

综述与专论

DOI: 10.11949/j.issn.0438-1157.20171466

真菌菌丝球研究进展

李立欣^{1,2}, 张斯³, 王冬¹, 马放²

(¹ 黑龙江科技大学环境与化工学院, 黑龙江 哈尔滨 150022; ² 哈尔滨工业大学城市水资源与水环境国家重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150090; ³ 环境保护部环境发展中心, 北京 100029)

摘要: 菌丝球是在一定培养条件下形成的一种微生物聚集体, 具有代谢能力强、吸附污染物量大等特点, 同时还具有生物活性高、沉降速度快、易于固液分离等特性。近年来已成为国内外生物工程、环境保护等领域的研究热点。论述了菌丝球的特性、形成机理、形成条件及优化培养, 详细介绍了菌丝球在水污染控制、工业发酵生产以及经济微藻回收等领域的应用。在此基础上, 剖析了目前菌丝球研究工作中存在的问题, 提出了今后菌丝球研究的主要发展趋势。

关键词: 菌丝球; 形成机理; 生物载体; 发酵; 回收

中图分类号: X 703;Q 819

文献标志码: A

文章编号: 0438—1157 (2018) 06—2364—09

Recent progress on mycelial pellet

LI Lixin^{1,2}, ZHANG Si³, WANG Dong¹, MA Fang²

(¹ School of Environment and Chemical Engineering, Heilongjiang University of Science and Technology, Harbin 150022, Heilongjiang, China; ² State Key Laboratory of Urban Resource and Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, Heilongjiang, China; ³ Environmental Development Center, Ministry of Environmental Protection, Beijing 100029, China)

Abstract: The mycelial pellet is a kind of microorganism grain formed naturally under certain culture conditions. And it has the characteristics of not only strong metabolites ability and adsorption capacity of pollutants, but also good biological activity, fast sedimentation rate and easy solid-liquid separation. Recently, it has become a research hotspot in biomedical engineering and environmental protection fields at home and abroad. The characteristics and formation mechanism of mycelial pellets, optimization of culturing conditions were reviewed. The applications of mycelial pellets, including in industrial fermentation production, water pollution control and economic microalgae recovery *etc.*, were introduced in detail. Then, the problems that existed in the current research were analyzed. Furthermore, this paper concluded the research directions and development trends of research on mycelial pellets.

Key words: mycelial pellet; formation mechanism; biomass carrier; fermentation; recovery

引 言

在废水处理过程中, 研究人员发现某些具有良

好生物活性以及较快沉降速度的微生物, 能够形成具有一定抵御水流剪切力的颗粒形态, 由此首次提出了微生物颗粒的概念^[1]。微生物颗粒按其组成及

2017-11-02 收到初稿, 2018-02-04 收到修改稿。

联系人: 马放。第一作者: 李立欣 (1980—), 男, 博士, 副教授。

基金项目: 国家自然科学基金项目(51678222, 51408200, 51408618, 51478140); 哈尔滨工业大学城市水资源与水环境国家重点实验室开放基金项目(ES201803); 哈尔滨市科技创新人才研究专项基金项目(2015RQXXJ015)。

Received date: 2017-11-02.

Corresponding author: MA Fang, mafang_hit@126.com

Foundation item: supported by the National Natural Science Foundation of China (51678222, 51408200, 51408618, 51478140), the Open Project of State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology (ES201803) and the Special Fund for Science and Technology Innovation Talents of Harbin (2015RQXXJ015).

性质可分为厌氧颗粒污泥、好氧颗粒污泥和菌丝球三类。其区别在于颗粒污泥由多种丝状菌及细菌构成,而菌丝球只由一种丝状真菌构成^[1]。菌丝球是丝状真菌的一种特殊发酵形态,即在氧气和营养充足、培养介质黏度较低、定向剪切水力强度适当的条件下,萌发的丝状真菌孢子形成菌丝体,其彼此缠绕,形成表面致密、内部疏松的类球状菌丝聚集体^[2-5]。菌丝球因具有多孔、表面积大、网状空隙多的结构特点而利于传质、传氧,是一种既有生物活性又有吸附和载体特性的新型微生物材料^[6-8]。其性质与好氧颗粒污泥类似,菌丝球同样具备良好沉降性能、内部形态和结构特征致密、安全无毒等优点,也具有较强的抗冲击负荷能力。另外,相比于好氧颗粒污泥,其颗粒化时间较短且生长繁殖速度快、生产成本低^[8]。其技术不仅能避免污泥上浮和泥水分离困难现象,还能提高吸附和存储污染物质的能力。同时,菌丝球具有优越的适应性,能够有效地应对复杂多变的废水环境,因此,菌丝球是典型的环境友好型生物材料。然而,在工业化应用中,菌丝球的快速培养及稳定运行仍是制约该材料应用的主要瓶颈。为此,本文综述了菌丝球的特性、形成机理、形成条件及优化培养,并分析了其在工业领域的应用现状,提出菌丝球研究工作中存在的问题,并对未来的研究方向提出展望。

1 菌丝球的生长特性及形成机理

1.1 生长特性

曹晓婷等^[9]发现黑曲霉 *Aspergillus niger* 菌丝球的最佳培养时间应在 72~84 h,在此阶段菌丝球生长稳定,84 h 后则进入衰亡期。而 Bhattacharya 等^[10]认为培养 24 h 的 *Aspergillus fumigatus* 菌丝球有致密的菌丝网络,易于形成菌丝球,而培养 72 h 的菌丝体有明显的断裂,并伴有菌丝退化现象,如图 1 所示^[10]。此外, Hosobuchi 等^[11-12]发现条件固定情况下,菌丝球的大小与数量呈一定负相关关系,可用公式进行定量描述

$$D_p = -a \lg N + b \quad (1)$$

式中, D_p 为菌丝球平均直径, mm; N 为接种菌丝球数量, 个; a , b 为常数。

菌丝球的生长特性是由其特殊结构决定的。菌丝球内部及其表面由菌丝相互缠绕构成,这样的结构限制了溶质的传递,使其在菌丝球内部形成了溶质浓度梯度,菌丝球中心部位因营养物质和氧的匮乏,导致部分菌丝自溶形成一定空隙,但菌丝球的外层部位仍具有较好的活性,可以满足自身的生长

