

杜邦,胡清源,谷正,等.营养条件对给水管网细菌运动和附着行为胁迫的动力学模拟[J].华中农业大学学报,2020,39(2):56-62.

DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2020.02.008

# 营养条件对给水管网细菌运动和附着行为胁迫的动力学模拟

杜邦,胡清源,谷正,单蓉蓉,刘丽

合肥工业大学土木与水利工程学院,合肥 230009

**摘要** 为揭示外界环境中营养物质对细菌运动和附着行为特征的影响,以给水管网中常见的铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)野生株(WT PAO1)和变异株(无运动能力,PAO1  $\Delta$ fliC)为研究对象,采用基于个体的数学模型方法,使用 MATLAB 平台模拟微尺度下营养条件胁迫与细菌初期表面附着、个体运动、生长的定量关系,研究其在不同营养环境中的附着与运动行为。结果表明:营养条件显著影响着环境中细菌的运动速度和附着量( $P < 0.05$ );贫营养条件下(1/50 LB 环境),野生株铜绿假单胞菌的运动速度加快,其表面附着量和附着率提高。在各营养条件下,野生株细菌的附着量和附着率明显高于变异株细菌,验证了运动功能对其表面附着的重要性。通过数学模型建立营养条件与细菌生长繁殖、运动速度的定量关系,揭示给水管网中营养条件调控着细菌和细菌、细菌和表面的碰撞频率以及细菌附着行为。

**关键词** 给水管网;细菌运动;细菌附着和聚集;动力学模拟;生物膜;铜绿假单胞菌;营养条件

**中图分类号** Q 935 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2020)02-0056-07

在日常生活和工业生产中,生物膜的存在会形成潜在的安全隐患<sup>[1]</sup>。生物膜常见于地表水、市政给水管、污水生物处理设备、医疗器械表面以及人体肠道<sup>[2]</sup>。例如,在常见的给水系统中,细菌由于自身结构和生理特性,能够附着在管材表面并隐匿于自身分泌的胞外聚合物中,而某些致病菌形成生物膜之后,对居民的用水安全也造成了安全隐患<sup>[3]</sup>。微生物初期附着和生物膜形成是一个复杂的动态变化过程,是微生物自身和环境之间交互作用的结果<sup>[1]</sup>。对微生物初期附着机制的探究是生物膜形成机制研究的重要一环,然而,目前人们对这一过程的了解仍较为匮乏。

在外界环境胁迫下,细菌感受到外界信号的变化时会迅速做出应激反应。当细菌自身拥有运动能力时,可以通过鞭毛结构的运动改变自身的位置,寻求更为合适的生存环境,因而营养环境能够调控着细菌的运动行为。在给水管网系统中,贫营养环境虽然不利于细菌生长繁殖,但细菌仍具有附着、生存以及形成结构稳定的生物膜的能力<sup>[4]</sup>。迄今,外界的营养物质对微生物附着和集聚行为的研究多关注

于生物膜成熟阶段<sup>[5]</sup>,环境条件对生物膜形成和脱落至关重要。生物膜中复杂多细胞结构的形成被认为是在有限营养转移条件下生长的结果<sup>[6]</sup>。Amsler 等<sup>[7]</sup>研究表明,当处于营养贫乏的环境中时,细菌会通过提高运动速度的手段以最大限度获取外界营养。环境的胁迫作用尤其是外界营养的供应会影响细菌的生物膜形成过程,影响细菌之间相互碰撞粘附的几率,影响体系中的电荷分布。然而,目前在微观条件下外界的营养条件对初期细菌附着和生物膜形成的相关研究较少<sup>[8]</sup>。本研究以给水管网中常见的铜绿假单胞菌为对象,通过研究营养条件胁迫下细菌的运动行为和附着的关系,并构建微观环境条件与细菌繁殖、运动和碰撞的动力学模型,解析细菌附着和聚集的形成机制,以期对细菌生长和调控机制的解析提供理论指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1) 试验材料和培养环境。本研究所使用的菌种 *Pseudomonas aeruginosa* 野生株 PAO1 (WT

收稿日期: 2019-06-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(51479046)

