



专论与综述

酰基高丝氨酸内酯(AHLs)介导群感效应在好氧颗粒污泥中的研究进展

崔理慧 万俊锋*

郑州大学生态与环境学院 河南 郑州 450001

摘要: 虽然好氧颗粒污泥(Aerobic Granular Sludge, AGS)具有沉降性能好、高效脱氮除磷以及抗冲击负荷等优点,但是该技术仍然存在颗粒化进程缓慢及容易解体等技术瓶颈。因此,如何克服上述瓶颈是实现好氧颗粒污泥技术在实际污水处理推广的关键。近年来,酰基高丝氨酸内酯(Acyl Homoserine Lactone, AHL)介导的微生物群感效应(Quorum Sensing, QS)成为微生物领域的研究热点,而有研究报道采用 AHLs 介导的微生物群感效应对活性污泥快速颗粒化以及颗粒稳定有积极作用,具体作用途径包括投加 AHLs 促进活性污泥胞外聚合物(Extracellular Polymeric Substances, EPS)的分泌并影响微生物群落结构。本文首先回顾关于 AHLs 对污水处理过程中微生物的作用机理,讨论了不同环境因素(包括底物类型、电子受体、污泥浓度、pH 值、温度)对微生物产生 AHLs 数量的影响,总结 AHLs 外源添加或引入产 AHLs 功能菌株的方法,进而通过 AHLs 调控污泥的快速颗粒化和长期稳定。最后,本文提出了 AHLs 介导的群感效应在好氧颗粒污泥技术上的未来研究方向。

关键词: 好氧颗粒污泥, 颗粒化, 群感效应, 酰基高丝氨酸内酯

Research progress of acyl homoserine lactones (AHLs) based quorum sensing in aerobic granular sludge

CUI Lihui WAN Junfeng*

School of Ecology and Environment, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450001, China

Abstract: Although the aerobic granular sludge (AGS) has the advantages of good settling property, high efficiencies of nitrogen and phosphorus removal, and better resistance to shock loads, which still faces great challenges in practical sewage treatment application due to the bottleneck of slow granulation process and easy particle disintegration. In recent years, acyl homoserine lactone (AHL)-based microbial quorum sensing (QS) has become a hotspot in this field, and it may be of great significance to the rapid formation of activated sludge and particle stabilization, including the use of AHLs can increase the secretion of extracellular polymeric substances (EPS) and to optimize the change of microbial community structure. This paper reviews the mechanism of AHLs on microorganisms, further discusses the effects of different environmental factors (including substrates, electron acceptors, sludge concentration, pH, and

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (21107100); Major Project of Education Department in Henan Province (14A610007)

*Corresponding author: E-mail: wanjunfeng@zzu.edu.cn

Received: 03-03-2020; Accepted: 24-04-2020; Published online: 30-06-2020

基金项目: 国家自然科学基金(21107100); 河南省教育厅重点项目(14A610007)

*通信作者: E-mail: wanjunfeng@zzu.edu.cn

收稿日期: 2020-03-03; 接受日期: 2020-04-24; 网络首发日期: 2020-06-30

temperature) on AHLs, and outlines the method of adding exogenous AHLs or AHLs-secreting strains which can ultimately achieve the rapid formation and long-term stability of aerobic granular sludge. Finally, the review discusses the prospect of future research for the application of AHLs-based quorum sensing in aerobic granular sludge technology.

Keywords: aerobic granular sludge, granulation process, quorum sensing, acyl homoserine lactone

作为一种特殊形式的生物膜,好氧颗粒污泥可以通过微生物共同参与自固定而形成颗粒状聚集体^[1]。与传统的絮状污泥相比,好氧颗粒污泥具有附着力强、沉降性能好、污染物去除率高、微生物丰富、抗冲击负荷等优点^[2]。1991年首次发现好氧颗粒污泥后,好氧颗粒污泥的形成机理及其应用一直是水处理领域的研究热点^[3]。但是,由于存在启动周期长和颗粒解体等问题^[4],好氧颗粒污泥工艺在实际应用过程中遇到了很大的挑战。

事实上,尽管不同实验提出和验证了好氧颗粒污泥形成的条件,但是在好氧颗粒污泥形成机理上仍然存在不清晰甚至争议的地方。近年来,以酰基高丝氨酸内酯(Acyl Homoserine Lactone, AHL)为代表的信号分子引起的群感效应(Quorum Sensing, QS)在生物膜形成及其影响方面成为研究的热点。如图1所示,关于AHLs介导的群感效应作用于好氧污泥颗粒化的研究报道呈现日益增加的趋势。尤其最

近5年,关于群感效应对好氧颗粒污泥影响的研究报道呈现上升趋势。因此,本文拟结合文献报道和本课题组已有的研究,对AHLs介导的群感效应及其对好氧颗粒污泥技术的影响进行总结。

1 群感效应作用机理

群感效应是微生物通过分泌、积累和感知信号分子来协调其基因表达的现象^[5]。群感效应具有控制微生物行为的能力,如生物膜形成、生物发光、胞外酶分泌和抗生素合成等,它可以通过传递信号分子来实现^[6]。信号分子是生物体内的一些化学分子,主要用于在细胞内和细胞间传递信息^[7]。微生物中存在多种与群感效应有关的信号分子,包括种内信号分子AHLs、种间信号分子自体诱导分子(Autoinducer-2, AI-2)、种内和种间信号分子可扩散性信号分子(Diffusible Signal Factor, DSF)^[8]。由于革兰氏阴性菌在微生物中往往为优势微生物,因此群感效应的实现途径主要是革兰氏阴性菌的群感效