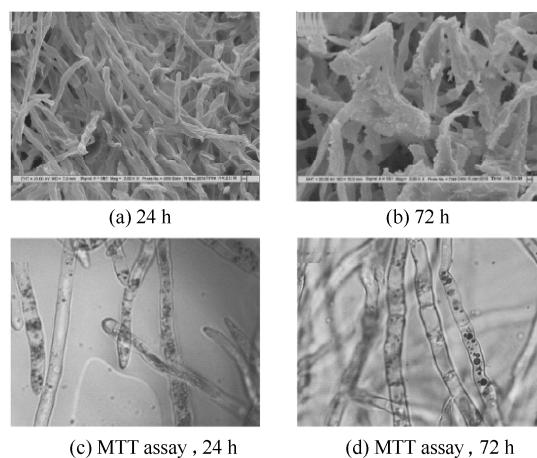


图 1 烟曲霉菌丝体扫描电镜(SEM)及 3-(4,5-二甲基-2-噻唑)-2,5-二苯基溴化四氮唑噻唑蓝(MTT)检测照片^[10]

Fig. 1 Scanning electron microscopy (SEM) images and 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay photos of hyphae of *Aspergillus fumigatus*^[10]

平衡,菌丝生长旺盛^[13]。因此,通过对传质过程的控制,可以有效调控菌丝体的生长^[14-16]。Deff 有效扩散系数已被部分学者证实可以作为一个模型参数,用来描述物质的传递和转移全过程,并进一步反映菌丝体的生长过程^[17]。此前, Silva 等^[15]通过米氏动力学和扩散方程描述了 *Gibberella fujikuroi* 发酵过程中 O_2 消耗速率,并评估了动态模式的有效因素,实验发现 *Gibberella fujikuroi* 菌丝球直径在 1.7~2.0 mm 时,在测试条件下 O_2 的传递只是轻微被抑制,当直径大于 2.0 mm 时, O_2 的传递成为菌丝球发酵培养的限制性因素。Wucherpennig 等^[5]也证实了该结论,且培养过程中,菌丝球的半径(r_{pellet})多大于临界半径(r_{crit})。一般情况下,溶解氧是菌丝球生长的限制性物质,菌丝球活跃层的厚度(Δr)受溶解氧浓度大小和其在菌丝球内部传输快慢、消耗速率等因素的限制,生长活跃层如图 2 所示^[5]。

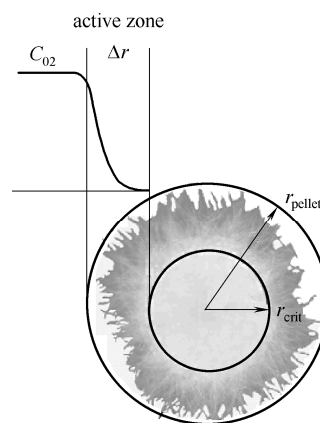


图 2 菌丝球的半径和活跃层^[5]

Fig.2 Radius and active layer within pellet^[5]

1.2 形成机理

孢子萌发是菌丝球形成的初始阶段, 存在凝聚型和非凝聚型两种形式。凝聚型是指孢子先凝聚, 然后萌发, 逐渐发育成菌丝球^[18]。张一竹等^[19]证实了桔青霉(*Penicillium citrinum*)和黑曲霉(*Aspergillus niger*)等孢子在萌发前均发生聚集, 聚集体会继续形成菌丝球。而非凝聚型是指单个孢子就可以发育成菌丝球。产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*)和 *Rhizopus nigricans* 为非凝聚型菌^[20]。而这两种萌发方式同时存在于黑曲霉 *Aspergillus niger* Y3 的培养过程中^[11,18], 从图 3 可以观察到, Y3 由孢子相互聚集、萌发, 菌丝生长、彼此缠绕, 最终成为菌丝球的各个阶段^[21]。具体概况为: 单个孢子或者部分孢子发生凝聚后的孢子团形成孢子晶核并发芽长出菌丝; 菌丝以晶核为中心向外呈放射状延伸生长, 在外力的作用下形成菌丝球; 菌丝球继续生长, 当培养条件恶化时, 菌丝球产生自溶现象^[11,18,21]。陆涛^[22]提出了与传统的孢子凝聚型所不同的一种

形成机制, 即通过对海洋黑曲霉 *Aspergillus niger* 菌丝接种形成菌丝球的过程的微观拍摄, 说明了菌丝球的形成是由菌丝的团聚性质决定的, 而其表面分泌的胞外多聚物是团聚性质的物质基础。在培养初期形成的菌丝团是菌丝球形成的基础, 因此可以推断海洋黑曲霉 *Aspergillus niger* 菌丝成球并不依赖于孢子的凝聚。

2 菌丝球的形成条件及优化培养

菌丝球的形成受菌体自身生物学特性和接种量、培养基成分、pH、剪切力等因素的影响^[23]。因此, 可以通过控制培养条件实现菌丝球的扩大培养。

2.1 营养条件

适宜的营养对菌丝球形成、生长和功能实现有着重要的影响, 而碳源、氮源和微量元素是菌丝球形成和生长的主要营养物质^[11,24-26]。

在碳源利用方面, 菌丝球的选择较为广泛, 但不同菌株在碳源选择上存在一定差异。Cho 等^[27]考察了碳源对真菌形态的影响, 发现当以蔗糖为唯一的碳源时, *Paecilomyces sinclairii* 菌丝更长且生物量更大。而 *Streptomyces noursei* 以蔗糖、麦芽糖、半乳糖、乳糖、木糖和棉子糖为碳源不能生长, 但能利用甘油、葡萄糖、果糖和可溶性淀粉为碳源生长^[28]。马放等^[29]在已有研究基础上, 采用状态参数 H 表征菌丝球 Y3 的生长情况

$$H = G/D^3 \quad (2)$$

式中, H 为菌丝球生长状态参数, $\text{kg} \cdot \text{L}^{-1}$; G 为菌丝球的个体平均干重, mg ; D 为菌丝球的个体平均直径, mm 。

确定了 Y3 最佳液体培养基成分为 ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$): 氯化铵 1.0、蔗糖 10.0、三水磷酸二氢钾 1.0、七水硫酸镁 0.5。该培养基成分简单、价格低廉, 菌丝球 Y3 形成时间短、大小及密度适中, 这些为其应用奠定了良好基础。高敏^[18]和朱虹^[21]进一步证实黑曲霉 Y3 形成菌丝球的最佳碳源为蔗糖, 与其他碳源相比, 以蔗糖为唯一碳源生长的菌丝球菌丝密度更大, 而最佳氮源为氯化铵。Saraswathy 等^[30]认为某些菌株还能以难降解的特殊碳源作为营养来形成菌丝球, 这为菌丝球在难降解有机废水应用方面提供了思路。

氮源种类对菌丝球的形成有重要的影响。Park 等^[31]、Kim 等^[32]、Koike 等^[33]均深入研究了氮源种类、浓度以及 C/N 比等对菌丝球生长的影响。Higashiyama 等^[34]指出微量元素同样影响菌丝球的

