

# 空间组织模式：微生物群落组装的“游戏”规则

韩苗<sup>#1</sup>, 阮楚晋<sup>#1,2</sup>, 韩峥<sup>1</sup>, 魏芯蕊<sup>1</sup>, 刘莹<sup>1</sup>, 朱堃<sup>1</sup>, 王钢<sup>\*1,3,4</sup>

1 中国农业大学土地科学与技术学院, 北京 100193

2 Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology, Dübendorf 8600, Switzerland

3 中国农业大学国家黑土地现代农业研究院, 北京 100193

4 自然资源部土地工程技术创新中心, 北京 100035

韩苗, 阮楚晋, 韩峥, 魏芯蕊, 刘莹, 朱堃, 王钢. 空间组织模式：微生物群落组装的“游戏”规则[J]. 微生物学通报, 2022, 49(10): 4391-4411

Han Miao, Ruan Chujin, Han Zheng, Wei Xinrui, Liu Ying, Zhu Kun, Wang Gang. Spatial organization patterns: rules of “game” for microbial community assembly[J]. Microbiology China, 2022, 49(10): 4391-4411

**摘要：**在生物膜形成过程中，微生物种群之间通过主动或者被动的生物过程所形成的独特空间结构被称为空间组织模式。微生物空间组织模式广泛存在于自然和人工环境中，比如医疗、工业和生态系统等，是微生物形成和维持特定群落结构并发挥功能的主要方式，也是形成和维持微生物群落多样性的关键机制。然而，由于微生物群落的复杂性及相关研究方法的局限性，微生物空间组织模式方面的研究目前仍然处于起始阶段。本文梳理了微生物空间组织模式领域的研究进展，系统总结了空间组织模式初始阶段(微生物界面附着)和成熟阶段(空间自组织)的形成过程与协同机制，以及其对微生物养分利用和元素循环、微生物多样性维持和种群进化及功能的影响和调控机制，并分析了影响微生物空间组织模式的关键环境因素。

**关键词：**群落结构；空间组织模式；生物膜；微生物多样性

基金项目：国家自然科学基金(41877412)；中国农业大学 2115 人才培养发展支持计划(1191-00109012)；国家留学基金  
#对本文贡献相同

**Supported by:** National Natural Science Foundation of China (41877412); 2115 Talent Cultivation and Development Support Program of China Agricultural University (1191-00109012); China Scholarship Foundation

#These authors equally contributed to this work

\*Corresponding author: E-mail: gangwang@cau.edu.cn

Received: 2022-02-13; Accepted: 2022-04-06; Published online: 2022-05-17

# Spatial organization patterns: rules of “game” for microbial community assembly

HAN Miao<sup>#1</sup>, RUAN Chujin<sup>#1,2</sup>, HAN Zheng<sup>1</sup>, WEI Xinrui<sup>1</sup>, LIU Ying<sup>1</sup>, ZHU Kun<sup>1</sup>, WANG Gang<sup>\*1,3,4</sup>

1 College of Land Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China

2 Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology, Dübendorf 8600, Switzerland

3 National Black Soil and Agriculture Research, China Agricultural University, Beijing 100193, China

4 Technology Innovation Center of Land Engineering, Ministry of Natural Resources, Beijing 100035, China

**Abstract:** During biofilm formation, the unique spatial structure formed upon active or passive biological processes among microbial populations is called spatial organization pattern. Microbial spatial organization patterns are ubiquitous in natural and artificial environments, such as the medical, industrial and ecological systems and processes. They are critical for the causes and consequences of microbial community structure, biodiversity maintenance, and ecological functions and thereby have received extensive attention. Nevertheless, mechanistic understanding of microbial spatial organization and ecological consequences remains elusive largely due to the extremely complex microbial communities and limited research methodologies. The paper aims to summarize the state-of-the-art in microbial spatial self-organization, the key determining environmental factors, and the impact on nutrient utilization, element cycling, evolution and diversity maintenance, and ecological functions of microbes.

**Keywords:** community structure; spatial organization pattern; biofilm; microbial diversity

在自然或人工环境的微生境中，不同的微生物种群能够相互作用并共同形成一种具有特定功能的结构单元“微生物群落”。环境宏基因组研究揭示了自然界中的微生物群落具有难以置信的多样性<sup>[1-2]</sup>，其中大部分通常生活在各种形式的微生物生物膜中。在微生物生物膜中，由生物和非生物因素同时介导所产生的特定群落空间组织结构被称为微生物空间组织模式<sup>[3]</sup>。微生物空间结构的形成，既可以在生物表面如动物皮肤、牙齿、胃肠道和植物叶片、果蔬和根部，也可以非生物表面如土壤颗粒、生物反应器和输水管道等<sup>[4-9]</sup>。与悬浮状态的微生物相比，生活在具有空间组织结构中的微生物能够通过密切的相互作用影响彼此的进化适应度，因而具有更强的适应性优势<sup>[10]</sup>。微生物空

间组织模式在医疗、工业、环境及生态领域都具有重要的意义，从而吸引了众多研究者的关注。

微生物空间组织模式的形成是一个动态循环的过程：自由溶液中的微生物通过主动或被动运动到达并附着至固-液、液-液、液-气或固-液-气界面，在种内或种间相互作用驱动下，通过自身的分裂增殖及胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)的分泌，逐步发展出特定的空间组织结构，最后，由于可摄取养分的耗竭或其他的环境选择压力，这类空间组织结构会逐渐衰亡并分散回归环境中，从而开始新一轮的循环过程。研究表明，微生物群落种间相互作用对于群落功能至关重要；同时，微生物也需要依赖稳定的空间组织模式来最大化地实现种间互作功能。不同物种在生物膜内

的空间排列组合模式能稳定种间互作关系的平衡, 维持群落的生物多样性, 调节微生物群体代谢特征, 促进群落进化, 进而使微生物在环境中和谐共存。然而, 由于微生物群落高度的复杂性增加了研究难度, 空间结构的形成过程难以预测, 微生物群落功能的形成和发挥机制尚未得到充分解释<sup>[11]</sup>。研究微生物空间组织模式有助于深入理解微生物群落组织的动态变化, 从而解释环境微生物群落的共存模式与维持机制及其功能表达。

本文首先从微生物单细胞水平和群落水平总结分析微生物群落空间组织初始阶段的界面附着特征, 随后从微生物群落自组织的视角剖析形成生物膜空间组织结构的相关机制及其影响因素, 并概述空间组织模式对稳定生物膜内种群间互作关系、调节群落代谢特征、维持微生物群落多样性和促进物种进化等微生物群落功能发挥的影响, 以期通过梳理微生物群落组装的“游戏”规则, 为揭示微生物群落的发展和演变规律提供理论参考。

## 1 微生物群落的界面附着: 空间组织模式发展的初始阶段

微生物界面附着是群落空间组织发展的起点。细胞在界面的附着速率、不同物种附着的先后顺序和界面分布特征对群落间互作关系和群落功能的发挥有着巨大的影响。微生物往往生活在低雷诺数(Reynolds numbers)<sup>[12]</sup>环境(雷诺数值低于  $10^{-5}$ )中, 其中, 布朗运动、水文过程(包括水流和蒸发)、微生物自身的重力及主动运动等均为影响其细胞运移的关键; 而微生物与复杂微观界面之间的各种相互作用力(如水动力学相互作用力、DLVO 力和摩擦力等)进一步促进了其在不同界面的附着或解脱过程, 从而影响其时空分布特征<sup>[13-16]</sup>。

### 1.1 微生物的运动器官对界面附着的影响

微生物根据其是否具有主动运动功能, 可分为具有运动性的微生物(简称运动性微生物)和不具有运动性的微生物(简称不运动性微生物)。与不运动性的类群相比, 运动性微生物的主动运动(自由运动和趋化运动)过程、运动器官如鞭毛旋转引起的水动力学相互作用、细胞体或运动器官(鞭毛或 IV 型菌毛等)与复杂界面之间的各种作用力[比如 extended Derjaguin-andau-Verwey-Overbeek (XDLVO)作用力、摩擦力等]都会增加其在界面的附着概率, 进而影响其空间组织模式和时空分布特征。

运动性微生物的运动器官不仅能够促使其在自由溶液中进行鞭毛介导的游动(swimming), 也能够驱使其在界面进行 IV 型菌毛介导的涌动(swarming)。具有鞭毛(flagellum)结构的细菌能够借助鞭毛马达的旋转, 推动自身在溶液中进行主动运动, 而且能够根据鞭毛类型和转向方式采用不同的运动模式<sup>[17]</sup>。例如, 周生鞭毛菌大肠杆菌(*Escherichia coli*)能够通过旋转鞭毛使其拧成一束来推动细胞向前运动, 当某些鞭毛顺时针旋转或散开时, 细菌游动方向就会发生改变并重新再定位, 从而进行前进-翻滚(run-tumble)运动(图 1A)<sup>[18]</sup>; 而单根极性鞭毛菌能够通过旋转其单根鞭毛推动其前进, 并通过暂停鞭毛旋转进行再定位, 例如类球红细菌(*Rhodobacter spheroides*)的前进-停止(run-stop)运动(图 1A)<sup>[19]</sup>, 或通过鞭毛离轴变形(旋转轴心偏离细胞体轴心)来改变其泳动方向, 例如溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)的前进-后退-轻弹(forward-reverse-flick)运动(图 1A)<sup>[20]</sup>。部分真菌, 如疫霉属(*Phytophthora*)能够产生具有鞭毛结构的孢子(zoo spores), 并利用游动孢子在水膜、水滴或土壤含水孔隙中的运动过程来寻找适合附着的介质(如植物碎片和根系等)并进行