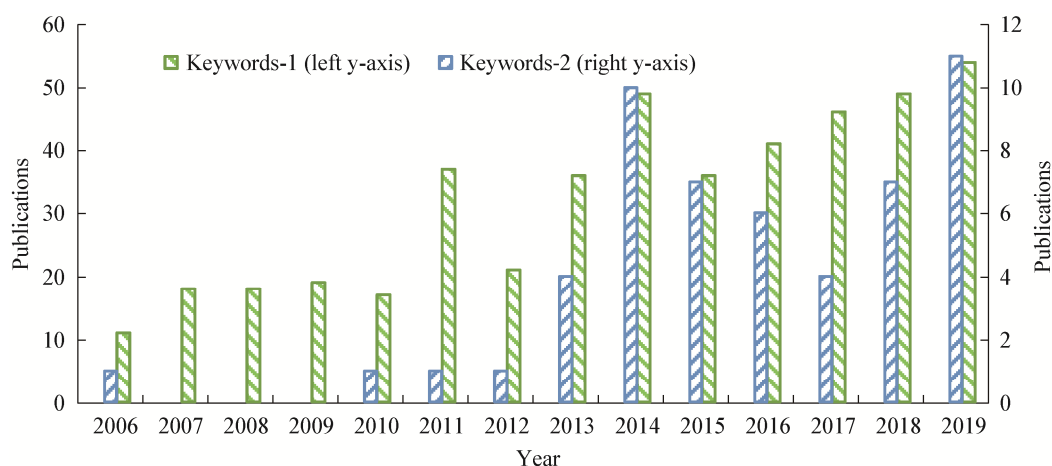


图1 最近(2006–2019)发表的关于好氧颗粒污泥中AHLs介导的群体感应的文章数量

Figure 1 Number of articles published in the recent time (2006–2019) on AHLs-mediated quorum sensing in aerobic granular sludge are shown with an interleaved bar diagram

注:通过Web of Science于2019年11月19日进行评估;关键词-1:群感效应和AHLs;关键词-2:群感效应和好氧颗粒污泥

Note: Assessed from Web of Science on 19th November 2019; Keywords-1: 'QS' and 'AHLs'; Keywords-2: 'QS' and 'AGS'

应^[9]。信号分子 AHLs 由一系列不同长度的碳链和一个高丝氨酸内酯环连接而成,是革兰氏阴性菌群感效应利用的主要信号分子^[10]。AHLs-QS 系统由 3 个部分组成:(1) AHLs 信号分子;(2) 产生 AHLs 信号的合成酶蛋白;(3) 感知和响应 AHLs 的受体蛋白(图 2)。AHLs 合成是由其合成酶蛋白(LuxI)来调节^[12],一开始 AHLs 的浓度很低,随着其浓度慢慢升高达到阈值时受体蛋白(LuxR)被高浓度的 AHLs 激活,形成复合物并诱导特性基因表达。

2 AHLs 信号分子对好氧颗粒污泥的影响

已有研究表明,AHLs 的存在对好氧颗粒污泥的形成和稳定具有重要作用^[13]。例如,有研究发现 AHLs 在成熟的大颗粒中的浓度高于粒径较小的颗粒污泥,这很可能意味着 AHLs 信号分子对成熟污泥颗粒有重要的影响^[14-15]。图 3 为 AHLs 介导的群感效应调控污泥颗粒化的影响机制图,AHLs 介导的群感效应对污泥颗粒化的影响主要归纳为 4 个方面。

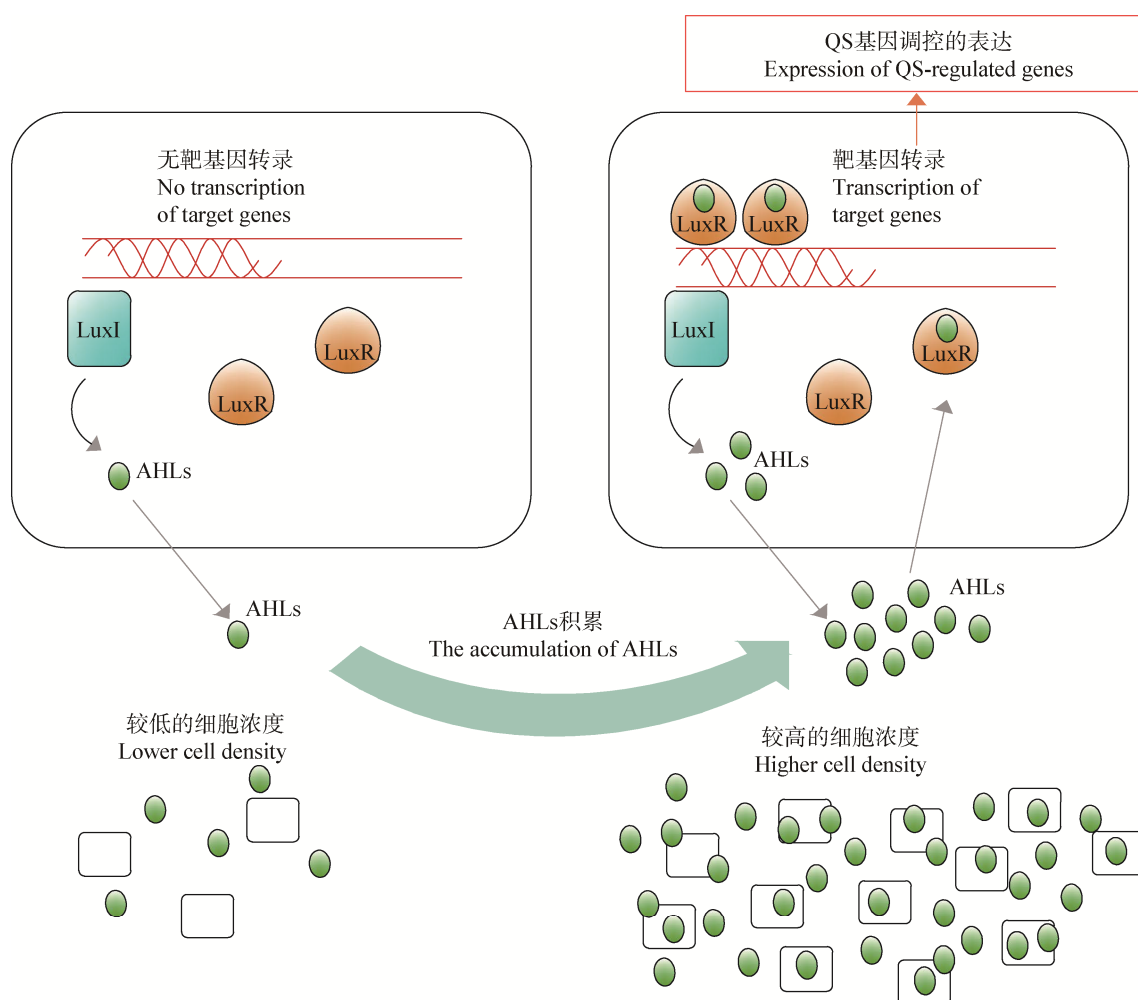


图 2 AHLs-QS 调控系统示意图^[11]

