J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2004, 7: 602–609.
- [33] Sarand I, Timonen S, Nurmiaho-Lassila E L, et al. Microbial biofilms and catabolic plasmid harbouring degradative *fluorescent pseudomonads* in Scots pine mycorrhizospheres developed on petroleum contaminated soil [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1998, 27: 115–126.
- [34] Bianciotto V, Andreotti S, Balestini R, et al. Mucoid mutants of the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* CHA0 show increased ability in biofilm formation on mycorrhizal and nonmycorrhizal carrot roots [J].

- Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2001, 14(2):255-260.
- [35] Molina M A, Ramos J L, Espinosa-Urgel M. Plant-associated biofilms [J]. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 2003, 2: 99-108.
- [36] Martínez-Gil M, Yousef-Coronado F, Espinosa-Urgel M. LapF, the second largest *Pseudomonas putida* protein, contributes to plant root colonization and determines biofilm architecture[J]. *Molecular Microbiology*, 2010, 77(3):549-561.
- [37] Kloepper J W, Ryu C M, Zhang S. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp.[J]. *Phytopathology*, 2004, 94(11):1259-1266.
- [38] Achouak W, Heulin T, Vilemin G, et al. Root colonization by symplasma-forming *Enterobacter agglomerans*[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1994, 13:87-94.
- [39] Suárez-Moreno Z R, Caballero-Mellado J, Coutinho B G, et al. Common features of environmental and potentially beneficial plant-associated *Burkholderia*[J]. *Microbial Ecology*, 2012, 63(2):249-266.
- [40] Schlöter M, Borlinghaus R, Bode W, et al. Direct identification, and localization of *Azospirillum* in the rhizosphere of wheat using fluorescence-labelled monoclonal antibodies and confocal scanning laser microscopy[J]. *Journal of Microscopy*, 1993, 171:73-77.
- [41] Toledo G, Bashan Y, Soeldner A. In vitro colonization and increase in nitrogen fixation of seedling roots of black mangrove inoculated by a filamentous cyanobacteria[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 1995, 41:12-20.
- [42] Briones A M, Okabe S, Uemiyama Y, et al. Influence of different cultivars on populations of ammonia-oxidizing bacteria in the root environment of rice[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(6):67-75.
- [43] Kim Y C, Leveau J, Gardener B B M, et al. The multifactorial basis for plant health promotion by plant-associated bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(5):1548-1555.
- [44] Rodríguez-Navarro D N, Dardanelli M S, Ruiz-Safín J E. Attachment of bacteria to the roots of higher plants[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2007, 272:127-136.
- [45] Alami Y, Champolivier L, Merrien A, et al. The role of *Rhizobium* sp., a rhizobacterium that produces exopolysaccharide in the aggregation of the rhizospheric soil of sunflower: Effects on plant growth and resistance to dydric constraints OC-OI[J]. *Corps Gras Lipides*, 1999, 6:24-28.
- [46] Bezzate S, Aymerich S, Chambert R, et al. Disruption of the *Paenibacillus polymyxa* levansucrase gene impairs its ability to aggregate soil in the wheat rhizosphere[J]. *Environmental Microbiology*, 2000, 2(3):33-42.
- [47] Jäger-Zürn I, Grubert M. Podostemaceae depend on sticky biofilms with respect to attachment to rocks in waterfalls[J]. *International Journal of Plant Sciences*, 2000, 161:599-607.
- [48] Hansel C M, Fendorf S. Characterization of Fe plaque and associated metals on the roots of mine-waste impacted aquatic plants[J]. *Environmental Science and Technology*, 2001, 35(19):3863-3868.
- [49] Liu W J, Zhu Y G, Hu Y, et al. Arsenic sequestration in iron plaque, its accumulation and speciation in mature rice plants (*Oryza Sativa* L.) [J]. *Environmental Science and Technology*, 2006, 40(18):5730-5736.
- [50] Wu C H, Wood T K, Mulchandani A, et al. Engineering plant-microbe symbiosis for rhizoremediation of heavy metals[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(2):1129-1134.