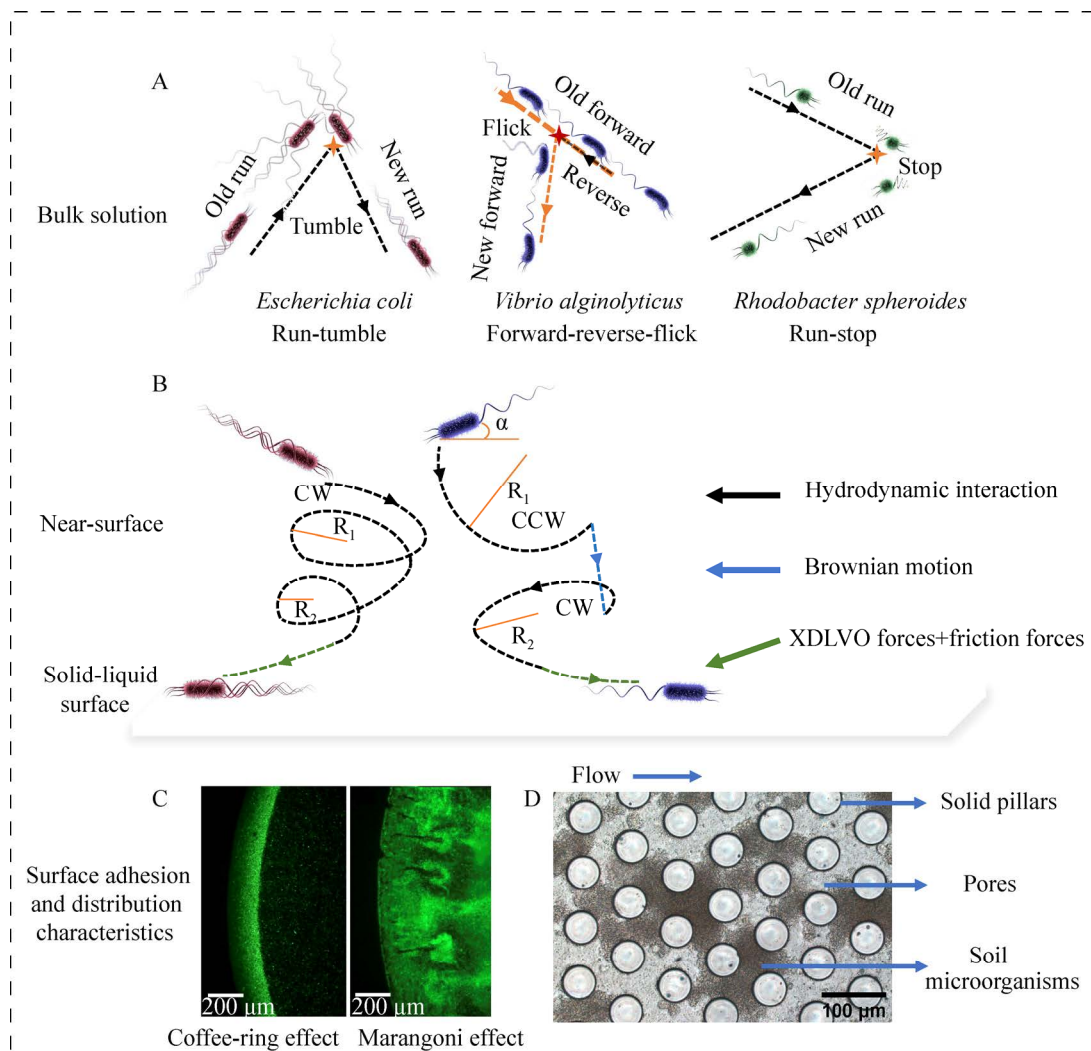


图 1 微生物的界面附着过程与特征 A: 不同种类微生物在自由溶液和界面处的典型轨迹特征; B: 细菌在界面附近的运动轨迹特征, 其中周生鞭毛菌能够在近固-液界面区域进行顺时针的圆周运动, 而且其半径随着与界面间距的减小而减小( $R_1 > R_2$ ), 而单根极性鞭毛菌能够在近固-液界面区域进行顺时针或逆时针的圆周运动, 并且由于个体微小, 布朗运动能够随时改变其与界面间距, 转换轨迹; C: 大肠杆菌在蒸发引起的咖啡环效应(左图)和马兰戈尼效应(右图)下的附着沉积分布<sup>[33]</sup>; D: 在养分充足且异质性多孔介质中均匀分布的土壤混合菌株随着水流变成不均匀分布

Figure 1 The process and characteristics of interfacial adhesion of microorganisms. A: Typical trajectory characteristics of different species of microorganisms at the bulk solution; B: Characteristics of the trajectory of bacteria near the interface, where periflagellates perform clockwise (CW) circular motion in the near solid-liquid interface region, and their radius decreases with decreasing distance from the interface ( $R_1 > R_2$ ), while single polar flagellates perform clockwise (CW) or counterclockwise (CCW) circular motion in the near solid-liquid interface region, and the Brownian motion is able to change their distance from the interface and switch trajectories at any time due to the tiny individuals; C: Distribution of adherent deposition of *E. coli* under evaporation-induced coffee-ring effect (left panel) and Marangoni effect (right panel)<sup>[33]</sup>; D: Homogeneous distribution of soil microorganisms in nutrient-rich and heterogeneous porous media becomes inhomogeneous under the action of water flow.

芽殖, 从而促进其自身的扩散<sup>[21-22]</sup>。除此之外, 细胞自身的趋化作用可以驱使运动性微生物寻找营养源或远离有害物质, 以便占据有利生态位。例如, 细菌细胞膜上有一类跨膜蛋白, 也被称为趋化传感器, 能够敏锐地感知周围环境中的物理和化学变化, 并将信号传递给鞭毛, 促使其可以积极地感知和搜索, 并趋向有利的环境或远离不利的环境<sup>[23-24]</sup>。

具有运动性的微生物的运动器官除能够驱动其主动运动以外, 也能够通过其他机制来调节其在界面的附着特征。一方面, 微生物运动器官与界面间的摩擦力能够调节细胞的运动速度以增加其在界面的停留时间, 从而提高其附着概率<sup>[16]</sup>, 而运动器官与界面的接触也会抑制鞭毛马达的旋转和 IV 型菌毛的收缩, 从而促使其附着<sup>[25]</sup>。另一方面, 微生物游动时的鞭毛旋转或跳动会促使周围液体产生微流动, 在界面(尤其是距离细胞几个细胞长度范围内的界面)附近, 水流会受到界面的影响, 从而反过来影响微生物自身的运动, 这种机制被称为细胞和界面间的水动力学相互作用, 可以大大促进细胞在界面的定殖<sup>[26]</sup>。这种作用力会使非圆形细胞在界面上方产生高曲率曲线运动, 而且会使细胞保持一个相对于界面的特定倾角, 所以细胞常在近界面区域做向界面旋转靠近的曲线运动(图 1B)<sup>[26-28]</sup>。同时, 一旦黏附在表面, 运动性微生物可以通过趋化和群体感应吸引溶液中的微生物更快地定殖到界面上<sup>[29]</sup>。因此, 不运动性微生物在界面的附着很可能严重依赖于布朗运动和重力沉降, 而运动性微生物能够通过多种机制优先到达界面并附着, 从而抢占生态位。

## 1.2 物理作用对微生物界面附着的影响

水文运动、XDLVO 作用力、重力沉降和布朗运动等物理作用对微生物的扩散及其界面附着有显著影响(图 1B)。同时, 这些作用力的产

生时间和强弱往往与细胞和界面之间的距离密不可分<sup>[30]</sup>。

水分作为微生物生存的基础, 广泛存在于微生物的各类栖息地中, 而且实时变化的水分分布及各种水文运动(包括剪切流、蒸发和下渗等)也影响着微生物的生存。一方面, 环境中的水流会影响细菌的运动方向, 当剪切速率小于  $10 \text{ s}^{-1}$  时, 鞭毛的推动力仍然在细菌运动中发挥主导作用; 而当剪切速率大于  $10 \text{ s}^{-1}$  时, 剪切流就会通过影响细菌细胞体与流体界面间的作用力来主导细菌的运动方向, 使细菌产生趋流性<sup>[31-32]</sup>。另一方面, 微生物群落大多存在于周期性或持续的不饱和水分条件下, 例如人体皮肤和牙齿以及植物叶片和根系。在这种水分条件下, 其气-液界面经常会发生不均匀蒸发现象, 产生流场, 例如咖啡环效应(coffee-ring effect)和马兰戈尼效应(Marangoni effect)<sup>[33]</sup>, 驱动细胞的被动运动, 从而导致细胞空间分布的再分配, 并影响其表面附着(图 1C)<sup>[34]</sup>。

除此之外, XDLVO 力、重力和布朗运动也对微生物运动至关重要。大多数细菌的细胞大小接近胶体颗粒的范围, 因而细胞与界面之间的相互作用力可以用 XDLVO 力来表征<sup>[28]</sup>。XDLVO 力受细胞和界面的物理化学特征及两者间距离的影响, 也受环境离子强度所影响, 其值为负值则有利于细胞的附着, 反之抑制其附着<sup>[24]</sup>。重力能够改变微生物细胞的整体运动方向, 促使微生物体的沉降。Chen 等<sup>[35]</sup>研究表明, 在适宜条件下, 重力对微米大小的不运动性细胞的沉积有极大影响, 并且是半径大于  $1 \mu\text{m}$  细胞初始沉积阶段的重要驱动力, 而粒径小于  $1 \mu\text{m}$  的颗粒对水动力相互作用会相对更加敏感。布朗运动(被分子撞击的悬浮微粒做无规则运动的现象)也会在一定程度上影响微生物的运动附着。一方面, 布朗运动可以帮助体

积较小的单根极性鞭毛菌完成再定位,从而改变其运动模式<sup>[27,36]</sup>;另一方面, Li 等<sup>[16]</sup>发现布朗运动能够通过显著改变细胞与界面间的距离影响两者间的水动力学作用和 XDLVO 力等,从而对其界面附着产生影响。

一些不具有运动能力的微生物能够利用运动性微生物(比如附着于运动细胞表面)进行扩散。例如,链霉菌(*Streptomyces*)的孢子能够通过其外壳上的结构蛋白附着至枯草芽孢杆菌细胞,并随之在琼脂(0.27%–0.50%)表面扩张<sup>[37]</sup>。另外,一些具有寄生能力的微生物也能够随着宿主进行扩散,例如病毒。作为一类结构简单(蛋白结构中包裹着单一基因组物质)、只能在活细胞内寄生并复制繁殖的非细胞结构生物,病毒本身并不具有运动能力<sup>[38]</sup>。病毒在自由溶液中的运动除了依靠水动力学外,还可以通过吸附至宿主表面并随之扩散。You 等<sup>[39]</sup>的研究发现,大肠杆菌病毒 T4 能够吸附非宿主细菌恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*),跟随其沿着菌丝向新生态位扩散,并通过侵染和裂解新生态位处的大肠杆菌,为恶臭假单胞菌提供生存空间,从而影响该处的群落结构及生物膜空间组织。

微生物在界面的附着是多种作用结合产生的结果,包括水文运动、重力、自身的运动性(主动运动或趋化运动)以及其与界面之间的相互作用力等<sup>[24]</sup>。当微生物细胞通过主动运动或被动运动到达界面附近时,在多种作用力下其运动轨迹会发生变化,使其趋向或趋离界面,从而影响其在界面的附着和分布特征,进而影响随后微生物生物膜的空间自组织过程<sup>[15-16,26,40]</sup>。

## 2 空间自组织模式形成中的机制及影响因素:空间组织模式发展的成熟阶段

在环境压力、营养物质有效性和附着位点

等协同作用下,成功附着到介质表面的细胞开始分裂增殖,并逐渐自发地由一个无序的物种混合体形成高度结构化的空间结构,该过程被称为空间自组织(self-organization)过程<sup>[41-46]</sup>。在这个过程中,细胞首先以低密度分散于界面上,随后其种群密度随着细胞增殖逐渐升高,开始与相邻种群进行互作,并在互作过程中逐渐形成适合各自生存的特定空间分布模式<sup>[41-46]</sup>。微生物群落空间模式能够影响群落水平的生产力<sup>[47-52]</sup>、群落对环境干扰的抵抗力或恢复力<sup>[53-55]</sup>以及群落的进化过程<sup>[56-61]</sup>,是群落水平特性的重要决定因素。因此,理解微生物空间自组织的形成过程和影响因素对了解微生物群落的结构、功能和进化具有重要意义<sup>[62]</sup>。