Figure 2 Schematic representation of AHLs-QS regulatory system^[11]

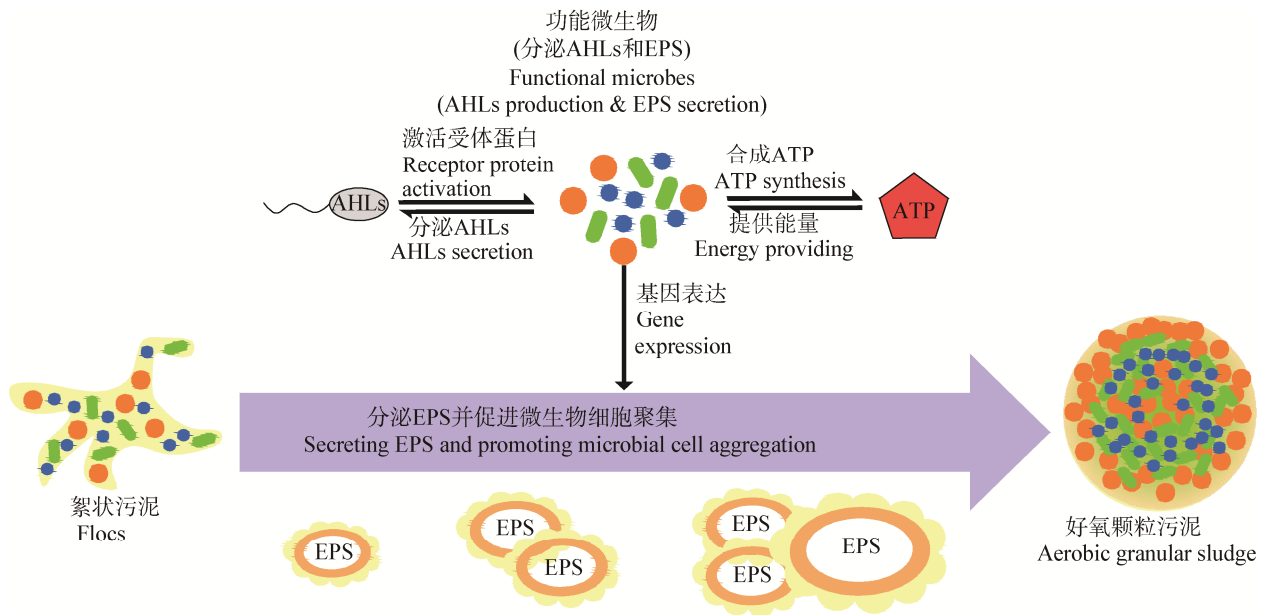


图3 AHLs-QS 调控污泥颗粒化的影响机制图

Figure 3 Schematic representation of sludge granulation regulated by AHLs-QS

2.1 AHLs 对好氧颗粒污泥中胞外聚合物的影响

胞外聚合物(Extracellular Polymeric Substances, EPS)是在微生物细胞表面分泌的有机高分子物质,其主要成分是多糖(Polysaccharide, PS)和蛋白质(Protein, PN),可以促进微生物细胞聚集,维持细胞结构的稳定性^[16]。有研究表明微生物分泌的 EPS 对好氧颗粒污泥的形成有重要影响, EPS 也被认为是形成生物膜和颗粒污泥的主要支架^[17-18]。大量研究表明,不同的 AHLs 都可以通过调节 EPS 浓度的方式来促进细菌聚集并形成生物膜。Ma 等在实验中加入在颗粒污泥中普遍存在的 2 种 AHLs (C_8 -HSL 和 C_{10} -HSL), 实验结果证实其浓度与 EPS 的含量呈正相关^[19]。Ding 等发现 AHLs 对污泥颗粒化的促进机制主要与 AHLs 调节 EPS 的含量有关,其中 C_4 -HSL 可以显著促进 PN 的形成,但对 PS 的影响不明显^[20]。Li 等发现投加 AHLs (C_6 -HSL、3-oxo- C_6 -HSL)的颗粒污泥比未投加 AHLs 的颗粒污泥中 EPS 的含量高,其中明显提高了 PN 的含量^[21]。这些结果说明 AHLs 对好氧颗粒污泥中 PN 的调节作用更强。由于微生物细胞表面间的疏水性相互作用

用被认为是颗粒化过程中细胞与细胞黏附的主要机理^[11], 高含量的 PN 不仅有利于反映初期活性污泥的颗粒化进程,而且在成熟阶段可以增加颗粒污泥表面的疏水性,有利于功能微生物附着在颗粒污泥表面,提高颗粒的稳定性。

2.2 AHLs 对好氧颗粒污泥中 ATP 的影响

ATP 是微生物分解代谢基质过程中生成的高能量分子,并为微生物的新陈代谢提供能量来源^[22]。大多数研究表明,活性污泥中分子信号合成过程依赖于 ATP,例如细菌细胞中 ATP 可以调节微生物群落中的群感效应自诱导物(AHLs 和 AI-2)的生成。另外一方面,群感效应也可以调节微生物的活性,包括影响 ATP 的生成^[23]。Al-Kharusi 等通过添加 AHLs 的方法促进了细菌细胞中 ATP 的合成^[24]。Zhang 等发现当颗粒污泥结构由稳定变为不稳定的过程中,ATP 含量会随着 AHLs 浓度的降低而降低,而且 ATP 的含量与 PN 的含量呈正相关,但是当 ATP 被破坏时即使加入 AHLs, EPS 的含量也不会增加,该结果表明,微生物群落中 AHLs 介导的群感效应调节着微生物体内 ATP 的合成,ATP 也可以

