

内生菌与植物的相互作用：促生与生物薄膜的形成

易 婷^{1,2*} 缪煜轩^{1*} 冯永君^{1**}

(1. 北京理工大学生命科学与技术学院 北京 100081)

(2. Department of Molecular Physiology and Biophysics, University of Vermont, Burlington, VT 05401, USA)

摘 要：植物内生菌由于其独特的生态学地位而广受关注，近年来有关植物内生菌与宿主相互作用的研究取得了很大进展。本文综述了植物内生菌通过分泌促生物质、拮抗病原菌等实现与宿主共生互作，同时植物为内生菌提供适宜的黏附表面，使其形成以生物薄膜(biofilm)为主要形式的多细胞聚集体结构以更好地适应周围的生存环境，从而更加高效地对植物产生促生作用。本文论述了内生菌在与植物的互作中形成的多细胞聚集体结构在抵抗非生物胁迫方面的独特生理及生态学意义，结合水稻内生成团泛菌 YS19 形成多细胞聚集体 symplasmata 现象及其生物学效应，对未来有关植物内生菌的研究方向提出了一些看法。

关键词：植物内生菌，成团泛菌，生物薄膜，抗逆

Plant-endophyte Interaction: Growth-promoting Effect of Endophytes and Their Biofilm Formation

YI Ting^{1,2*} MIAO Yu-Xuan^{1*} FENG Yong-Jun^{1**}

(1. School of Life Science and Technology, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081)

(2. Department of Molecular Physiology and Biophysics, University of Vermont, Burlington, VT 05401, USA)

Abstract: Recently, plant endophytes attract much attention due to their special ecological significance. Here reviewed is the recent research advances in plant-endophyte interaction. Specifically, we mainly focused on the beneficial effect of endophytes realized by growth-promoting and production of pathogen resistant substances. We also reviewed one of the recently concerned areas that endophytes obtain high adaptabilities by forming biofilms on the tissue surfaces of their host plants. Finally, using symplasmata formed by rice endophyte *Pantoea agglomerans* YS19 as an example, the physiological and ecological significance of these multicellular aggregations and their researching future were discussed.

Keywords: Plant endophyte, *Pantoea agglomerans*, Biofilm, Stress resistance

植物内生菌是从表面消毒的植物组织中分离或从内部获得的，能够定殖在健康植物细胞间隙或细胞内的一类微生物^[1,2]。目前的研究表明，任何植物

器官都可以被微生物定殖，并且定殖后的微生物对其宿主有多种作用，包括使其致病、剥削性地利用资源、或是互利共生等，同时植物宿主体又为这些

基金项目：国家自然科学基金资助项目 (No. 30400002)

* 两位作者对本文的贡献相同

** 通讯作者：Tel: 010-68918784; 信箱: fengyj@bit.edu.cn

收稿日期：2008-04-16; 接受日期：2008-06-11

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

外来的居民提供了一个营养充足的环境, 并可以对外界的一些胁迫因子起到缓冲的作用^[3]。而对于植物内生菌, 目前的研究则更倾向于用来定义那些对于宿主植物体非但不会带来明显疾病症状, 而是与其形成互惠互利共生关系的细菌或真菌^[4]。这些微生物在植物体内能产生多种生物学作用, 如固氮、分泌激素促进植物生长和防治病虫害等^[5]。同时这些微生物又可通过形成特殊的生长状态来更好地适应环境^[6]。植物内生菌的生物学作用以及与植物的互作机制是内生菌研究中的热点。本文综述了近年来这些热点问题的研究进展, 重点强调了植物内生菌与其宿主形成的互利共生关系的生态学意义, 同时对未来有关植物内生菌的研究方向提出了一些看法。

1 内生菌的生物学作用

定殖在植物体内的内生细菌或真菌与宿主植物之间存在着非常复杂的相互作用。植物内生菌不仅以植物为栖息场所, 而且通过内共生联合固氮、分泌生长素等促进植物生长或防治病虫害等广泛的生物学作用影响宿主植物。