### 2.1 群落的区域扩张(range expansion)

微生物群落的区域扩张是指群落沿着界面向群落外围延伸的过程<sup>[63-64]</sup>(图 2A)。一般来说,生物群落扩张往往是群落演替的过程,一些种群会优先扩张,被称为初级种群,而其他随之扩张的种群则被称为次级种群<sup>[65]</sup>。由于优先扩张的初级种群改变了局部环境,次级种群只能在此基础上进行建立和扩张,这可能会限制和影响它们的空间结构<sup>[65]</sup>。例如,清理后的牙齿表面,初级种群通过特殊的表面蛋白附着在已清洁的牙齿表面并开始扩张,次级种群只能在初级种群形成的生物膜上进行次级扩张<sup>[66-67]</sup>。除此之外,微生物演替的例子还包括抗生素治疗后的人类肠道微生物群落的定殖和演替,以及金属表面、输水管道中微生物的腐蚀过程等<sup>[68]</sup>。

由于区域扩张的过程中通常只有群落边缘的一小部分微生物向外围发生强烈漂移,再加上种群间的竞争或合作,原本高度混合的群落会出现种群间的隔离,群落的局部多样性从而减少(图 2A),该现象已在实验和微生物模型模拟中得到了证明<sup>[69]</sup>。群落扩张过程中局部多样

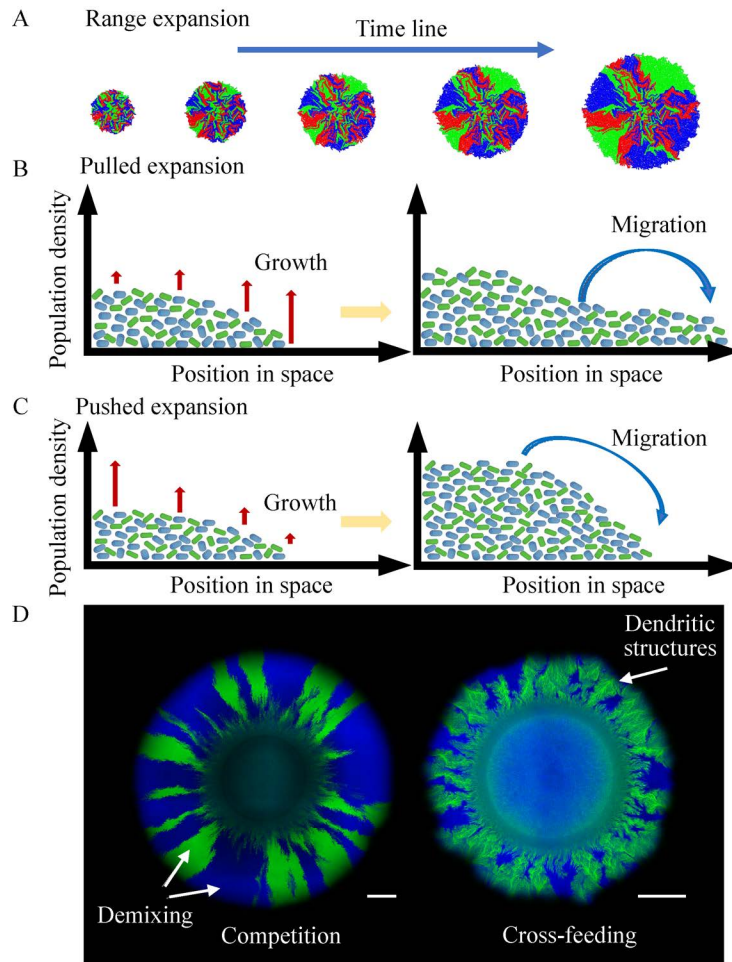


图 2 区域扩张示意图 A: 3 种微生物种群随时间序列的典型区域扩张示意图, 细胞模型模拟结果; B: 拉动式区域扩张, 位于群落边缘低密度区域的细胞的生长速率高于群落中心的细胞生长速率, 因此群落边缘的细胞通过自身的生长拉动群落向新的区域扩张; C: 推动式区域扩张, 群落边缘低密度区域的细胞增长率低于群落中心的细胞生长速率, 群落中心的细胞通过自身的生长推动边缘细胞向新的区域进行扩张; D: 分别是竞争关系(绿色和蓝色分别表示 2 种不同基因型细菌)或交互喂养关系的 2 种施氏假单胞菌(蓝色表示生产者, 能将  $\text{NO}_3^-$  转化为  $\text{NO}_2^-$ ; 绿色表示消费者, 能将  $\text{NO}_2^-$  转化为  $\text{N}_2$ )在琼脂表面的区域扩张, 比例尺均为  $1\ 000\ \mu\text{m}$

Figure 2 The schematic diagram of range expansion. A: Schematic diagram of typical range expansion of three microbial populations with time series (results of cell model simulations); B: Pulled expansion. The growth rate of cells in the low-density area at the edge of the community is higher than the growth rate of cells in the center of the community, so the cells at the edge of the community are pulling the community to expand to new areas through their own growth; C: Pushed expansion. The growth rate of cells in the low-density area at the edge of the community is lower than the growth rate of cells in the center of the community. The cells at the center of the community push the cells at the edge to expand to the new area by their own growth; D: Two types of *P. stutzeri* with competitive relationship (green and blue indicate two different genotypes of bacteria, respectively) or cross-feeding relationship (blue indicates the producer, which converts  $\text{NO}_3^-$  to  $\text{NO}_2^-$ ; green indicates the consumer, which converts  $\text{NO}_2^-$  to  $\text{N}_2$ ) expand in the region of the agar surface, scale bars are  $1\ 000\ \mu\text{m}$ .

性的损失速度理论上取决于细胞生长速率、微生物间的互作关系以及养分和代谢物的扩散<sup>[70]</sup>。根据扩张驱动力的差异,微生物群落的扩张可以分为两类,即拉动式和推动式<sup>[70]</sup>。在拉动式扩张下,细胞生长速率会随着密度的减小而逐渐增大,因此,位于群落边缘低种群密度区域的细胞能够通过自身的生长拉动群落向新的区域进行扩张,而且群落由于扩张边缘的强烈遗传漂移而迅速丧失多样性(图 2B)。拉动式扩张速度,也被称为费希尔速度(Fisher velocity),完全取决于个体的扩散速度和低密度下物种的生长速度。然而在推动式扩张情形下,由于群落种群之间存在合作关系,种群间的合作程度和细胞生长速率都与种群密度存在正相关性,因此,位于群落中心高种群密度区域的细胞在一定程度上能够通过自身的分裂生长推动边缘的细胞向新的区域进行扩张(图 2C)。细胞生长速率与密度呈现正相关的现象也称为阿利效应(Allee effect)<sup>[71-74]</sup>。拉动式和推动式扩张的种群动态差异会实质性地影响微生物种群的遗传结果<sup>[75-77]</sup>,但目前尚未在实验研究中得到充分的定量验证<sup>[78]</sup>。

除此之外,区域扩张过程也会影响突变种群的传播和维持。在具有空间组织结构生物膜的区域扩张过程中,由于养分和生存空间的不均一性,突变种群出现的位置对其生存概率有很大的影响<sup>[79]</sup>。如果一个突变发生在既无食物也无生存空间的地方,往往在群体中传播的概率很低;若突变发生在群落扩张的边缘,并且具有一定生长竞争优势,突变扩散和保留的可能性则更高<sup>[80-82]</sup>。因此,只有发生在能获得充分营养物质和生存空间的群落边缘(扩张前端),突变种群才能被保留和扩散。

## 2.2 种间互作关系

当微生物密度高至足以让细胞通过释放可

扩散物质相互影响时,群落中的种间互作开始强烈影响空间结构的组成模式,并决定生物膜整体功能,因此,微生物种间互作被认为是空间自组织的主要驱动力<sup>[83]</sup>。最近的研究表明,微生物群落水平的功能特征具有高度的动态性和复杂性,难以从单株细菌的特性中进行预测和解释<sup>[84-85]</sup>。

生物膜内的物质传输主要依靠扩散作用,但 EPS 对于扩散的限制,导致了生物膜空间结构系统中养分和代谢产物的不均匀分布,这种资源限制驱动了微生物群落空间组织结构的形成<sup>[79]</sup>。例如微生物在生长代谢过程中会消耗养分并分泌代谢产物,致使空间系统中养分及代谢物质浓度梯度的形成<sup>[86-89]</sup>。在空间结构系统中,代谢分泌旺盛的区域往往会出现强烈的种间相互作用,导致种群的混合度提高,增加局部的多样性<sup>[77,90]</sup>。

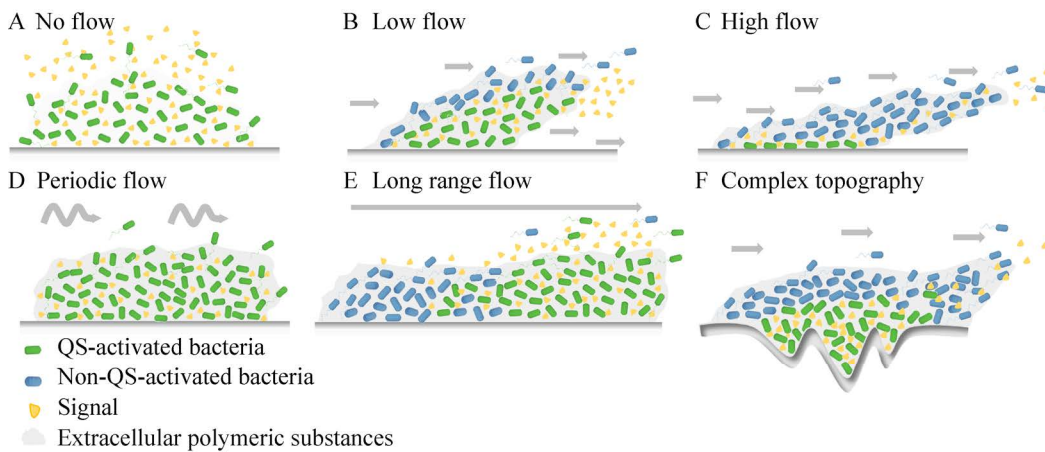
交互喂养(cross-feeding)和群体感应等都是微生物种间代谢产物的典型相互作用方式。交互喂养本质上是微生物种间代谢产物的相互作用,微生物通过交换代谢产物以获得最大利益,被认为是自然界中微生物多样性形成的一个重要驱动力<sup>[91]</sup>。我们利用基于反硝化代谢途径的交互喂养菌株施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)进行了区域扩张实验,结果表明交互喂养会形成群落演替,在初级群落扩张后,次级群落的区域扩张会形成树枝状结构(图 2D 右图),促进局部的空间多样性。Goldschmidt 等<sup>[92]</sup>还通过模型模拟的结果表明,交互喂养形成的群落演替不仅可以在短期内促进局部空间多样性,也可以在长期内增加种群的遗传多样性。当然,如果交互喂养的代谢物有毒,则可以通过群落间有毒代谢物的消耗而减少毒性的积累,从而促进整体群落结构更好地生长<sup>[93]</sup>。由于施氏假单胞菌在反硝化过程中会积累  $\text{NO}_2^-$ , 而