为 EPS 的合成和分泌提供能量, 有利于维持颗粒结构的稳定^[25]。该研究提出了通过群感效应改变微生物活性(ATP 的含量)调节 EPS 分泌的过程。

2.3 AHLs 对好氧颗粒污泥中沉降性能的影响

好氧颗粒污泥良好的沉降性能是好氧颗粒污泥的优点之一, 颗粒的沉降速度受粒径大小、污水的黏度及颗粒与水的密度差等诸多因素的影响^[26]。AHLs 介导的群感效应活性与污泥密度相关, 而且成熟的好氧颗粒污泥中 AHLs 的浓度高于絮状污泥^[13]。由于加入 AHLs 降解酶导致 AHLs 失活后会使得 EPS 浓度降低并破坏颗粒结构, 从而影响颗粒沉降性能^[27]。另一方面, Lv 等实验发现胞外蛋白与好氧颗粒污泥的附着生物量呈显著正相关, 而胞外蛋白与 AHLs 含量之间也存在显著的正相关关系, 这说明 AHLs 介导的群感效应可以通过调节胞外蛋白的分泌并参与好氧颗粒污泥的微生物黏附^[15]。由此可见, AHLs 介导的群感效应可以强化好氧颗粒污泥的沉降性能。

2.4 AHLs 对好氧颗粒污泥中微生物群落的影响

微生物群落由多种微生物共同组成, 具有不同的代谢功能, 共同表现群落水平^[28]。复杂生物膜的整体组成和各种性能通常由不同微生物之间的相互作用决定, 而信号分子是这一过程中的关键“连接者”^[11]。因此, 信号分子 AHLs 的生成和淬灭对微生物群落具有重要作用。颗粒污泥中内部发现也往往包括 AHLs 生成菌和淬灭菌^[29]。一些研究发现, 好氧颗粒污泥中存在一些与 AHLs 生成或淬灭相关的属(表 1)。Li 等实验证明, 改变 AHLs 生成和淬灭对活性污泥的细菌群落结构有显著改变, 而且他们还观察到了当 AHLs 生成菌和 AHLs 淬灭菌共存时, 好氧颗粒具有较强的 AHLs 淬灭能力^[40]。Mellbye 等研究发现, 维氏硝化杆菌(*Nitrobacter winogradskyi*)可能生成 C₁₀-HSL^[41], 而欧洲亚硝化单胞菌(*Nitrosomonas europaea*)也可以生成 C₁₀-HSL^[42]。Chong 等和 Schuster 等证实气单胞菌属(*Aeromonas*)可以通过 AHLs 合成酶蛋白(LuxI)生成 C₄-HSL 和 C₆-HSL^[43-44]。这些结果说明, 某些菌属

表 1 好氧颗粒污泥中与 AHLs 相关的菌属
Table 1 Genera of AHLs-related activity in aerobic granular sludge

菌属 Genus	AHLs 生成 AHL-producing	AHLs 淬灭 AHL-quenching	参考文献 References
溶杆菌属 <i>Lysobacter</i>	+	-	[29]
气单胞菌属 <i>Aeromonas</i>	+	-	[30]
短波单胞菌属 <i>Brevundimonas</i>	-	+	[29]
不动杆菌属 <i>Acinetobacter</i>	+	+	[31]
金黄杆菌属 <i>Chryseobacterium</i>	-	+	[32]
嗜酸菌属 <i>Acidovorax</i>	+	+	[29]
黄杆菌属 <i>Flavobacterium</i>	-	+	[29]
红杆菌属 <i>Rhodobacter</i>	+	+	[33]
新鞘脂菌属 <i>Novosphingobium</i>	+	+	[33]
假黄色单胞菌属 <i>Pseudoxanthomonas</i>	-	+	[29]
剑菌属 <i>Ensifer</i>	+	+	[34]
申氏杆菌属 <i>Shinella</i>	+	-	[34]
亚硝化单胞菌属 <i>Nitrosomonas</i>	+	-	[32]
泛生菌属 <i>Pantoea</i>	+	-	[35]
硝化螺旋菌属 <i>Nitrospira</i>	+	-	[36]
鞘脂菌属 <i>Sphingopyxis</i>	-	+	[30]
包西氏菌属 <i>Bosea</i>	-	+	[29]
细杆菌属 <i>Microbacterium</i>	-	+	[37]
假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	+	+	[38]
地杆菌属 <i>Pedobacter</i>	-	+	[29]
丛毛单胞菌属 <i>Comamonas</i>	-	+	[39]

注: +: 与 AHLs 生成/淬灭相关; -: 与 AHLs 生成/淬灭无关
Note: +: Related to AHLs producing/quenching; -: Not related to AHLs producing/quenching

与 AHLs 的含量呈正相关,而 AHLs 的含量和类型对微生物相互通讯至关重要。但高相关性的菌属并不总是 AHLs 的直接生成者或淬灭者,一些不具有 AHLs 生成或淬灭能力的菌属也可能受其他菌属诱导的群感效应影响,从而使相关性变强^[45]。另外,Zhang 等实验发现在好氧颗粒污泥稳定时期,主要分泌 AHLs 的微生物红杆菌属(*Rhodobacter*)、黄单胞菌属(*Xanthomonadaceae*)和硝化螺旋菌属(*Nitrospira*)大量富集,当颗粒开始不稳定时,具有生成 AHLs 的功能微生物数量急剧下降^[25]。

3 好氧颗粒污泥中 AHLs 的变化规律

高浓度 AHLs 有利于颗粒形成,而低浓度 AHLs 则会导致颗粒解体。因此,在废水处理过程中可以通过保持高浓度 AHLs 来降低 AHLs 淬灭菌影响,实现好氧颗粒物稳定。