1.1 植物内生菌对宿主植物的促生作用

许多细菌或真菌都能在植物的根部与植物建立良好的共生关系, 这类根际微生物大多都能促进植物的生长, 因此也称为“植物根际促生细菌”(PGPR), 常见的有来源于固氮螺菌属(*Azospirillum*)、农杆菌属(*Agrobacteria*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*)的一些细菌。这些根际促生细菌的一个重要的生物学作用就是通过联合固氮来发挥促生作用^[7]。对专性内生固氮菌的研究已经表明, 内生固氮菌对宿主植物有一定的氮肥贡献^[8]。Baldani曾指出, 尽管内生固氮菌在非豆科作物上的定殖并不形成类似根瘤菌在豆科作物上形成的根瘤那样的特异性结构, 但这些内生固氮菌在宿主体内往往形成膜或基质包围的内生特征, 预示着内生固氮菌和非豆科作物之间的相互作用与根瘤菌和豆科作物的联合运作可能有相似的机制^[9]。固氮螺菌*Azoarcus* sp. BH72 已经被看作是研究内生菌固氮作用的模式菌来研究。和大多数内生固氮菌一样, 它在草本植物组织中的微氧及缺少高浓度的其他氮源的环境中定殖后能够表达固氮酶基因(*nif*)^[10]。而从甘蔗中分离的内生固氮醋杆菌(*Acetobacter diazotrophicus*)等也能在甘蔗植株的各

个部位广泛定殖并且数量较大, 它们可能是甘蔗生物固氮系统中最为重要的贡献者^[11]。

植物内生菌除了固氮作用外, 内生菌还能够产生促植物生长物质来发挥其促生作用, 这些生长调节物质包括植物生长素、赤霉素以及细胞激动素等, 能直接促进植物的生长。例如, 固氮醋杆菌(*Acetobacter diazotrophicus*)对于甘蔗有明显的促生作用^[11], 其代谢过程中产生的植物生长调节物质(如吲哚乙酸等), 可促进甘蔗发根, 加快甘蔗的生长和提高甘蔗的产量^[12]。*Azoarcus* sp. BH72 也能够通过分泌生长素, 从而使其宿主植物的根表面积增加, 来提高营养物质的摄入量^[10]。沈德龙等已证明水稻内生成团泛菌(*Pantoea agglomerans*) YS19 能分泌 4 种不同的植物生长激素, 它们共同调节水稻的生命活动, 能影响水稻乳熟期光合产物的分布^[13]。我们将YS19 接种到培养了 12 d 的宿主水稻种子里, 发现经过一段时间的培养后, 在无氮培养基里水稻苗的生物量提高了 63.4%, 在有氮培养基里水稻苗的生物量提高了 18.7%^[14]。

除此之外, 植物内生菌还能通过改变根部周围的环境来缓解植物根部的非生物压力, 例如, 细菌可以分泌胞外多糖来改变土壤结构和多孔性, 从而使植物的根部更好地适应多水或缺水、以及温度改变的环境, 同时使植物根部能更好地在土壤中伸展^[15]。

1.2 植物内生菌防治植物病虫害及对病原菌的拮抗

植物内生菌对于宿主植物的另一主要生物学作用, 是在与其它致病菌竞争性定殖的过程中, 通过合成抗生素或其它多种生物活性物质来杀死其竞争对手, 最终表现为对其宿主起到防治病虫害的作用^[16]。

这种作用已有很多文献支持, 例如, 木霉菌属(*Trichoderma* sp.)的许多内生菌可以分泌胞外酶来降解致病性真菌的细胞壁, 从而起到对其宿主植物体的保护作用^[17]。而假单胞属许多重要植物内生菌在植物抵抗病原菌的过程中更是扮演了极其重要的角色^[18]。植物内生菌拮抗病原菌的机制, 首先是通过限制病原菌生长所必需的资源^[19]以及通过与病原菌直接接触来降低病原菌的毒性^[20]等生物竞争性过程来实现, 同时, 类芽胞杆菌(*Paenibacillus* sp.)^[21]、以及最新分离的新型内生菌(*Muscodor albus*)^[22]等