NO<sub>2</sub> 的毒性可以通过 pH 进行调控, 在 pH 7.5 时毒性较弱, 在 pH 6.5 时毒性较强<sup>[83]</sup>, 我们利用此特性设计了相关区域扩张实验, 并表明代谢毒性的交互喂养减缓了区域扩张速率和局部多样性的损失(图 2D 左图)<sup>[57]</sup>。为了解释微生物种间的代谢依赖性是如何形成的, 研究者提出了“黑色皇后假说”(the black queen hypothesis), 该假说表明微生物的本质其实是自我复制的复制子, 其基因越复杂, 复制过程耗能越多<sup>[94]</sup>。因此, 在进化过程中, 微生物更倾向于废弃耗能大的基因, 而选择依赖其他微生物生存, 即通过交互喂养的合作方式共存于微生物群落中。这种“偷懒”的行为不仅节省了能源消耗, 而且在自然选择中会更具优势<sup>[94]</sup>。

除代谢产物外, 微生物群落也会通过分泌

自我诱导物(autoinducers)即信号分子来触发群体感应(quorum sensing, QS)。当信号分子的浓度达到一定阈值时, 菌体相关基因的表达就会被启动以适应或改变周围环境<sup>[95]</sup>。例如, 革兰氏阴性细菌为了种内交流可分泌自诱导物-1(autoinducer-1)和自诱导物-3(autoinducer-3), 革兰氏阳性细菌可分泌自诱导信号肽(autoinducing peptide, AIP), 而革兰氏阴性和革兰氏阳性细菌均可分泌自诱导物-2(autoinducer-2)<sup>[96-97]</sup>。Kim 等<sup>[98]</sup>的研究发现, 在生物膜形成过程中, 微生物分泌的群体感应信号能够随着水分运动流失, 影响生物膜的形成; 同时, 根据水流特征以及生物膜附着界面的差异, 信号分子和微生物的特征在生物膜内外的分布也存在差异(图 3)。



**图 3** 水流和粗糙界面对生物膜中扩散介导的群体感应(QS)信号的影响 无水流(A)、低速水流(B)、高速水流(C)、间歇水流(D)、长距离水流(E)和粗糙界面上恒定水流(F)下生物膜形貌及其内部细菌状态和 QS 信号分布。在水流作用下, 生物膜外层及其前端内的群体感应信号随水流流失, 该处细胞的群体感应也相应关闭; 同时, 由于养分缺失, 生物膜内部细胞鞭毛解体, 而外层细胞能够接触到外界养分, 鞭毛活动活跃, 能够随水进行趋流运动

Figure 3 Effects of flow and rough interfaces on quorum sensing communication mediated by diffusion in biofilms. A–F: The biofilm morphology and its internal bacterial state and QS signal distribution under no flow (A), low velocity flow (B), high velocity flow (C), periodic flow (D), long range flow (E) and constant flow on rough interface (F), respectively. Under the action of flow, the quorum sensing signals in the outer layer and front end of the biofilm are lost with water, and quorum sensing of the cells shut down accordingly; Meanwhile, the inner cellular flagella of the biofilm disintegrate due to nutrient deficiency, while the outer cells are able to contact external nutrients, and the flagella are active and able to perform rheotaxis.

微生物的相互作用对这些群落的维持、稳定和生产力至关重要<sup>[99-101]</sup>。目前的研究还较少关注在长期演化过程中不同种群之间相互作用如何制约微生物群落的演替<sup>[102-103]</sup>。由于进化动力学存在一定的不确定性,预测基于微生物相互作用的群落组织模式形成过程依然是个挑战<sup>[104-105]</sup>。解决这个问题不仅能解释微生物多样性的形成和维持机制,而且也能帮助理解群落在环境中的进化方向。

### 2.3 表面物理结构

诱导微生物群落空间自组织的另一个重要因素是微生物附着界面的物理结构<sup>[60,106-110]</sup>。界面粗糙度或孔隙网络连接性可以极大地影响群落的结构和稳定性<sup>[110]</sup>。在大多数自然和人工环境中,微生物都活动在粗糙的非均质界面,这也导致微生物运动、养分和代谢产物的扩散受到限制<sup>[110-111]</sup>。微生物区域扩张会沿着颗粒物体边界局部变形,这些变形会影响局部的空间多样性和微生物自组织模式。例如, Ciccacese 等<sup>[112]</sup>通过实验证明,对于 2 种具有竞争关系的微生物群落而言,沿着颗粒物体边界局部变形会增加种间边界的密度,从而提高局部的多样性;而对于具有交叉喂养关系的 2 种微生物群落来说则降低了中间边界密度,从而降低局部的多样性。除此之外,养分扩散和微生物运动也受到粗糙界面的影响。Wang 等<sup>[107,111,113-115]</sup>构建了粗糙表面的网络模型,确切地跟踪了单个细菌细胞的生长、运动状态,该模型结合粗糙表面的水动力学、微生物运动特性以及养分的扩散,模拟了粗糙表面上不同互动关系的细菌的动态变化,揭示了表面异质化条件下的微生物空间结构模式。由于环境的复杂性,目前关于表面物理结构对微生物群落空间自组织的研究依然十分有限,多数研究依然以模型模拟为主,未得到实验验证。

### 2.4 物种组成

虽然微生物群落通常共存于具有空间结构的生物膜中,但不同物种间具有不同的生长速率和运动特性等。Liu 等<sup>[116]</sup>通过将嗜根寡养单胞菌(*Stenotrophomonas rhizophila*)、反枝黄单胞菌(*Xanthomonas retroflexus*)、氧化微杆菌(*Microbacterium oxydans*)和解淀粉芽孢杆菌(*Paenibacillus amylolyticus*)这 4 株菌共培养,发现氧化微杆菌和解淀粉芽孢杆菌的生长量显著提高,氧化微杆菌虽然处于低丰度,但其存在引起了整体群落结构和组成发生显著变化。该研究阐明了在多物种生物膜中单个物种对空间组织的重要性,尤其值得关注的是非优势种群对空间组织形成的影响。Booth 等<sup>[117]</sup>研究了铜绿假单胞菌、防御假单胞菌(*Pseudomonas protegens*)和肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*)共培养时的群落组成和空间分布,发现多物种群落中的物种间相互作用受到 IV 型菌毛介导的运动和环境波动的影响。

病毒作为微生物的重要组成部分,参与并调控了微生物空间自组织模式的形成。以噬菌体为例,在其侵染条件下,生物膜的结构和功能稳定性通常取决于噬菌体浓度、生物膜基质的空间异质性和细菌的多样性<sup>[118-120]</sup>。在不同条件下,噬菌体不仅能够通过捕食细菌或分解生物膜基质来破坏群落结构<sup>[121-123]</sup>,也能够通过促进细菌的水平基因转移、增加细胞基因表达和胞外物质的分泌等方式促进生物膜的发育<sup>[118,124-125]</sup>。Zhang 等<sup>[118]</sup>探究了不同病毒浓度侵染对于生物膜形成的影响,发现与空白相比,高浓度病毒侵染能够阻碍生物膜形成并促进其凋亡,而低浓度病毒( $10^2-10^4$  PFU/mL)能够促进生物膜内 QS、多糖形成和卷曲菌毛(curli)的基因表达,增加生物膜基质中多糖和 DNA 的含量,从而促进其对外界侵染的抵御。同时,噬菌体通过

溶原途径的编码产物也可以促进生物膜的发育<sup>[126]</sup>, 从而影响细菌对抗生素或噬菌体的抗性, 增强整个细菌群体的生存能力。例如, 铜绿假单胞菌的溶原噬菌体可在宿主细胞中编码并释放一种带负电荷的长丝, 将生物膜构建成液晶形式, 从而提高生物膜的耐旱性和抗生素抗性<sup>[127]</sup>。目前关于病毒对微生物群落空间结构的研究还处于初步阶段, 对于病毒侵染机理、微生物防御机制以及病毒-宿主在空间结构中的共存机理仍未明确。

### 3 空间组织模式对生物膜功能的影响

生物膜空间组织模式逐渐成熟后, 所形成的结构趋于稳定, 群落间的相互作用效率也达到最佳状态, 并强烈影响其功能的发挥。在群落水平上, 生物膜不仅能够维持生物膜内物种的多样性、提高群落整体的养分利用和转化效率, 也能够帮助生物膜在环境选择压力下更好地生存; 在基因水平上, 稳定的空间结构也提高了基因在群落间的迁移速率, 促进了群落整体的进化<sup>[128]</sup>。因此, 生物膜空间状态的形成和维持是微生物群落通过自组装所获得的最优结果, 不同种群逐渐趋于“一体化”, 为微生物的生存提供了最佳的条件和状态<sup>[129]</sup>。

#### 3.1 维持微生物群落多样性

在微生物群落中, 种群间的竞争、不利的突变等都会导致部分种群失去生存优势, 从而降低微生物群落的多样性。然而生物膜内部高浓度的 EPS 参与并创造了其特殊的空间结构, 隔离出具有不同生化特性的微环境<sup>[130-131]</sup>, 为微生物生长提供优化条件, 允许多个物种共存, 维持微生物群落的多样性。通常竞争力较弱的物种在非空间结构的系统中会因为竞争性排斥而逐渐灭绝, 而在空间结构中, 它们可以分散到竞争者还不存在的地方, 从而在群落中生存<sup>[129]</sup>。

此外, 空间异质性本身可以为物种创造新的生态位, 促进群落的进化。例如, 荧光假单胞菌在一个空间结构系统中繁殖时会迅速进化出一种多态性, 其中一个新出现的形态类型专门用于在气-液界面上定殖<sup>[132]</sup>。

生物膜的空间结构也可以使不具有生物膜形成能力的细菌与可以形成生物膜的细菌在这种互利共生条件下共同生长, 从而维持微生物的多样性<sup>[133]</sup>。在生物膜空间结构的协调下, 不同种类的细菌各司其职, 竞争与合作并存, 推动整个群体的共同发展和进化<sup>[134-135]</sup>, 也是这种互相依赖取长补短的共生关系, 使得微生物群落的多样性得以维持。微生物物种的混合度 (intermixing), 即混合的各物种比例, 通常用来指示空间组织上的局部多样性, 但其变化具有高度的动态性, 目前所研究的机理还不足以解释微生物群落在空间结构中是如何混合的。

#### 3.2 加强种群间的互作关系

生物膜的空间结构会拉近细胞间距, 使物种间的互作关系更紧密, 从而影响微生物群落的功能发挥和进化轨迹<sup>[128]</sup>。在成熟的生物膜空间结构中, 不同物种间的相互作用关系可大致分为正相互作用和负相互作用, 又可分为单向相互作用和双向相互作用<sup>[128]</sup>。

微生物行使自身功能的同时为邻近细胞带来利益, 这种相互作用称之为单向正相互作用。例如, 生物膜中部分细菌会产生铁载体结合并溶解环境中的铁元素, 供生物膜内的所有物种使用<sup>[136-137]</sup>。这种简单的单向正相互作用是由于微生物空间距离较近而发生的利益关系, 在生物膜的空间结构中得到进一步的加强。物种间的双向正相互作用也广泛存在于细胞群落的空间自组织结构内, 实现了种间的互惠互利和合作进化, 典型的例子就是物种间的互养关系<sup>[138-141]</sup>。在互养关系中, 第一物种分泌的代谢废物被第二

