

· 综 述 ·

微藻与其他微生物共培养的研究进展及应用

李畅^{1,2}, 平文祥^{1,2}, 葛菁萍^{1,2}, 林宜萌^{1,2}

1 黑龙江大学 农业微生物技术教育部工程研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150500

2 黑龙江大学 生命科学学院 黑龙江省普通高校微生物重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150080

李畅, 平文祥, 葛菁萍, 林宜萌. 微藻与其他微生物共培养的研究进展及应用. 生物工程学报, 2022, 38(2): 518-530.

LI C, PING WX, GE JP, LIN YM. Advances in the co-culture of microalgae with other microorganisms and applications. Chin J Biotech, 2022, 38(2): 518-530.

摘 要: 化石燃料的挖掘和燃烧导致环境污染以及气候变化。与化石燃料相比, 微藻被认为是一种更有前途的生物柴油生产原料, 它具有生长速度快、含油量高、不占用耕地的特点。尽管微藻被认为是生产第三代生物燃料的最佳生产者之一, 但单独培养微藻容易污染且采收成本高, 与化石燃料和传统可再生能源相比缺乏竞争力。利用微藻与其他微生物共培养能够实现自絮凝降低微藻采收成本, 而且培养体系不易污染、油脂产率与高价值副产物产量较高。因此, 微藻与其他微生物共培养是一种经济、节能、高效的技术, 具有广阔的应用前景。文中综述了近年来微藻与其他微生物共培养的研究现状、相互作用机制以及影响微藻产油的因素, 总结了微藻与其他微生物共培养技术的应用, 最后对微藻与其他微生物共培养体系发展的前景与挑战进行了展望。

关键词: 微藻; 共培养; 油脂; 生物量; 机制; 应用

Advances in the co-culture of microalgae with other microorganisms and applications

LI Chang^{1,2}, PING Wenxiang^{1,2}, GE Jingping^{1,2}, LIN Yimeng^{1,2}

1 Engineering Research Center of Agricultural Microbiology Technology, Ministry of Education, Heilongjiang University, Harbin 150500, Heilongjiang, China

2 Key Laboratory of Microbiology, College of Heilongjiang Province, School of Life Sciences, Heilongjiang University, Harbin 150080, Heilongjiang, China

Abstract: Intense utilization and mining of fossil fuels for energy production have resulted in

Received: May 7, 2021; **Accepted:** October 9, 2021; **Published online:** November 3, 2021

Supported by: Natural Science Foundation of Heilongjiang Province, China (LH2020C089)

Corresponding author: LIN Yimeng. Tel: +86-451-86609134; Fax: +86-451-86609016; E-mail: cherrylim@126.com

基金项目: 黑龙江省自然科学基金联合引导项目 (LH2020C089)

environmental pollution and climate change. Compared to fossil fuels, microalgae is considered as a promising candidate for biodiesel production due to its fast growth rate, high lipid content and no occupying arable land. However, monocultural microalgae bear high cost of harvesting, and are prone to contamination, making them incompetent compared with traditional renewable energy sources. Co-culture system induces self-flocculation, which may reduce the cost of microalgae harvesting and the possibility of contamination. In addition, the productivity of lipid and high-value by-products are higher in co-culture system. Therefore, co-culture system represents an economic, energy saving, and efficient technology. This review aims to highlight the advances in the co-culture system, including the mechanisms of interactions between microalgae and other microorganisms, the factors affecting the lipid production of co-culture, and the potential applications of co-culture system. Finally, the prospects and challenges to algal co-culture systems were also discussed.

Keywords: microalgae; co-culture; lipid; biomass; mechanism; application

微藻因生长周期较短、生长过程可捕获 CO₂ 并同时积累大量油脂、培养过程不占用耕地等优点, 在可再生能源领域备受关注^[1]。此外, 微藻中富含蛋白质、矿物质、多糖等许多有价值的化合物, 这些高价值化合物可以在农业^[2]、化妆品^[3]和环境^[4]等许多领域得到应用。作者所在课题组一直从事优质产油藻种的挖掘工作^[5-6], 单独培养的微藻具有开发为食品补充剂和生物柴油原料的潜能, 然而, 对微藻进行单独培养的污染风险较高, 且微藻油脂生产率的提高存在瓶颈, 克服这一困难的方法之一就是利用其他微生物与微藻共培养。

共培养是两个或两个以上不同有机体在自然或合成培养基中共同生长的生物系统^[7]。并非所有微生物都适用于共培养的方式, 但共培养已被证明可提高生物量、油脂含量和高价值产品的产量。另外, 共培养在处理工业废水、降解卤素和碳氢化合物方面也发挥了重要作用^[8-10]。

本文综述了近年来通过共培养方式促进微藻脂质积累的研究, 对藻-菌、藻-藻之间建立共

培养系统的相互作用机制以及共培养系统用于生产生物柴油、生产高价值副产物、处理废水与微藻采收等方面的应用进行了总结, 为后续研究者提供参考。

1 微藻共培养的研究现状

微藻被认为是生产生物柴油的潜在生物。微藻通过共培养的方式培养可增加油脂含量、生产高价值副产物、处理工业废水等。与微藻共培养的微生物包括细菌、真菌和微藻。表 1、表 2 为微藻与这 3 大类微生物共培养研究的相关参数。

1.1 细菌与微藻共培养的研究现状

微藻和细菌二者长期在自然界中共存, 它们之间存在着复杂的相互关系。起初, 细菌被认为对微藻培养有毒害作用, 但近些年的研究发现, 微藻与细菌之间的相互作用可以为微藻的生长带来积极的影响^[21]。研究发现, 小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 与中生根瘤菌 (*Mesorhizobium* sp.) 共培养时, 小球藻的生物量与油脂含量都获得较大提升^[11]。

表 1 微藻与其他微生物共培养产脂的不同实验结果

Table 1 Different experimental results of lipid production by co-culture of microalgae and other microorganisms