3.1 环境因素

各种环境因素不仅影响好氧颗粒污泥的特性,也对 AHLs 及其介导的群感效应有显著影响^[46-47]。Li 等在不同的实验条件下(底物类型、电子受体、污泥浓度、pH 值、温度)培养了好氧颗粒污泥,结果发现 AHLs 生成和淬灭活性对底物、电子受体、污泥浓度、pH 值和温度变化敏感,最佳运行参数如表 2 所示。与 AHLs 淬灭活性相比,AHLs 生成活性对这些环境因素变化更敏感^[48]。AHLs 的生成高度依赖于生长温度,同时伴随表型变化^[49]。另外,AHLs 生成菌和 AHLs 淬灭菌也有各自最适的 pH 和温度。环境因素对 AHLs 活性的影响具有重要作用,从而影响 AHLs 介导的群感效应,因此在环境中调控 AHLs 介导的群感效应是一个很复杂的过程。

3.2 有机负荷

有机负荷是影响好氧颗粒污泥形成和颗粒特性的关键因素^[50-51],通常较高的有机负荷率会促进更大、更疏松的颗粒快速形成^[52]。在低有机负荷条件下研究 AHLs 介导的群感效应与好氧颗粒污

泥的关系也很有必要。Chen 等发现当有机负荷率为 0.15 kg-COD/(m³·d)时(表 2),长链 AHLs (C₁₀-HSL 和 C₁₂-HSL)在污泥中逐渐占主导地位,而短链 AHLs (C₄-HSL、C₆-HSL 和 3-oxo-C₆-HSL)在水中占主导地位,而且 AHLs 介导的群感效应可以利用 C₁₀-HSL、C₁₂-HSL 和 3-oxo-C₆-HSL 作为关键 AHLs 来促进好氧污泥颗粒化^[14]。

3.3 污泥停留时间

众所周知,污泥停留时间是影响颗粒化的重要因素之一^[53]。在污泥停留时间较短的条件下,活性污泥具有较高的多样性^[54]。Zhang 等在污泥停留时间不同的反应器内进行实验,结果发现 AHLs (C₈-HSL、3OHC₈-HSL 和 3OHC₁₂-HSL)在污泥停留时间为 6 d 的反应器内富集(表 2),而且富集了具有生成 AHLs 和分泌 EPS 功能的微生物黄单胞菌属(*Xanthomonadaceae*),另外还发现了 C₈-HSL 和 3OHC₈-HSL 的浓度与色氨酸和蛋白质类物质等主要 EPS 的浓度呈正相关,从而促进了好氧污泥的颗粒化^[55]。由此可见,控制污泥停留时间的方法可以提高微生物生成 AHLs 和分泌 EPS 的能力,促进形成具有良好稳定性能的好氧颗粒污泥。

表 2 好氧颗粒污泥系统中促进 AHLs 生成的最佳运行条件

Table 2 The best operating conditions to promote the generation of AHLs in aerobic granular sludge

条件	最佳运行条件	参考文献
Condition	Best operating condition	References
底物	醋酸钠	[49]
Substrate	Sodium acetate	
污泥浓度	6 000	[48]
Sludge concentration (mg/L)		
pH	5.5	[48]
温度	25	[48]
Temperature (°C)		
有机负荷	0.15	[14]
Organic load (kg-COD/(m ³ ·d))		
污泥停留时间	6	[38]
Sludge retention time (d)		

4 好氧颗粒污泥中 AHLs 的应用

AHLs 普遍存在于好氧颗粒污泥中, 基于 AHLs 的群感效应对颗粒污泥的性质有着重要作用。值得注意的是, 可以通过人工提高 AHLs 介导的群感效应, 如外源添加 AHLs 或增加产 AHLs 的菌株来提高颗粒污泥的稳定性。

4.1 外源 AHLs 在好氧颗粒污泥中的应用

有研究表明, 在 SBRs 中 AHLs 介导的群感效应与好氧污泥颗粒化之间具有良好的正相关性^[56]。如图 4 所示, AHLs 介导的群感效应不仅有利于颗粒污泥中的微生物生成 EPS 来促进好氧污泥颗粒化^[23], 而且同时通过调节作为 EPS 疏水组分的胞外蛋白 PN 来促进好氧颗粒物的微生物附着^[15]。许多研究者通过投加外源性 AHLs 来探讨其在好氧颗粒污泥系统中的作用。Tan 等^[29]向反应器中添加 40 μL 的 AHLs (3-oxo-C₆-HSL、3-oxo-C₈-HSL、3-oxo-C₁₂-HSL 和 C₆-HSL), 显著增加了 PS (14%–36%) 和 PN (7%–16%) 的含量, 也使 PS/PN 的比值从 0.21 增加到 0.24。Li 等发现外源 AHLs (C₆-HSL、3-oxo-C₆-HSL、C₈-HSL、3-oxo-C₈-HSL、C₁₀-HSL 和 3-oxo-C₁₀-HSL) 的加入提高了 EPS 生成量, 并且促进了污泥的颗粒化过程^[21]。然而, 单独加入 C₄-HSL 可以促进 PN 的形成, 但不促进 PS 的形成^[45]。由此可见, 加入外源 AHLs 会改变颗粒污

泥系统, 但加入单一类别的 AHLs (如 C₄-HSL) 可能不如添加多种 AHLs 的效果明显。另外要注意一点, 添加较高浓度的 AHLs 会破坏系统平衡, 从而降低细菌特别是硝化细菌的活性^[6]。目前, AHLs 自身的高成本也限制了外源投加 AHLs 这种调控方法在实际工程研究中的大规模应用。

