

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2025.12.007

植物激素 IAA 和维生素 B₁₂ 对小球衣藻聚集和生长的影响

汪 鏖¹, 陈国炜¹, 贾 伟^{1,2}, 吴雪菲¹, 刘 丽¹

(1. 合肥工业大学 土木与水利工程学院, 安徽 合肥 230009; 2. 合肥市市政设计研究总院有限公司, 安徽 合肥 230041)

摘要: 为了有效培养和收集微藻, 文章以小球衣藻(*Chlamydomonas microspiraera*)为研究对象, 研究生物收集法中植物生长激素吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)和维生素 B₁₂ 对于微藻生长与聚集的影响。结果表明: IAA 和 B₁₂ 对于微藻的聚集均有促进效果, 且 IAA 和 B₁₂ 质量浓度越高, 促进效果越好, 但是会抑制微藻的生长, 此外, 微藻在菌藻体系中的聚集率优于纯藻体系, 但是微藻细胞数量却低于纯藻体系; 在 IAA 初始质量浓度为 0.1 mg/L、菌藻细胞数量比为 3:1 的菌藻共培养体系中有最大微藻聚集率 39%。该研究可为有效培养和收集微藻提供一定理论基础和参数依据。

关键词: 小球衣藻; 菌藻体系; 微藻生物量; 微藻聚集率

中图分类号: X172 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-5060(2025)12-1621-08

Effects of plant hormone IAA and vitamin B₁₂ on growth and aggregation of *Chlamydomonas microspiraera*

WANG Ke¹, CHEN Guowei¹, JIA Wei^{1,2}, WU Xuefei¹, LIU Li¹

(1. School of Civil and Hydraulic Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China; 2. Hefei Municipal Design and Research Institute Co., Ltd., Hefei 230041, China)

Abstract: In order to effectively cultivate and collect microalgae, this paper focused on *Chlamydomonas microspiraera* and studied the effects of plant growth hormone indole-3-acetic acid (IAA) and vitamin B₁₂ on microalgae growth and aggregation in biological collection methods. The results showed that both IAA and B₁₂ had a promoting effect on the aggregation of microalgae, and the higher the concentration of IAA and B₁₂, the better the promoting effect, but it would inhibit the growth of microalgae. In addition, it was found that the aggregation rate of microalgae in the bacterial-algal system was higher than that in the pure algal system, but the biomass was lower than that in the pure algal system. In a bacterial-algal co-culture system with an initial IAA concentration of 0.1 mg/L and a ratio of bacteria to algae of 3:1, the maximum microalgae aggregation rate was 39%. This study provides a theoretical basis and parameter reference for the effective cultivation and collection of microalgae.

Key words: *Chlamydomonas microspiraera*; bacterial-algal system; microalgae biomass; microalgae aggregation rate

微藻是一种新型潜在能源和多用途物质, 不仅能作为生物质燃料使用, 还能够参与废水治理、

制氢, 转化成乙醇或者沼气等^[1-2]。当前, 能源短缺问题日益严重^[3], 微藻的开发和利用受到研究

收稿日期: 2023-07-11; 修回日期: 2023-09-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(42277298)

作者简介: 汪 鏖(1999—), 男, 安徽黄山人, 合肥工业大学硕士生;

陈国炜(1976—), 女, 安徽无为, 博士, 合肥工业大学副教授, 硕士生导师, 通信作者, E-mail: gwchen@hfut.edu.cn;

刘 丽(1972—), 女, 安徽寿县人, 博士, 合肥工业大学教授, 硕士生导师。

人员重视,其培养与收集问题也成为研究热点之一^[4-6]。在收集方面,相较于高成本的物理收集技术^[7]和有一定污染的化学絮凝技术^[8],经济环保的生物收集技术更有发展前景^[9]。

对于微藻的培养,有研究表明,相较于纯藻培养,藻类和细菌联合培养可以降低微藻的收集成本^[10]。实际上,自然界也不存在无菌条件下的微藻生长体系,在微藻生长过程中,微藻和细菌以各种方式相互作用^[11-12],两者之间存在着复杂的关系,如竞争、互利共生、共栖和寄生等^[13-14]。微藻可以利用细菌产生的群体感应信号分子、维生素和载体等,增强其生物活性、提高对污染物的消除能力以及对环境胁迫的耐受性,形成互利共生的关系^[15-16]。例如,通常微藻自身无法分泌植物生长激素吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)和维生素 B₁₂,但可以获取外界细菌分泌的 IAA 和 B₁₂,同时给予细菌生存所需营养物质^[17]。其中, B₁₂仅由原核生物合成^[18],作为辅酶因子在细胞内发挥重要作用^[19]; IAA 作为植物激素中的生长素,不仅可以调控植物的生长和发育,还可以增强植物对于重金属、强渗透、盐胁迫等压力的耐受性^[20-21]。

微藻的生长需求一般为光照、碳源、氮、磷等大量营养元素和一些微量元素^[22],目前的研究大多集中在碳源、氮、磷等影响因子上^[23],关于微量元素对微藻培养影响的研究较少,而关于植物激素 IAA 和维生素 B₁₂ 2 种重要微量元素对于微藻培养和收集的影响,相关研究很少。本文以小球衣藻(*Chlamydomonas microspheara*)为研究对象,探求 IAA 和 B₁₂对微藻生长与聚集的影响,通过分析不同条件下微藻生长和聚集的情况,为微藻这种新型潜在能源和多功能资源的培养与收集提供一定的理论基础。