杜邦,硕士研究生,研究方向:生物膜形成机制与调控, E-mail: dupont33@sina.com

通信作者: 刘丽,博士,教授,研究方向:给排水管网安全理论与技术, E-mail: lliu@hfut.edu.cn

PAO1,运动型)和 PAO1  $\Delta fliC$ (敲除鞭毛相关基因  $fliC$  的铜绿假单胞菌,非运动型)来源于中国科学院微生物研究所。菌种使用 LB 培养基(20 g/L,北京奥博星)在 37 °C 的恒温培养箱中震荡培养至对数期(16~18 h)<sup>[9-10]</sup>,通过离心(4 375 r/min,15 min)收集细菌,并将其在磷酸盐缓冲溶液(0.54 g/L  $Na_2HPO_4$ ,0.88 g/L  $KH_2PO_4$ ,pH 6.98)中再悬浮,得到细菌悬浮液<sup>[11]</sup>。细菌的培养环境使用 LB 培养基(1/1LB)为充足营养条件,并稀释相应倍数,0.8 g/L(1/25 LB)、0.4 g/L(1/50 LB、贫营养条件)<sup>[12-13]</sup>,0.2 g/L(1/100 LB)以及 0.9% 的 NaCl 溶液(生理盐水、无营养条件)。

2)仪器。SK-O180-E 水平摇床(大龙,北京);LX-B50 高温灭菌锅(华泰,合肥);Eppendorf 离心机(5810R,德国);DNP-9162 电热恒温培养箱(名宸,合肥);Lambda 25/35/45 分光光度计(PE,美国);SW-CJ-1FD 超净工作台(一恒,上海);BT2KXL 冷冻干燥机(VirTis,美国);IX73 研究级倒置式显微镜(奥林巴斯,日本);LSM710 激光共聚焦显微镜(Zeiss,德国);毛细玻璃管(Corning,美国);Zeta 电位仪(Nano-ZS90,Malvern)。

3)主要试剂。LB 培养基(奥博星,北京);CDF 缓冲溶液( $Na_2HPO_4$  0.54 g/L、 $KH_2PO_4$  0.88 g/L、分析纯,国药集团,上海);SYTO 63(20  $\mu$ mol/L Invitrogen,Thermo Fisher Scientific)。

## 1.2 细菌培养

在每个烧杯中分别平放 3 片给水管网中常见的管材聚乙烯(polyethylene,PE)载片,尺寸为 30 mm×10 mm×2 mm,将 1 mL 细菌母液加入不同浓度的营养物质中培养,WT PAO1 与 PAO1  $\Delta fliC$  各有 5 种营养环境,以 LB 培养基(20 g/L)作为营养来源,稀释 25 倍、50 倍、100 倍,并设置生理盐水实验组作为参照。实验所需试剂及装置在开始前经过  $1.0 \times 10^5$  Pa 灭菌 15 min<sup>[14]</sup>。取菌悬液( $D_{600} = 0.50 \pm 0.02$ )1 mL 加入烧杯,均匀混合。培养 20 min 后取溶液样品及载片,进行悬浮细菌测定和附着细菌测定,每个实验重复 3 次。

## 1.3 细菌运动观察与分析

使用扁平毛细玻璃管(宽×高=0.30 mm×0.03 mm,壁厚 0.025 mm)从反应装置中抽取样品,在显微镜的摄像功能下进行观察并录像。视频的处理和数据提取使用 ImageJ 图像处理软件(v1.8.0,https://imagej.nih.gov/ij/index.html)及插件,对细菌运

动轨迹进行路径标记与描点,生成运动型细菌的运动轨迹,以此统计分析细菌运动的线速度( $\mu$ m/s)。

## 1.4 生物膜细胞的重新悬浮

用生理盐水(0.9%)小心冲洗载片样品,冲刷载片表面附着不紧密的细菌<sup>[15]</sup>,随后将载片样品转移到装有 5.0 mL CDF 缓冲溶液中,持续超声 2 min(47 kHz)<sup>[16]</sup>,得到生物膜细胞悬浮液。

## 1.5 附着细菌生物量的测定

将载片上的生物膜,使用 SYTO 63 染液进行染色后冷干处理<sup>[17]</sup>。使用激光共聚焦显微镜观察并统计各载片上的附着细菌量(以体积计),在显微镜的 20×物镜下进行暗场观察,使用 Lambda-Z-stack 组件对样品中的生物膜进行逐层扫描,20×物镜下视野区域为 425.12  $\mu$ m×425.12  $\mu$ m。

## 1.6 Zeta 电位的测定

使用 Zeta 电位仪(Nano-ZS90,Malvern)对环境中的菌液进行 Zeta 电位的测定。每次测定 3 个平行样。

## 1.7 细菌初期附着动力学模型的建立

本研究构建一个二维的物理化学生物模型,从微观层面上将营养基质的消耗过程与细菌个体的运动、生长、聚集和表面附着行为相结合,构建营养条件胁迫下细菌初期表面附着与个体运动生长的定量关系。本研究设定模拟的二维区域为 10 mm×10 mm,且假定水中营养基质均匀分布。