4.2 产 AHLs 菌株在好氧颗粒污泥中的应用

考虑到 AHLs 是由某些微生物分泌的, 与直接外源添加 AHLs 信号分子相比, 添加 AHLs 分泌菌株是一种较为经济有效的生物方法(图 4)。Zhang 等从好氧颗粒污泥中分离出了 7 种具有较高分泌 AHLs 能力的菌株 Z1、K5、K33、Z20、K46、K55 和 K58, 每种菌株至少生成了 2 种 AHLs (C₆-HSL、C₈-HSL、C₈-HSL、C₁₀-HSL)^[57]。Gao 等也从好氧颗粒污泥中分离出了属于气单胞菌属的 A-L3 菌株, 并将其加入反应器中培养, 发现 A-L3 菌株在反应器中大量分泌 C₄-HSL 和 C₆-HSL, 促进了好氧颗粒的形成并提高了出水水质, 菌株 A-L3 来自颗粒污泥, 并且对系统表现出很高的适应性, 因此, 其可以迅速进入工作状态来分泌信号分子并调节微生物的生理功能^[58]。然而 Li 等在实验过程中向反应器中投加了 50 mL 产 AHLs 的菌 AG384, 结果发现 AHLs 的浓度有所增加, 对细菌群落结构有明显影响, 但颗粒污泥的理化性质却没有发生明显变

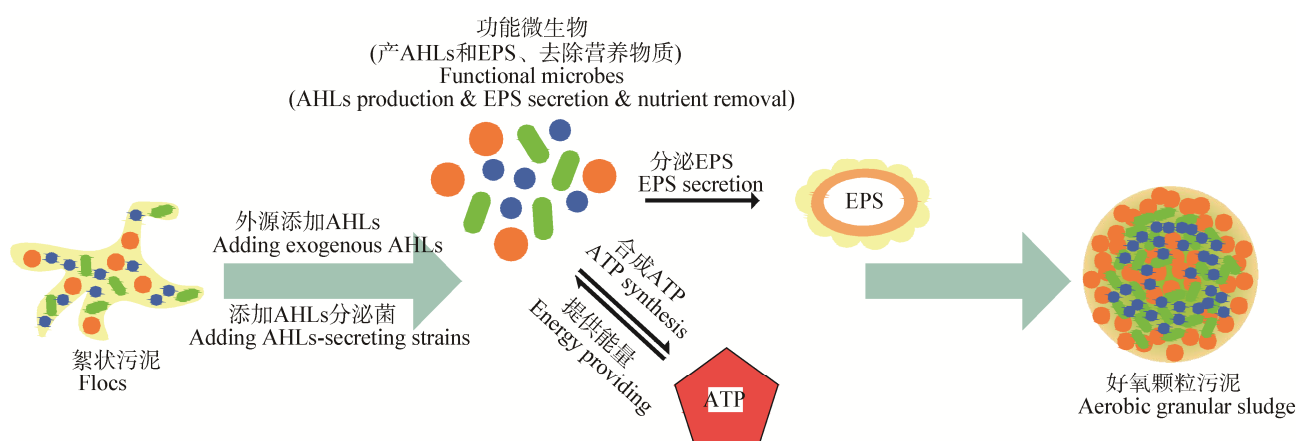


图 4 通过外源添加 AHLs 或增加产 AHLs 菌株来促进好氧污泥颗粒化示意图

Figure 4 Diagram of promoting aerobic sludge granulation by adding exogenous AHLs or AHLs-secreting strains

化^[59]。这说明在某些情况下,将纯培养的产 AHLs 菌直接应用到高度复杂的活性污泥系统中还存在一些问题,需要进行深入研究。总体来讲,通过添加产 AHLs 菌株提高分子信号含量是一种经济可行的调控方法,能够加速颗粒形成并维持颗粒的长期稳定。

5 结语与展望

目前,有关 AHLs-QS 体系对好氧颗粒污泥技术的影响方面取得了一些研究进展。通过外源添加 AHLs 或增加产 AHLs 菌株的方法可以实现颗粒污泥快速形成和长期稳定。需要指出的是,未来还需要从以下几个方面开展深入研究:(1) 为了更准确地分析 AHLs-QS 体系对好氧颗粒污泥的作用机理,需要开发定量分析不同种类 AHLs 的实时检测方法;(2) 由于 AHLs 生成和淬灭相关的微生物对系统运行参数非常敏感,需要深入开展反应系统的运行参数优化;(3) 尽管在实验室规模下的好氧颗粒污泥反应系统中外源添加 AHLs 或增加产 AHLs 菌株调控方法取得了成功,仍需要尽快探索在污水处理实际工程规模下 AHLs-QS 的具体调控方法,从而最终促进好氧颗粒污泥技术在污水处理上的推广应用。