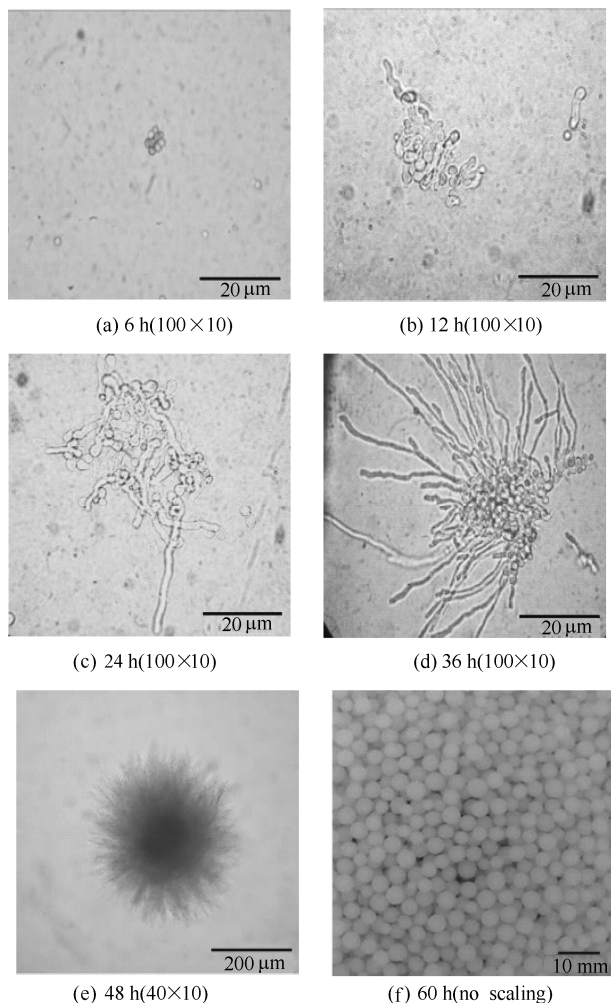


图 3 菌丝球的形成过程^[21]

Fig. 3 Forming process of pellet^[21]

形成,在培养基中添加 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和 Na^{+} ,能形成半径 1~1.5 mm 为主的菌丝球,而添加 K^{+} 会阻止菌丝球的形成。高敏^[18]和朱虹^[21]证实了 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 为菌丝球黑曲霉 Y3 生长的重要微量元素,对菌丝球数量级和个体大小均有较大影响。

2.2 水力条件

研究人员证实介质黏度、搅拌强度和通气量等水力条件对丝状真菌形成菌丝球有重要影响^[35-36]。目前,关于搅拌影响菌丝球大小的研究较多,其中,Cui 等^[37]、Taguchi 等^[38]、Bhavaraju 等^[39]和 Suijdam 等^[40]给出了关于菌丝球直径与能量耗散率关系的方程式,定量分析了菌丝球大小与搅拌强度的相互关系。机械搅拌能够维持菌丝球表面的光滑形态和致密结构,使其外表面老化的菌丝断裂及分离,进而保持了菌丝球的完整性^[38-40]。Kelly 等^[6]认为当菌丝球形成时,选择较低的搅拌强度能够降低生产成本。在保证菌丝球形成的基础上选择较低的搅拌强度对菌丝球的生长有一定促进作用^[11]。

2.3 其他环境因子

除营养条件和水力条件外,溶液 pH、接种孢子浓度、溶解氧等环境因子不同程度地对菌丝球的形成产生影响。培养液的 pH 是一个非常重要的微生物培养参数,较低的 pH 更适于菌丝的生长,而较高的 pH 则有利于菌丝球的形成^[41-47]。如张泽生等^[24]利用响应面优化的方法确定了培养桦褐孔菌菌丝体的起始 pH 为 6.0。Grimm 等^[48]探讨了菌丝生长速度、孢子浓度及其聚集速度三者之间的关系。结果表明,在接种的孢子浓度小于 3×10^6 个/毫升时,孢子的聚集速度随浓度的提高而增大。Xu 等^[49]发现当培养液中孢子达到 10^7 个/毫升时,丝状真菌只能以分散的菌丝体形式进行生长,并不能形成球状丝体。马放等^[50]研究霉菌 Y3 优化培养时发现,最佳的孢子接种浓度为 10^4 个/升,最适宜的孢子龄在 20~26 d;并结合实验结果进一步指出,采用菌丝碎片生成菌丝球更加简单、快速,可用于工业应用,明确了菌丝碎片的最佳处理条件为 $1800 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 研磨 30 s,最佳碎片接种浓度为 $1.5 \sim 3 \text{ ml} \cdot \text{L}^{-1}$ 。陆涛^[22]对马放等^[50]研究结论进行了补充,发现通过改变菌丝接种量或培养基初始 pH 均可控制菌丝球的直径大小,其中改变菌丝接种量的方法操作简便、可行性更高。

溶解氧对菌丝球生长及形成有较大影响,可以通过调节溶解氧的浓度来控制丝状真菌培养过程中

的形态改变。Higashiyama 等^[51]通过实验证明,当液态培养基含有的溶解氧浓度保持在 $20 \sim 50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, *Mortierella alpina* 1S-4 可以从分散的菌丝体形态转变为球状菌丝体。

3 菌丝球在水处理方面的应用

3.1 重金属废水

在重金属废水处理方面,针对 Cr(VI),王慕华等^[52]成功分离出一株黑曲霉,可在酸性条件下有效地还原 Cr(VI)。王国惠^[53]筛选出的菌丝球 G-28 对电镀废水 Cr(VI)的吸附率高达 99.1%,在实际废水处理中具有良好的应用前景。罗隽等^[54]发现在 Cr(VI)初始浓度为 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 基本条件下,烟束曲霉菌丝球可在 48 h 内完全去除溶液中的 Cr(VI)。针对 Pb^{2+} ,吴涓等^[55]发现黄孢原毛平革菌对 Pb^{2+} 的吸附过程是以表面络合反应为主,同时也存在着一定的离子交换。Meyer 等^[56]研究了黑曲霉(4号菌株)对水溶液中 Pb^{2+} 的吸附潜力,结果表明 $2 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 生物量的菌丝球对 Pb^{2+} 有最佳的吸附效果,运用扫描电子显微镜和 X 射线分析了菌丝体,发现铅离子分布于细胞的表层,证明黑曲霉对工业废水中 Pb^{2+} 的吸附具有较大的应用潜力。刘桂萍等^[57]在霉菌菌丝球对 Pb^{2+} 的吸附研究中证明,霉菌 HM6 菌丝球力学性能良好,易于固液分离,适合作生物吸附剂。最佳吸附条件为 pH=5,常温吸附 15 min,吸附量、去除率分别可达 $40 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 80%以上,水体 pH 是影响 HM6 吸附作用的最主要因素。李清彪等^[58]认为 pH、孢子悬液浓度和摇床转速对菌丝球生长的影响最大,菌丝球经碱处理后其吸附能力大大提高,因而用改性后的微生物菌丝球去除水溶液中的 Pb^{2+} 是可行的, Pb^{2+} 最大吸附量达到 $17.18 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