1)营养基质消耗模型。营养基质的消耗  $r$  可用生物量增长来估算,由 Michaelis-Menten 方程<sup>[18]</sup>获得:

$$r = r_{\max} \frac{C_s}{K_m + C_s} b \quad (1)$$

式(1)中, $C_s$ 为限制生长的基质质量浓度,fg/fL; $r_{\max}$ 为最高底物吸收率( $r_{\max} = \mu_{\max}/Y_{\max}$ ); $Y_{\max}$ 为最大营养产量系数; $\mu_{\max}$ 为最大增长速率, $\text{min}^{-1}$ ;  $b$ 为细胞干质量(细菌质量浓度),fg/fL; $K_m$ 为基质半饱和系数,fg/fL。

2)细菌生长、运动、聚集和表面附着模拟模型。采用基于个体的数学模型,耦合单个细菌的生长、运动、聚集和表面附着的过程来模拟细菌的个体行为和附着过程。假设营养基质的消耗速率和细胞的维持速率与细胞干质量成比例,则细胞质量的净增长可表示为<sup>[18]</sup>:

$$\frac{db}{dt} = r Y_{\max} - m Y_{\max} b = \frac{\mu_{\max} C_s}{K_m + C_s} b - m Y_{\max} b \quad (2)$$

因此,比增长速率为

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_s}{K_m + C_s} - m Y_{\max} \quad (3)$$

式(2)中  $m$  表示细菌维持速率,  $g_{\text{有机碳}} / (g_{\text{细胞干质量}} \cdot \text{min})$ 。

在不同阶段的细菌体积可由 Donachie 模型描述<sup>[19]</sup>:

$$V_{B,d} = \frac{2}{1.433} \bar{V}_B \quad (4)$$

$$V_{B,\min} = \frac{1}{5} V_{B,d} \quad (5)$$

$V_{B,d}$  表示细菌分裂时的临界体积, fL;  $\bar{V}_B$  表示活细胞平均体积, fL;  $V_{B,\min}$  表示临界最小体积, fL。

细胞体积  $> V_{B,d}$  时, 认为其分裂出 1 个新细胞; 细胞体积  $< V_{B,\min}$  时, 认为其死亡。

本研究认为细菌的随机运动遵循布朗运动。假设细菌沿着  $x$  或  $y$  轴的运动速度  $v$  与营养物质浓度成反比, 可表达为  $v = b - a \times C_s$ , 其中  $a$  和  $b$  为常数(经验值,  $a = 1.5, b = 17.1$ ),  $C_s$  表示所给定的基质浓度<sup>[20]</sup>。

根据文献[21], 当细菌之间的距离小于所给定的极限值, 认为它们会碰撞结合形成聚集体。当细菌个体与边界的距离小于所给定极限值时, 即认为该细菌附着到边界表面。

## 2 结果与分析

### 2.1 营养条件对细菌附着的影响

图 1 为 2 种细菌使用激光共聚焦显微镜拍摄的生物膜三维形态, 将视野中生物膜的体积进行处理, 作为细菌的附着量。图 2 为不同营养条件下, 2 种试验菌的附着细菌量(以体积表示)。首先, WT PAO1 的细菌附着量显著高于 PAO1  $\Delta fliC$  ( $P < 0.01$ ), 其平均附着量是 PAO1  $\Delta fliC$  的 4.86 倍。当营养液浓度从 0 上升至 1/50 LB 时, WT PAO1 细菌的附着量从  $(1.60 \pm 0.33) \times 10^6 \mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$  上升至  $(1.96 \pm 0.07) \times 10^6 \mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ ; 当营养浓度进一步上升至 1/1 LB 时, 附着量下降至  $(1.51 \pm 0.22) \times 10^6 \mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ 。同样细菌的附着率也呈现类似的规律, 这说明适度限制环境中的营养物质有利于细菌的附着。而 PAO1  $\Delta fliC$  的附着量整体较低, 且营养物质浓度对其附着量无显著影响 ( $P > 0.05$ )。结果表明, 在初期的附着过程中, 有运动能力可以促进细菌的附着行为, 野生株细菌的附着量与附着率较高, 并且, 贫营养条件能够促进细菌的早期附着。