1 实验材料与方法

1.1 实验藻种

实验所用微藻为小球衣藻(*Chlamydomonas microspheara*),编号 FACHB-52,购自中国科学院野生生物种质库淡水藻种库(中国武汉)。小球衣藻培养于 BDP-250 二氧化碳人工气候培养箱(上海百典仪器设备有限公司)中,设置培养箱温度为(25±1)℃,光照强度为 2 000 lx,每日光照时间为 12 h,接种后瓶口用已灭好菌的透气膜进行封口处理。微藻培养时每天定时摇动 2~3 次,使得藻细胞充分吸收利用培养基中的营养物质。小球衣藻的接种与培养均采用液体培养法,培养

基采用 SE 培养基。

1.2 实验菌种

实验所用细菌取自合肥工业大学市政工程序批式活性污泥法反应器(sequencing batch reactor activated sludge process, SBR)中正在曝气阶段的活性污泥。取出 1 mL 活性污泥混合液,接种到规格为 500 mL 的内装有 250 mL 灭菌 LB 肉汤的锥形瓶中,37℃恒温培养 16 h 后,从中取 2 份上清液各 30 mL 分别放入 50 mL 的离心管中,在 Centrifuge 5804 高速离心机(德国 Eppendorf 公司)中以 5 500g 离心 10 min 后,弃去上清液,然后用培养液(121.43 mg/L NaNO₃, 18 mg/L KH₂PO₄, 90 mg/L MgSO₄·7H₂O, 14 mg/L CaCl₂·2H₂O, 1.25 mL/L 微量元素溶液 A, 1.25 mL/L 微量元素溶液 B)将每个离心管的底物溶解定容到 30 mL,重复上述操作 2 次后,各取 1 mL 分别稀释 500 倍、1 250 倍和 2 500 倍,用测细胞活死的方法测试提取细菌的数量^[24]。

1.3 实验设置

为考察 IAA 和 B₁₂对菌藻体系中微藻生长和聚集的影响,设置实验组和对照组。

1) 实验组(初始菌藻细胞数量比为 3:1)(菌藻体系)。首先准备 8 个体积为 500 mL 的玻璃锥形瓶,分别向其中加入 350 mL 生长已经到达对数生长期的微藻(6.2×10⁵个/mL)和 0.25 mL 污泥细菌(8.5×10⁸个/mL),保证初始的菌藻细胞数量比(下文简称“菌藻比”)为 3:1, IAA 实验组和 B₁₂实验组各用 4 个锥形瓶;然后分别配置 100 mg/L 的 IAA 和 B₁₂。取 3 个锥形瓶,分别向其中加入 IAA,使其初始 IAA 质量浓度分别为 0.001、0.01、0.1 mg/L,另外 1 个锥形瓶为不添加 IAA 实验组;同样地,再取 3 个锥形瓶,分别向其中加入 B₁₂,使其初始质量浓度分别为 0.001、0.01、0.1 mg/L,另外 1 个锥形瓶为不添加 B₁₂实验组。在光照培养箱中培养观察,光照培养箱条件与微藻培养条件一致。

2) 对照组 1(纯藻体系),与实验组相比,除初始无细菌外,其余条件与实验组相同;对照组 2(纯菌体系),与实验组相比,除初始无微藻外,其余条件与实验组相同。

1.4 分析方法

1.4.1 微藻聚集率的测定

从反应器中取 50 μL 样品于载玻片上,置于 BA410 生物显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司)下观察拍摄,采用 Motic Images Plus 2.0 软件对微

藻图像进行采集拍摄,并随机摄取 15 个视野进行图像分析,图像中 2 个及 2 个以上聚集在一起的微藻即判定为聚集体^[25],聚集率计算公式为:

$$C = \frac{A}{B} \times 100\% \quad (1)$$

其中:A 为视野中聚集的藻细胞数;B 为视野中藻细胞总数;C 为微藻聚集率。

1.4.2 SEM 观察

采用 SUPRA 40 场发射扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)(德国 Zeiss 公司)观察微藻聚集体表面和内部结构。吸取适量微藻样品置于 5 mm×5 mm 硅片(苏州工业园区艾思科技有限公司)上,放入冰箱在 -4 °C 下冷冻 4 h,然后放入 BT2KXL 真空冷冻干燥机(美国 VirTis 公司)冷干 8 h,冷干结束按如下步骤进行样品预处理,即固定—冲洗—脱水—置换—干燥—固定和喷金,最后将处理好的样品置于 SEM 下观察分析^[26]。

1.4.3 微藻细胞数的测定

摇匀锥形瓶中样品后,取 4 mL 样品放入 5 mL 离心管中,在 8 000 r/min 下离心 10 min,然后弃去上清液,将剩余物重新悬浮在 4 mL 的 90% 丙酮溶液(中国医药集团有限公司)中,放入冰箱在 4 °C 下避光保存 24 h,再以 5 500g 离心 10 min,将上清液收集后采用紫外分光光度法测定 630、645、663、750 nm 波长下的光密度(optical density, OD),以 90% 丙酮溶液作为空白对照,计算叶绿素 a 的质量浓度 ρ ,公式^[27]为:

$$\rho = [11.64(OD_{663} - OD_{750}) - 2.16(OD_{645} - OD_{750}) + 0.10(OD_{630} - OD_{750})]V \quad (2)$$