从以上研究可知,霉菌菌丝球对重金属具有良好的生物吸附性,在某种情况下还具有生物还原性,起到降低毒性作用。菌丝球在重金属废水处理领域具有耐受性好、环境友好、可连续处理、吸附剂可循环使用等优点,在重金属废水处理中具有一定的应用潜力^[11,53-55]。

3.2 染料废水

在染料废水处理方面,已有研究^[59-64]表明,白腐真菌、黑曲霉、粗毛栓菌和微紫青霉菌菌丝球对多种染料都有较好的吸附效果,其中微紫青霉菌菌丝球对苯酚绿等 5 种染料的脱色率均超过 90%,白腐真菌对偶氮染料的脱色率达 97%以上。有研究证

明,粗毛栓菌菌丝球对染料的脱色作用机理,可能是由菌体表面丰富的功能基团通过化学键起作用^[61]。黑曲霉菌丝球 ZJUBE-1 在生物吸附过程中具有强的盐和酸耐受性,其机制分析表明,刚果红主要吸附于菌丝球颗粒表面的活性区,通过营养补充或通过再培养可以对菌丝球吸附刚果红起到吸附强化效果^[65]。为了进一步提高脱色效率, Lu 等^[66]设计了具有简单结构的曝气圆柱反应器,这种半连续模式反应器,具有功耗低、操作简便、染料去除率高、生物质利用率高等优点。由此可知,菌丝球在处理染料废水时具有较强脱色能力,在染料废水处理工业中具有较好的应用前景。

3.3 作为生物载体强化处理有机废水

菌丝球因沉降性能好、易于固液分离、生长条件宽泛、容易培养、培养周期短等优点,可作为生物载体强化处理有机废水^[8,11]。在菌丝球作为载体的可行性研究中,赵立军等^[8]、高敏^[18]和山丹等^[67]分别考察了黑曲霉菌丝球固定好氧反硝化细菌、酵母菌和苯胺降解菌的效果,并证实了混合菌丝球对有机污染物具有高效降解性能。

菌丝球作为生物载体有一定的优势,但菌丝球系统的整体稳定性还需加强,这制约了菌丝球作为生物载体在废水生物强化处理领域的大范围应用^[11,68]。为解决该问题,有研究指出黑曲霉 Y3 菌丝球作为生物载体固定苯胺降解细菌 *Acinetobacter calcoaceticus* JH-9 可实现生物强化作用^[69]。将电气石和菌丝球同时添加到混合菌丝球培养系统,发现废水中的苯胺和 COD 浓度进一步降低,说明电气石可以改善菌丝球作为生物载体系统的整体性能^[70]。此后,董怡华等^[71-72]利用菌丝球作为生物载体固定光合细菌,在保证光合细菌生长活性的前提下,通过提高反应体系传质速率改善了光合细菌处理有机废水的出水水质。该研究团队通过同时培养法来包埋固定光合细菌,不仅缩短了固定化时间,还具有操作简便、效果好、菌量大、菌体细胞不易流失、对 2-氯酚去除效果好等特点,具有明显的优势。该方法在有机废水处理工程上具有广阔的应用前景^[73]。Chen 等^[74]用海洋微紫青霉(*Penicillium janthinellum*)作为载体,固定海洋内生拟盘多毛菌(*Pestalotiopsis* sp.),其固定化体系在处理造纸废水时取得良好处理效果。这些研究为菌丝球作为生物载体应用于废水生物强化处理领域提供了新的研究

思路。

4 菌丝球在其他领域的应用

4.1 发酵工业

以菌丝球的形式大规模工业化培养丝状真菌有明显优势:第一,根据菌丝球的生长特性,通过对搅拌强度等外界条件的控制,进一步调控菌丝球发酵过程;第二,可以降低溶液的黏度,同时可以适当降低搅拌强度,降低运行费用;第三,可以降低分离等步骤的操作难度^[35]。2006 年, Jongh^[75]指出黑曲霉耐低 pH,用于有机酸生产中可确保将培养基底物转化成目标发酵产物,转化速率快,产品产率高,并进一步运用发酵工程手段优化了有机酸生产过程。Vecht-Lifshitz 等^[76]研究发现链霉菌形成菌丝球后,明显增加了单位细菌生产尼可霉素的产量。Tripathi 等^[77]采用黑曲霉菌丝球生产葡萄糖酸钙,通过调整发酵参数使产量接近 $150\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,实现真正意义上的高产。van Wezel 等^[78]证实了黏稠条件下菌丝球生产链霉素的产量比在普通发酵条件下提高两倍以上,为菌丝球大规模生产链霉素提供了技术支持。2011 年,马放等^[79]以菌丝球为载体发酵生物絮凝剂,成功解决了现有生物絮凝剂发酵法能耗高、生产效率低、生产成本低、不适合大规模工业化发酵生产的问题。并通过实验证实,以菌丝球载体固定化生产生物絮凝剂产量最高为 $2.23\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,比普通发酵方式提高了 14%,且可以连续稳定使用 15 代以上^[80]。 *Monascus purpureus* 发酵生产天然黄色素在食品工业中有巨大的应用潜力,优化其生产条件以提高产量,对其商业化有一定借鉴价值^[81]。

4.2 微生物浸矿

微生物浸矿技术被认为是一种具有巨大应用潜力的浸出方法,具有回收率高、成本低、适应性强以及环境友好等特点,得到了众多学者的关注。其中,李广悦等^[82]研究不同菌丝球形态的黑曲霉发酵液对尾砂中铜的浸出影响,发现铜的浸出率能够达到 83.25%。Mehta 等^[83]利用黑曲霉从印度洋锰结核中浸出铜和镍等贵金属,铜的浸出率最高,接近 100%。Nouren 等^[84]成功利用灵芝真菌从褐色页岩中浸出了铜、铝、镁和锰等金属。

4.3 回收高价值单细胞微藻

菌丝球用于城市废水处理时,发现真菌菌丝形成的球状颗粒可将微藻细胞包裹其中,另外其菌丝

带正电荷, 可通过电中和作用絮凝经济微藻^[85-87]。菌丝球的这种功能解决了微藻生物技术商业化面临的主要问题, 使其在回收产油微藻方面具有相当广阔的应用前景^[88-89]。另外, 其他学者将该技术及方法进一步应用到回收其他单细胞微生物方面, 如酵母等, 取得了良好的效果^[90-91]。