物种作为养分来源,而第二物种吸收这种代谢物后反过来促进第一物种的生长<sup>[139]</sup>。例如,当烷烃脱硫杆菌(*Desulfatibacillum alkenivorans*)与亨氏甲烷螺菌(*Methanospirillum hungatei*)共存于石油降解的微生物群落中时,亨氏甲烷螺菌能够促使烷烃脱硫杆菌利用烷烃,并吸收其代谢过程中产生的氢离子和甲酸<sup>[142]</sup>。这种利益交换的共存方式由于不需要任何一个物种为另一个物种单方面贡献,因此在进化上是极其稳定的。原则上,参与者均需消耗大量能量的种间合作也会存在,其中就包括交互喂养关系,这种关系是在2个物种能够互相弱化对方营养缺陷的条件下产生的<sup>[143]</sup>。

此外,微生物生物膜群落中的部分物种也会向环境中分泌一些生物毒性物质,与其他物种间产生负相互作用。这时一些具有代谢生物毒性物质的功能微生物便会产生,并通过自身的代谢特性,为生物群落提供更好的生存环境,将负相互作用转变为正相互作用。例如,大肠杆菌在以葡萄糖为碳源时,醋酸盐作为中间代谢物会被分泌到环境中,当积累到一定程度后便会影响大肠杆菌及其他微生物的生长活性<sup>[144]</sup>;而一些具有代谢醋酸盐功能的细菌会通过自身的这种代谢特性消耗掉中间代谢产物,为大肠杆菌创造更好的生存环境<sup>[128]</sup>,从而使2个种群产生底物互养(substrate cross-feeding)关系,即:一个提供了养分,而另一个提供了更好的生存条件。这种养分动态相互关系加速了葡萄糖的消耗,使群落获得更大的生长效益。

综上所述,微生物空间结构能够使微生物种间建立更加紧密的互作关系,使其朝着适应环境的方向进化和演变<sup>[145]</sup>。

### 3.3 调节微生物群体水平的代谢特征

在具有空间组织结构的微生物生物膜中,细胞间的紧密堆积能够通过其自身的呼吸作

用<sup>[146]</sup>、脱氮和固氮作用<sup>[147]</sup>、硫氧化和还原作用<sup>[148]</sup>等,帮助群落克服局部养分限制,促进养分的交换和再利用<sup>[149]</sup>。

生物膜的空间结构能提高物种间的合作效率,对一些难以降解的物质进行“分割”处理,即每种微生物代谢一种中间产物,从而达到互补和共赢,这种基于养分的互作能力被认为是微生物多样性和资源利用之间的一种基础机制<sup>[150-151]</sup>。生物膜中的碳循环便是“自给自足”的一个典型实例。生物膜中硅藻、绿藻和蓝藻等光能自养生物通过光合作用高效利用自养代谢底物(如二氧化碳)<sup>[152-154]</sup>,将二氧化碳等无机物底物转化成碳水化合物、氨基酸等有机物;这些有机物被异养生物吸收后,通过其呼吸作用转化为二氧化碳,并再次被光能自养生物吸收利用。因此,在这个系统中,只要能提供无机营养和光照,生物膜中的相互作用就能够实现碳源的“自给自足”。

生物膜空间组织结构介导了其内部养分浓度梯度的产生,使其形成了流动水层-附着水层-好氧层-厌氧层-附着介质的渐变结构,促进了生物膜内部多种功能的同时实现。例如,这种渐变结构同时为氮循环中硝化作用和反硝化作用提供了有利的条件(包括特定的微生物类群和不同反应条件的微环境),促使生物膜内产生同步硝化反硝化现象,提高了氮循环效率<sup>[155]</sup>。同时,生物膜还提高了养分的有效性,促进元素的生物地球化学循环<sup>[152]</sup>。复杂大分子广泛存在于自然环境中,能够被微生物胞外酶降解利用,对其进行的生物降解占生物膜微生物活动的80%,这在河流<sup>[156-157]</sup>中碳、氮和磷的生物地球化学通量中至关重要。

### 3.4 有利于物种间的水平基因转移

原核生物之间通过水平基因转移能调整宿主代谢水平,传播耐药性,使微生物群落更好

地适应环境选择的压力, 并促进群落整体的进化<sup>[159,158]</sup>。表征水平基因转移的成功发生需要满足 2 个条件: (1) 细胞接收一个外源基因至体内; (2) 基因丢失率低且稳定表达。通常水平基因转移主要包括接合转移(细胞至细胞)、转导(病毒介导)及转化(环境至细胞)。

与浮游微生物相比, 生物膜内细胞之间发生接合转移的频率更高<sup>[159-160]</sup>。这是由于生物膜空间结构中微生物细胞密度大, 最大程度地满足了发生接合基因转移的必要条件(时间和空间的接触), 加速了可移动遗传元件(mobile genetic elements, MGEs)的传播, 也使接合基因转移成为生物膜中水平基因转移的主要方式, 并极大地提高了水平基因转移的速率<sup>[161-162]</sup>。同时, 也有研究表明, 接合质粒的存在能刺激生物膜空间结构的形成和发育, 其潜在的机制是由质粒编码的接合菌毛能够增强细胞的附着作用, 从而促进生物膜空间结构的形成<sup>[163]</sup>。May 等<sup>[164]</sup>发现含有天然 IncF-F 接合质粒的大肠杆菌 MG1655 在生物膜形成初期通过编码 F 菌毛并积累可拉酸(colanic acid), 促进了细胞界面附着及细胞间凝聚, 在后期 F 质粒还可以通过促进卷曲菌毛的基因表达形成复杂的卷曲网络, 将细菌细胞聚集成簇, 并通过与基质相互作用形成成熟稳定的三维生物膜结构。由于生物膜空间结构中有更多发生质粒接合转移的机会, 因此生物膜中的质粒在长期的进化过程中可在多种微生物种群中表达和传播。

除了接合基因转移, 生物膜中基因转化速度也发生得更频繁。胞外 DNA (extracellular DNA, eDNA) 是生物膜基质的重要组成部分, 在稳定生物膜基质方面起核心作用<sup>[165]</sup>。同时, eDNA 也能够触发细菌进入自然感受态<sup>[166]</sup>, 使其将 eDNA 转化进自身体内, 从而潜在地增加了 MGEs 的宿主范围和基因转化速率。

空间结构还能利用水平基因转移分享编码合成公共产物的质粒。这种合成公共产物的“合作质粒”虽然对生产者来说代价高昂, 但能够使种群中其他成员受益<sup>[167]</sup>。同时, 分享“合作质粒”能够帮助种群抵抗“作弊者”(消耗其他物种所降解的物质而产生底物竞争者)的入侵<sup>[138,140,168]</sup>, 使其在合作质粒侵染后被迫成为合作成员之一<sup>[169]</sup>。当质粒完成水平转移后就会在新的菌株中复制, 并且能够随着细菌的分裂增殖发生垂直基因转移。但当细菌活性和分裂频率高时, 质粒丢失的速率就会增加, 导致无质粒细胞的产生<sup>[170]</sup>。Madsen 等<sup>[170]</sup>认为生物膜外层养分充足, 微生物活性较高, 无质粒的亚群会在外层占据空间, 并建立无质粒的细胞区域。然而由于生物膜的空间结构, 其深层细胞获得的养分有限, 当生物膜变得足够厚时, 深层细胞最终将变得不活跃<sup>[171]</sup>, 使携带质粒的细胞在生物膜内部积累并储存<sup>[170]</sup>, 促使质粒能够留存下来。

综上所述, 生物膜中微生物群落之间的水平基因转移不仅能够帮助群落维持高水平的微生物多样性及高速的自然进化状态, 而且能使生物膜群落结构处于动态变化过程中, 给群落结构的预测增加了极大的难度<sup>[172-173]</sup>。

## 4 展望

微生物群落组织模式是微生物学、生态学和结构物理学等多学科交叉的前沿研究。传统研究往往以单个细菌的生物过程和基因组为主, 但微生物的高度多样性和复杂性导致单细菌的研究并不足以解释微生物在环境中扮演的生态角色特点。研究多物种微生物群落及其所形成的空间组织模式能帮助人们更好地理解微生物的互作过程及生态学效应, 但目前对于微生物群落组织模式的理解尚处于初始阶段, 研究理论和方法都不完善。因此, 基于已有微生

物空间组织模式的研究基础, 未来研究可进一步集中于以下几个方面:

(1) 基于微生物的功能特性提出新的互作原理和假说。目前, 研究者发现多物种生物膜中存在交互喂养、互利共生等多种复杂的种间关系, 这些种间关系在一定程度上保证了生物膜结构的稳定性。同时, 为了解释微生物物种间相互依赖的特征, 一些研究理论(如黑色皇后假说)随之提出。然而这些理论尚未得到完全的验证且存在着局限性, 不足以解释微生物空间组织模式的动态形成过程。因此, 提出新的互作原理和假说, 并通过理论与实验统一验证, 有助于完善人们对微生物多样性的理解。

(2) 发展微生物原位观察和原位追踪技术。目前微生物空间组织的研究大多通过标记不同颜色荧光蛋白进行区分, 而荧光往往只能用于区分几种微生物空间结构的形成过程, 而成千上万的物种在环境中都扮演着各自的角色。仅仅理解几种微生物的互作过程虽然在一定程度上提高了人们对于空间组织模式的理解, 但是同样存在巨大的局限性。发展先进的原位观察技术, 同时追踪多种微生物在群落中的实时动态过程, 才能最大程度地揭示微生物的功能特性。

(3) 引入多物种微生物群落结构。目前对于群落生物膜的研究大多基于细菌群体, 而在真实的微生物世界中, 细菌、真菌和病毒等都共存于同一生境中, 并显著影响着微生物群落的功能发挥。未来的研究应关注细菌-病毒、细菌-真菌或者真菌-病毒等多种群间的互作过程, 综合理解各种微生物在空间组织模式中所扮演的角色。

(4) 提出促进或抑制微生物空间组织模式发展的方法。在自然环境中, 微生物空间组织模式的形成有些是有利的, 如土壤养分循环、有毒物质的协同降解; 也有些是有害的, 如牙

菌斑、金属腐蚀等。在充分理解微生物空间组织模式后, 提出促进或抑制微生物空间组织模式发展的方法能帮助人们最大程度地利用微生物资源, 避免微生物的环境污染。

(5) 构建集合多种因素的微生物仿真模型。由于生境的复杂性以及微生物的特异性和代谢通路的多样性, 许多研究模型无法通过实验进行验证, 构建集成多种因素的微生物仿真模型有利于人们理解微生物空间结构的动态变化过程, 预测不同形成阶段的微生物群落在面对环境压力时的响应。

未来对于微生物空间组织模式的研究应当从分子、细胞、群落和生境等不同尺度展开, 明确微生物的生态学特征, 研究其与不同界面之间的互作模式与响应机制, 最终构建多物种微生物生命形态的生物地球化学循环过程模型, 从而提升对微生物多样性维持机制与生态功能的理解, 促进微生物资源的合理利用与调控。

## REFERENCES

- [1] Gans J, Wolinsky M, Dunbar J. Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil[J]. *Science*, 2005, 309(5739): 1387-1390
- [2] Roesch LFW, Fulthorpe RR, Riva A, Casella G, Hadwin AKM, Kent AD, Daroub SH, Camargo FAO, Farmerie WG, Triplett EW. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity[J]. *The ISME Journal*, 2007, 1(4): 283-290
- [3] Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms[J]. *Annual Review of Microbiology*, 1995, 49: 711-745
- [4] Macfarlane S, Dillon JF. Microbial biofilms in the human gastrointestinal tract[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, 102(5): 1187-1196
- [5] Ramey BE, Koutsoudis M, Von Bodman SB, Fuqua C. Biofilm formation in plant-microbe associations[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2004, 7(6): 602-609
- [6] Burmølle M, Kjølner A, Sørensen SJ. An invisible workforce: biofilms in the soil[A]//Lear G, Lewis G. *Microbial Biofilms: Current Research and Applications*[M].