其中:V 为提取体积;OD 为 λ 波长处的光密度。

得到叶绿素 a 的质量浓度后,再通过标准曲线将叶绿素 a 的质量浓度换算成微藻的细胞数。每组样品设置 3 个平行样,以便减小实验误差。

1.4.4 EPS 的提取与分析

采用改进的胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)提取方法分析菌藻 EPS 成分。从锥形瓶中取 4 mL 样品放入 5 mL 的离心管中,先以 5 500g 离心 5 min 后,去除上清液,加入 4 mL 超纯水,然后 80 °C 水浴加热 1 h,取出样品,再以 5 500g 离心 5 min 后,将上清液通过 0.22 μ m 滤膜过滤,备测蛋白质和多糖^[22]。多糖的测定采用硫酸-蒽酮法,在 620 nm 波长下使用 UV-2600 紫外分光光度计(尤尼柯(上海)仪器有

限公司)测其吸光度^[28-29]。蛋白质测定采用 Lowry 法,在 750 nm 波长下测蛋白质的质量浓度^[30]。每组样品设置 3 个平行样,以便减小实验误差。多糖和蛋白质的质量浓度计算公式如下。

$$y_1 = 147.78x_1 + 0.7452 \quad (3)$$

其中: y_1 为 EPS 多糖的质量浓度; x_1 为样品通过处理后在 620 nm 波长下测得的吸光度。

$$y_2 = 71.672x_2 - 0.3317 \quad (4)$$

其中: y_2 为 EPS 蛋白质的质量浓度; x_2 为样品通过处理后在 750 nm 波长下测得的吸光度。

1.4.5 细菌数量的测定

细菌计数通过 FS4005-40T 活细菌/死细菌双染试剂盒(上海复申生物科技有限公司)来测定。具体操作过程为:取 3 μ L 的碘化丙啶(propidium iodide, PI)染液和 3 μ L 的 SYTO 9 加入 5 mL 的样品中,在室内避光染色 30 min,将染色后的样品通过直径为 25 mm、孔径为 0.22 μ m 的黑色聚碳酸酯膜,在 IX73+DP 荧光显微镜(日本 Olympus 公司)下进行观察和拍照,在 200 倍下对同一样品随机拍摄 10 张照片,采用 Motic Images Plus 2.0 软件对照片进行处理,统计细菌数^[24]。

2 实验结果与分析

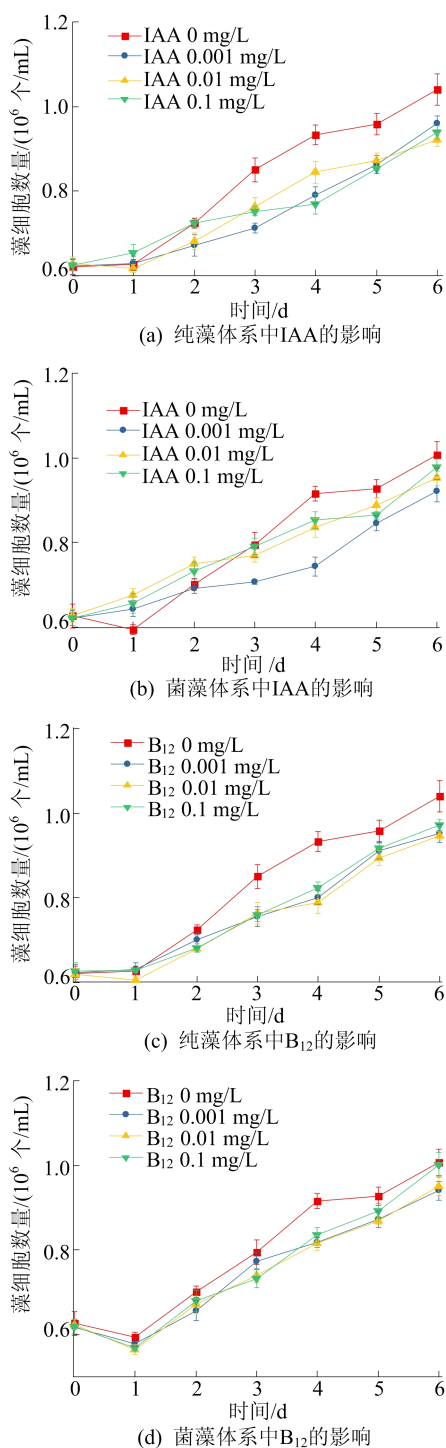
2.1 微藻生长和细菌生长情况分析

2.1.1 微藻生长情况分析

不同初始质量浓度 IAA 或 B₁₂ 影响下微藻的生长情况如图 1 所示。0 d 表示体系处于初始状态。

从图 1a 可以看出,纯藻体系中,在 1 d 不添加 IAA 组中微藻细胞数量处于较低水平,但是在 1~3 d,该组微藻细胞数量骤增,并在 3 d 与另外 3 个对照组有较大差距,此时该组微藻生物量达到 0.850×10^6 个/mL,稍低于此细胞数量的组只有 0.763×10^6 个/mL,在 3~6 d,差距一直存在,6 d 各组微藻细胞数量达到峰值,与 IAA 初始质量浓度从高到低相对应分别是 0.939×10^6 、 0.921×10^6 、 0.961×10^6 、 1.040×10^6 个/mL。