5 结论与展望

菌丝球虽然优点较多, 但在实际工程应用中仍面临巨大困难, 具体包括: 第一, 菌丝球虽然种类繁多, 但无论是直接处理污水还是作为生物载体强化处理污水的应用范围较窄, 已报道的处理污水种类有限, 处理对象的广泛性较差; 第二, 由于菌丝球较好的应用前景, 将来需求量巨大, 但较高的生产成本成为制约其发展的关键原因; 第三, 针对菌丝球作为生物载体, 强化去除污染物的机理尚不成熟, 研究仍处于初级阶段; 第四, 菌丝球作为水处理中的生物载体, 菌丝球的结构稳定性关系到载体的使用寿命、处理效果和经济效益。处理实际废水时, 结构稳定性较差, 是菌丝球在载体应用中相对于其他类型载体比较欠缺的方面, 影响了它的实际应用价值。

为使菌丝球大规模应用到不同领域, 可从以下几方面深入研究: (1) 进一步探讨菌丝球生物载体固定多种功能菌(藻)群形成混合菌丝球的机理及其应用技术, 分析多种功能菌群之间的关系, 通过调控手段协同发挥功能菌群对污染物的降解作用或者提高体系发酵产物产率, 进而增加回收资源、能源效率; (2) 降低生产成本, 一方面是改进生产方式, 缩短生产周期, 优化发酵过程中的各种影响因素; 另一方面可以开发以各类工业发酵残液、城市生活污水、高浓度有机废水等各类有机废水为廉价底物的菌丝球制备技术; (3) 针对菌丝球结构稳定性, 进行机理上的分析, 从外界环境、内部结构及分子水平方面下手, 进行改性研究; (4) 应用分子生物学及基因工程手段, 提高菌丝球的发酵产率及处理污水的效率; (5) 在小试及中试实验基础上, 加快开发以菌丝球为载体的污水强化处理技术工业化应用, 为以菌丝球为载体的污水强化技术应用奠定基础。

References

[1] 刘效梅, 辛宝平, 徐文国. 微生物颗粒在废水处理中的应用与研究[J]. 工业水处理, 2005, 25(8):1-4.

- LIU X M, XIN B P, XU W G. Researches on application of microbial granule to wastewater treatment[J]. Industrial Water Treatment, 2005, 25(8):1-4.
- [2] BEROVIC M, CIMERMAN A, STEINER W, *et al.* Submerged citric acid fermentation: rheological properties of *Aspergillus niger* broth in a stirred tank reactor[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1991, 34(5):579-581.
- [3] KIM J H, LEBEAULT J M, REUSS M. Comparative study on rheological properties of mycelial broth in filamentous and pelleted forms[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1983, 18(1):11-16.
- [4] ZHOU Y, DU J, TSAO G T. Mycelial pellet formation by *Rhizopus oryzae* ATCC 20344[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2000, 84(1):779-789.
- [5] WUCHERPFENNIG T, KIEP K A, DRIOUCH H, *et al.* Morphology and rheology in filamentous cultivations[J]. Advances in Applied Microbiology, 2010, 72:89-136.
- [6] KELLY S, GRIMM L H, HENGSTLER J, *et al.* Agitation effects on submerged growth and product formation of *Aspergillus niger*[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2004, 26(5):315-323.
- [7] 黄锦丽, 龙敏南, 傅雅捷, 等. 产酸克雷伯氏菌的吸附固定及其产氢研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2005, 44(5): 710-713.
- HUANG J L, LONG M N, FU Y J, *et al.* Studies on the biosorption and hydrogen production of *Klebsiella oxytoca* HP1[J]. Journal of Xiamen University(Natural Science Edition), 2005, 44(5):710-713.
- [8] 赵立军, 马放, 山丹, 等. 曲霉菌丝球 Y3 对细菌的固定化效能[J]. 江苏大学学报(自然科学版), 2007, 28(5): 446-449.
- ZHAO L J, MA F, SHAN D, *et al.* Immobilized effect of bacteria by mycelial pellet of *Penicillium* Y3[J]. Journal of Jiangsu University (Natural Science Edition), 2007, 28(5):446-449.
- [9] 曹晓婷, 熊小京, 郑天凌, 等. 黑曲霉菌丝球对直接耐晒蓝 FBL 的脱色特性[J]. 华侨大学学报(自然科学版), 2008, 29(1): 34-37.
- CAO X T, XIONG X J, ZHENG T L, *et al.* Decolorization behavior of C. I. Direct Blue 199 by *Aspergillus niger* mycelium pellet[J]. Journal of Huaqiao University(Natural Science Edition), 2008, 29(1): 34-37.
- [10] BHATTACHARYA A, MATHUR M, KUMAR P, *et al.* A rapid method for fungal assisted algal flocculation: critical parameters & mechanism insights[J]. Algal Research, 2017, 21:42-51.
- [11] 张斯. 菌丝球生物载体的构建及其强化废水处理效能研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2011.
- ZHANG S. Research on construction and enhanced wastewater treatment efficiency of mycelial pellet as a biomass carrier[D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2011.
- [12] HOSOBUCHI M, OGAWA K, YOSHIKAWA H. Morphology study in production of ML-236B, a precursor of pravastatin sodium by *Penicillium citrinum*[J]. Journal of Fermentation & Bioengineering, 1993, 76(6): 470-475.
- [13] HILLE A, NEU T R, HEMPEL D C, *et al.* Oxygen profiles and biomass distribution in biopellets of *Aspergillus niger*[J]. Biotechnology & Bioengineering, 2005, 92(5):614-623.
- [14] CUI Y Q, VAN DER LANS R G J M, LUYBEN K C A M. Effects of dissolved oxygen tension and mechanical forces on fungal morphology in submerged fermentation[J]. Biotechnology &