- UK: Caister Academic Press, 2012: 61-71
- [7] Mulder A, Van De Graaf AA, Robertson LA, Kuenen JG. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1995, 16(3): 177-183
- [8] Leiknes T, Ødegaard H. The development of a biofilm membrane bioreactor[J]. Desalination, 2007, 202(1-3): 135-143
- [9] Hallam NB, West JR, Forster CF, Simms J. The potential for biofilm growth in water distribution systems[J]. Water Research, 2001, 35(17): 4063-4071
- [10] Kragh KN, Hutchison JB, Melaugh G, Rodesney C, Roberts AEL, Irie Y, Jensen PØ, Diggle SP, Allen RJ, Gordon V, et al. Role of multicellular aggregates in biofilm formation[J]. mBio, 2016, 7(2): e00237
- [11] Kassen R, Rainey PB. The ecology and genetics of microbial diversity[J]. Annual Review of Microbiology, 2004, 58: 207-231
- [12] Purcell EM. Life at low Reynolds number[J]. American Journal of Physics, 1977, 45(1): 3-11
- [13] Berke AP, Turner L, Berg HC, Lauga E. Hydrodynamic attraction of swimming microorganisms by surfaces[J]. Physical Review Letters, 2008, 101(3): 038102
- [14] Desai N, Shaik VA, Ardekani AM. Hydrodynamic interaction enhances colonization of sinking nutrient sources by motile microorganisms[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 289
- [15] Molaei M, Barry M, Stocker R, Sheng J. Failed escape: solid surfaces prevent tumbling of *Escherichia coli*[J]. Physical Review Letters, 2014, 113(6): 068103
- [16] Li GL, Tam LK, Tang JX. Amplified effect of Brownian motion in bacterial near-surface swimming[J]. PNAS, 2008, 105(47): 18355-18359
- [17] Stocker R. Reverse and flick: hybrid locomotion in bacteria[J]. PNAS, 2011, 108(7): 2635-2636
- [18] Darnton NC, Turner L, Rojevsky S, Berg HC. On torque and tumbling in swimming *Escherichia coli*[J]. Journal of Bacteriology, 2007, 189(5): 1756-1764
- [19] Armitage JP, Macnab RM. Unidirectional, intermittent rotation of the flagellum of *Rhodobacter sphaeroides*[J]. Journal of Bacteriology, 1987, 169(2): 514-518
- [20] Xie L, Altindal T, Chattopadhyay S, Wu XL. Bacterial flagellum as a propeller and as a rudder for efficient chemotaxis[J]. PNAS, 2011, 108(6): 2246-2251
- [21] Tran QD, Galiana E, Thomen P, Cohen C, Orange F, Peruani F, Noblin X. Cooperation of two opposite flagella allows high-speed swimming and active turning in zoospores[J]. bioRxiv, 2021, 04(23): 441092
- [22] Yu YX, Elliott M, Chowdhury I, Flury M. Transport mechanisms of motile and nonmotile *Phytophthora cactorum* zoospores in unsaturated porous media[J]. Water Resources Research, 2021, 57(2): e2020WR028249
- [23] 朱晓艳, 沈重阳, 陈国炜, 张伟, 李保国, 王钢. 土壤细菌趋化性研究进展[J]. 土壤学报, 2019, 56(2): 259-275  
Zhu XY, Shen CY, Chen GW, Zhang W, Li BG, Wang G. Advancement in research on bacterial chemotaxis in soil[J]. Acta Pedologica Sinica, 2019, 56(2): 259-275 (in Chinese)
- [24] Zheng S, Bawazir M, Dhall A, Kim HE, He L, Heo J, Hwang G. Implication of surface properties, bacterial motility, and hydrodynamic conditions on bacterial surface sensing and their initial adhesion[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2021, 9: 643722
- [25] Gordon VD, Wang LY. Bacterial mechanosensing: the force will be with you, always[J]. Journal of Cell Science, 2019, 132(7): jcs227694
- [26] Lauga E, DiLuzio WR, Whitesides GM, Stone HA. Swimming in circles: motion of bacteria near solid boundaries[J]. Biophysical Journal, 2006, 90(2): 400-412
- [27] Ping LY. Cell orientation of swimming bacteria: from theoretical simulation to experimental evaluation[J]. Science China Life Sciences, 2012, 55(3): 202-209
- [28] Vigeant MAS, Ford RM, Wagner M, Tamm LK. Reversible and irreversible adhesion of motile *Escherichia coli* cells analyzed by total internal reflection aqueous fluorescence microscopy[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(6): 2794-2801
- [29] Gutman J, Walker SL, Freger V, Herzberg M. Bacterial attachment and viscoelasticity: physicochemical and motility effects analyzed using quartz crystal microbalance with dissipation (QCM-D)[J]. Environmental Science and Technology, 2013, 47(1): 398-404
- [30] 韩苗, 朱晓艳, 陈国炜, 万小铭, 王钢. 解钾菌及其释钾微观机制的研究进展[J]. 土壤学报, 2022, 59(2): 334-348  
Han M, Zhu XY, Chen GW, Wan XM, Wang G. Advances on potassium-solubilizing bacteria and their microscopic potassium solubilizing mechanisms[J]. Acta Pedologica Sinica, 2022, 59(2): 334-348 (in Chinese)
- [31] Conrad JC. Physics of bacterial near-surface motility using flagella and type IV pili: implications for biofilm formation[J]. Research in Microbiology, 2012, 163(9-10): 619-629
- [32] Hill J, Kalkanci O, McMurry JL, Koser H. Hydrodynamic surface interactions enable *Escherichia coli* to seek

- efficient routes to swim upstream[J]. *Physical Review Letters*, 2007, 98(6): 068101
- [33] Ruan C, Ramoneda J, Chen G, Johnson DR, Wang G. Evaporation-induced hydrodynamics promote conjugation-mediated plasmid transfer in microbial populations[J]. *ISME Communications*, 2021, 1: 54
- [34] Nellimoottil TT, Rao PN, Ghosh SS, Chattopadhyay A. Evaporation-induced patterns from droplets containing motile and nonmotile bacteria[J]. *Langmuir: the ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 2007, 23(17): 8655-8658
- [35] Chen GX, Hong Y, Walker SL. Colloidal and bacterial deposition: role of gravity[J]. *Langmuir*, 2010, 26(1): 314-319
- [36] McCarter LL. Polar flagellar motility of the *Vibrionaceae*[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2001, 65(3): 445-462
- [37] Muok AR, Claessen D, Briegel A. Microbial hitchhiking: how *Streptomyces* spores are transported by motile soil bacteria[J]. *The ISME Journal*, 2021, 15(9): 2591-2600
- [38] 王光华, 刘俊杰, 朱冬, 叶茂, 朱永官. 土壤病毒的研究进展与挑战[J]. *土壤学报*, 2020, 57(6): 1319-1332  
Wang GH, Liu JJ, Zhu D, Ye M, Zhu YG. A review of researches on viruses in soil—advancement and challenges[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2020, 57(6): 1319-1332 (in Chinese)
- [39] You X, Kallies R, Kühn I, Schmidt M, Harms H, Chatzinotas A, Wick LY. Phage co-transport with hyphal-riding bacteria fuels bacterial invasion in a water-unsaturated microbial model system[J]. *The ISME Journal*, 2022, 16(5): 1275-1283
- [40] Ma JW, Sun YK, Gleichauf K, Lou J, Li QL. Nanostructure on taro leaves resists fouling by colloids and bacteria under submerged conditions[J]. *Langmuir: the ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 2011, 27(16): 10035-10040
- [41] Ben-Jacob E, Shmueli H, Shochet O, Tenenbaum A. Adaptive self-organization during growth of bacterial colonies[J]. *Physica A: Statistical Mechanics and Its Applications*, 1992, 187(3/4): 378-424
- [42] Rohani P, Lewis TJ, Grünbaum D, Ruxton GD. Spatial self-organisation in ecology: pretty patterns or robust reality?[J]. *Trends in Ecology and Evolution*, 1997, 12(2): 70-74
- [43] Ben-Jacob E. Bacterial self-organization: co-enhancement of complexification and adaptability in a dynamic environment[J]. *Philosophical Transactions Series A, Mathematical, Physical, and Engineering Sciences*, 2003, 361(1807): 1283-1312
- [44] Solé RV, Bascompte J. *Self-organization in Complex Ecosystems*[M]. Princeton, New Jersey: Princeton University Press, 2006
- [45] Lion S, Van Baalen M. Self-structuring in spatial evolutionary ecology[J]. *Ecology Letters*, 2008, 11(3): 277-295
- [46] Rietkerk M, Van De Koppel J. Regular pattern formation in real ecosystems[J]. *Trends in Ecology and Evolution*, 2008, 23(3): 169-175
- [47] Kim HJ, Boedicker JQ, Choi JW, Ismagilov RF. Defined spatial structure stabilizes a synthetic multispecies bacterial community[J]. *PNAS*, 2008, 105(47): 18188-18193
- [48] Nadell CD, Xavier JB, Foster KR. The sociobiology of biofilms[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2009, 33(1): 206-224
- [49] Brenner K, Arnold FH. Self-organization, layered structure, and aggregation enhance persistence of a synthetic biofilm consortium[J]. *PLoS One*, 2011, 6(2): e16791
- [50] Bernstein HC, Paulson SD, Carlson RP. Synthetic *Escherichia coli* consortia engineered for syntrophy demonstrate enhanced biomass productivity[J]. *Journal of Biotechnology*, 2012, 157(1): 159-166
- [51] Drescher K, Nadell CD, Stone HA, Wingreen NS, Bassler BL. Solutions to the public goods dilemma in bacterial biofilms[J]. *Current Biology*, 2014, 24(1): 50-55
- [52] Røder HL, Sørensen SJ, Burmølle M. Studying bacterial multispecies biofilms: where to start?[J]. *Trends in Microbiology*, 2016, 24(6): 503-513
- [53] Vega NM, Gore J. Collective antibiotic resistance: mechanisms and implications[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2014, 21: 28-34
- [54] Estrela S, Brown SP. Community interactions and spatial structure shape selection on antibiotic resistant lineages[J]. *PLoS Computational Biology*, 2018, 14(6): e1006179
- [55] Frost I, Smith WPJ, Mitri S, Millan AS, Davit Y, Osborne JM, Pitt-Francis JM, MacLean RC, Foster KR. Cooperation, competition and antibiotic resistance in bacterial colonies[J]. *The ISME Journal*, 2018, 12(6): 1582-1593
- [56] Hallatschek O, Nelson DR. Life at the front of an expanding population[J]. *Evolution*, 2010, 64(1): 193-206
- [57] Goldschmidt F, Regoes RR, Johnson DR. Successive