Microalgae (M)	Other organisms (O)		Cultivate microalgae single			Microalgae co-cultivation with other microorganisms			References
	Biomass (g/L)	Biomass productivity (mg/(L·d))	Lipid content (%)	Lipid productivity (mg/(L·d))	Lipid content (%)	Biomass productivity (mg/(L·d))	Biomass (g/L)	Lipid productivity (mg/(L·d))	
<i>Chlorella vulgaris</i>	1.01	101.00	12.10	12.27	23.00	1.68	168.00	38.65 (214.99%)	[11]
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	-	-	29.11	7.33	65.85	-	-	141.86 (1 835.33%)	[12]
<i>Scenedesmus obliquus</i>	3.10	264.80	25.80	68.30	31.60	3.60	309.60	97.80 (43.19%)	[13]
<i>C. vulgaris</i>	2.80	933.33	26.60	288.00	25.30	3.40	1360	328.00 (13.88%)	[14]
<i>Spirulina platensis</i>	0.20	40.60	6.39	2.60	12.71	3.67	734.60	93.40 (3 492.31%)	[15]
<i>Chlorella emersonii</i>	2.80	350.00	28.25	98.86	29.50	4.12	515.00	151.86 (53.61%)	[16]
<i>Characium</i> sp.	-	26.00	-	5.49	-	-	50.00	9.32 (69.76%)	[17]
<i>C. vulgaris</i>	0.31	79.13	14.49	0.013	8.26	1.56	650.13	0.03 (130.76%)	[18]
<i>Dunaliella salina</i>	1.78	118.67	15.91	-	-	2.30	153.33	- (-%)	[19]
<i>Euglena gracilis</i>	-	27.00	30.90	8.50	28.40	-	87.00	25.00 (234.12%)	[20]

Notes: () after lipid productivity represents the proportion of increased lipid productivity in co-culture compared with single culture.

表 2 微藻与其他微生物共培养产脂的不同实验条件
Table 2 Experimental conditions of lipid production in co-culture system of microalgae and other microorganisms

Microalgae (M)	Other organisms (O)	Ratio (M:O)	Initial pH	Temperature (°C)	Cultivation media	Sterilization medium	Sterilization of Cultivating device	Cultivating way	References
<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Mesorhizobium</i> sp.	70:1	7.00	25.00	BG-11	Sterilization	Illumination incubator	Closed culture	[11]
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	<i>Azotobacter chroococcum</i>	–	–	28.00	TAP-N	Sterilization	–	Closed culture	[12]
<i>Scenedesmus obliquus</i>	<i>Candida tropicalis</i>	3:1	7.10	–	BG-11	Sterilization	Airlift photobioreactor	Closed culture	[13]
<i>C. vulgaris</i>	<i>Rhodotorula glutinis</i>	–	–	27.00	TAP+glucose (5 g/L)	Sterilization	Light incubator	Closed culture	[14]
<i>Spirulina platensis</i>	<i>R. glutinis</i>	–	5.50	30.00	Wastewater medium	Sterilization	–	–	[15]
<i>Chlorella emersonii</i>	<i>Pseudomonas</i>	1:1	–	25.00	BG-11	Sterilization	–	Closed culture	[16]
<i>Characium</i> sp.	<i>Pseudomonas composti</i>	–	–	25.00	BG-11	Sterilization	Shaker incubator	Closed culture	[17]
<i>C. vulgaris</i>	<i>Yarrowia lipolytica</i>	–	–	25.00	BG-11	Sterilization	Orbital shaker	Closed culture	[18]
<i>Dunaliella salina</i>	<i>Halomonas</i> sp.	–	–	–	DM	Sterilization	–	Closed culture	[19]
<i>Euglena gracilis</i>	<i>Emiticicia</i> sp.	1:1	7.50	25.00	Wastewater medium	Sterilization	–	Closed culture	[20]

在共培养体系中,细菌的代谢物可为微藻提供营养物质,而这些营养物质在微藻单独培养中是无法获得的。许多微藻是维生素 B12 的营养缺陷体,培养过程中需要外源添加维生素 B12。Kazamia 等研究发现,在叶衣藻属 (*Lobomonas rostrata*) 与根瘤菌 (*Mesorhizobium loti*) 共培养体系中,细菌为藻类提供维持生长的维生素 B12^[22]。Mazur 等报道了一些细菌具有分泌促进藻细胞生长的物质,如吡啶乙酸^[23]。细菌还可以保护微藻免受不利环境条件的影响^[24],例如高浓度氨氮会抑制微藻细胞呼吸与抗氧化酶的活性,进而影响微藻的生长。Qu 等将原球藻 (*Coelastrella* sp.) KE4 和以变形杆菌 (*Alphaproteobacteria*) 为优势菌株的猪粪废水(氨氮浓度为 467.91 mg/L) 进行共培养,结果表明,共培养体系中的生物量与污染物去除率都高于单独培养,其中,氨氮去除率达到 99.52%,远高于单独培养的 52.49%^[25]。共培养体系中的细菌能将氨氮转化为亚硝态氮、硝态氮等无机氮,最终无机氮可在微藻细胞内的还原酶作用下被利用进一步合成氨基酸。共培养解除了高氨氮环境对微藻生长的抑制作用,确保了微藻生长环境的稳定性。

1.2 真菌与微藻共培养的研究现状

研究者对微藻和酵母共培养进行了大量的研究。将微藻与固定化酵母混合培养,与游离酵母共培养相比,固定化可以部分抑制酵母的生长,获得更高的藻类浓度^[26]。球等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*) 8701 和蝉花酵母 (*Ambrosiozyma cicatricosa*) 混合培养产生的脂质与单独培养相比富含饱和脂肪酸^[4]。将米曲菌 (*Aspergillus oryzae*) 与普通小球藻 (*C. vulgaris*) UMN235 进行共培养,可形成菌藻颗粒,由于菌藻颗粒比藻类大得多,可以通过简单的过滤

来收获藻类^[27]。真菌在辅助微藻得到菌藻颗粒的同时,也可以净化沼液与沼气^[28]。菌藻颗粒的脂肪酸成分分析表明,通过共培养不同的微藻和含油真菌,并进行优化设计,可显著提高总脂产量^[29]。

1.3 微藻与微藻共培养的研究现状

近几年,藻与藻的共培养用于对各种污水的处理、生物质生产等生物技术产业^[30]。赵飞燕等发现,小球藻 (*Chlorella* sp.) U4341 和单针藻 (*Monoraphidium* sp.) FXY-10 共培养,与小球藻单独培养相比,微藻产油率和沉降率都明显提高,并且产生的脂肪酸能较好地满足生物柴油的生产要求^[31]。将球等鞭金藻 (*I. galbana*) 和亚心形扁藻 (*Platymanas subcordiformis*) 以一定的比例混合,亚心形扁藻的藻细胞密度、生物量均高于单独培养条件下的数值。其中,当球等鞭金藻与亚心形扁藻混合比例为 3:7 时,共培养体系中生物量和叶绿素 a 含量最高,亚心形扁藻的细胞密度最高^[32]。