可以产生抗生素以杀死病原菌。另外,更重要的是植物内生菌还能够激发其宿主植物体的一些增加自身抵抗力的抗性系统,系统诱导系统抗性(Induced system resistance, ISR)是其中研究较多的一个,例如荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)的水杨酸合成基因的产物可诱导宿主烟草分泌一些信号分子,从而增强其对于烟草坏死病毒的抗性^[23]。最新的一项研究表明从健康小麦组织中分离的内生放线菌可以激活拟南芥的系统获得性抗性(SAR)或茉莉酮酸酯/乙烯(JA/ET)通路的相关基因,从而增强植物对于病原真菌的抗性^[24]。这些研究都可以看出内生菌对于宿主植物体的重要性以及在生物控制方面的应用前景。

除了抑制病原细菌的作用,一些被内生菌感染后的植物会对昆虫产生抗性,这是由于这些内生菌代谢产生的化合物,主要是4种生物碱(lolines、peramines、ergot和lolitrem)发挥了抗虫作用^[25]。植物内生菌对许多作物的病害显示出了良好的控制效果,因此筛选并获得具有不同生物防治功能的植物内生菌,对今后在一定程度上减少或代替化学农药在农业生产上的应用十分有利。

2 内生菌与宿主植物的相互作用

内生细菌对于宿主植物有着明显的促生作用,反之,植物体对于细菌适应周围多变的环境也至关重要。宿主植物体对定殖细菌的裨益的一个重要表现,在于植物体为定殖在其内部或表面的微生物提供了一个水分和营养充足的载体,从而使这些微生物能够黏附在其上并形成一定的特殊结构。内生细菌或真菌往往以多细胞的聚集体黏附在植物组织表面或内部的形式被观察到。这种多细胞聚集形式近年来受到了广泛的关注,因为它可以看作是微生物细胞与植物细胞形成的一个微生境^[26],在这个微生境中,微生物细胞与植物细胞会发生一系列独特的相互作用,从而帮助微生物更有效地抵御环境中的波动,从而也展现出如前所述的有利于宿主植物体的生物学效应。

2.1 内生菌在植物体内主要以生物薄膜(biofilm)的形式存在

生物薄膜(biofilm)是指微生物菌体互相黏附在一起或附着到一些生物或非生物表面上,并包埋在

胞外多聚物基质中的生长状态^[27]。biofilm在最近十年成为了微生物研究的一个热点领域,因为形成这一结构后,聚集成团的群体细胞能够具有类似多细胞组织的功能及特性^[28,29];同时,biofilm实际上是一个微小生境,该生境与周围环境可能有着明显的区别,从而使其中的细胞展现出区别于游离细胞的特性^[30]。目前已经发现biofilm是微生物在自然界中的主要存在形式,同样对于植物内生菌,也发现它们在植物体内或体表定殖后表现出明显的聚集成团的生长行为,即在植物表面或体内形成包括聚集团(aggregates)、微菌落(microcolonies)、共质体(symplasmata)等形式的biofilm附着于植物组织上。例如,多粘类芽胞杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)^[31]、苜蓿中华根瘤菌(*Sinorhizobium meliloti*)^[32]均在宿主植物组织上以形成biofilm的方式进行定殖,解淀粉芽胞杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)形成的biofilm也能够影响其在大豆种子上的定殖^[33]。事实上,可以观察到在许多植物叶表面定殖的多种细菌有60%~80%是以聚集形式存在^[26]。

另外,Achouak首先报道了成团泛菌在水稻根面定殖过程中主要形成一种特殊的biofilm,即菌体细胞簇连而成的凝块状共质体(合胞体)结构^[34]。我们对国内宋未先生分离的水稻优势内生菌成团泛菌YS19菌株的研究,也发现其在水稻根茎叶部组织定殖后形成多细胞聚集的symplasmata结构^[35]。内生菌形成这些聚集结构,虽然有时也许只是简单的因为水流等的冲击而沉积在植物表面一定的范围之内,但更多的时候,这些各种类型的biofilm的形成则是一个细菌细胞主动黏附的过程,并分泌一些胞外物质加强附着力。当微生物聚集在特定的植物组织表面时,由于不同的植物组织有着各自独特的化学和生理特性,微生物细胞-植物细胞的相互作用很可能包含了两者的相互适应过程^[36]。同时,不同的组织也会对内生菌聚集结构产生不同的影响,譬如,对biofilm的研究表明,植物组织含水量及分泌物等都对biofilm的结构有着重要的影响^[37]。而参与biofilm形成的细菌表面的多糖和表面蛋白均能与植物细胞发生相互作用,并且细菌细胞之间的信息交流也在通过形成biofilm结构而定殖到植物组织上的过程中发挥重要的作用^[38]。这些都表明形成biofilm是一种重要的内生菌与宿主植物相互作用的方式。