从图 1b 可以看出,菌藻比 3:1 的菌藻体系中,在 1 d 不添加 IAA 组中微藻细胞数量明显少于添加 IAA 的 3 个实验组,并在 1~4 d 中骤增,在 4 d 显著高于其他 3 组,此时与 IAA 初始质量浓度从高到低相对应,各组微藻细胞数量分别是 0.853×10^6 、 0.835×10^6 、 0.743×10^6 、 0.916×10^6 个/mL,但是后续 3~6 d,不添加 IAA 组与添加 IAA 组的微藻细胞数量差距缩小,在 6 d 4 个实验组的微藻细胞数量均达到峰值。

图 1 不同质量浓度 IAA 或 B₁₂ 影响下微藻的生长情况

由图 1c 可知,纯藻体系中,在 0、1 d,不添加 B₁₂ 组与添加 B₁₂ 组的微藻细胞数量没有明显差距,从 2 d 开始,添加 B₁₂ 组微藻细胞数量开始显著低于不添加 B₁₂ 组,并在 4 d 有最大差值,此时与 B₁₂ 初始质量浓度从低到高相对应,各组微藻细胞数量依次为 0.933×10^6 、 0.801×10^6 、 0.789×10^6 、 0.823×10^6 个/mL,随时间延长,各组均在 6 d 达到峰值。

由图 1d 可知,在菌藻体系中,不添加 B₁₂ 组的微藻细胞数量全程高于添加 B₁₂ 组,并在 4 d 有最大差值,此时与 B₁₂ 初始质量浓度从低到高相对应,各组微藻细胞数量依次为 0.916×10^6 、 0.818×10^6 、 0.816×10^6 、 0.836×10^6 个/mL,随时间延长,各组均在 6 d 达到峰值。

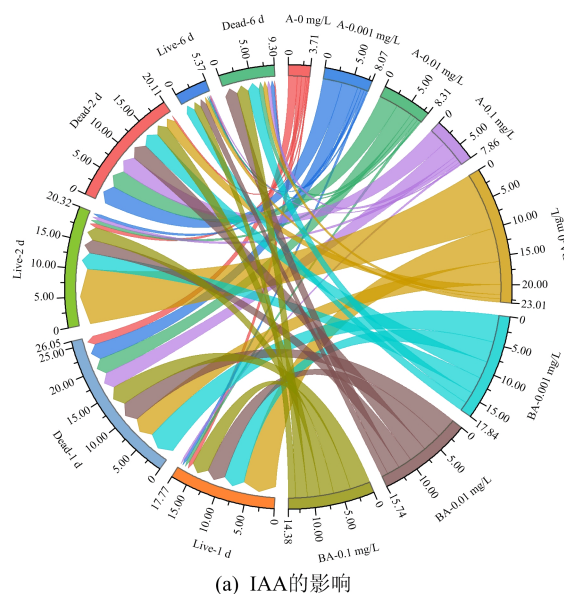
从总体上看,添加 IAA 和 B₁₂ 对于微藻细胞数量的增长不能起到促进作用,反而有抑制作用,但是这个抑制作用并不是随添加的 IAA 或 B₁₂ 质量浓度的增大而增大;特别是在菌藻体系中,在添加 IAA 或 B₁₂ 的 3 个实验组中,其质量浓度最高的一组在 6 d 微藻细胞数量最高。

2.1.2 细菌生长情况分析

不同初始质量浓度 IAA 或 B₁₂ 影响下 2 种体系中细菌生长状况如图 2 所示。图 2 中:A 表示纯菌体系;BA 表示菌藻体系;Live 表示活细菌数;Dead 表示死细菌数。

由图 2a 可知:纯菌体系中,在 1 d,添加 IAA 的 3 个对照组在总细菌数量上都明显高于不添加 IAA 组,但是其活细菌数占总细菌数的比例(下文简称“活细菌数占比”)均远低于不添加 IAA 组;2 d 时,与 IAA 初始质量浓度从低到高相对应,4 个对照组的活细菌数占比分别为 70.9%、15.1%、13.0%、10.6%。

从图 2a 可以看出:在菌藻体系中,0、2 d 时不添加 IAA 组的总细菌数与活细菌数占比明显高于添加 IAA 的 3 个实验组,但是在 6 d 显著低于其他 3 组;在培养时间内,添加 IAA 的 3 个实验组随着 IAA 初始质量浓度增大,总细菌数降低。