从整体上看,微藻与其他微生物共培养时,代谢互补有利于微藻的生长。例如,粘红酵母 (*Rhodotorula glutinis*) 会释放有机酸,抑制自身的生长,而小球藻 (*C. vulgaris*) 可以吸收有机酸促进细胞生长^[33]; *R. glutinis* 可将各种复杂的多糖分解为单糖,钝顶螺旋藻 (*Spirulina platensis*) 可以利用单糖进行细胞分裂; *S. platensis* 将培养基中存在的 CO₂ 转化为碳酸氢盐,碳酸氢盐被 *S. platensis* 消耗,释放 OH⁻,使 pH 呈碱性, *R. glutinis* 的生长会导致 pH 呈酸性,最终使得培养基 pH 维持稳定^[15]。二者在代谢上的互补,有利于共培养体系整体生长速度的提升^[33]。微生物产生的植物激素等刺激因子可能也对共培养体系的建立和平衡发挥重要作用^[34]。相关研究表明,亚硫酸杆菌 (*Sulfitobacter* sp.) 通过交

换叫噪-3-乙酸供微藻利用以换取有机硫化物^[35],如此循环,使微藻与其他微生物的共培养达到一定的动态平衡。

1.4 共培养体系亟需解决的问题

为促进微藻与其他微生物的共培养体系真正应用于生物柴油生产,体系的扩大培养及长期稳定性的保持尤为重要。目前已有研究者针对藻菌共培养系统的扩大培养做出尝试,刘乐然在跑道池光生物反应器中建立藻菌共培养体系,实现了对城市污水二级出水的良好处理,为藻菌共培养体系进一步扩大培养、户外培养及拓宽应用场景奠定了基础^[36]。因此,开发适用于共培养体系的特殊装置是未来的重要研究方向^[37]。微藻共培养体系是一个动态系统,因此其长期稳定性的保持面临着巨大挑战。在海洋球石藻 (*Emiliania huxleyi*) 与瘦碱杆菌 (*Phaeobacter gallaeciensis*) 共培养体系中发现,*P. gallaeciensis* 可以合成抗生素和生长素,在与 *E. huxleyi* 共培养时,可促进 *E. huxleyi* 的生长,但当 *E. huxleyi* 培养达到稳定期时, *P. gallaeciensis* 会释放可降解微藻细胞壁的 *P*-香豆酸^[38]。*P*-香豆酸被认为是一种衰老信号,诱导 *P. gallaeciensis* 产生溶藻化合物,从而使藻细胞死亡。因此, *P. gallaeciensis* 就能够在培养基中与 *E. huxleyi* 竞争剩余的营养物质。在这个共培养系统中 *E. huxleyi* 和 *P. gallaeciensis* 之间的生态关系是动态变化的,这极大地影响了共培养系统的持续稳定和微藻生物柴油的稳定产出。最近在以伪矮海链藻 (*Thalassiosira pseudonana*) 和柴巴双歧杆菌 (*Dinoroseobacter shibae*) 为特征的共生体系中也发现了类似效应^[39]。现有研究发现,微藻与其他微生物间生态关系的动态变化与共培养系统稳定性密切相关,深入探究二者间生态关系和相互作用机制,将为建立稳定的共培养体系提供理论基础。

2 微藻与其他微生物共培养的相互作用机制

2.1 底物交换

微藻和细菌之间存在可以交换的促生长化合物,这通常是微藻与细菌相互作用的基础。一般来说,微藻通过光合作用提供 O_2 和有机物供细菌消耗,而细菌通过呼吸作用产生 CO_2 和无机物来维持微藻的生长^[24] (图 1)。细菌可以分泌微量营养代谢物,如维生素 B12、植物激素、硫胺素衍生物和铁载体,以加速微藻代谢和生物量积累^[39]。底物交换并不局限于微量营养素,微藻和异养细菌之间也存在大量营养素的交换。微藻不具备固氮机制,有一项研究发现,根瘤菌 (*Rhizobium* sp.) 能促进小球藻 (*C. vulgaris*) 从废水中吸收氮,同时,小球藻为根瘤菌提供了固定的有机碳作为回报^[40]。除促生长化合物外,抑制生长的化合物也可在微藻和细菌之间交换。一些细菌代谢物具有溶藻作用。Yang 等在球形棕囊藻 (*Phaeocystis globosa*) 上分离得到一株芽孢杆菌 (*Bacillus* sp.), 该菌株能分泌脯氨酰蛋氨酸和次黄嘌呤来破坏抗氧化系统,抑制球形棕囊藻的生长^[41]。来自交替单胞菌 (*Alteromonas* sp.) 和假交替单胞菌 (*Pseudoalteromonas* sp.) 的喹诺酮衍生物,通过改变钙信号转导,导致细胞功能障碍,诱导微藻细胞溶解和死亡^[42]。部分微藻可以分泌抗菌物质来抑制共培养的细菌生长。人们已经鉴定了许多抗菌代谢物,包括不同类型的脂肪酸、糖苷、氯雷林、萜类和叶绿素 α 衍生物。实际上,在微藻与细菌共生关系的建立和维持中,二者之间的拮抗作用与其他相互作用方式(互惠、共生和寄生)相比起着同样重要的作用。然而,拮抗的作用往往被一种整体的有益关系所掩盖,而且很容易被忽视^[43]。深入研究拮抗