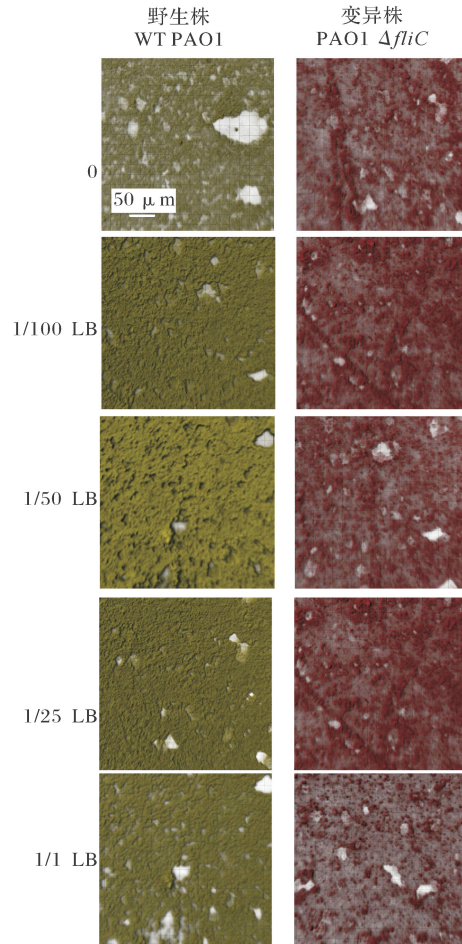


图 1 不同营养条件下生物膜的形态  
(野生株, 黄色; 变异株, 红色)

Fig.1 The biofilm structure at different nutrient condition by CLSM (WT PAO1: Yellow;  $\Delta fliC$ : Red)

### 2.2 营养条件对细菌运动行为的影响

图 3 为不同营养条件下 WT PAO1 的平均运动速度。在无营养物质的环境中, 细菌的平均运动速度为  $(32.64 \pm 6.34) \mu\text{m/s}$ ; 随着营养物质浓度上升, 在 1/50 LB 中, 运动速度出现最大值, 为  $(45.67 \pm 6.19) \mu\text{m/s}$ , 而在营养充足环境(1/1 LB)中, 下降至  $(28.28 \pm 5.13) \mu\text{m/s}$ 。而运动细菌所占比例却没有较大的波动, 即初始营养物质浓度对运动细菌所占比例没有明显的影响。当环境中的营养物质增加时, 细菌的平均运动速度先增加后减小, 这与运动细菌的附着量趋势类似, 二者的相关性较显著 (Pearson test,  $P = 0.04, r = 0.75$ )。结果表明在早期附着阶段, 细菌运动能力增强, 可以促进细菌之间的碰撞, 并提高其附着行为, 而贫营养条件可以提高细菌的运动速度。

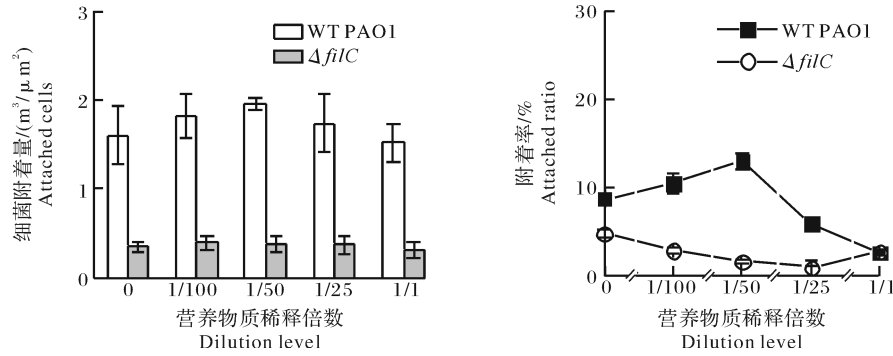


图 2 不同营养浓度下细菌的附着量与附着率

Fig.2 The counts of attached cell and attached ratio at different nutrient condition

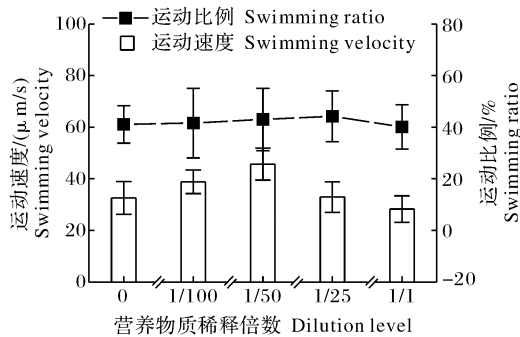


图 3 不同营养环境中细菌的运动速度和运动细菌所占的比例

Fig.3 The swimming velocity and swimming ratio of the bacteria at different nutrient condition