2.2 biofilm 协助内生菌抗逆

植物内生菌形成 biofilm 的现象在植物组织中极为普遍, 表明了 biofilm 对于植物内生菌可能有着重要的生态学意义, 而目前对于 biofilm 的研究也支持了这一点。事实上, biofilm 对于微生物的独特的生态学意义问题, 也是引起人们的注意的一个很重要的原因。

体外研究发现, 当许多病原细菌在形成这种多细胞聚集体的结构后会展现出显著的抗药性^[39]。测试铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)的 biofilm 和游离的单细胞对铜、锌、铅这些重金属的相对抵抗水平, 会发现 biofilm 抵抗重金属的压力要比游离的细胞高出 2~600 倍^[40]。Scher 研究了沙门氏菌(*Salmonella* sp.)的 biofilm 中的细菌与游离细菌耐受次氯酸钠、酸、热等逆境能力的差异, 发现 biofilm 中的细胞对于次氯酸钠等不良环境因素的冲击有明显高于游离细胞的抗性^[41]。除此之外, 形成 biofilm 后的细菌在抗紫外^[42]、抗干燥^[43]等方面都已在一些细菌中得到了验证。

在植物内生菌中, biofilm 的这种重要的生态学作用更为突出。Monier 发现丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)的细胞在植物的叶片表面定殖后, 总的活细胞数量一直都很高, 与其是否形成聚集体的状态无关; 但如果叶片周期性的暴露在干燥的环境下, 尽管叶片上的活细胞总量会随着处理时间的延长减少, 5 d 后大约就只有 15% 的存活率, 但这其中, 大多数存活细菌都存在于聚集集体中^[44]。有益的环境的确能够促成聚集体的形成, 但是这些细胞却更加能耐受环境带来的压力。这种特性使得聚集集体中的细胞有更高的存活力从而能提高内生菌在叶片表面的分布和数量。我们研究水稻内生优势成团泛菌 YS19 形成的多细胞聚集集体 symplasmata 结构的功能时, 发现它在培养指数期之前(例如第 4 h)主要是以单菌的形态存在, 稳定期之后(例如第 18 h)主要是以 symplasmata 的结构存在^[13]。我们分别将第 4 h 和第 18 h 的 YS19 分别进行各种逆境的处理, 如: 紫外照射、CuSO₄、酸碱和干燥处理。研究发现, 处理之后, 第 18 h 的细菌比第 4 h 的细菌存活率高出 100~500 倍。更加引人注意的是当对还未形成 symplasmata 结构的成团泛菌 YS19 进行低 pH 处理时, 大多数游离细菌都提前形成了紧密的 symplasmata 结构, 并且在镜下观察能够清楚地观察到细菌从各

个方向往一个中心来聚集。此外, 我们还发现水稻内生成团泛菌 YS19 通过特有的 symplasmata 菌团结构为自身创造生存微环境, 并发现在该结构下 YS19 会诱导表达出单体菌生长阶段不具有的蛋白, 其中的某些蛋白具有明显的抗聚沉等特性(本研究室未发表数据)。因此, 我们认为 YS19 中的 symplasmata 结构有助于帮助 YS19 抵抗各种逆境。

近年来, 部分有关 biofilm 协助细菌抵抗逆境机制的研究发现, 这种多细胞聚集集体能够产生多种独特的效应。首先, 当细菌细胞聚集在 biofilm 中后, 外层有胞外多糖等基质包被, 这种基质能够有效地阻挡 UV 射线或其它有害物质侵入到达内层^[42], 从而保护内层的细菌不受侵害。其次, biofilm 内部的细菌并不是紧密地连结在一起, 而是彼此之间分布着一定的孔道, 这些孔道能够将外层凋亡细胞所释放的保护性酶类(如过氧化氢酶等^[44])有效地运输至其它细胞, 从而形成明显的群体效应来抵御外界的不良因子的影响^[45]。再次, 微生物细胞之间接合或转化作用^[46]、以及信号传递^[47]等需要细胞与细胞接触过程的效率, 多细胞聚集在一起后, 细胞彼此之间的邻近也会大大的提高, 从而使部分细菌产生的抗药性基因或其它保护性基因加速在群体之间的传递, 并通过一定的信号分子(如 AHL^[49])作用使多个细胞犹如多细胞生物的组织一般共同协作, 提高相应的与抵抗逆境相关的基因(如氧化应激基因 *soxS*、分子伴侣基因 *dnaK*、压力反应基因 *recA* 和 *rpoS*)的表达^[50], 最终使群体有效的抵御逆境的威胁。