- Bioengineering, 1998, **57**(4):409-419.
- [15] SILVA E M E, GUTIERREZ G F, DENDOOVEN L, *et al.* A method to evaluate the isothermal effectiveness factor for dynamic oxygen into mycelial pellets in submerged cultures[J]. Biotechnology Progress, 2001, **17**(1):95-103.
- [16] LEJEUNE R, BARON G V. Simulation of growth of a filamentous fungus in 3 dimensions[J]. Biotechnology & Bioengineering, 1997, **53**(2): 139-150.
- [17] HILLE A, NEU T, HEMPEL D, *et al.* Effective diffusivities and mass fluxes in fungal biopellets[J]. Biotechnology & Bioengineering, 2009, **103**(6): 1202-1213.
- [18] 高敏. 生物质载体菌丝球的形成机制及脱色效能的研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学, 2006.
- GAO M. The research of formation mechanics and discolouration of biological carrier pellet[D]. Harbin:Harbin Institute of Technology, 2006.
- [19] 张一竹, 王清祺, 刘剑书, 等. 真菌菌丝球形成的自组织机理[J]. 生物技术, 2002, **12**(6):27-28.
- ZHANG Y Z, WANG Q Q, LIU J S, *et al.* Self-organization mechanism of the formation of fungi mycelial pellet[J]. Biotechnology, 2002, **12**(6):27-28.
- [20] ŽNIDARSIC P, KOMEL R, PAVKO A. Studies of a pelleted growth form of *Rhizopus nigricans* as a biocatalyst of progesterone 11 α -hydroxylation[J]. Journal of Biotechnology, 1998, **60**(3):207-216.
- [21] 朱虹. 菌丝球形成过程及其影响因素的研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学, 2007.
- ZHU H. Study on formation process and cultivating conditions of mycelial pellets[D]. Harbin:Harbin Institute of Technology, 2007.
- [22] 陆涛. 海洋黑曲霉菌丝球的形成机理及其对含染料废水的脱色作用[D]. 杭州:浙江大学, 2016.
- LU T. The pellet-formation mechanism of marine-derived *Aspergillus niger* and its applications in dye-wastewater treatment[D]. Hangzhou:Zhejiang University, 2016.
- [23] KOSSEN N W. The morphology of filamentous fungi[J]. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology, 2000, **70**: 1-33.
- [24] 张泽生, 史佳宁, 商蕊. 棒褐孔菌菌丝体深层培养条件优化的研究[J]. 食品研究与开发, 2009, **30**(10): 49-53.
- ZHANG Z S, SHI J N, SHANG R. Optimization of the fermenting conditions for accumulation mycelium of *Inonotus obliquus* liquor in submerged fermentation[J]. Food Research and Development, 2009, **30**(10): 49-53.
- [25] 卢惠妮, 潘迎捷, 赵勇, 等. 棘托竹荪菌丝体培养基碳源、氮源、无机盐的筛选[J]. 食品工业科技, 2010, **31**(2):178-181.
- LU H N, PAN Y J, ZHAO Y, *et al.* Screening of carbon and nitrogen sources, inorganic salts for the medium of *Dictyophora echinovolva* mycelia[J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, **31**(2): 178-181.
- [26] 苏珏, 贺新生, 竹文坤. 柏树火焰层孔菌菌丝体发酵工艺条件优化[J]. 食品科学, 2010, **31**(23):146-150.
- SU J, HE X S, ZHU W K. Optimization of culture conditions for the mycelial growth of *Pyrofores demidoffii*[J]. Food Science, 2010, **31**(23): 146-150.
- [27] CHO Y J, HWANG H J, SANG W K, *et al.* Effect of carbon source and aeration rate on broth rheology and fungal morphology during red pigment production by *Paecilomyces sinclairii* in a batch bioreactor[J]. Journal of Biotechnology, 2002, **95**(1):13-23.
- [28] JONSBU E, MCLNTYRE M, NIELSEN J. The influence of carbon sources and morphology on nystatin production by *Streptomyces noursei*[J]. Journal of Biotechnology, 2002, **95**(2):133-144.
- [29] 马放, 张斯, 山丹. 黑曲霉 Y3 菌丝球培养基成分优化[J]. 中国环境科学, 2008, **28**(11): 989-993.
- MA F, ZHANG S, SHAN D. Optimization of the medium composition for culturing of mycelia pellet of *Aspergillus niger* Y3[J]. China Environmental Science, 2008, **28**(11):989-993.
- [30] SARASWATHY A, HALLBERG R. Mycelial pellet formation by *Penicillium ochloron* species due to exposure to pyrene[J]. Microbiological Research, 2005, **160**(4):375-383.
- [31] PARK E Y, KOIKE Y, HIGASHIYAMA K, *et al.* Effect of nitrogen source on mycelial morphology and arachidonic acid production in cultures of *Mortierella alpina*[J]. Journal of Bioscience & Bioengineering, 1999, **88**(1):61-67.
- [32] KIM S W, XU C P, HWANG H J, *et al.* Production and characterization of exopolysaccharides from an entomopathogenic fungus *Cordyceps militaris* NG3[J]. Biotechnology Progress, 2003, **19**(2): 428-435.
- [33] KOIKE Y, CAI H J, HIGASHIYAMA K, *et al.* Effect of consumed carbon to nitrogen ratio of mycelial morphology and arachidonic acid production in cultures of *Mortierella alpina*[J]. Journal of Bioscience & Bioengineering, 2001, **91**(4):382-389.
- [34] HIGASHIYAMA K, YAGUCHI T, AKIMOTO K, *et al.* Effects of mineral addition on the growth morphology and arachidonic acid production by *Mortierella alpina* 1S-4[J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 1998, **75**(12):1815-1819.
- [35] ONCU S, TARI C, UNLUTURK S. Effect of various process parameters on morphology, rheology, and polygalacturonase production by *Aspergillus sojae* in a batch bioreactor[J]. Biotechnology Progress, 2007, **23**(23):836-845.
- [36] MEDVEDEVA S E, ARTEMENKO K S, KRIVOSHEENKO A A, *et al.* Growth and light emission of luminous basidiomycetes cultivated on solid media and in submerged culture[J]. Mycosphere, 2014, **5**(4):565-577.
- [37] CUI Y Q, VAN DER LANS R G J M, LUYBEN K C A M. Effect of agitation intensities on fungal morphology of submerged fermentation[J]. Biotechnology & Bioengineering, 1997, **55**(5):715-726.
- [38] TAGUCHI H, YOSHIDA T, TOMITA Y, *et al.* The effects of agitation on disruption of the mycelial pellets in stirred fermentors[J]. Journal of Fermentation Technology, 1968, **46**:814-822.
- [39] BHAVARAJU S M, BLANCH H W. A model for pellet breakup in fungal fermentations[J]. Journal of Fermentation Technology, 1976, **54**: 466-468.
- [40] SUIJDAM J C, METZ B. Fungal pellet breakup as a function of shear in a fermentor[J]. Journal of Fermentation Technology, 1981, **59**: 329-333.
- [41] PAPAGIANNI M. Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial processes[J]. Biotechnology Advances, 2004, **22**(3): 189-259.
- [42] BIZUKOJC M, LEDAKOWICZ S. Physiological, morphological and