### 2.3 营养条件对 Zeta 电位的影响

图 4 为不同环境中菌液的 Zeta 电位,当环境中的营养物质增加时,WT PAO1 菌液的 Zeta 电位从  $(-20.56 \pm 2.67)$  mV(生理盐水)降为  $(-28.23 \pm 1.43)$  mV(1/50 LB),随着反应器中营养物质浓度上升,Zeta 电位增加到  $(-10.53 \pm 0.31)$  mV(1/1 LB);PAO1  $\Delta fliC$  菌液的 Zeta 电位变化情况呈现与 WT PAO1 相似的结果,当环境中的营养物质由匮乏上升至充足时,溶液中的 Zeta 电位先降低后回升,并在 1/50 LB 环境中达到最低值;此外,2 种细菌菌液的 Zeta 电位没有显著差异( $P > 0.05$ )。经验证,溶液的 Zeta 电位与附着 WT PAO1 细菌量呈现较强的负相关关系(Pearson test,  $P = 0.066, r = -0.851$ ),而 PAO1  $\Delta fliC$  和溶液中 Zeta 电位无显著相关性(Pearson test,  $P = 0.75, r = -0.20$ )。外界环境的胁迫作用对于细菌的附着行为扮演重要角色,这种早期胁迫对于有运动能力的细菌更显著,根据 DLVO 理论<sup>[22]</sup>,当环境中的 Zeta 电位升高时,细

菌聚集的难度加大,不利于细菌附着到固体材料表面。在 1/50 LB 的营养环境中,测得的 Zeta 电位值最低,说明细菌在贫营养环境中携带的电荷量最多,这有利于细菌在无电荷的 PE 材料表面进行附着。

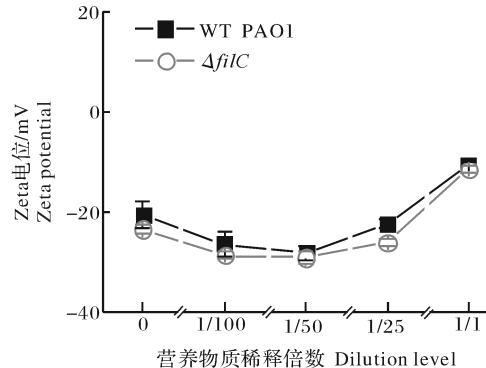


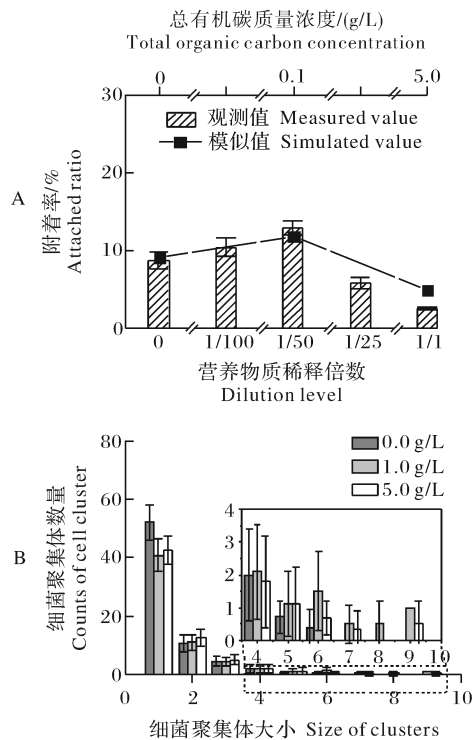
图 4 不同营养物质浓度下的 Zeta 电位

Fig.4 The Zeta potential at different nutrient condition

### 2.4 不同营养条件下细菌初期附着的模拟结果

为验证和解析实验结果,本研究将营养基质的消耗过程与细菌个体的运动、生长、聚集和表面附着行为相结合,采用基于个体的数学模型方法,从微尺度上构建细菌初期表面附着与营养条件胁迫下个体行为的定量关系。图 5 为营养基质质量浓度分别为 0、0.1 g/L 和 5.0 g/L(1/1 LB 中总有机碳含量)的条件下,20 min 后细菌表面附着的模拟结果(10 次随机模拟)。结果显示,模拟结果与实验结果具有一致的变化趋势。如图 5A 所示,基质质量浓度在 0.1 g/L 时最有利于细菌的附着和聚集,附着率为  $5.90\% \pm 0.08\%$ ;在基质质量浓度为 5.0 g/L 时,附着率为  $4.61\% \pm 0.11\%$ ,而当基质质量浓度为 0 时,其附着率最小,仅为  $2.50\% \pm 0.07\%$ 。模拟结果与实验结果趋势相同,说明在环境中的营养胁迫条件下,贫营养环境能促进细菌的附着行为。