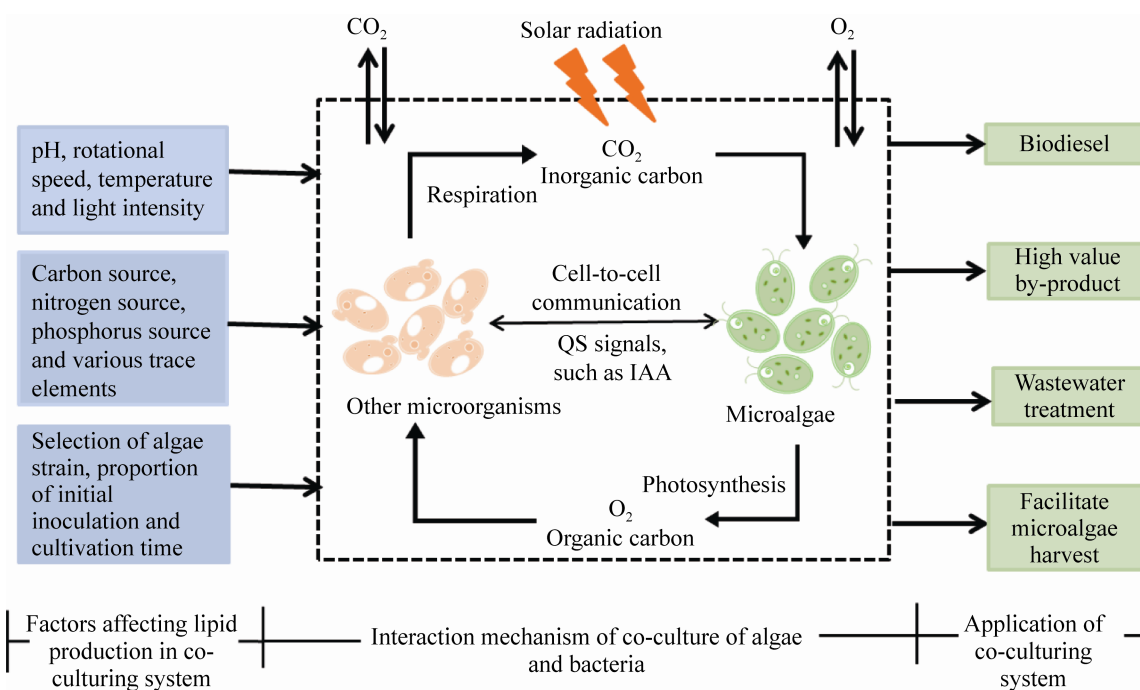


图 1 影响微藻与其他微生物共培养体系产油的因素、微生物相互作用机制以及共培养技术的应用
Figure 1 Factors affecting lipid production in the co-culture system of microalgae and other microorganisms, as well as the interaction mechanisms and applications.

作用的发生机制,有助于削弱拮抗作用的发生,进而强化产油途径。

2.2 细胞通讯

在微生物被发现的初期,人们一直认为微生物是以单细胞个体孤独地存在于环境中,不存在同类之间的交流。直到 20 世纪六七十年代,科学家们发现微生物也同人类一样拥有复杂的“语言”,可以与相邻的微生物进行沟通,这种交流方式被称为细胞通讯。细胞间通讯机制之一是小信号分子的细胞间交换,如氨酰高丝氨酸内酯 (antihuman-lymphocyte serum, AHLs)、自动诱导因子 (autoinducers, AI-2) 和寡肽 (autoinducing polypeptides, AIP)。这些信号分子参与协调基因表达、调节细菌的生理行为,并表现出各种生态功能。这种类型的通信被称为群体感应 (quorum sensing, QS),它以依

赖于群体密度的方式发生^[44]。

虽然 QS 进行细胞间通讯的研究主要集中在细菌上^[45],但是相关的研究证据表明, QS 的化学介质还参与了微藻和细菌之间的相互作用^[41]。Amin 等报告,硫杆菌能分泌吲哚乙酸,吲哚乙酸是促进硅藻细胞分裂的信号分子^[46]。假交替单胞菌的种群密度达到阈值时,能引发溶藻活性的表达和释放,导致微藻细胞溶解^[47]。QS 信号分子能够调节生物膜的形成,鲁杰氏菌 (*Ruegeria* sp.) TM1040 能在费氏藻 (*Pfiesteria* sp.) 表面形成生物膜,该膜在营养物的富集和藻体防御上具有积极作用^[48]。除此之外,微藻和细菌之间的有机酸、游离氨基酸、溶藻素等信号分子^[38]可以调节微藻细菌共生体系中群落的分布^[49]、极端环境适应^[50]、毒力因子生产和繁殖行为^[51]等多种生理过程和生态功能。

3 影响微藻与其他微生物共培养产油的因素

3.1 环境因素对共培养体系产油的影响

环境因素包括 pH、转速、温度及光照强度。培养基的 pH 值决定了 CO₂ 和必需营养素的溶解度和有效性^[52]。转速控制传质速率,可调节微藻和酵母之间 O₂ 和 CO₂ 的交换。最佳温度下培养细胞可以获得快速的生长速度和有效的营养吸收。光是微藻光合作用的基本能源。在光合作用过程中,电子从水传递到烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADP⁺),生成 ATP。光照强度也会调节微藻的生化组成,特别是脂质和碳水化合物。高光照度会导致微藻细胞受到胁迫压力,从而导致细胞内三酰甘油的积累^[53]。

3.2 培养基成分对共培养体系产油的影响

培养基成分包括碳源、氮源、磷源和各种微量元素,碳源是微藻进行光合作用所必需的元素。Wang 等发现,在 BG-11 培养基中添加 1%蔗糖,可使蛋白核小球藻 (*C. pyrenoidosa*) 与粘红酵母 (*R. glutinis*) 共培养的油脂含量达到 30%^[26]。而在生长培养基中添加粗甘油,使小球藻 (*C. vulgaris*) 和佛焰苞丝孢霉 (*Trichosporonoides spathulata*) 共培养的油脂含量最高可达 40.81%^[54]。培养基中的氮源含量和氮源种类是对微藻的生物量和油脂含量影响最显著的因素之一,氮是微藻细胞合成氨基酸、嘌呤、蛋白质等物质的基本元素。氮源同碳源一样,也是光合作用必不可少的组分。氮是构成叶绿素的成分,当氮源不足时,微藻细胞内叶绿素含量迅速降低,生长速率下降^[55]。磷源在微藻生长过程中参与核酸、ATP、磷脂及辅酶等的合成,通常是以磷酸盐、铵盐和尿素的形式存在。其他微量元素如钙、铁、锌、钾等,虽然需求量少,但对微藻生长和生理生化特性

具有不可忽视的影响。通过调整碳源、氮源、磷源和各种微量元素等培养基成分,可进一步提升共培养体系的产油潜能。

3.3 培养体系设置对共培养体系产油的影响

培养体系设置包括藻种的选择、初始接种比例和培养时间等。共培养成功的第一步是对微藻和其他微生物进行藻种、菌种选择。此前,已有研究人员列出了选择微藻和酵母共培养生产生物柴油的某些关键特征,这些特征包括生长速度快、含脂量高、能够在极端条件下生长、细胞体积大、便于生物质的收获等^[56-57]。不同的初始接种比例会产生不同的实验现象,如微藻高价值副产物产量的变化^[58]。事实上,初始接种比例取决于选择的微藻与菌种的生长速度,这使得这两个物种之间能够保持平衡。Jiang 等将佐芬根色绿球藻 (*Chromochloris zofingiensis*) 与红发夫酵母 (*Xanthophyllomyces dendrorhous*) 分别以 1:0、1:1、2:1、3:1 的接种比例共培养,发现微藻的生物量和油脂含量在 3:1 接种比例时达到最大值,分别为 (4.62±0.15) g/L 和 (31.20±2.03)%。与此同时虾青素含量也得到增加,其含量为 (5.50±0.24) mg/L^[58]。培养时间是决定积累脂质最佳时期、生物量收获时间点的重要参数。产油微藻和酵母菌在稳定期的早期积累了大部分脂质。在进入晚期静止阶段时,产油微藻虽然合成了三酰甘油,但脂质过氧化途径也被激活,导致三酰甘油含量减少^[59]。