REFERENCES

- [1] Franca RDG, Pinheiro HM, Van Loosdrecht MCM, Lourenço ND. Stability of aerobic granules during long-term bioreactor operation[J]. *Biotechnology Advances*, 2018, 36(1): 228-246
- [2] Nanchaiah YV, Reddy GKK. Aerobic granular sludge technology: mechanisms of granulation and biotechnological applications[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 247: 1128-1143
- [3] Derlon N, Wagner J, Da Costa RHR, Morgenroth E. Formation of aerobic granules for the treatment of real and low-strength municipal wastewater using a sequencing batch reactor operated at constant volume[J]. *Water Research*, 2016, 105: 341-350
- [4] Lang LQ, Wan JF, Zhang J, Wang J, Wang Y. Interaction between phosphorus removal and hybrid granular sludge formation under low hydraulic selection pressure at alternating anaerobic/aerobic conditions[J]. *Environmental Technology*, 2015, 36(21): 2746-2754
- [5] Waters CM, Bassler BL. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria[J]. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 2005, 21(1): 319-346
- [6] Hu HZ, He JG, Liu J, Yu HR, Zhang J. Biofilm activity and sludge characteristics affected by exogenous N-acyl homoserine lactones in biofilm reactors[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 211: 339-347
- [7] Basudhar D, Ridnour LA, Cheng R, Kesarwala HA, Heinecke J, Wink DA. Biological signaling by small inorganic molecules[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2016, 306: 708-723
- [8] Feng HJ, Ding YC, Wang MZ, Zhou GL, Zheng X, He HZ, Zhang XQ, Shen DS, Shentu J. Where are signal molecules likely to be located in anaerobic granular sludge?[J]. *Water Research*, 2014, 50: 1-9
- [9] Dobretsov S, Teplitski M, Paul V. Mini-review: quorum sensing in the marine environment and its relationship to biofouling[J]. *Biofouling*, 2009, 25(5): 413-427
- [10] Liu JB, Eng CY, Ho JS, Chong TH, Wang L, Zhang PY, Zhou Y. Quorum quenching in anaerobic membrane bioreactor for fouling control[J]. *Water Research*, 2019, 156: 159-167
- [11] Huang JH, Yi KX, Zeng GM, Shi YH, Gu YL, Shi LX, Yu HB. The role of quorum sensing in granular sludge: Impact and future application: A review[J]. *Chemosphere*, 2019, 236: 124310
- [12] Fuqua C, Parsek MR, Greenberg EP. Regulation of gene expression by cell-to-cell communication: acyl-homoserine lactone quorum sensing[J]. *Annual Review of Genetics*, 2001, 35(1): 439-468
- [13] Maddela NR, Sheng BB, Yuan SS, Zhou ZB, Villamar-Torres R, Meng FG. Roles of quorum sensing in biological wastewater treatment: a critical review[J]. *Chemosphere*, 2019, 221: 616-629
- [14] Chen H, Li A, Cui CW, Ma F, Cui D, Zhao HP, Wang QL, Ni BJ, Yang JX. AHL-mediated quorum sensing regulates the variations of microbial community and sludge properties of aerobic granular sludge under low organic loading[J]. *Environment International*, 2019, 130: 104946
- [15] Lv JP, Wang YQ, Zhong C, Li YC, Hao W, Zhu JR. The effect of quorum sensing and extracellular proteins on the microbial attachment of aerobic granular activated sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 152: 53-58
- [16] Wang S, Ma XX, Wang YY, Du GC, Tay JH, Li J. Piggery wastewater treatment by aerobic granular sludge: granulation process and antibiotics and antibiotic-resistant bacteria removal and transport[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 273: 350-357
- [17] Liu J, Li J, Xie K, Sellamuthu B. Role of adding dried sludge micropowder in aerobic granular sludge reactor with extended filamentous bacteria[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 5: 51-58
- [18] Wan JF, Mozo I, Filali A, Liné A, Bessière Y, Spérandio M. Evolution of bioaggregate strength during aerobic granular

- sludge formation[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2011, 58-59: 69-78
- [19] Ma HJ, Wang XZ, Zhang Y, Hu HD, Ren HQ, Geng JJ, Ding LL. The diversity, distribution and function of *N*-acyl-homoserine lactone (AHL) in industrial anaerobic granular sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 247: 116-124
- [20] Ding YC, Feng HJ, Huang WK, Shen DS, Wang MZ. A sustainable method for effective regulation of anaerobic granular sludge: artificially increasing the concentration of signal molecules by cultivating a secreting strain[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 196: 273-278
- [21] Li AJ, Hou BL, Li MX. Cell adhesion, ammonia removal and granulation of autotrophic nitrifying sludge facilitated by *N*-acyl-homoserine lactones[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 196: 550-558
- [22] Olafsdottir LB, Whelan J, Snyder GM. A systematic review of adenosine triphosphate as a surrogate for bacterial contamination of duodenoscopes used for endoscopic retrograde cholangiopancreatography[J]. *American Journal of Infection Control*, 2018, 46(6): 697-705
- [23] Jiang B, Liu Y. Roles of ATP-dependent *N*-acylhomoserine lactones (AHLs) and extracellular polymeric substances (EPSs) in aerobic granulation[J]. *Chemosphere*, 2012, 88(9): 1058-1064
- [24] Al-Kharusi S, Abed RMM, Dobretsov S. Changes in respiration activities and bacterial communities in a bioaugmented oil-polluted soil in response to the addition of acyl homoserine lactones[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2016, 107: 165-173
- [25] Zhang ZM, Cao RJ, Jin LN, Zhu WT, Ji YT, Xu XY, Zhu L. The regulation of *N*-acyl-homoserine lactones (AHLs)-based quorum sensing on EPS secretion via ATP synthetic for the stability of aerobic granular sludge[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 673: 83-91
- [26] Winkler MKH, Bassin JP, Kleerebezem R, Van Der Lans RGJM, Van Loosdrecht MCM. Temperature and salt effects on settling velocity in granular sludge technology[J]. *Water Research*, 2012, 46(12): 3897-3902
- [27] Li YC, Hao W, Lv JP, Wang YQ, Zhong C, Zhu JR. The role of *N*-acyl homoserine lactones in maintaining the stability of aerobic granules[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 159: 305-310
- [28] Elias S, Banin E. Multi-species biofilms: living with friendly neighbors[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2012, 36(5): 990-1004
- [29] Tan CH, Koh KS, Xie C, Zhang J, Tan XH, Lee GP, Zhou Y, Ng WJ, Rice SA, Kjelleberg S. Community quorum sensing signalling and quenching: microbial granular biofilm assembly[J]. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, 2015, 1: 15006
- [30] Lynch MJ, Swift S, Kirke DF, Keevil CW, Dodd CER, Williams P. The regulation of biofilm development by quorum sensing in *Aeromonas hydrophila*[J]. *Environmental Microbiology*, 2002, 4(1): 18-28
- [31] Kang YS, Park W. Contribution of quorum-sensing system to hexadecane degradation and biofilm formation in *Acinetobacter* sp. strain DR1[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, 109(5): 1650-1659
- [32] Rashid R, Morohoshi T, Someya N, Ikeda T. Degradation of *N*-acylhomoserine lactone quorum sensing signaling molecules by potato root surface-associated *Chryseobacterium* strains[J]. *Microbes & Environments*, 2011, 26(2): 144-148
- [33] Tang KH, Zhang YH, Yu M, Shi XC, Coenye T, Bossier P, Zhang XH. Evaluation of a new high-throughput method for identifying quorum quenching bacteria[J]. *Scientific Reports*, 2013, 3: 2935
- [34] Huang YL, Zeng YH, Yu ZL, Zhang J. Distribution and diversity of acyl homoserine lactone producing bacteria from four different soils[J]. *Current Microbiology*, 2013, 66(1): 10-15
- [35] Von Bodman SB, Farrand SK. Capsular polysaccharide biosynthesis and pathogenicity in *Erwinia stewartii* require induction by an *N*-acylhomoserine lactone autoinducer[J]. *Journal of Bacteriology*, 1995, 177(17): 5000-5008
- [36] Gao J, Ma AZ, Zhuang XL, Zhuang GQ. An *N*-acyl homoserine lactone synthase in the ammonia-oxidizing bacterium *Nitrosospira multiformis*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(3): 951-958
- [37] Wang WZ, Morohoshi T, Ikenoya M, Someya N, Ikeda T. AiiM, a novel class of *N*-acylhomoserine lactonase from the leaf-associated bacterium *Microbacterium testaceum*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(8): 2524-2530
- [38] Sio CF, Otten LG, Cool RH, Diggle SP, Braun PG, Bos R, Daykin M, Cámara M, Williams P, Quax WJ. Quorum quenching by an *N*-acyl-homoserine lactone acylase from *Pseudomonas aeruginosa* PAO1[J]. *Infection and Immunity*, 2006, 74(3): 1673-1682
- [39] Uroz S, Oger P, Chhabra SR, Cámara M, Williams P, Dessaux Y. *N*-acyl homoserine lactones are degraded via an amidolytic activity in *Comamonas* sp. strain D1[J]. *Archives of Microbiology*, 2007, 187(3): 249-256
- [40] Li YS, Cao JS, Li BB, Li WW, Fang F, Tong ZH, Yu HQ. Outcompeting presence of Acyl-homoserine-lactone (AHL)-quenching bacteria over AHL-producing bacteria in aerobic granules[J]. *Environmental Science Technology Letters*, 2016, 3(1): 36-40
- [41] Mellbye BL, Bottomley PJ, Sayavedra-Soto LA. Nitrite-oxidizing bacterium *Nitrobacter winogradskyi* produces *N*-acyl-homoserine lactone autoinducers[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(17): 5917-5926
- [42] Burton EO, Read HW, Pellitteri MC, Hickey WJ. Identification of acyl-homoserine lactone signal molecules