- [51] Cunningham S D, Berti W R. Remediation of contaminated soils with green plants: An overview[J]. *In Vitro Cellular and Developmental Biology*, 1993, 29:207-212.
- [52] Villaceros M, Whelan C, Mackova M, et al. Polychlorinated biphenyl rhizoremediation by *Pseudomonas fluorescens* F113 derivatives, using a *Sinorhizobium meliloti* nod system to drive *bph* gene expression[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(5):2687-2694.
- [53] Yamaga F, Washio K, Morikawa M. Sustainable biodegradation of phenol by *Acinetobacter calcoaceticus* P23 isolated from the rhizosphere of duckweed *Lemna aoukikusa*[J]. *Environmental Science and Technology*, 2010, 44(16):6470-6474.
- [54] Davey M E, O'Toole G A. Microbial biofilms: From ecology to molecular genetics[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2000, 64(4):847-867.
- [55] Sutherland I W. Biofilm exopolysaccharides: A strong and sticky framework[J]. *Microbiology*, 2001, 147:3-9.
- [56] Mah T F C, O'Toole G A. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents[J]. *Trends in Microbiology*, 2001, 9(1):34-39.
- [57] Wolfaardt G M, Lawrence J R, Roberts R D, et al. In situ characterization of biofilm exopolymers involved in the accumulation of chlorinated organics[J]. *Microbial Ecology*, 1998, 35:213-223.
- [58] Farag A M, Woodward D F, Goldstein J N, et al. Concentrations of metals associated with mining waste in sediments biofilm, benthic macroinvertebrates, and fish from the Coeur d'Alene river basin, Idaho [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1998, 34:119-127.
- [59] Chen X C, Chen L T, Shi J Y, et al. Immobilization of heavy metals by *Pseudomonas putida* CZ1/goethite composites from solution[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2008, 61:170-175.
- [60] Singh R, Paul D, Jain R K. Biofilms: Implications in bioremediation[J]. *Trends in Microbiology*, 2008, 14(9):389-397.
- [61] Schorer M, Eisele M. Accumulation of inorganic and organic pollutants by biofilms in the aquatic environment[J]. *Water, Air and Soil Pollution*, 1997, 99:651-659.
- [62] Lawrence J R, Kopf G, Headley J V, et al. Sorption and metabolism of selected herbicides in river biofilm communities[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2001, 47:634-641.
- [63] Harish R, Samuel J, Mishra R, et al. Bio-reduction of Cr(VI) by exopolysaccharides (EPS) from indigenous bacterial species of Sukinda chromite mine, India[J]. *Biodegradation*, 2012, 23:487-496.
- [64] Borja J Q, Auresenia J L, Gallardo S M. Biodegradation of polychlorinated biphenyls using biofilm grown with biphenyl as carbon source in fluidized bed reactor[J]. *Chemosphere*, 2006, 64:555-559.
- [65] Smith W L, Gadd G M. Reduction and precipitation of chromate by mixed culture sulphate-reducing bacterial biofilms[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2000, 88:983-991.
- [66] Dubey G P, Ben-Yehuda S. Intercellular nanotubes mediate bacterial communication[J]. *Cell*, 2011, 144:590-600.
- [67] 全向春, 汤 华, 呼丽娟, 等. 质粒 pJP4 水平转移介导生物膜系统强化降解 2, 4-D 效应[J]. *环境科学*, 2009, 30(9):2728-2734.
- QUAN Xiang-chun, TANG Hua, HU Li-juan, et al. Plasmid pJP4 mediated gene horizontal transfer in a biofilm system and its effect on 2, 4-D degradation[J]. *Environmental Science*, 2009, 30(9):2728-2734.
- [68] Johnsen A R, Karlson U. Evaluation of bacterial strategies to promote the bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2004, 63:452-459.
- [69] Seo Y, Bishop P L. Influence of nonionic surfactant on attached biofilm formation and phenanthrene bioavailability during simulated surfactant enhanced bioremediation[J]. *Environmental Science and Technology*, 2007, 41(20):7107-7113.