4 微藻与其他微生物共培养技术的应用

4.1 生产生物柴油

生物柴油是一种环保燃料,可以从鱼油、大豆和玉米等生物中可持续地生产。然而,在这些来源中,植物油与动物油衍生的生物柴油

会造成大量食物的浪费而不可持续。若利用鱼油生产生物柴油, 鱼油成本占生产总成本的70%–90%, 这会导致生物柴油价格的高升。微藻作为产油生物有着独特的优势, 它的培养不受季节的影响, 预处理成本相对较低。但微藻目前产油效率有待提高, 油脂的脂肪酸组成也同样值得关注。微藻总油脂产量和脂肪酸构成是微藻用于制备油脂生物柴油的关键因素^[5], 十六烷值, 即 CN 值, 与点火延迟时间、燃烧效率等性能密切相关, 可以直接反映生物柴油燃烧性能的好坏^[60]。共培养在提高产油效率的同时, 也有望同时优化油脂的脂肪酸组成。赵飞燕以栅藻 (*Desmodesmus* sp.) ZFY 与单针藻 (*Monoraphidium* sp.) QLY-1 进行藻藻共培养, 发现微藻共培养体系中的 CN 值为 51.44, 与 *Monoraphidium* sp. QLY-1 单独培养的 50.12 相比, CN 值得到提升^[61], 说明通过微藻共培养的方式得到的油脂可能更好地满足生物柴油的需要, 这种方法将成为生产生物柴油的一种更有吸引力的替代方式。

4.2 生产高价值副产物

微藻在代谢过程中会产生粗多糖、维生素、氨基酸、蛋白质、萜类等高价值副产物。其中, 微藻产生的维生素与必需氨基酸在食品工业领域中得到了广泛的应用。类胡萝卜素是异戊二烯类色素的一个亚家族, 在动物和人类中对增强免疫反应、转化为维生素 A 和清除氧自由基具有重要作用。在目前的商业市场上, 80%–90% 的类胡萝卜素是通过化学合成来合成的。这种人工合成类胡萝卜素的方式会对健康带来潜在的隐患, 因此人们对天然类胡萝卜素的需求正在增加^[62]。研究发现, 小球藻 (*C. vulgaris*) 与粘红酵母 (*R. glutinis*) 共培养所获得的类胡萝卜素含量远远高于单独培养的微藻^[63], 并且微藻中类胡萝卜素的稳定性、可用性都优于合成

色素和植物类胡萝卜素。

4.3 废水处理

近年来, 利用微藻共培养来处理污水受到越来越多的关注。微藻处理废水的原理在于它们能够利用废水中的碳、氮和磷进行生长, 从而降低这些物质在水中的浓度, 达到处理废水的目的。Cheng 等将三角褐藻 (*Tribonema* sp.) 与小球藻 (*Chlorella zofingiensis*) 在猪场废水中进行共培养, 为减少对纯水资源的浪费, 采用了污染程度小的渔场废水进行稀释, 研究发现, 在接种比例为 1:1 的 5 倍稀释条件下, 总氮的去除率为 80.5%, 总磷的去除率为 84.7%^[64], 高于藻菌共培养去除效率的 30%–60%^[65], 说明藻藻共培养在处理废水方面具有独特的优势。更重要的是, 若建立 2 种藻株的共培养体系, 不需要为细菌、真菌的生长提供额外能源, 进一步节省了运行成本。

4.4 对微藻生物量采收的应用

传统的微藻收获方法主要有重力沉降法、过滤法、离心法以及浮选法, 但这些方法都有很多不足。重力沉降法不适用于种类繁多的微藻, 耗费大量时间^[31]。离心法的成本高、能耗大^[66]。过滤法存在堵塞和结垢的问题, 导致收率较低^[67], 浮选法不适用于海洋微藻, 海洋微藻会因盐度的干扰对浮选效果产生影响^[68]。通过絮凝对微藻细胞进行预浓缩, 可以降低微藻细胞采收的成本和能源消耗。

研究发现, 微藻与其他微生物可以实现自絮凝。自絮凝指的是在不额外添加化学物质的条件下, 仅依靠重力沉降的作用实现藻细胞采收, 具有低能耗、高效率的优势^[31]。国内外学者发现, 细菌之所以能诱导微藻絮凝, 是由于细菌分泌的胞外聚合物 (extracellular polymeric substances, EPS) 具有絮凝效果^[69]。Mackay 等研究发现, 通过共培养耐热性小球藻 (*C. sorokiniana*) 和玫瑰烟色

棒束孢 (*Isaria fumosorosea*), 能够产生较大的菌藻球团, 直径约 1-2 mm, 可达到 95% 的采收效率^[70]。Salim 等表明, 非絮凝小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 与自絮凝斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 的共培养是一种很有前景的采收方法, 该方法不仅提高了采收效率, 而且不需要改变培养条件^[71]。因此利用共培养实现自发絮凝, 是一种较为经济、高效的微藻生物量收获方法。

5 总结与展望

微藻与其他微生物的共培养为各个领域带来了强大的应用潜力。迄今为止, 微藻共培养所用到的微生物有细菌、真菌以及微藻 3 种。就细菌与微藻共培养而言, 该培养体系在促进生物燃料和化学品的生产、减少 CO₂ 排放方面发挥着至关重要的作用, 这些特殊优势吸引着研究人员进一步探索其应用场景。微藻与酵母菌共培养更为常见, 尤其是生产生物量和脂质、辅助微藻絮凝等。藻-藻共培养在油脂含量提升的同时, 油脂的脂肪酸组成能够较好满足生物柴油的生产。目前, 多数研究还停留在实验室阶段, 共培养体系的成本需要进一步降低, 针对这一问题, 共培养体系的各种条件, 如环境因素的改变、培养基成分的调控、培养体系的设置需要进一步优化, 需要对整个培养过程进行更加细致的生命周期分析。在降低共培养体系的成本、提高油脂产率的基础上, 微藻共培养体系用于规模化培养仍存在一定瓶颈。随着相关研究的不断深入, 了解微藻与其他微生物之间的生态关系, 不仅有利于提高共培养体系的稳定性, 而且有助于扩大共培养体系的应用场景, 为进一步降低微藻产油的成本, 促进微藻生物柴油的产业化提供理论支撑和实践经验。针对未来微藻共培养产油的相关研究方向,