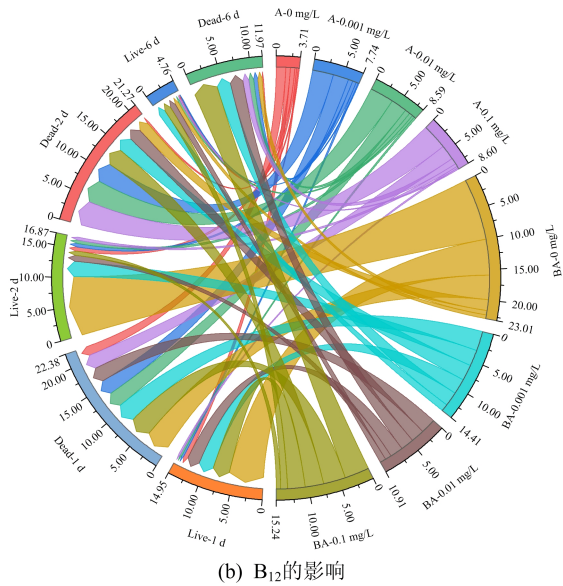


图 2 不同质量浓度 IAA 或 B₁₂影响下的细菌生长状况

对比纯菌体系和菌藻体系,可以发现从培养第 1 天开始,菌藻体系中的死细菌数与活细菌数

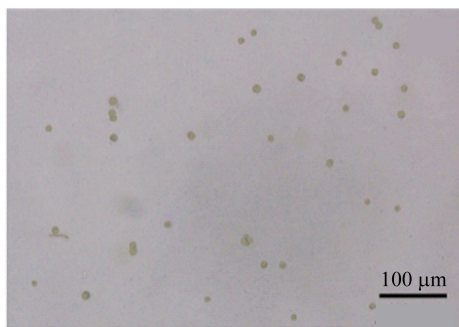
总是显著高于纯菌体系,并且活细菌数占比总是高于纯菌体系;此外,添加 IAA 组与不添加 IAA 组相比,前者的活细菌数占比要低,说明 IAA 可能对细菌的死亡有影响。在添加 B₁₂组和不添加 B₁₂组的对比中可以得到类似结论。

2.2 微藻聚集率分析

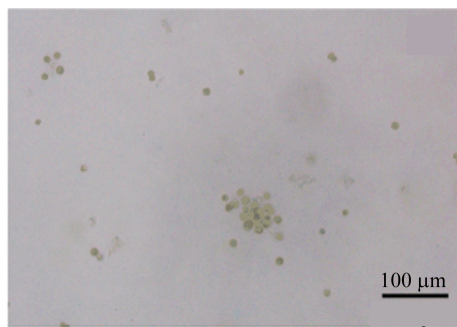
2.2.1 显微镜与 SEM 观察分析

微藻聚集的显微镜下图像和 SEM 图像如图 3 所示。从图 3 可以看出,未加入细菌的微藻大多处于分散状态,而加入细菌后出现的微藻聚集体尺寸约为 50 μm,聚集体的主体是由多个藻细胞结合在一起形成的,其中在藻细胞周边分布着一些黏着性物质。

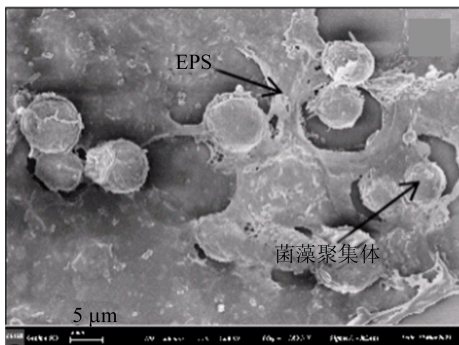
这可能是由于加入细菌后,培养体系内 EPS 总量升高,促进了藻细胞聚集,形成了更大的聚集体,而聚集体越大越有利于微藻的沉降和收集^[31-32]。



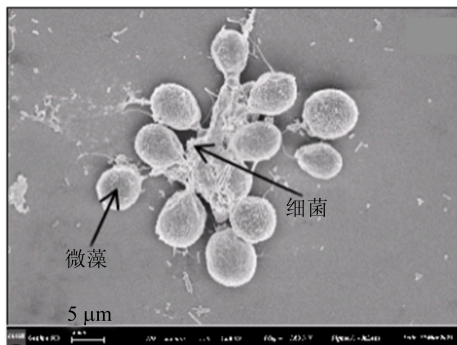
(a) 未发生聚集的微藻



(b) 发生聚集的微藻



(c) 聚集体的SEM图像



(d) 聚集体中微藻与细菌

图 3 微藻聚集的显微镜下图像和 SEM 图像

2.2.2 不同质量浓度 IAA 或 B₁₂的影响

IAA 和 B₁₂初始质量浓度不同时微藻聚集率的变化如图 4 所示。图 4 中:A 表示纯藻体系;BA 表示菌藻体系。

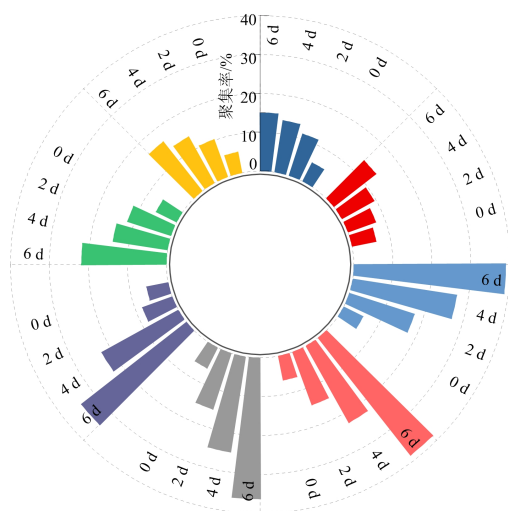
从图 4a 可以看出:不添加 IAA 时,在初始阶段纯藻体系的微藻聚集率略高于菌藻比 3 : 1 的