为解析细菌运动引起相互碰撞、聚集体形成和表面附着过程,图 5B 描述了不同营养条件下细菌聚集体大小分布情况。在营养基质质量浓度为 0、1.0 和 5.0 g/L 的条件下,经过 20 min,游离细菌(聚集体大小为 1 时)的数量分别为 52、41 和 43,而随着聚集体的尺寸增大,1.0 g/L 环境中聚集体所包含的细菌数量最多。经计算,每个聚集体的平均细菌数分别为 1.01、1.16 和 1.07 个。聚集体的模拟结果说明,基质质量浓度为 1.0 g/L(贫营养条件)时最有利于细菌个体间的相互碰撞,从而促进细菌个体的聚集和表面附着。



A: 模拟附着率; B: 模拟聚集体的细菌数。A: Attaching ratio; B: Counts of cell clusters.

图 5 不同营养条件下细菌附着模拟结果

Fig.5 Simulating results of at different nutrient concentration

### 3 讨论

本试验以给水管网中常见的铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)为研究对象,解析其附着行为,从 WT PAO1 与 PAO1  $\Delta fliC$  之间的对比及营养条件对细菌数量的影响等方面进行研究,探究运动性在细菌初期附着过程中发挥的作用,结果表明:在初期附着阶段,细菌的运动速度显著影响细菌的附着过程<sup>[23]</sup>。对于 WT PAO1,贫营养条件会提高其运动

性,进而促进其表面附着。Jimenez-Sanchez 等<sup>[24]</sup>研究表明,藻酸盐等物质对细菌的表面特性不会产生显著影响,但影响微生物的运动行为与运动方式。Ahmed 等<sup>[25]</sup>研究证实,好氧菌在消耗水中的溶解氧后,自身的运动性会受到明显抑制。细菌的趋化性表现在趋向于向氧气或者营养充足的环境,避开不利的生存环境,并以此指导鞭毛运动<sup>[26]</sup>。

在本研究中,WT PAO1 细菌的运动速度和附着量呈正相关关系。Lemon 等<sup>[27]</sup>发现 *Listeria monocytogenes* 的鞭毛可以切换自身的运动方式,以便于初期在固体介质表面附着以及形成生物膜。Kogure 等<sup>[28]</sup>研究发现,*Vibrio alginolyticus* 在固体表面上附着时拥有更快的聚集速度与形成生物膜的速度,这种高趋化性依赖于其高运动速度与转向频率。Merritt 等<sup>[29]</sup>研究表明,具有鞭毛结构的细菌获得了更多与固体材料表面碰撞的机会,这更有利于细菌找到合适的附着位点,在本研究中,对于没有运动能力的细菌 PAO1  $\Delta fliC$ ,其初期附着量均小于 WT PAO1。显然,对 PAO1  $\Delta fliC$  而言,其运动能力由 *fliC* 基因调控,与营养条件无关,而降低环境中有机物的浓度而致使其附着量减少,可能是营养的匮乏对细菌生长产生了不利影响,进而影响其表面附着行为。本研究构建了的细菌运动与聚集的数学模型,其模拟结果表明:营养物质浓度会对细菌的附着率产生显著影响,并影响细菌和细菌之间以及细菌与固体表面的碰撞频率;营养贫乏的环境中细菌之间更易于碰撞形成更大尺寸的细胞聚集体。

在环境压力胁迫时,细菌会切换自身的运动方式,改变运动速度,同时也会产生其他生物特性的反馈,如表面电荷、胞外聚合物的分泌情况、群体感应、控制信号因子等,这些都在调控细菌的附着行为中扮演重要角色。在贫营养条件下,细菌之间碰撞机率的降低就是由于溶液 Zeta 电位的升高。此外,相关研究<sup>[30-31]</sup>表明,细菌在培养过程中能够持续产生低浓度的信号,随着种群密度的增加,信号在环境中逐渐累加至阈值浓度时,信号会主动与受体蛋白发生反应,并使群体中产生相应的协调变化。综上,营养条件胁迫可以调节细菌的运动行为,进而对其附着与聚集产生影响,并调控着细菌之间、细菌与固体表面的碰撞频率。

致谢:感谢中国科学院微生物研究所马旅雁教授提供实验菌种!