除此之外, 多个细胞聚集在一起, 不可避免地会造成氧气、水分或营养物质的分布不均, 但正是因为这种看似不利的因素使得形成 biofilm 的微生物群体彼此都处于不同的微环境中, 从而呈现出 biofilm 内菌体代谢的差异, 那些代谢作用较为缓慢的细胞能够将逆境对自身的伤害降到最低^[48]。而基因的转移以及代谢的差异都会造成不同细菌细胞具有不同的基因表达谱, 从而在一个微生物群体内部形成了表型的差异性。由于多样性已经证明是生物适应自然环境的一条重要策略, 因此由形成 biofilm 而间接造成的群体内部的表型的多样性就保证了微生物群体对环境的更好的适应性^[49,50]。同时不同种间也可以聚集在一起形成共 biofilm, 而不同种间的信号作用等均有助于其中的微生物细胞抵抗外界

不良环境^[51]。

2.3 内生菌形成 biofilm 结构对于宿主植物的生态学意义

形成 biofilm 等的多细胞聚集结构是植物内生菌与宿主相互作用的一种重要形式。植物体为内生菌提供一个绝佳的营养和水分丰富的黏附表面,而形成这种结构对于植物本身也有着重要的生物学作用。

首先,当内生菌以聚集的形式定殖在植物组织上时,对于植物体所分泌的产生促生作用酶类、生长素等物质都会产生明显的浓度效应,即高密度的细菌细胞聚集在一起,使得其产物的效应相比游离细胞有着显著的优势。其次, biofilm 的许多结构特点也能够对于宿主植物体产生显著的作用。例如,当 biofilm 开始形成时,细菌细胞会分泌大量的胞外多糖来形成基质,这些会改变土壤结构,还会有助于吸附铁等微量元素,也能明显有助于保持水分,促进植物抗旱等,从而优化植物的生长环境^[38]。

总之,植物内生菌形成 biofilm 是一个对于内生菌和宿主植物体双赢的策略,植物体为微生物提供适宜的黏附表面,从而使之更加适应周围的环境;同时,植物体又更有效地获益于内生菌的这种定殖方式带来的多种生物学效应。植物体与内生菌可能正是通过这种独特的相互作用方式相互依存,实现共同进化。

3 展望

内生菌与宿主植物的相互作用,尤其是内生菌多细胞聚集在互作中的作用研究是近些年来微生物学研究的新热点。由于内生菌形成 biofilm 型的多细胞聚集后,其对菌体产生多种生物学效应,从而有利于菌体更好地适应生存环境,因此透彻地理解这一过程,对于植物-微生物相互作用的理论研究有重要价值,对于更加有力地利用内生菌的促生作用,提高作物的产量和品质也有着重要的实践意义。

目前,这一研究领域还有许多亟待解决的问题,例如,内生菌定殖在植物组织表面时可能涉及到细菌细胞与植物细胞的一系列信号作用,这些信号作用与微生物形成 biofilm 过程中的信号作用有无交叉?其次,一些致病菌在植物组织上定殖及致病的过程中也会形成 biofilm 型的多细胞聚集,由于 biofilm 对于外界抗生素等胁迫条件具有显著抗性,