- produced by *Nitrosomonas europaea* strain Schmidt[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(8): 4906-4909
- [43] Chong G, Kimyon O, Rice SA, Kjelleberg S, Manefield M. The presence and role of bacterial quorum sensing in activated sludge[J]. Microbial Biotechnology, 2012, 5(5): 621-633
- [44] Schuster M, Sexton DJ, Diggle SP, Greenberg EP. Acyl-homoserine lactone quorum sensing: from evolution to application[J]. Annual Review of Microbiology, 2013, 67: 43-63
- [45] Tan CH, Koh KS, Xie C, Tay M, Zhou Y, Williams R, Ng WJ, Rice SA, Kjelleberg S. The role of quorum sensing signalling in EPS production and the assembly of a sludge community into aerobic granules[J]. The ISME Journal, 2014, 8(6): 1186-1197
- [46] Tay JH, Liu QS, Liu Y. The role of cellular polysaccharides in the formation and stability of aerobic granules[J]. Letters in Applied Microbiology, 2001, 33(3): 222-226
- [47] Wan JF, Sperandio M. Possible role of denitrification on aerobic granular sludge formation in sequencing batch reactor[J]. Chemosphere, 2009, 75(2): 220-227
- [48] Li YS, Cao JS, Yu HQ. Impacts of environmental factors on AHL-producing and AHL-quenching activities of aerobic granules[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103(21/22): 9181-9189
- [49] Kimes NE, Grim CJ, Johnson WR, Hasan NA, Tall BD, Kothary MH, Kiss H, Munk AC, Tapia R, Green L, et al. Temperature regulation of virulence factors in the pathogen *Vibrio coralliilyticus*[J]. The ISME Journal, 2012, 6(4): 835-846
- [50] Wan CL, Shen YG, Chen S, Liu X, Liu GM, Lai JY, Lee DJ. Microstructural strength deterioration of aerobic granule sludge under organic loading swap[J]. Bioresource Technology, 2016, 221: 671-676
- [51] Wan JF, Bessière Y, Sperandio M. Alternating anoxic feast/aerobic famine condition for improving granular sludge formation in sequencing batch airlift reactor at reduced aeration rate[J]. Water Research, 2009, 43(20): 5097-5108
- [52] Wilén BM, Liébana R, Persson F, Modin O, Hermansson M. The mechanisms of granulation of activated sludge in wastewater treatment, its optimization, and impact on effluent quality[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2018, 102(12): 5005-5020
- [53] Show KY, Lee DJ, Tay JH. Aerobic granulation: advances and challenges[J]. Applied Biochemistry Biotechnology, 2012, 167(6): 1622-1640
- [54] Liébana R, Arregui L, Santos A, Murciano A, Marquina D, Serrano S. Unravelling the interactions among microbial populations found in activated sludge during biofilm formation[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2016, 92(9): ffw134
- [55] Zhang ZM, Yu ZD, Wang ZH, Ma K, Xu XY, Alvarezc PJJ, Zhu L. Understanding of aerobic sludge granulation enhanced by sludge retention time in the aspect of quorum sensing[J]. Bioresource Technology, 2019, 272: 226-234
- [56] Ren TT, Yu HQ, Li XY. The quorum-sensing effect of aerobic granules on bacterial adhesion, biofilm formation, and sludge granulation[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 88(3): 789-797
- [57] Zhang B, Li W, Guo Y, Zhang ZQ, Shi WX, Cui FY, Lens PNL, Tay JH. A sustainable strategy for effective regulation of aerobic granulation: Augmentation of the signaling molecule content by cultivating AHL-producing strains[J]. Water Research, 2020, 169: 115193
- [58] Gao M, Liu YJ, Liu Z, Li HT, Zhang AN. Strengthening of aerobic sludge granulation by the endogenous acylated homoserine lactones-secreting strain *Aeromonas* sp. A-L3[J]. Biochemical Engineering Journal, 2019, 151: 107329
- [59] Li YS, Pan XR, Cao JS, Song XN, Fang F, Tong ZH, Li WW, Yu HQ. Augmentation of acyl homoserine lactones-producing and -quenching bacterium into activated sludge for its granulation[J]. Water Research, 2017, 125: 309-317