菌藻体系;但是在 2 d,菌藻体系中微藻聚集率超过纯藻体系;随着时间延长,菌藻比 3 : 1 的菌藻体系与纯藻体系的微藻聚集率差距越来越大,两者在 6 d 有峰值,且有最大差值,此时菌藻体系微藻聚集率为 34.3%,而纯藻体系微藻聚集率只有 13.8%。由此可见,菌藻共培养对于微藻聚集具

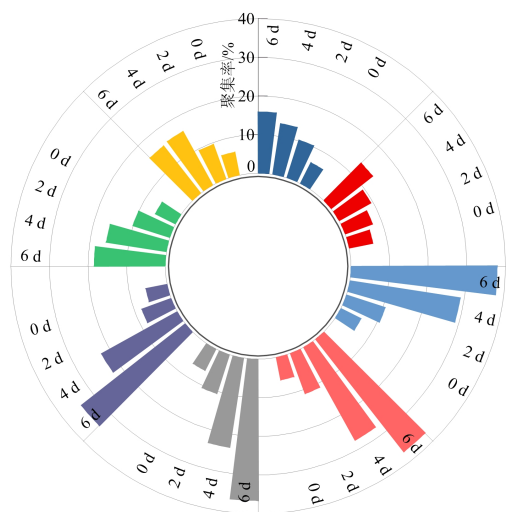
有促进作用,这在添加 IAA 的其他 3 个实验组中也可以明显看出。此外,添加 IAA 在一定程度上促进了微藻的聚集;6 d 时 4 个实验组微藻聚集率达到峰值,并随着 IAA 初始质量浓度增加,微藻聚集率增大,最大微藻聚集率可达 39%。

由图 4b 可知:不添加 B₁₂ 时,2 种体系中微藻聚集率都显著低于添加 B₁₂ 的其他 3 组;在 6 d 时 4 组微藻聚集率达到峰值,并随着 B₁₂ 初始质量浓度增加,微藻聚集率增大。

对比图 4a、图 4b 可以发现,在菌藻比 3 : 1 的菌藻体系和纯藻体系中,植物激素 IAA 和维生素 B₁₂ 对于微藻聚集具有类似的促进效果。



(a) IAA 的影响



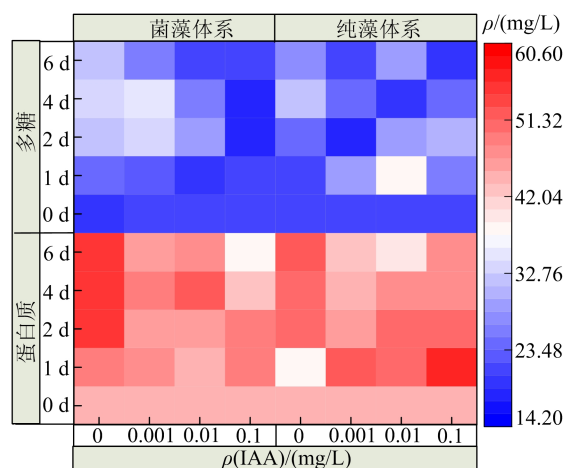
(b) B₁₂ 的影响

图 4 IAA 和 B₁₂ 初始质量浓度不同时微藻聚集率的变化

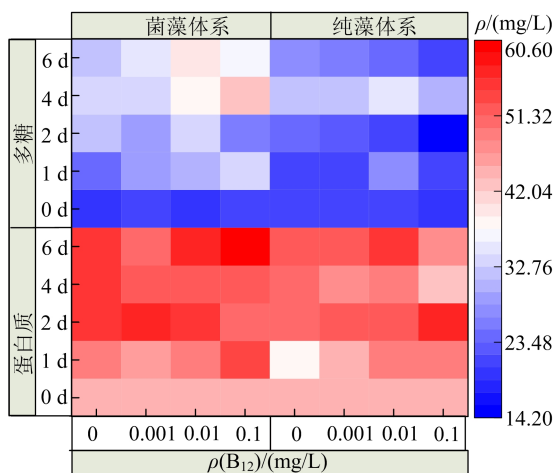
由 2.1.2 节研究结果可知,添加 IAA 的组中总细菌数要远高于不添加 IAA 的组,而相关研究表明,由于细菌和微藻表面都是带负电的^[33],且细菌的表面电荷绝对值小于微藻的表面电荷绝对值,细菌相对于微藻来说较不稳定,更容易碰撞在一起形成聚集体^[34]。这可能是随着 IAA 和 B₁₂ 质量浓度增加,微藻聚集率上升的原因。