本文建议可从以下两个方面着手: 首先, 微藻与其他微生物共培养对生长的促进作用与它们在代谢途径上的互补密不可分, 利用这种代谢互补的规律, 在未来的研究工作中, 可以定向设计共培养系统, 在代谢上进行更加精准地调控, 满足各行业的需要。在此基础上, 可采用营养胁迫与环境胁迫联合的策略, 进一步提升微藻的产油效率等。其次, 利用组学技术深度解析微生物基因、蛋白质、代谢组分间的相互关系, 建立并不断完善微生物的代谢产物数据库, 重点关注代谢产物与微藻互补的菌株及产生植物激素的菌株, 为筛选共培养菌株并人工建立共培养体系提供基础信息。基于这两点建议, 期望共培养体系在微藻生物柴油开发、微藻生物量采收、废水处理等领域获得更广阔的应用场景。

REFERENCES

- [1] 吕素娟, 张维, 彭小伟, 等. 城市生活废水用于产油微藻培养. 生物工程学报, 2011, 27(3): 445-452.
Lü SJ, Zhang W, Peng XW, et al. Cultivating an oleaginous microalgae with municipal wastewater. Chin J Biotech, 2011, 27(3): 445-452 (in Chinese).
- [2] Trentacoste EM, Martinez AM, Zenk T. The place of algae in agriculture: policies for algal biomass production. Photosynth Res, 2015, 123(3): 305-315.
- [3] Ariede MB, Candido TM, Jacome ALM, et al. Cosmetic attributes of algae: a review. Algal Res, 2017, 25: 483-487.
- [4] Hammed AM, Prajapati SK, Simsek S, et al. Growth regime and environmental remediation of microalgae. ALGAE, 2016, 31(3): 189-204.
- [5] Lin YM, Ge JP, Ling HZ, et al. Isolation of a novel strain of *Monoraphidium* sp. and characterization of its potential for α -linolenic acid and biodiesel production. Bioresour Technol, 2018, 267: 466-472.
- [6] Lin YM, Ge JP, Zhang YY, et al. *Monoraphidium* sp. HDMA-20 is a new potential source of α -linolenic acid and eicosatetraenoic acid. Lipids Heal Dis, 2019, 18(1): 56.
- [7] Padmaperuma G, Kapoore RV, Gilmour DJ, et al. Microbial consortia: a critical look at microalgae

- co-cultures for enhanced biomanufacturing. *Crit Rev Biotechnol*, 2018, 38(5): 690-703.
- [8] Magdoui S, Brar SK, Blais JF. Co-culture for lipid production: advances and challenges. *Biomass Bioenergy*, 2016, 92: 20-30.
- [9] Yen HW, Chen PW, Chen LJ. The synergistic effects for the co-cultivation of oleaginous yeast-*Rhodotorula glutinis* and microalgae-*Scenedesmus obliquus* on the biomass and total lipids accumulation. *Bioresour Technol*, 2015, 184: 148-152.
- [10] Dong QL, Zhao XM. *In situ* carbon dioxide fixation in the process of natural astaxanthin production by a mixed culture of *Haematococcus pluvialis* and *Phaffia rhodozyma*. *Catal Today*, 2004, 98(4): 537-544.
- [11] 卫冶金, 李晓, 王皓楠, 等. 小球藻与固氮菌 *Mesorhizobium* sp. 共培养对小球藻生长和油脂积累的促进效果. *中国生物工程杂志*, 2019, 39(7): 56-64.
- Wei ZJ, Li X, Wang HN, et al. Enhanced biomass production and lipid accumulation by co-cultivation of *Chlorella vulgaris* with *Azotobacter mesorhizobium* sp.. *China Biotechnol*, 2019, 39(7): 56-64 (in Chinese).
- [12] Xu L, Cheng X, Wang Q. Enhanced lipid production in *Chlamydomonas reinhardtii* by co-culturing with *Azotobacter chroococcum*. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 741.
- [13] 王瑞民. 栅藻(*Scenedesmus obliquus*)的藻菌共生体系的构建及调控[D]. 北京: 中国科学院研究生院(过程工程研究所), 2015.
- Wang RM. Construction and regulation of algal-bacterial symbiosis system of *Scenedesmus obliquus* [D]. Beijing: Graduate School of Chinese Academy of Sciences (Institute of process Engineering), 2015 (in Chinese).
- [14] 刘方舟. 粘红酵母—小球藻共培养体系强化油脂积累研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019.
- Liu FZ. Study on enhancing lipid accumulation by co-culture system of *Rhodotorula glutinis* and *Chlorella vulgaris* [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019 (in Chinese).
- [15] Xue F, Miao J, Zhang X, et al. A new strategy for lipid production by mix cultivation of *Spirulina platensis* and *Rhodotorula glutinis*. *Appl Biochem Biotechnol*, 2010, 160(2): 498-503.
- [16] 张靖洁, 段露露, 程蔚兰, 等. 菌藻共生提高小球藻生物量和产油率. *生物技术通报*, 2019, 35(5): 76-84.
- Zhang JJ, Duan LL, Cheng WL, et al. Algae-bacteria symbiosis increases biomass and oil production of *Chlorella emersonii*. *Biotechnol Bull*, 2019, 35(5): 76-84 (in Chinese).
- [17] Berthold DE, Shetty KG, Jayachandran K, et al. Enhancing algal biomass and lipid production through bacterial co-culture. *Biomass Bioenergy*, 2019, 122: 280-289.
- [18] 秦磊. 微藻-酵母混合培养强化沼液生物转化及其分子机制研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018.
- Qin L. Enhanced bioconversion and molecular mechanism investigation of the mixed culture of microalga and yeast in liquid digestate [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018 (in Chinese).
- [19] 段露露, 杭伟, 程宇娇, 等. 杜氏盐藻促生菌株的分离与鉴定. *生物技术通报*, 2020, 36(5): 169-175.
- Duan LL, Hang W, Cheng YJ, et al. Isolation and identification of the growth-promoting bacteria from pbycosphere of *Dunaliella salina*. *Biotechnol Bull*, 2020, 36(5): 169-175 (in Chinese).
- [20] Toyama T, Hanaoka T, Yamada K, et al. Enhanced production of biomass and lipids by *Euglena gracilis* via co-culturing with a microalga growth-promoting bacterium, *Emticicia* sp. EG3. *Biotechnol Biofuels*, 2019, 12(1): 1-12.
- [21] 谢章彰. 菌藻共培养促进微藻生长的研究及其相互作用机制探索[D]. 广州: 华南理工大学, 2017.
- Xie ZZ. Growth of microalgae promoted by co-culturing with *Cellvibrio pealriver* and its mechanism research [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2017 (in Chinese).
- [22] Kazamia E, Czesnick H, Nguyen TT, et al. Mutualistic interactions between vitamin B₁₂-dependent algae and heterotrophic bacteria exhibit regulation. *Environ Microbiol*, 2012, 14(6): 1466-1476.
- [23] Mazur H, Konop A, Synak R. Indole-3-acetic acid in the culture medium of two axenic green microalgae. *J Appl Phycol*, 2001, 13(1): 35-42.
- [24] Subashchandrabose SR, Ramakrishnan B, Megharaj M, et al. Consortia of cyanobacteria/microalgae and bacteria: biotechnological potential. *Biotechnol Adv*, 2011, 29(6): 896-907.
- [25] Qu WY, Zhang CF, Chen X, et al. New concept in swine wastewater treatment: development of a self-sustaining synergetic microalgae-bacteria symbiosis (ABS) system to achieve environmental sustainability. *J Hazard Mater*, 2021, 418: 126264.
- [26] Wang SK, Wang X, Tao HH, et al. Heterotrophic culture of *Chlorella pyrenoidosa* using sucrose as the sole carbon source by co-culture with immobilized yeast. *Bioresour Technol*, 2018, 249: 425-430.
- [27] Zhou WG, Min M, Hu B, et al. Filamentous fungi assisted bio-flocculation: a novel alternative technique