这无疑为农作物病原菌的控制带来了新的难题,因此,研究各种不同的内生菌在植物体内形成的 biofilm 是否有具明显的种属区别的特征就显得至关重要。

另外,成团泛菌是近几年来分离出的一种重要的可以定殖在水稻中的优势内生菌,我们已证明成团泛菌 YS19 菌株能够有明显的对水稻的固氮和促生作用^[31],并且它定殖在水稻上时会形成明显的多细胞聚集的共质体结构,从而展现出对于逆境的明显抗性^[13]。我们的一项最新研究已经确认 YS19 的 symplasmata 结构是细菌生长到一定阶段由散生的单个细胞凝聚而成的,而不是起源于一个细胞分裂而来的单克隆体系^[44],这样的聚集成团模式可能有利于 YS19 以一种更加迅速的状态来反应环境的改变以及更好地利用环境资源。这些独特优势,使得成团泛菌 YS19 可以作为水稻-内生细菌互作研究,尤其是内生菌形成多细胞聚集体的生理及生态学功能研究的模式种,成为更有价值的研究材料,进一步阐明成团泛菌 YS19 定殖及形成 symplasmata 的相关分子机制可以为内生菌的研究提供有用的信息。

4 结束语

植物内生菌的研究已逐步成为生命科学领域一个新的研究热点,受到国内外植物学家和微生物学家的关注。研究已经证实,内生菌在植物体内不仅积极地生存着,而且还能产生多种生物学作用,尤其是它们几乎毫无例外地形成多细胞聚集的 biofilm 从而更好地适应环境,更加高效地发挥多种作用。人们注意到植物-内生菌这种和谐共生、互利共栖的生命形式,可能是未来生态型农业发展的一条重要思路^[2,3,27]。所以,在“资源节约型,环境友好型”产业已逐渐成为国际公认发展潮流的今天,开展植物内生菌的研究不仅对植物微生物学科的基础研究有重要的理论价值,而且对农业可持续发展也有重要的实践意义。应该相信,随着研究的不断深入,认识的持续提高,植物内生细菌在生态型农业中的应用前景将十分广阔。

参考文献

- [1] 卢镇岳,杨新芳,冯永君.植物内生细菌的分离、分类、定殖与应用生命科学,2006,18(1):90-94.