2.3 EPS 分泌量分析

初始不同质量浓度 IAA 和 B₁₂ 影响下 2 种培养体系中 EPS 分泌量变化如图 5 所示。



(a) IAA 的影响



(b) B₁₂ 的影响

图 5 不同质量浓度 IAA 和 B₁₂ 影响下 EPS 分泌量变化

从图 5a 可以看出:

1) 在纯藻体系下,随着 IAA 初始质量浓度增加,整体呈现 EPS 质量浓度下降的趋势,此趋势在 2 d 以后表现明显;IAA 初始质量浓度为 0.1 mg/L 时,在 1 d EPS 分泌量达到峰值,然后随时间延长而降低,另外 3 个对照组则是一直增长到第 4 天,随后降低。

2) 在初始菌藻比 3 : 1 的菌藻体系下,不添加 IAA 组,1 d 时 EPS 分泌量下降,后续随着时间延长而升高,而添加 IAA 的 3 个实验组,1 d 时 EPS 分泌量升高,后续随着时间延长而降低,与不添加 IAA 组呈现相反趋势。

由图 5b 可知:在纯藻体系下,除了在 2 d 初始 B₁₂质量浓度为 0.1 mg/L 的组 EPS 分泌量最低,其余时间均呈现随着 B₁₂质量浓度增加,EPS 分泌量升高的趋势;在初始菌藻比 3 : 1 的菌藻体系下,除了在 2 d,B₁₂初始质量浓度为 0.01 mg/L 的组 EPS 分泌量位于第 2 位,其余时间均处于第 1 位,可知在此质量浓度下,B₁₂有较好的促进菌藻体系分泌 EPS 的能力。

在菌藻体系中,EPS 分泌量高于纯藻体系,且随着时间延长,有机碳分泌量不断减少,微藻分泌 EPS 的能力被抑制^[22],而菌藻体系中细菌还有分泌大量 EPS 的能力,在有机碳源减少情况下,细菌与微藻之间的交流变多,从而促使更多的细菌寻找有机碳源与微藻结合在一起形成聚集体^[35]。这也说明 EPS 在促进微藻聚集方面有重要作用^[35-36]。

3 结 论

1) 在藻培养体系中加入细菌有利于微藻的聚集,形成更大的聚集体。

2) 植物激素 IAA 和维生素 B₁₂可以促进微藻聚集,菌藻体系相较于纯藻体系更有利于微藻聚集,最大微藻聚集率可达 39%。

3) 添加植物激素 IAA 和维生素 B₁₂有利于细菌的生长繁殖,且在纯菌体系中效果更明显。

4) 添加植物激素 IAA 和维生素 B₁₂对于微藻生长有一定抑制作用,纯藻培养体系的微藻生长情况优于菌藻培养体系。

5) B₁₂对于微藻和细菌分泌 EPS 有促进作用,IAA 对于 EPS 的分泌有少量抑制作用。

[参 考 文 献]

- [1] LAM M K, LEE K T. Microalgae biofuels: a critical review of issues, problems and the way forward[J]. *Biotechnology Advances*, 2012, 30(3): 673-690.
- [2] HARUN R, DANQUAH M K, FORDE G M. Microalgal biomass as a fermentation feedstock for bioethanol production[J]. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2010, 85(2): 199-203.
- [3] MA Y C, LIU S Y, WANG Y, et al. Direct biodiesel production from wet microalgae assisted by radio frequency heating[J]. *Fuel*, 2019, 256: 115994.
- [4] ABOMOHR A E F, EL-SHEEKH M, HANELT D. Pilot cultivation of the chlorophyte microalga *Scenedesmus obliquus* as a promising feedstock for biofuel[J]. *Biomass and Bioenergy*, 2014, 64: 237-244.
- [5] LIU J X, ZHU Y, TAO Y J, et al. Freshwater microalgae harvested via flocculation induced by pH decrease[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2013, 6: 98.
- [6] DAY J G, SLOCOMBE S P, STANLEY M S. Overcoming biological constraints to enable the exploitation of microalgae for biofuels[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 109: 245-251.
- [7] PANDEY A, PATHAK V V, KOTHARI R, et al. Experimental studies on zeta potential of flocculants for harvesting of algae[J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 231: 562-569.
- [8] BEN-AMOTZ A, SHAISH A, AVRON M. The biotechnology of cultivating *Dunaliella* for production of β -carotene rich algae[J]. *Bioresource Technology*, 1991, 38: 233-235.
- [9] KANDASAMY G, SHALEH S R M. Harvesting of the microalga *Nannochloropsis* sp. by bioflocculation with mung bean protein extract[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2017, 182: 586-597.
- [10] SU Y Y, MENNERICH A, URBAN B. Municipal wastewater treatment and biomass accumulation with a wastewater-born and settleable algal-bacterial culture [J]. *Water Research*, 2011, 45(11): 3351-3358.
- [11] AMIN S A, HMELO L R, VAN TOL H M, et al. Interaction and signalling between a cosmopolitan phytoplankton and associated bacteria[J]. *Nature*, 2015, 522: 98-101.
- [12] FALLAHI A, REZVANI F, ASGHARNEJAD H, et al. Interactions of microalgae-bacteria consortia for nutrient removal from wastewater: a review [J]. *Chemosphere*, 2021, 272: 129878.
- [13] GENG H F, BELAS R. Molecular mechanisms underlying roseobacter-phytoplankton symbioses[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2010, 21(3): 332-338.
- [14] WANG S F, LIU J X, LI C, et al. Efficiency of *Nannochloropsis oculata* and *Bacillus polymyxa* symbiotic composite at ammonium and phosphate removal from synthetic wastewater [J]. *Environmental Technology*, 2019, 40(19): 2494-2503.
- [15] ZHANG C F, HO S H, LI A R, et al. Co-culture of *Chlorella* and *Scenedesmus* could enhance total lipid production under bacteria quorum sensing molecule stress[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2021, 39: 101739.
- [16] ZHANG B, LI W, GUO Y, et al. Microalgal-bacterial consortia: from interspecies interactions to biotechnological applications[J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2020, 118: 109563.
- [17] KOCH F, SAÑUDO-WILHELMY S A, FISHER N S, et al. Effect of vitamins B₁ and B₁₂ on bloom dynamics of the harmful brown tide alga, *Aureococcus anophagefferens* (Pelagophyceae)[J]. *Limnology and Oceanography*, 2013,