- range expansion promotes diversity and accelerates evolution in spatially structured microbial populations[J]. *The ISME Journal*, 2017, 11(9): 2112-2123
- [58] Xavier JB, Martinez-Garcia E, Foster KR. Social evolution of spatial patterns in bacterial biofilms: when conflict drives disorder[J]. *The American Naturalist*, 2009, 174(1): 1-12
- [59] Madsen JS, Burmølle M, Hansen LH, Sørensen SJ. The interconnection between biofilm formation and horizontal gene transfer[J]. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2012, 65(2): 183-195
- [60] Gralka M, Hallatschek O. Environmental heterogeneity can tip the population genetics of range expansions[J]. *eLife*, 2019, 8: e44359
- [61] Gralka M, Stiewe F, Farrell F, Möbius W, Waclaw B, Hallatschek O. Allele surfing promotes microbial adaptation from standing variation[J]. *Ecology Letters*, 2016, 19(8): 889-898
- [62] Elias S, Banin E. Multi-species biofilms: living with friendly neighbors[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2012, 36(5): 990-1004
- [63] Excoffier L, Foll M, Petit RJ. Genetic consequences of range expansions[J]. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2009, 40: 481-501
- [64] Cavalli-Sforza LL, Menozzi P, Piazza A. Demic expansions and human evolution[J]. *Science*, 1993, 259(5095): 639-646
- [65] Connell JH, Slatyer RO. Mechanisms of succession in natural communities and their role in community stability and organization[J]. *The American Naturalist*, 1977, 111(982): 1119-1144
- [66] Rickard AH, Gilbert P, High NJ, Kolenbrander PE, Handley PS. Bacterial coaggregation: an integral process in the development of multi-species biofilms[J]. *Trends in Microbiology*, 2003, 11(2): 94-100
- [67] Kolenbrander PE, Palmer RJ, Periasamy S, Jakubovics NS. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, 8(7): 471-480
- [68] Fierer N, Nemergut D, Knight R, Craine JM. Changes through time: integrating microorganisms into the study of succession[J]. *Research in Microbiology*, 2010, 161(8): 635-642
- [69] Hallatschek O, Hersen P, Ramanathan S, Nelson DR. Genetic drift at expanding frontiers promotes gene segregation[J]. *PNAS*, 2007, 104(50): 19926-19930
- [70] Gandhi SR, Korolev KS, Gore J. Cooperation mitigates diversity loss in a spatially expanding microbial population[J]. *PNAS*, 2019, 116(47): 23582-23587
- [71] Van Saarloos W. Front propagation into unstable states[J]. *Physics Reports*, 2003, 386(2-6): 29-222
- [72] Wang MH, Kot M. Speeds of invasion in a model with strong or weak Allee effects[J]. *Mathematical Biosciences*, 2001, 171(1): 83-97
- [73] Lewis MA, Kareiva P. Allee dynamics and the spread of invading organisms[J]. *Theoretical Population Biology*, 1993, 43(2): 141-158
- [74] Lewis MA, Petrovskii SV, Potts JR. *The Mathematics Behind Biological Invasions*[M]. Cham: Springer International Publishing, 2016
- [75] Roques L, Garnier J, Hamel F, Klein EK. Allee effect promotes diversity in traveling waves of colonization[J]. *PNAS*, 2012, 109(23): 8828-8833
- [76] Garnier J, Giletti T, Hamel F, Roques L. Inside dynamics of pulled and pushed fronts[J]. *Journal de Mathématiques Pures et Appliquées*, 2012, 98(4): 428-449
- [77] Müller MJ, Neugeboren BI, Nelson DR, Murray AW. Genetic drift opposes mutualism during spatial population expansion[J]. *PNAS*, 2014, 111(3): 1037-1042
- [78] Williams JL, Hufbauer RA, Miller TEX. How evolution modifies the variability of range expansion[J]. *Trends in Ecology and Evolution*, 2019, 34(10): 903-913
- [79] Mitri S, Clarke E, Foster KR. Resource limitation drives spatial organization in microbial groups[J]. *The ISME Journal*, 2016, 10(6): 1471-1482
- [80] Klopstein S, Currat M, Excoffier L. The fate of mutations surfing on the wave of a range expansion[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2005, 23(3): 482-490
- [81] Peischl S, Dupanloup I, Kirkpatrick M, Excoffier L. On the accumulation of deleterious mutations during range expansions[J]. *Molecular Ecology*, 2013, 22(24): 5972-5982
- [82] Edmonds CA, Lillie AS, Cavalli-Sforza LL. Mutations arising in the wave front of an expanding population[J]. *PNAS*, 2004, 101(4): 975-979
- [83] Lilja EE, Johnson DR. Segregating metabolic processes into different microbial cells accelerates the consumption of inhibitory substrates[J]. *The ISME Journal*, 2016, 10(7): 1568-1578
- [84] Nowak MA, Sigmund K. Evolutionary dynamics of biological games[J]. *Science*, 2004, 303(5659): 793-799
- [85] Nadell CD, Foster KR. Mutually helping microbes can evolve by hitchhiking[J]. *PNAS*, 2012, 109(47): 19037-19038

- [86] Dietrich LEP, Okegbe C, Price-Whelan A, Sakhtah H, Hunter RC, Newman DK. Bacterial community morphogenesis is intimately linked to the intracellular redox state[J]. *Journal of Bacteriology*, 2013, 195(7): 1371-1380
- [87] Peters AC, Wimpenny JW, Coombs JP. Oxygen profiles in, and in the agar beneath, colonies of *Bacillus cereus*, *Staphylococcus albus* and *Escherichia coli*[J]. *Journal of General Microbiology*, 1987, 133(5): 1257-1263
- [88] Ratzke C, Gore J. Modifying and reacting to the environmental pH can drive bacterial interactions[J]. *PLoS Biology*, 2018, 16(3): e2004248
- [89] Vylkova S. Environmental pH modulation by pathogenic fungi as a strategy to conquer the host[J]. *PLoS Pathogens*, 2017, 13(2): e1006149
- [90] Momeni B, Brileya KA, Fields MW, Shou WY. Strong inter-population cooperation leads to partner intermixing in microbial communities[J]. *eLife*, 2013, 2: e00230
- [91] Rainey PB, Buckling A, Kassen R, Travisano M. The emergence and maintenance of diversity: insights from experimental bacterial populations[J]. *Trends in Ecology and Evolution*, 2000, 15(6): 243-247
- [92] Goldschmidt F, Caduff L, Johnson DR. Causes and consequences of pattern diversification in a spatially self-organizing microbial community[J]. *The ISME Journal*, 2021, 15(8): 2415-2426
- [93] Pfeiffer T, Bonhoeffer S. Evolution of cross-feeding in microbial populations[J]. *The American Naturalist*, 2004, 163(6): E126-E135
- [94] Morris JJ, Lenski RE, Zinser ER. The Black Queen Hypothesis: evolution of dependencies through adaptive gene loss[J]. *mBio*, 2012, 3(2): e00036-12
- [95] Stephens K, Bentley WE. Synthetic biology for manipulating quorum sensing in microbial consortia[J]. *Trends in Microbiology*, 2020, 28(8): 633-643
- [96] Sperandio V, Torres AG, Jarvis B, Nataro JP, Kaper JB. Bacteria-host communication: the language of hormones[J]. *PNAS*, 2003, 100(15): 8951-8956
- [97] Miller MB, Bassler BL. Quorum sensing in bacteria[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2001, 55: 165-199
- [98] Kim MK, Drescher K, Pak OS, Bassler BL, Stone HA. Filaments in curved streamlines: rapid formation of *Staphylococcus aureus* biofilm streamers[J]. *New Journal of Physics*, 2014, 16(6): 065024
- [99] Little AEF, Robinson CJ, Peterson SB, Raffa KF, Handelsman J. Rules of engagement: interspecies interactions that regulate microbial communities[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2008, 62: 375-401
- [100] Konopka A. What is microbial community ecology?[J]. *The ISME Journal*, 2009, 3(11): 1223-1230
- [101] Phelan VV, Liu WT, Pogliano K, Dorrestein PC. Microbial metabolic exchange—the chemotype-to-phenotype link[J]. *Nature Chemical Biology*, 2012, 8(1): 26-35
- [102] Weber MG, Wagner CE, Best RJ, Harmon LJ, Matthews B. Evolution in a community context: on integrating ecological interactions and macroevolution[J]. *Trends in Ecology and Evolution*, 2017, 32(4): 291-304
- [103] Johnson MTJ, Stinchcombe JR. An emerging synthesis between community ecology and evolutionary biology[J]. *Trends in Ecology and Evolution*, 2007, 22(5): 250-257
- [104] Celiker H, Gore J. Clustering in community structure across replicate ecosystems following a long-term bacterial evolution experiment[J]. *Nature Communications*, 2014, 5: 4643
- [105] Turcotte MM, Corrin MSC, Johnson MTJ. Adaptive evolution in ecological communities[J]. *PLoS Biology*, 2012, 10(5): e1001332
- [106] Burton OJ, Travis JMJ. Landscape structure and boundary effects determine the fate of mutations occurring during range expansions[J]. *Heredity*, 2008, 101(4): 329-340
- [107] Wang G, Or D. Trophic interactions induce spatial self-organization of microbial consortia on rough surfaces[J]. *Scientific Reports*, 2014, 4: 6757
- [108] Möbius W, Murray AW, Nelson DR. How obstacles perturb population fronts and alter their genetic structure[J]. *PLoS Computational Biology*, 2015, 11(12): e1004615
- [109] Beller DA, Alards KMJ, Tesser F, Mosna RA, Toschi F, Möbius W. Evolution of populations expanding on curved surfaces[J]. *EPL: Europhysics Letters*, 2018, 123(5): 58005
- [110] Borer B, Tecon R, Or D. Spatial organization of bacterial populations in response to oxygen and carbon counter-gradients in pore networks[J]. *Nature Communications*, 2018, 9: 769
- [111] Wang G, Or D. Hydration dynamics promote bacterial coexistence on rough surfaces[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(2): 395-404
- [112] Ciccacese D, Zuidema A, Merlo V, Johnson DR. Interaction-dependent effects of surface structure on microbial spatial self-organization[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 2020, 375(1798): 20190246
- [113] Wang G, Or D. Aqueous films limit bacterial cell