- [2] 冯永君, 宋 未. 植物内生细菌. 自然杂志, 2001, **23**(5): 249–225.
- [3] Schulz B, Boyle C. The endophytic continuum. *Mycol Res*, 2005, **109**(6): 661–686.
- [4] Stone JK, Bacon CW, White JF. An overview of endophytic microbes: endophytism defined, *Microbial Endophytes* (ed. by Bacon CW and White JF). New York: Marcel Dekker, 2000, pp.3–30.
- [5] Fiore SD, Gallo M. Endophytic bacteria: Their possible role in the host plant *Azospirillum* VI and related microorganisms (ed. by Istvan Fendrik), Springer-Verlag, 1995, pp.169–187.
- [6] Coombs JT, Franco CM. Visualization of an endophytic streptomyces species in wheat seed. *Appl Environ Microbiol*, 2003, **69**: 4260–4262.
- [7] Sturz AV, Christie BR, Norwak J. Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable system of crop production. *Crit Rev Plant Sci*, 2000, **19**(1): 1–30.
- [8] Hurek T, Handley L, Reinhold-Hurek B, et al. *Azoarcus* grass endophytes contribute fixed nitrogen to the plant in an unculturable state. *Mol Plant Microb Interact*, 2002, **15**: 233–242.
- [9] Baldani JI, Olivares FL, Hemerly, et al. Nitrogen-fixing endophytes: recent advances in the association with graminaceous plants grown in the tropics. Biological Nitrogen Fixation for the 21st Century (ed. by Elemerich C, Kordoros A, Newton W E). Netherlands: Kluwer Academic publishers, 1998, pp.203–206.
- [10] Hurek T, Reinhold-Hurek B. *Azoarcus* sp. strain BH72 as a model for nitrogen-fixing grass endophytes. *J of Biotech*, 2003, **106**:169–178.
- [11] Saravanan VS, Madhaiya M, Osborne J, et al. Ecological occurrence of Gluconacetobacter diazotrophicus and nitrogen-fixing Acetobacteraceae members: their possible role in plant growth promotion. *Microb Ecol*, 2008, **55**(1): 130–140.
- [12] Bastián F, Cohen A, Piccoli P, et al. Production of indole-3-acetic acid and gibberellins A₁ and A₃ by *Acetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum seropedicae* in chemically-defined culture media. *Plant Growth Regul*, 1998, **24**(1): 7–11.
- [13] 沈德龙, 冯永君, 宋 未. 内生团泛菌YS19 对水稻乳熟期光合产物在旗叶、穗分配中的影响. 自然科学进展, 2002, **12**(8): 863–865.
- [14] Feng YJ, Shen DL, Song W. Rice endophyte *Pantoea agglomerans* YS19 promotes host plant growth and affects allocations of host photosynthates. *J Appl Microbiol*, 2006, **100**(5): 938–945.
- [15] Alami Y, Achouak W, Marol C, et al. Rhizosphere soil aggregation and plant growth promotion of sunflowers by an exopolysaccharide-producing *Rhizobium* sp. strain isolated from sunflower roots. *Appl Environ Microbiol*, 2000, **66**: 3393–3398.
- [16] Handelsman J, Stabb EV. Biocontrol of soilborne plant pathogens. *Plant Cell*, 1996, **8**: 1855–1869.
- [17] Viterbo A, Ramot O, Chemi L, et al. Significance of lytic enzymes from *Trichoderma* spp. in the biocontrol of fungal plant pathogens. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2002, **81**: 549–556.
- [18] Chin-A-Woeng T, Bloembergen GV, Lugtenberg BJJ. Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria. *New Phytol*, 2003, **157**: 503–523.
- [19] Lemanceau P, Bakker PAHM, Kogel De WJ, et al. Antagonistic effect of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47 and Pseudobactin 358 upon pathogenic *Fusarium oxysporum* f. sp. dianthi. *Appl Environ Microbiol*, 1993, **59**: 74–82.
- [20] Postma J, Luttikholt AJG. Colonization of carnation stems by a nonpathogenic isolate of *Fusarium oxysporum* and its effect on *Fusarium oxysporum* f. sp. Dianthi. *Can J Bot*, 1996, **74**: 1841–1851.
- [21] Senthikumar M, Govindasamy V, Annapurna K. Role of antibiosis in suppression of charcoal rot disease by soybean endophyte *Paenibacillus* sp. HKA-15. *Curr Microbiol*, 2007, **55**(1): 25–9.
- [22] Strobel GA, Kluck K, Hess WM. *Muscodora albus* E-6, an endophyte of *Guazuma ulmifolia* making volatile antibiotics: isolation, characterization and experimental establishment in the host plant. *Microbiol*, 2007, **153**: 2613–2620.
- [23] Pieterse CMJ, Pelt JAV, Verhagen BWM, et al. Induced systemic resistance by plant growth-promoting rhizobacteria. *Symbiosis*, 2003, **35**: 39–54.
- [24] Conn VM, Walker AR, Franco CM. Endophytic actinobacteria induce defense pathways in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Plant Microbe Interact*, 2008, **21**(2): 208–218.
- [25] 刘 峰, 蒋宇扬, 刘世英, 等. 植物内生菌抗虫工程研究进展. 生物技术通讯, 2004, **15**(4): 417–419.
- [26] Morris CE, Monier JM. The ecological significance of biofilm formation by plant-associated bacteria. *Annu Rev Phytopathol*, 2003, **41**: 429–453.
- [27] Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, et al. Microbial Biofilms. *Annu Rev Microbiol*, 1995, **49**: 711–745.
- [28] 冯永君, 何 晴. 植物内生细菌的生物薄膜(biofilm). 生命的化学, 2007, **27**(1): 87–89.
- [29] Shapiro JA. Thinking about bacterial populations as multicellular organisms. *Annu Rev Microbiol*, 1998, **52**: 81–104.
- [30] Davey ME, O'Toole GA. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2000, **64**: 847–867.
- [31] Timmusk S, Grantcharova N, Wagner EGH. *Paenibacillus polymyxa* invades plant roots and forms biofilms. *Appl*