- kinetic aspects of lovastatin biosynthesis by *Aspergillus terreus*[J]. Biotechnology Journal, 2009, **4**(5):647-664.
- [43] MAINWARING D O. Effect of pH on hen egg white lysozyme production and evolution of a recombinant strain of *Aspergillus niger*[J]. Journal of Biotechnology, 1999, **75**:1-10.
- [44] O'DONNELL D, WANG L, XU J, *et al.* Enhanced heterologous protein production in *Aspergillus niger* through pH control of extracellular protease activity[J]. Biochemical Engineering Journal, 2001, **8**(3): 187-193.
- [45] VATS P, SAHOO D K, BANERJEE U C. Production of phytase (myo-inositolhexakisphosphate phosphohydrolase) by *Aspergillus niger* van Teighem in laboratory-scale fermenter[J]. Biotechnology Progress, 2004, **20**(3):737-743.
- [46] GRIMM L H, KELLY S, KRULL R, *et al.* Morphology and productivity of filamentous fungi[J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2005, **69**(4):375-384.
- [47] KIM H M, PARK M K, YUN J W. Culture pH affects exopolysaccharide production in submerged mycelial culture of *Ganoderma lucidum*[J]. Applied Biochemistry & Biotechnology, 2006, **134**(3): 249-262.
- [48] GRIMM L H, KELLY S, HENGSTLER J, *et al.* Kinetic studies on the aggregation of *Aspergillus niger* conidia[J]. Biotechnology & Bioengineering, 2004, **87**(2):213-218.
- [49] XU J, WANG L, RIDGWAY D, *et al.* Increased heterologous protein production in *Aspergillus niger* fermentation through extracellular proteases inhibition by pelleted growth[J]. Biotechnology Progress, 2000, **16**(2): 222-227.
- [50] 马放, 张斯, 山丹, 等. 霉菌 Y3 菌丝球培养条件的优化[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2009, **41**(8):38-41.
- MA F, ZHANG S, SHAN D, *et al.* Optimization of culturing conditions for mucedine Y3 pellet[J]. Journal of Harbin Institute of Technology, 2009, **41**(8):38-41.
- [51] HIGASHIYAMA K, MURAKAMI K, TSUJIMURA H, *et al.* Effects of dissolved oxygen on the morphology of an arachidonic acid production by *Mortierella alpine* 1S-4[J]. Biotechnology & Bioengineering, 1999, **63**(4):442-448.
- [52] 王慕华, 徐宏英, 苏楠楠. 黑曲霉菌丝球还原水中六价铬的研究[J]. 科学技术与工程, 2010, **10**(26):6472-6476.
- WANG M H, XU H Y, SU B N. Study on reduction of chromium(VI) in water by *Aspergillus niger*[J]. Science Technology and Engineering, 2010, **10**(26):6472-6476.
- [53] 王国惠. 霉菌菌丝球对重金属 Cr(VI)的吸附特性[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2007, **46**(3):112-116.
- WANG G H. Adsorption of heavy metal chromium(VI) by mycelial pellets[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2007, **46**(3):112-116.
- [54] 罗隽, 胡勇有, 仲海涛. 烟束曲霉菌丝球对 Cr(VI)的去除-还原与吸附作用[J]. 环境科学学报, 2007, **27**(10):1585-1592.
- LUO J, HU Y Y, ZHONG H T. Removal of Cr(VI) in solution by *Aspergillus fumisynnematus* mycelia:reduction and biosorption[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2007, **27**(10):1585-1592.
- [55] 吴涓, 李清彪. 黄孢原毛平革菌吸附铅离子机理的研究[J]. 环境科学学报, 2001, **21**(3):291-295.
- WU J, LI Q B. Study on mechanism of lead biosorption by *Phanerochaete chrysosporium*[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2001, **21**(3):291-295.
- [56] MEYER A, WALLIS F M. The use of *Aspergillus niger* (Strain 4) biomass for lead uptake from aqueous systems[J]. Water SA, 1997, **23**(2):187-192.
- [57] 刘桂萍, 刘长风, 关丽杰, 等. 霉菌菌丝球对 Pb²⁺的吸附研究[J]. 沈阳化工学院学报, 2005, **19**(2):93-96.
- LIU G P, LIU C F, GUAN L J, *et al.* Study on biosorption of Pb²⁺ by mould hyphaball[J]. Journal of Shenyang Institute of Chemical Technology, 2005, **19**(2): 93-96.
- [58] 李清彪, 吴涓, 杨宏泉, 等. 白腐真菌菌丝球形成的物化条件及其对铅的吸附[J]. 环境科学, 1999, **20**(1):33-38.
- LI Q B, WU J, YANG H Q, *et al.* The effects of physical and chemical conditions on forming mycelial pellet of *Phanerochaete chrysosporium* and biosorption of lead[J]. Environmental Science, 1999, **20**(1):33-38.
- [59] ZHANG F M, KNAPP J S, TAPLEY K N. Development of bioreactor systems for decolorization of orange II using white rot fungus[J]. Enzyme and Microbial Technology, 1998, **24**(1/2):48-53.
- [60] 朱勇, 马丽华, 戴兴春, 等. 白腐真菌膜生物反应器对活性染料废水的脱色效果[J]. 中国给水排水, 2007, **23**(15): 38-42.
- ZHU Y, MA L H, DAI X C, *et al.* Decolorizing effect of reactive dyeing wastewater by membrane bioreactor using white rot fungi[J]. China Water and Wastewater, 2007, **23**(15):38-42.
- [61] 程子彰, 杨洲平, 胡容, 等. 粗毛栓菌菌丝球非灭菌条件下对 12 种染料的脱色研究[J]. 菌物学报, 2012, **31**(6):878-889.
- CHENG Z Z, YANG Z P, HU R, *et al.* Decolorization of 12 kinds of dyes by the mycelium pellets of *Trametes gallica* under non-sterile condition[J]. Mycosystema, 2012, **31**(6):878-889.
- [62] 王明霞. 海洋微紫青霉菌丝球的制备及其对染料吸附性能的研究[D]. 杭州:浙江大学, 2014.
- WANG M X. Preparation of marine *Penicillium janthinellum* pellet and its application in biosorption of dyes[D]. Hangzhou:Zhejiang University, 2014.
- [63] KAUSHIK P, MISHRA A, MALIK A, *et al.* Biosorption of textile dye by *Aspergillus lentulus* pellets:process optimization and cyclic removal in aerated bioreactor[J]. Water, Air & Soil Pollution, 2014, **225**(6):1-13.
- [64] WANG M X, ZHANG Q L, YAO S J. A novel biosorbent formed of marine-derived *Penicillium janthinellum* mycelial pellets for removing dyes from dye-containing wastewater[J]. Chemical Engineering Journal, 2015, **259**:837-844.
- [65] LU T, ZHANG Q L, YAO S J. Efficient decolorization of dye-containing wastewater using mycelial pellets formed of marine-derived *Aspergillus niger*[J]. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2017, **25**:330-337.
- [66] LU T, ZHANG Q L, YAO S J. Removal of dyes from wastewater by growing fungal pellets in a semi-continuous mode[J]. Frontiers of Chemical Science & Engineering, 2017, **11**(3):338-345.
- [67] 山丹, 马放, 张斯, 等. 低温苯胺降解菌固定化菌丝球方法与特性[J]. 北京工业大学学报, 2008, **34**(6): 637-641.
- SHAN D, MA F, ZHANG S, *et al.* Characteristic and immobilized mycelial pellets method of aniline-degradation bacteria at low temperature[J]. Journal of Beijing University of Technology, 2008,