## 参考文献 References

- [1] FLEMMING H C, WINGENDER J. The biofilm matrix[J]. Nature reviews microbiology, 2010, 8(9): 623-633.
- [2] GARRETT T R, ZHANG Z. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces[J]. Progress in natural science, 2008, 18(9): 1049-1056.
- [3] 陈雨乔, 段晓笛, 陆晶晶, 等. 给水管网中耐氯性细菌的灭活特性研究[J]. 环境科学, 2012, 33(1): 104-109. CHEN Y Q, DUAN X D, LU P P, et al. Inactivation of the chlorine-resistant bacteria isolated from the drinking water distribution system [J]. Chinese journal of environmental science, 2012, 33(1): 104-109 (in Chinese with English abstract).
- [4] 成敏玲, 刘陈飞, 程丹逸, 等. 春夏季节东湖不同富营养化区域水体细菌群落的动态变化[J]. 华中农业大学学报, 2017, 36(5): 52-59. CHENG M L, LIU C F, CHENG D Y, et al. Dynamic changes of bacterial community in two eutrophic areas of Donghu Lake in spring and summer[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2017, 36(5): 52-59 (in Chinese with English abstract).
- [5] ELBESHISHY E, HAFEZ H, DHAR B R, et al. Single and combined effect of various pretreatment methods for biohydrogen production from food waste[J]. International journal of hydrogen energy, 2011, 36(17): 11379-11387.
- [6] 周石磊, 黄廷林, 张海涵, 等. 贫营养好氧反硝化菌群的筛选及源水脱氮特性[J]. 环境工程学报, 2016, 10(6): 2955-2961. ZHOU S L, HUANG T L, ZHANG H H, et al. Isolation of oligotrophic aerobic denitrifiers and its characteristics of nitrogen removal in source water[J]. Chinese journal of environmental engineering, 2016, 10(6): 2955-2961 (in Chinese with English abstract).
- [7] AMSLER C D, CHO M, MATSUMURA P. Multiple factors underlying the maximum motility of *Escherichia coli* as cultures enter post-exponential growth[J]. Journal of bacteriology, 1993, 175(19): 6238-6244.
- [8] 胡清源. 给水管网中细菌初期附着对环境胁迫的响应研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2017. HU Q Y. Early-stage bacterial surface attachment in response to environmental stresses in drinking water distribution systems[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2017 (in Chinese with English abstract).
- [9] 朱艳蕾. 细菌生长曲线测定实验方法的研究[J]. 微生物学杂志, 2016, 36(5): 108-112. ZHU Y L. Experimental method of bacterial growth curve determination[J]. Journal of microbiology, 2016, 36(5): 108-112 (in Chinese with English abstract).
- [10] 董庆利, 姚远, 赵勇, 等. 铜绿假单胞菌的温度、pH值和乳酸钠主参数模型构建[J]. 农业机械学报, 2014, 45(1): 197-202. DONG Q L, YAO Y, ZHAO Y, et al. Modelling establishment of the cardinal parameters model as a function of temperature, pH value and sodium lactate for *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Transactions of the Chinese society for agricultural machinery, 2014, 45(1): 197-202 (in Chinese with English abstract).
- [11] JIMENEZSANCHEZ C, WICK L Y, ORTEGACALVO J J. Chemical effectors cause different motile behavior and deposition of bacteria in porous media[J]. Environmental science & technology, 2012, 46(12): 6790-6797.
- [12] PUREVDORJ B, COSTERTON J W. Influence of hydrodynamics and cell signaling on the structure and behavior of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms[J]. Applied and environmental microbiology, 2002, 68(9): 4457-4464.
- [13] DELILLE A, QUILES F, HUMBERT F. *In Situ* monitoring of the nascent *Pseudomonas fluorescens* biofilm response to variations in the dissolved organic carbon level in low-nutrient water by attenuated total reflectance-fourier transform infrared spectroscopy[J]. Applied and environmental microbiology, 2007, 73(18): 5782-5788.
- [14] 沈萍, 陈向东. 微生物学实验[M]. 4版. 北京: 高等教育出版社, 2007. SHEN P, CHEN X D. Microbiology experiment[M]. Beijing: Higher Education Press, 2007 (in Chinese).
- [15] ROCHEX A, LEBEAULT J M. Effects of nutrients on biofilm formation and detachment of a *Pseudomonas putida* strain isolated from a paper machine[J]. Water research, 2007, 41(13): 2885-2892.
- [16] ILHANSUNGUR E, COTUK A. Microbial corrosion of galvanized steel in a simulated recirculating cooling tower system [J]. Corrosion science, 2010, 52(1): 161-171.
- [17] FISH K E, COLLINS R, GREEN N H, et al. Characterisation of the physical composition and microbial community structure of biofilms within a model full-scale drinking water distribution system[J]. PLoS One, 2015, 10(2): 3209-3212.
- [18] KREFT J, BOOTH G, WIMPENNY J. BacSim, a simulator for individual-based modelling of bacterial colony growth[J]. Microbiology, 1998, 144(12): 3275-3287.
- [19] MOYANO F, MANZONI S, CHENU C, et al. Responses of soil heterotrophic respiration to moisture availability: an exploration of processes and models[J]. Soil biology & biochemistry, 2013, 72: 85.
- [20] BERG H C, PURCELL E M. Physics of chemoreception[J]. Biophysical journal, 1977, 20(2): 193-219.
- [21] LIU L, LIU Y, LU Q, et al. Assessing comprehensive performance of biofilm formation and water quality in drinking water distribution systems[J]. Water science & technology: water supply, 2016, 17(1): 267-278.
- [22] MALTE H. The DLVO theory in microbial adhesion [J]. Colloids and surfaces B: biointerfaces, 1999, 14(1/2/3/4): 105-119.
- [23] WACKETT L P. Microbial stress responses[J]. Environmental microbiology, 2010, 12(5): 1374-1375.
- [24] JIMENEZSANCHEZ C, WICK L Y, ORTEGACALVO J. Chemical effectors cause different motile behavior and deposition of bacteria in porous media[J]. Environmental science & technology, 2012, 46(12): 6790-6797.
- [25] AHMED T, SHIMIZU T S, STOCKER R, et al. Microfluidics for bacterial chemotaxis[J]. Integrative biology, 2010, 11/12:

- 604-629.
- [26] STOCKER R. Marine microbes see a sea of gradients[J]. Science, 2012, 338(6107): 628-633.
- [27] LEMON K P, HIGGINS D E, KOLTER R. Flagellar motility is critical for listeria monocytogenes biofilm formation[J]. Journal of bacteriology, 2007, 189(12): 4418-4424.
- [28] KOGURE K, IKEMOTO E, MORISAKI H. Attachment of *Vibrio alginolyticus* to glass surfaces is dependent on swimming speed[J]. Journal of bacteriology, 1998, 180(4): 932-937.
- [29] MERRITT P M, DANHORN T, FUQUA C. Motility and chemotaxis in *Agrobacterium tumefaciens* surface attachment and biofilm formation[J]. Journal of bacteriology, 2007, 189(22): 8005-8014.
- [30] CARNIOL K, GILMORE M S. Signal transduction, quorum-sensing, and extracellular protease activity in enterococcus faecalis biofilm formation[J]. Journal of bacteriology, 2004, 186(24): 8161-8163.
- [31] 李蒙英, 陆鹏, 张迹, 等. 生物膜中群体感应因子细菌的分离及成膜能力[J]. 中国环境科学, 2007, 27(2): 194-198. LI M Y, LU P, ZHANG J, et al. Isolation and biofilm forming capacity of quorum sensing factor bacterium[J]. China environmental science, 2007, 27(2): 194-198(in Chinese with English abstract).

## Kinetic simulation of nutrient conditions on bacterial motility and surface attachment in drinking water distribution system

DU Bang, HU Qingyuan, GU Zheng, SHAN Rongrong, LIU Li

School of Civil Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China

**Abstract** To explore the effects of nutritional conditions on bacterial motility and surface attachment, *Pseudomonas aeruginosa* WT PAO1 and PAO1  $\Delta fliC$  (non-motile mutant) as a model bacterium was used to study cell motility and attachment under various nutrient conditions in drinking water distribution system. To interpret the experimental results, a model was proposed by linking initial surface attachment with cell motility and growth at small scales via individual-based modeling via MATLAB platform. Results showed that nutritional conditions shaped significantly bacterial motility and surface attachment. Nutritional limitation stimulated bacterial motility and thus favored surface attachment for motile cells. In contrast, reducing nutrient concentrations yielded a decline of surface attachment for non-motile cells. Under various nutritional conditions, attached cells and ratios of WT PAO1 cells were significantly higher than those of PAO1  $\Delta fliC$ , validating the crucial role of cell motility on surface attachment. The quantitative analysis of bacterial growth, motility and interactions with nutritional conditions would be beneficial for predicting nutritional conditions-mediated cell-cell and cell-surface collisions. It will provide mechanistic understanding of bacterial aggregation and attachment process.

**Keywords** drinking water distribution system; bacterial motility; bacterial attachment and aggregation; kinetic simulation; biofilm; *Pseudomonas aeruginosa*; nutrient condition

(责任编辑: 张志钰)