- Environ Microbiol*, 2005, **71**: 7292–7300.
- [32] Fujishige NA, Kapadia NN, De Hoff PL, *et al.* Investigations of *Rhizobium* biofilm formation. *FEMS Microbiol Ecol*, 2006, **56**: 195–206.
- [33] Yaryura PM, Leon M, Correa OS, *et al.* Assessment of the role of chemotaxis and biofilm formation as requirements for colonization of roots and seeds of soybean plants by *Bacillus amyloliquefaciens* BNM339. *Curr Microbiol*, 2008, **56**(6): 625–632.
- [34] Achouak W, Heulin T, Villemin G, *et al.* Root colonization by symplasmata forming *Enterobacter agglomerans*. *FEMS Microbiol Ecol*, 1994, **13**: 287–294.
- [35] Feng YJ, Shen DL, Dong XZ, *et al.* *In vitro* symplasmata formation in the rice diazotrophic endophyte *Pantoea agglomerans* YS19. *Plant Soil*, 2003, **255**: 435–444.
- [36] Ramey BE, Koutsoudis M, Bodman SB, *et al.* Biofilm formation in plant–microbe associations. *Curr Opin Microbiol*, 2004, **7**: 602–609.
- [37] Rudrappa T, Biedrzycki ML, Bais HP, Causes and consequences of plant-associated biofilms. *FEMS Microbiol Ecol*, 2008, **64**: 153–166.
- [38] Danhorn T, Fuqua C, Biofilm formation by plant-associated bacteria. *Annu Rev Microbiol*, 2007, **61**: 401–422.
- [39] Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 1999, **284**: 1318–1322.
- [40] Teitzel GM, Matthew RP. Heavy metal resistance of biofilm and planktonic *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol*, 2003, **69**: 2313–2320.
- [41] Keren S, Ute R, Sima Y. Effect of heat, acidification, and chlorination on *Salmonella enterica* serovar typhimurium cells in a biofilm formed at the air-liquid interface. *Appl Environ Microbiol*, 2005, **71**: 1163–1168.
- [42] Elasri MO, Miller RV. Study of the response of a biofilm bacterial community to UV radiation. Differential survival of solitary and aggregated bacterial cells promotes aggregate formation on leaf surfaces. *Appl Environ Microbiol*, 1999, **65**: 2025–2031.
- [43] Monier JM, Lindow SE. Differential survival of solitary and aggregated bacterial cells promotes aggregate formation on leaf surfaces. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**: 15977–15982.
- [44] Stewart PS, Roe F, Rayner J, *et al.* Effect of catalase on hydrogen peroxide penetration into *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Appl Environ Microbiol*, 2000, **66**: 836–838.
- [45] Muchou M, John WE. Multicellular oxidant defense in unicellular organisms. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, **89**: 7924–7928.
- [46] Molin S, Nielsen TT. Gene transfer occurs with enhanced efficiency in biofilms and induces enhanced stabilisation of the biofilm structure. *Curr Opin Biotech*, 2003, **14**: 255–261.
- [47] Geier H, Mostowy S, Cangelosi GA, *et al.* Autoinducer-2 triggers the oxidative stress response in *Mycobacterium avium*, leading to biofilm formation. *Appl Environ Microbiol*, 2008, **74** (6): 1798–1804.
- [48] Stewart PS, Franklin MJ. Physiological heterogeneity in biofilms. *Nat Rev Microbiol*, 2008, **6** (3): 199–210.
- [49] Bjarnsholt T, Jensen PØ, Burmølle M, *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* tolerance to tobramycin, hydrogen peroxide and polymorphonuclear leukocytes is quorum-sensing dependent. *Microbiol*, 2005, **151**: 373–383.
- [50] Beloin C, Valle J, Lambert PL, *et al.* Global impact of mature biofilm lifestyle on *Escherichia coli* K-12 gene expression. *Mol Microbiol* 2004, **51**: 659–674.
- [51] Drenkard E, Ausubel FM. *Pseudomonas* biofilm formation and antibiotic resistance are linked to phenotypic variation. *Nature*, 2002, **416**: 740–743.
- [52] Martz C, McDougald D, Moreno AM, *et al.* Biofilm formation and phenotypic variation enhance predation-driven persistence of *Vibrio cholerae*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**: 16819–16824.
- [53] Ryan RP, Fouhy Y, Garcia BF, *et al.* Interspecies signaling via the *Stenotrophomonas maltophilia* diffusible signal factor influences biofilm formation and polymyxin tolerance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol*, 2008, **68** (1): 75–86.
- [54] Duan JY, Yi T, Feng YJ, *et al.* Rice endophyte *Pantoea agglomerans* YS19 forms multicellular symplasmata via cell aggregation. *FEMS Microbiol Lett*, 2007, **270**: 220–226.