- for harvesting heterotrophic and autotrophic microalgal cells. *Sep Purif Technol*, 2013, 107: 158-165.
- [28] Zhao Y, Guo G, Sun S, et al. Co-pelletization of microalgae and fungi for efficient nutrient purification and biogas upgrading. *Bioresour Technol*, 2019, 289: 121656.
- [29] Wrede D, Taha M, Miranda AF, et al. Co-cultivation of fungal and microalgal cells as an efficient system for harvesting microalgal cells, lipid production and wastewater treatment. *PLoS One*, 2014, 9(11): e113497.
- [30] 马浩天, 李润植, 张宏江, 等. 基于微藻培养处理畜禽养殖废水的研究进展. *生物技术通报*, 2018, 34(11): 83-90.
- Ma HT, Li RZ, Zhang HJ, et al. Research progress on the treatment of wastewater from poultry and livestock breeding based on the microalgae cultivation. *Biotechnol Bull*, 2018, 34(11): 83-90 (in Chinese).
- [31] 赵飞燕, 余旭亚, 徐军伟, 等. 共培养微藻 *Monoraphidium* sp. FXY-10 与 *Chlorella* sp. U4341 提高油脂产率与沉降率. *中国油脂*, 2018, 43(2): 104-109.
- Zhao FY, Yu XY, Xu JW, et al. Enhancement of lipid productivity and flocculation by co-cultivation of *Chlorella* sp. U4341 and *Monoraphidium* sp. FXY-10. *China Oils Fats*, 2018, 43(2): 104-109 (in Chinese).
- [32] 吴皓. 海洋微藻种间混合培养效应[D]. 广州: 暨南大学, 2017.
- Wu H. Effect of marine microalgae in mix-culture of different species [D]. Guangzhou: Jinan University, 2017 (in Chinese).
- [33] Arora N, Patel A, Mehtani J, et al. Co-culturing of oleaginous microalgae and yeast: paradigm shift towards enhanced lipid productivity. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2019, 26(17): 16952-16973.
- [34] Ramanan R, Kim BH, Cho DH, et al. Algae-bacteria interactions: evolution, ecology and emerging applications. *Biotechnol Adv*, 2016, 34(1): 14-29.
- [35] Ahmad I, Fatma Z, Yazdani SS, et al. DNA barcode and lipid analysis of new marine algae potential for biofuel. *Algal Res*, 2013, 2(1): 10-15.
- [36] 刘乐然. 藻菌共生系统深度处理二级出水的条件优化研究[D]. 济南: 山东建筑大学, 2020.
- Liu (L/Y)R. Study on the condition optimization of advanced treatment of secondary effluent by algae bacterial symbiosis system [D]. Jinan: Shandong Jianzhu University, 2020 (in Chinese).
- [37] 孙宏, 李园成, 王新, 等. 菌藻共生系统在生猪养殖污水处理中的应用及其互作机制的研究进展. *中国畜牧杂志*, 2021, 57(2): 11-16.
- Sun H, Li YC, Wang X, et al. Research progress on the role of microalgal-bacterial consortia in nutrients removal of piggery wastewater and its interaction mechanism. *Chin J Animal Sci*, 2021, 57(2): 11-16 (in Chinese).
- [38] Seyedsayamdost MR, Case RJ, Kolter R, et al. The Jekyll-and-Hyde chemistry of *Phaeobacter gallaeciensis*. *Nat Chem*, 2011, 3(4): 331-335.
- [39] Wang H, Tomasch J, Jarek M, et al. A dual-species co-cultivation system to study the interactions between *Roseobacters* and *Dinoflagellates*. *Front Microbiol*, 2014, 5: 311.
- [40] Kim BH, Ramanan R, Cho DH, et al. Role of *Rhizobium*, a plant growth promoting bacterium, in enhancing algal biomass through mutualistic interaction. *Biomass Bioenergy*, 2014, 69: 95-105.
- [41] Yang QC, Chen LN, Hu XL, et al. Toxic effect of a marine bacterium on aquatic organisms and its algicidal substances against *Phaeocystis globosa*. *PLoS One*, 2015, 10(2): e0114933.
- [42] Zhou J, Lyu Y, Richlen M, et al. Quorum sensing is a language of chemical signals and plays an ecological role in algal-bacterial interactions. *CRC Crit Rev Plant Sci*, 2016, 35(2): 81-105.
- [43] Hom EFY, Aiyar P, Schaeme D, et al. A chemical perspective on microalgal-microbial interactions. *Trends Plant Sci*, 2015, 20(11): 689-693.
- [44] Zhang B, Lens PNL, Shi W, et al. The attachment potential and N-acyl-homoserine lactone-based quorum sensing in aerobic granular sludge and algal-bacterial granular sludge. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2018, 102(12): 5343-5353.
- [45] Zhang W, Li C. Exploiting quorum sensing interfering strategies in Gram-negative bacteria for the enhancement of environmental applications. *Front Microbiol*, 2015, 6: 1535.
- [46] Amin SA, Hmelo LR, Van Tol HM, et al. Interaction and signalling between a cosmopolitan phytoplankton and associated bacteria. *Nature*, 2015, 522(7554): 98-101.
- [47] Mitsutani A, Yamasaki I, Kitaguchi H, et al. Analysis of algicidal proteins of a diatom-lytic marine bacterium *Pseudoalteromonas* sp. strain A25 by two-dimensional electrophoresis. *Phycologia*, 2001, 40(3): 286-291.
- [48] Küpper FC, Müller DG, Peters AF, et al. Oligoalginat recognition and oxidative burst play a key role in natural and induced resistance of sporophytes of laminariales. *J Chem Ecol*, 2002, 28(10): 2057-2081.