- motility and colony expansion on partially saturated rough surfaces[J]. *Environmental Microbiology*, 2010, 12(5): 1363-1373
- [114] Dechesne A, Wang G, Gülez G, Or D, Smets BF. Hydration-controlled bacterial motility and dispersal on surfaces[J]. *PNAS*, 2010, 107(32): 14369-14372
- [115] Wang G, Or D. A hydration-based biophysical index for the onset of soil microbial coexistence[J]. *Scientific Reports*, 2012, 2: 881
- [116] Liu WZ, Russel J, Røder HL, Madsen JS, Burmølle M, Sørensen SJ. Low-abundant species facilitates specific spatial organization that promotes multispecies biofilm formation[J]. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(7): 2893-2905
- [117] Booth SC, Rice SA. Influence of interspecies interactions on the spatial organization of dual species bacterial communities[J]. *Biofilm*, 2020, 2: 100035
- [118] Zhang B, Yu PF, Wang ZJ, Alvarez PJJ. Hormetic promotion of biofilm growth by polyvalent bacteriophages at low concentrations[J]. *Environmental Science and Technology*, 2020, 54(19): 12358-12365
- [119] Simmons M, Drescher K, Nadell CD, Bucci V. Phage mobility is a core determinant of phage-bacteria coexistence in biofilms[J]. *The ISME Journal*, 2018, 12(2): 531-543
- [120] Townsley L, Shank EA. Natural-product antibiotics: cues for modulating bacterial biofilm formation[J]. *Trends in Microbiology*, 2017, 25(12): 1016-1026
- [121] Chan BK, Abedon ST. Bacteriophages and their enzymes in biofilm control[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2015, 21(1): 85-99
- [122] Gutiérrez D, Martínez B, Rodríguez A, García P. Genomic characterization of two *Staphylococcus epidermidis* bacteriophages with anti-biofilm potential[J]. *BMC Genomics*, 2012, 13: 228
- [123] Parasion S, Kwiatek M, Gryko R, Mizak L, Malm A. Bacteriophages as an alternative strategy for fighting biofilm development[J]. *Polish Journal of Microbiology*, 2014, 63(2): 137-145
- [124] McDougald D, Rice SA, Barraud N, Steinberg PD, Kjelleberg S. Should we stay or should we go: mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2012, 10(1): 39-50
- [125] Hansen MF, Svenningsen SL, Røder HL, Middelboe M, Burmølle M. Big impact of the tiny: bacteriophage-bacteria interactions in biofilms[J]. *Trends in Microbiology*, 2019, 27(9): 739-752
- [126] Hosseinidoust Z, Tufenkji N, Van De Ven TGM. Formation of biofilms under phage predation: considerations concerning a biofilm increase[J]. *Biofouling*, 2013, 29(4): 457-468
- [127] Simmons EL, Bond MC, Koskella B, Drescher K, Bucci V, Nadell CD. Biofilm structure promotes coexistence of phage-resistant and phage-susceptible bacteria[J]. *mSystems*, 2020, 5(3): e00877-e00819
- [128] Dolinšek J, Goldschmidt F, Johnson DR. Synthetic microbial ecology and the dynamic interplay between microbial genotypes[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2016, 40(6): 961-979
- [129] Tilman D. Competition and biodiversity in spatially structured habitats[J]. *Ecology*, 1994, 75(1): 2-16
- [130] Lawrence JR, Swerhone GDW, Kuhlicke U, Neu TR. *In situ* evidence for microdomains in the polymer matrix of bacterial microcolonies[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2007, 53(3): 450-458
- [131] Madsen JS, Lin YC, Squyres GR, Price-Whelan A, De Santiago Torio A, Song A, Cornell WC, Sørensen SJ, Xavier JB, Dietrich LEP. Facultative control of matrix production optimizes competitive fitness in *Pseudomonas aeruginosa* PA14 biofilm models[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(24): 8414-8426
- [132] Rainey PB, Travisano M. Adaptive radiation in a heterogeneous environment[J]. *Nature*, 1998, 394(6688): 69-72
- [133] Palmer RJ Jr, Kazmierzak K, Hansen MC, Kolenbrander PE. Mutualism versus independence: strategies of mixed-species oral biofilms *in vitro* using saliva as the sole nutrient source[J]. *Infection and Immunity*, 2001, 69(9): 5794-5804
- [134] Doebeli M, Knowlton N. The evolution of interspecific mutualisms[J]. *PNAS*, 1998, 95(15): 8676-8680
- [135] Foster KR, Wenseleers T. A general model for the evolution of mutualisms[J]. *Journal of Evolutionary Biology*, 2006, 19(4): 1283-1293
- [136] Visca P, Imperi F, Lamont IL. Pyoverdine siderophores: from biogenesis to biosignificance[J]. *Trends in Microbiology*, 2007, 15(1): 22-30
- [137] Cordero OX, Ventouras LA, DeLong EF, Polz MF. Public good dynamics drive evolution of iron acquisition strategies in natural bacterioplankton populations[J]. *PNAS*, 2012, 109(49): 20059-20064
- [138] Mitri S, Xavier JB, Foster KR. Social evolution in multispecies biofilms[J]. *PNAS*, 2011, 108(suppl\_2): 10839-10846

- [139] Estrela S, Brown SP. Metabolic and demographic feedbacks shape the emergent spatial structure and function of microbial communities[J]. *PLoS Computational Biology*, 2013, 9(12): e1003398
- [140] Momeni B, Waite AJ, Shou WY. Spatial self-organization favors heterotypic cooperation over cheating[J]. *eLife*, 2013, 2: e00960
- [141] Morris BEL, Henneberger R, Huber H, Moissl-Eichinger C. Microbial syntrophy: interaction for the common good[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2013, 37(3): 384-406
- [142] Callaghan AV, Morris BEL, Pereira IAC, McInerney MJ, Austin RN, Groves JT, Kukor JJ, Suflita JM, Young LY, Zylstra GJ, et al. The genome sequence of *Desulfatibacillum alkenivorans* AK-01: a blueprint for anaerobic alkane oxidation[J]. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(1): 101-113
- [143] Bernhard S. Synergistic interactions in the microbial world[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2002, 81(1/4): 257-261
- [144] Basan M, Hui S, Okano H, Zhang Z, Shen Y, Williamson JR, Hwa T. Overflow metabolism in *Escherichia coli* results from efficient proteome allocation[J]. *Nature*, 2015, 528(7580): 99-104
- [145] Nadell CD, Drescher K, Foster KR. Spatial structure, cooperation and competition in biofilms[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14(9): 589-600
- [146] Canfield DE, Des Marais DJ. Biogeochemical cycles of carbon, sulfur, and free oxygen in a microbial mat[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1993, 57(16): 3971-3984
- [147] Mary B, Recous S, Darwis D, Robin D. Interactions between decomposition of plant residues and nitrogen cycling in soil[J]. *Plant and Soil*, 1996, 181(1): 71-82
- [148] Canfield DE, Stewart FJ, Thamdrup B, De Brabandere L, Dalsgaard T, Delong EF, Revsbech NP, Ulloa O. A cryptic sulfur cycle in oxygen-minimum-zone waters off the Chilean coast[J]. *Science*, 2010, 330(6009): 1375-1378
- [149] Pringle CM. Effects of water and substratum nutrient supplies on lotic periphyton growth: an integrated bioassay[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1987, 44(3): 619-629
- [150] Naeem S, Duffy JE, Zavaleta E. The functions of biological diversity in an age of extinction[J]. *Science*, 2012, 336(6087): 1401-1406
- [151] Loreau M, Naeem S, Inchausti P, Bengtsson J, Grime JP, Hector A, Hooper DU, Huston MA, Raffaelli D, Schmid B, et al. Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges[J]. *Science*, 2001, 294(5543): 804-808
- [152] Haack TK, McFeters GA. Nutritional relationships among microorganisms in an epilithic biofilm community[J]. *Microbial Ecology*, 1982, 8(2): 115-126
- [153] Battin TJ, Kaplan LA, Newbold JD, Cheng XH, Hansen C. Effects of current velocity on the nascent architecture of stream microbial biofilms[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(9): 5443-5452
- [154] Ylla I, Borrego C, Romani AM, Sabater S. Availability of glucose and light modulates the structure and function of a microbial biofilm[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 69(1): 27-42
- [155] Hao X, Van Loosdrecht M, Heijnen J, Qian Y. Model-based evaluation of kinetic, biofilm and process parameters in a one-reactor ammonium removal (CANON) process[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2002, 77(3): 266-277
- [156] Van Horn DJ, Sinsabaugh RL, Takacs-Vesbach CD, Mitchell KR, Dahm CN. Response of heterotrophic stream biofilm-communities to a gradient of resources[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2011, 64(2): 149-161
- [157] Findlay SEG, Sinsabaugh RL, Sobczak WV, Hoostal M. Metabolic and structural response of hyporheic microbial communities to variations in supply of dissolved organic matter[J]. *Limnology and Oceanography*, 2003, 48(4): 1608-1617
- [158] Arnold BJ, Huang IT, Hanage WP. Horizontal gene transfer and adaptive evolution in bacteria[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2022, 20(4): 206-218
- [159] Hausner M, Wuertz S. High rates of conjugation in bacterial biofilms as determined by quantitative *in situ* analysis[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(8): 3710-3713
- [160] Sørensen SJ, Bailey M, Hansen LH, Kroer N, Wuertz S. Studying plasmid horizontal transfer *in situ*: a critical review[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3(9): 700-710
- [161] Burmølle M, Thomsen TR, Fazli M, Dige I, Christensen L, Homøe P, Tvede M, Nyvad B, Tolker-Nielsen T, Givskov M, et al. Biofilms in chronic infections—a matter of opportunity-monospecies biofilms in multispecies infections[J]. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2010, 59(3): 324-336
- [162] Liu WZ, Røder HL, Madsen JS, Bjarnsholt T, Sørensen SJ, Burmølle M. Interspecific bacterial interactions are reflected in multispecies biofilm spatial organization[J].

- Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1366
- [163] Ghigo JM. Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development[J]. Nature, 2001, 412(6845): 442-445
- [164] May T, Okabe S. *Escherichia coli* harboring a natural IncF conjugative F plasmid develops complex mature biofilms by stimulating synthesis of colanic acid and curli[J]. Journal of Bacteriology, 2008, 190(22): 7479-7490
- [165] Whitchurch CB, Tolker-Nielsen T, Ragas PC, Mattick JS. Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation[J]. Science, 2002, 295(5559): 1487
- [166] Molin S, Tolker-Nielsen T. Gene transfer occurs with enhanced efficiency in biofilms and induces enhanced stabilisation of the biofilm structure[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2003, 14(3): 255-261
- [167] West SA, Diggle SP, Buckling A, Gardner A, Griffin AS. The social lives of microbes[J]. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 2007, 38: 53-77
- [168] Harcombe W. Novel cooperation experimentally evolved between species[J]. Evolution; International Journal of Organic Evolution, 2010, 64(7): 2166-2172
- [169] Smith J. The social evolution of bacterial pathogenesis[J]. Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences, 2001, 268(1462): 61-69
- [170] Madsen JS, Burmølle M, Sørensen SJ. A spatiotemporal view of plasmid loss in biofilms and planktonic cultures[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2014, 111(6): 1272
- [171] Pamp SJ, Gjermansen M, Johansen HK, Tolker-Nielsen T. Tolerance to the antimicrobial peptide colistin in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms is linked to metabolically active cells, and depends on the *pmr* and *mexAB-oprM* genes[J]. Molecular Microbiology, 2008, 68(1): 223-240
- [172] Moralez J, Szenkiel K, Hamilton K, Pruden A, Lopatkin AJ. Quantitative analysis of horizontal gene transfer in complex systems[J]. Current Opinion in Microbiology, 2021, 62: 103-109
- [173] Reisner A, Höller BM, Molin S, Zechner EL. Synergistic effects in mixed *Escherichia coli* biofilms: conjugative plasmid transfer drives biofilm expansion[J]. Journal of Bacteriology, 2006, 188(10): 3582-3588