- 58(5):1761-1774.
- [18] HELLIWELL K E, PANDHAL J, COOPER M B, et al. Quantitative proteomics of a B₁₂-dependent alga grown in coculture with bacteria reveals metabolic tradeoffs required for mutualism[J]. *New Phytologist*, 2018, 217(2):599-612.
- [19] SALAMA E S, JEON B H, KURADE M B, et al. Harvesting of freshwater microalgae *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella vulgaris* using acid mine drainage as a cost effective flocculant for biofuel production[J]. *Energy Conversion and Management*, 2016, 121:105-112.
- [20] BASHAN Y, DE-BASHAN L E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth; a critical assessment[J]. *Advances in Agronomy*, 2010, 108:77-136.
- [21] RAMOS-IBARRA J R, RUBIO-RAMÍREZ T E, MONDRAGÓN-CORTEZ P, et al. *Azospirillum brasilense*-microalga interaction increases growth and accumulation of cell compounds in *Chlorella vulgaris* and *Tetradesmus obliquus* cultured under nitrogen stress[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2019, 31:3465-3477.
- [22] HE Q L, CHEN L, ZHANG S J, et al. Natural sunlight induced rapid formation of water-born algal-bacterial granules in an aerobic bacterial granular photo-sequencing batch reactor[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2018, 359:222-230.
- [23] LUTZU G A, DUNFORD N T. Interactions of microalgae and other microorganisms for enhanced production of high-value compounds[J]. *Frontiers in Bioscience*, 2018, 23(8):1487-1504.
- [24] BOULOS L, PRÉVOST M, BARBEAU B, et al. LIVE/DEAD[®] BacLight[™]: application of a new rapid staining method for direct enumeration of viable and total bacteria in drinking water[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 1999, 37(1):77-86.
- [25] CHEN G W, ZHU N, TANG Z B, et al. Resource availability shapes microbial motility and mediates early-stage formation of microbial clusters in biological wastewater treatment processes[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(3):1459-1467.
- [26] CHEN X H, ZHANG C, TAN L J, et al. Toxicity of Co nanoparticles on three species of marine microalgae[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 236:454-461.
- [27] JI X Y, JIANG M Q, ZHANG J B, et al. The interactions of algae-bacteria symbiotic system and its effects on nutrients removal from synthetic wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 247:44-50.
- [28] WILÉN B M, JIN B, LANT P. The influence of key chemical constituents in activated sludge on surface and flocculating properties [J]. *Water Research*, 2003, 37(9):2127-2139.
- [29] LI X Y, YANG S F. Influence of loosely bound extracellular polymeric substances (EPS) on the flocculation, sedimentation and dewaterability of activated sludge[J]. *Water Research*, 2007, 41(5):1022-1030.
- [30] SUN L, TIAN Y, ZHANG J, et al. A novel membrane bioreactor inoculated with symbiotic sludge bacteria and algae; performance and microbial community analysis[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 251:311-319.
- [31] SALIM S, BOSMA R, VERMUEÛM H, et al. Harvesting of microalgae by bio-flocculation[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2011, 23:849-855.
- [32] VAN DEN HENDE S, VERVAEREN H, DESMET S, et al. Bioflocculation of microalgae and bacteria combined with flue gas to improve sewage treatment[J]. *New Biotechnology*, 2011, 29(1):23-31.
- [33] OGBONNA J C, YOSHIZAWA H, TANAKA H. Treatment of high strength organic wastewater by a mixed culture of photosynthetic microorganisms[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2000, 12:277-284.
- [34] STAATS N, STAL L J, MUR L R. Exopolysaccharide production by the Epipellic diatom *Cylindrotheca closterium*; effects of nutrient conditions[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2000, 249(1):13-27.
- [35] ZHAO R R, CHEN G W, LIU L, et al. Bacterial foraging facilitates aggregation of *Chlamydomonas microspheara* in an organic carbon source-limited aquatic environment[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 259:113924.
- [36] SUN L, ZUO W, TIAN Y, et al. Performance and microbial community analysis of an algal-activated sludge symbiotic system: effect of activated sludge concentration[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2019, 76:121-132.

(责任编辑 张淑艳)