- [49] Inderjit, Wardle DA, Karban R, et al. The ecosystem and evolutionary contexts of allelopathy. *Trends Ecol Evol*, 2011, 26(12): 655-662.
- [50] Montgomery K, Charlesworth JC, LeBard R, et al. Quorum sensing in extreme environments. *Life (Basel)*, 2013, 3(1): 131-148.
- [51] Kouzuma A, Watanabe K. Exploring the potential of algae/bacteria interactions. *Curr Opin Biotechnol*, 2015, 33: 125-129.
- [52] Juneja A, Ceballos R, Murthy G. Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: a review. *Energies*, 2013, 6(9): 4607-4638.
- [53] Huo S, Dong R, Wang Z, et al. Available resources for algal biofuel development in China. *Energies*, 2011, 4(9): 1321-1335.
- [54] Kitcha S, Cheirsilp B. Enhanced lipid production by co-cultivation and co-encapsulation of oleaginous yeast *Trichosporonoides spathulata* with microalgae in alginate gel beads. *Appl Biochem Biotechnol*, 2014, 173(2): 522-534.
- [55] Zhang D, Xue S, Sun Z, et al. Investigation of continuous-batch mode of two-stage culture of *Nannochloropsis* sp. for lipid production. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2014, 37(10): 2073-2082.
- [56] Griffiths MJ, Harrison STL. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. *J Appl Phycol*, 2009, 21(5): 493-507.
- [57] Gultom S, Hu B. Review of microalgae harvesting via co-pelletization with filamentous fungus. *Energies*, 2013, 6(11): 5921-5939.
- [58] Jiang XY, Liu L, Chen JH, et al. Effects of *Xanthophyllomyces dendrorhous* on cell growth, lipid, and astaxanthin production of *Chromochloris zofingiensis* by mixed culture strategy. *J Appl Phycol*, 2018, 30(6): 3009-3015.
- [59] Sitepu IR, Sestric R, Ignatia L, et al. Manipulation of culture conditions alters lipid content and fatty acid profiles of a wide variety of known and new oleaginous yeast species. *Bioresour Technol*, 2013, 144: 360-369.
- [60] Ramos MJ, Fernández CM, Casas A, et al. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. *Bioresour Technol*, 2009, 100(1): 261-268.
- [61] 赵飞燕. 共培养促进微藻自絮凝沉降的研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2019.
- Zhao FY. Study on co-culture induced self-flocculation for harvesting of microalgae [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2019 (in Chinese).
- [62] Saini RK, Keum YS. Microbial platforms to produce commercially vital carotenoids at industrial scale: an updated review of critical issues. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2019, 46(5): 657-674.
- [63] Zhang Z, Pang Z, Xu S, et al. Improved carotenoid productivity and COD removal efficiency by co-culture of *Rhodotorula glutinis* and *Chlorella vulgaris* using starch wastewaters as raw material. *Appl Biochem Biotechnol*, 2019, 189(1): 193-205.
- [64] Cheng PF, Cheng JJ, Cobb K, et al. *Tribonema* sp. and *Chlorella zofingiensis* co-culture to treat swine wastewater diluted with fishery wastewater to facilitate harvest. *Bioresour Technol*, 2020, 297: 122516.
- [65] Makut BB, Das D, Goswami G. Production of microbial biomass feedstock via co-cultivation of microalgae-bacteria consortium coupled with effective wastewater treatment: a sustainable approach. *Algal Res*, 2019, 37: 228-239.
- [66] 黄伟伟, 毕生雷, 杨迪, 等. 异养小球藻细胞采收方法的研究. *中国农业科技导报*, 2021, 23(1): 186-193.
- Huang WW, Bi SL, Yang D, et al. Study on the collecting method of heterotrophic *Chlorella* cells. *J Agric Sci Technol*, 2021, 23(1): 186-193 (in Chinese).
- [67] Barros AI, Gonçalves AL, Simões M, et al. Harvesting techniques applied to microalgae: a review. *Renew Sustain Energy Rev*, 2015, 41: 1489-1500.
- [68] 于殿江, 施定基, 何培民, 等. 微藻规模化培养研究进展. *微生物学报*, 2021, 61(2): 333-345.
- Yu DJ, Shi DJ, He PM, et al. Progress in large-scale culture of microalgae. *Acta Microbiol Sin*, 2021, 61(2): 333-345 (in Chinese).
- [69] 樊华, 韩佩, 王菁晗, 等. 微藻生物采收技术的现状和展望. *生物学杂志*, 2017, 34(2): 26-32.
- Fan H, Han P, Wang JH, et al. Status and prospects of microalgae harvesting with biological flocculation. *J Biol*, 2017, 34(2): 26-32 (in Chinese).
- [70] MacKay S, Gomes E, Holliger C, et al. Harvesting of *Chlorella sorokiniana* by co-culture with the filamentous fungus *Isaria fumosorosea*: a potential sustainable feedstock for hydrothermal gasification. *Bioresour Technol*, 2015, 185: 353-361.
- [71] Salim S, Bosma R, Vermue MH, et al. Harvesting of microalgae by bio-flocculation. *J Appl Phycol*, 2011, 23(5): 849-855.

(本文责编 陈宏宇)