- 34(6): 637-641.
- [68] LI L X, FENG L Y, MA F, *et al.* Establishment and efficiency of mycelial pellet-microalgae coupled system for treatment of domestic sewage[J]. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2017, **121**(S5): 3-40.
- [69] ZHANG S, LI A, CUI D, *et al.* Performance of enhanced biological SBR process for aniline treatment by mycelial pellet as biomass carrier[J]. *Bioresource Technology*, 2011, **102**:4360-4365.
- [70] ZHANG S, LI A, CUI D, *et al.* Biological improvement on combined mycelial pellet for aniline treatment by tourmaline in SBR process[J]. *Bioresource Technology*, 2011, **102**:9282-9285.
- [71] 董怡华, 冯治宇, 张玉革, 等. 菌丝球吸附光合细菌形成混合菌丝球的方法:201310151702. 5[P]. 2013-08-21.
- DONG Y H, FENG Z Y, ZHANG Y G, *et al.* A method for the formation of mixed mycelial pellet by adsorbing photosynthetic bacteria:201310151702. 5[P]. 2013-08-21.
- [72] 董怡华, 冯治宇, 林静雯, 等. 一种利用菌丝球作为生物载体固定化光合细菌的方法:201210189557. 5[P]. 2012-10-03.
- DONG Y H, FENG Z Y, LIN J W, *et al.* A method for immobilizing photosynthetic bacteria using mycelial pellet as a biological carrier:201210189557. 5[P]. 2012-10-03.
- [73] 董怡华, 李鹏, 何江海, 等. 两种方法形成菌丝球固定 2-氯酚降解菌的对比[J]. *微生物学报*, 2016, **56**(5): 753-764.
- DONG Y H, LI P, HE J H, *et al.* Comparison of two mycelial pellets formation methods to immobilize *o*-chlorophenol degradation bacteria[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2016, **56**(5):753-764.
- [74] CHEN H Y, WANG M X, SHEN Y B, *et al.* Optimization of two-species whole-cell immobilization system constructed with marine-derived fungi and its biological degradation ability[J]. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2014, **22**:187-192.
- [75] JONGH W A. Organic acid production by *Aspergillus niger*[D]. Copenhagen:Technical University of Denmark, 2006.
- [76] VECHT-LIFSHITZ S E, SASSON Y, BRAUN S. Nikkomycin production in pellets of *Streptomyces tendae*[J]. *Journal of Applied Bacteriology*, 1992, **72**(3):195-200.
- [77] TRIPATHI C K, RASTOGI S, BIHARI V, *et al.* Production of calcium gluconate by fermentation[J]. *Indian Journal of Experimental Biology*, 1999, **37**(7):731-733.
- [78] VAN WEZEL G P, KRABBEN P, TRAAG B A, *et al.* Unlocking *Streptomyces* spp. for use as sustainable industrial production platforms by morphological engineering[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, **72**(8): 5283-5288.
- [79] 马放, 王金娜, 李昂, 等. 一种以菌丝球为载体发酵生物絮凝剂的方法: 201110173489. 9[P]. 2011-11-30.
- MA F, WANG J N, LI A, *et al.* A method for fermenting bioflocculant with the mycelial pellet as the carrier: 201110173489. 9[P]. 2011-11-30.
- [80] 张笑晨. 菌丝球为载体的固定化发酵生产生物絮凝剂的技术研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2012.
- ZHANG X C. Production technology of bioflocculant using bioflocculant-producing bacteria immobilized by mycelial pellets[D]. Harbin:Harbin Institute of Technology, 2012.
- [81] LV J, ZHANG B B, LIU X D, *et al.* Enhanced production of natural yellow pigments from *Monascus purpureus* by liquid culture: the relationship between fermentation conditions and mycelial morphology[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2017, **124**(4): 452-458.
- [82] 李广悦, 刁宁宁, 王永东, 等. 菌丝球形态的黑曲霉发酵液浸出铜尾砂[J]. *化工学报*, 2015, **66**(2):717-722.
- LI G Y, DIAO N N, WANG Y D, *et al.* Bioleaching of copper from tailings by fermentation broths of *Aspergillus niger* in pellet form[J]. *CIESC Journal*, 2015, **66**(2):717-722.
- [83] MEHTA K D, DAS C, PANDEY B D. Leaching of copper, nickel and cobalt from Indian Ocean manganese nodules by *Aspergillus niger*[J]. *Hydrometallurgy*, 2010, **105**(1):89-95.
- [84] NOUREN S, BHATTI H N, ILYAS S. Bioleaching of copper, aluminum, magnesium and manganese from brown shale by *Ganoderma lucidum*[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2013, **10**(52): 10664-10673.
- [85] ZHANG J G, HU B. A novel method to harvest microalgae via co-culture of filamentous fungi to form cell pellets[J]. *Bioresource Technology*, 2012, **114**:529-535.
- [86] ZHOU W G, CHENG Y L, LI Y, *et al.* Novel fungal pelletization-assisted technology for algae harvesting and wastewater treatment[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2012, **167**(2): 214-228.
- [87] PRAJAPATI S K, KUMAR P, MALIK A, *et al.* Exploring pellet forming filamentous fungi as tool for harvesting non-flocculating unicellular microalgae[J]. *Bioenergy Research*, 2014, **7**(4):1430-1440.
- [88] MURADOV N, TAHA M, MIRANDA A F, *et al.* Fungal-assisted algal flocculation: application in wastewater treatment and biofuel production[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2015, **8**(1): 24.
- [89] LI Y, XU Y T, ZHENG T L, *et al.* Flocculation mechanism of the actinomycete *Streptomyces* sp. hsn06 on *Chlorella vulgaris*[J]. *Bioresource Technology*, 2017, **239**:137-143.
- [90] NYMAN J, LACINTRA M G, WESTMAN J O, *et al.* Pellet formation of zygomycetes and immobilization of yeast[J]. *New Biotechnology*, 2013, **30**(5):516-522.
- [91] 刁宁宁, 钱柳伊, 张建国, 等. 黑曲霉菌丝球吸附毕赤酵母的条件优化[J]. *工业微生物*, 2015, **45** (4): 7-11.
- DIAO N N, QIAN L Y, ZHANG J G, *et al.* Optimization of conditions for *Aspergillus niger* pellets adsorbing *Pichia pastoris*[J]. *Industrial Microbiology*, 2015, **45** (4):7-11.