



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107219349 B

(45)授权公告日 2019.05.07

(21)申请号 201710373249.0

(22)申请日 2017.05.24

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 107219349 A

(43)申请公布日 2017.09.29

(73)专利权人 中国科学院地球化学研究所  
地址 550081 贵州省贵阳市观山湖区林城西路99号

(72)发明人 吴沿友 赵丽华 张开艳 饶森  
李环 方蕾 吴沿胜 刘丛强  
王世杰

(74)专利代理机构 贵阳中新专利商标事务所  
52100  
代理人 刘艳

(51)Int.Cl.

C12Q 1/64(2006.01)

G01N 33/50(2006.01)

(56)对比文件

CN 103074411 A,2013.05.01,全文.

CN 102827916 A,2012.12.19,全文.

CN 103173520 A,2013.06.26,全文.

CN 105181820 A,2015.12.23,全文.

刘再华.岩石风化碳汇研究的最新进展和展望.《科学通报》.2012,第57卷(第2-3期),  
熊文斌.稳定碳同位素技术在岩溶碳循环中的应用.《水利科技与经济》.2013,第19卷(第5期),

赵丽华等.微藻CO<sub>2</sub>同化过程的稳定碳同位素分馏值.《中国岩溶》.2016,第35卷(第4期),

审查员 刘彦宁

权利要求书2页 说明书11页

(54)发明名称

一种定量微藻利用源于硅酸岩风化的无机碳能力方法

(57)摘要

本发明公开一种定量微藻利用源于硅酸岩风化的无机碳能力方法。通过测定硅酸盐岩风化过程中产生的碳酸氢根离子的碳同位素值、待测微藻二氧化碳同化过程中的稳定碳同位素分馏值、微藻的碳酸氢根离子途径份额以及微藻仅利用硅酸盐岩风化产生的碳酸氢根离子所形成的藻体碳同位素值,计算出微藻利用硅酸盐岩风化产生的无机碳源的利用份额,依据微藻利用硅酸盐岩风化产生的无机碳源的利用份额以及微藻增值倍数,最终定量出微藻利用源于硅酸岩风化的无机碳能力,为寻找遗失的碳汇提供新的途径。

1. 一种定量微藻利用源于硅酸盐岩风化的无机碳能力方法,其特征在于:包含以下步骤:

第一,利用添加碳酸氢钠的浓度为16mM以上、同时附加10mM乙酰唑胺即AZ双向同位素标记培养待测微藻,获取待测微藻二氧化碳同化过程中的稳定碳同位素分馏值 $\Delta$ ;

第二,同时设置对照组和测试组,培养条件相同;对照组为培养液中不添加硅酸盐岩,培养待测微藻;测试组为培养液中添加硅酸盐岩,培养待测微藻;

第三,将对照组中的待测微藻在培养液中培养7天以上,分别测定待测微藻的最初和最终生物量 $MC_0$ 和 $MC_N$ ;微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta_{0-C}$ ;培养后的微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 的值 $\delta_{S-C}$ ;

第四,将测试组待测微藻在培养液中同样培养7天以上,同样分别测定待测微藻的最初和最终生物量 $ME_0$ 和 $ME_N$ ;微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta_{0-E}$ ;培养后的微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 的值 $\delta_{S-E}$ ;

第五,测定对照组和测试组每天培养环境中大气二氧化碳的日平均稳定碳同位素组成,由此计算出对照组和测试组的培养环境中大气二氧化碳的平均稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 的值 $\delta_{air-E}$ ;

第六,分别计算对照组和测试组的微藻增值倍数 $P_C$ 和 $P_T$ ;

第七,利用对照组的微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta_{0-C}$ 、培养后的微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 的值 $\delta_{S-C}$ 以及微藻增值倍数 $P_C$ ,计算出对照组中微藻的新生藻体稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 值 $\delta_{T-C}$ ;

第八,同时,利用测试组的微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta_{0-E}$ 、培养后的微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 的值 $\delta_{S-E}$ 以及微藻增值倍数 $P_T$ ,计算出测试组中微藻的新生藻体稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 值 $\delta_{T-E}$ ;

第九,依据 $\delta_{air-E}$ 、 $\delta_{T-C}$ 和 $\Delta$ 值计算出测试组和对照组微藻的碳酸氢根离子途径份额 $f_b$ ;

第十,依据 $\delta_{air-E}$ 值计算出测试组中硅酸盐岩风化过程中产生的碳酸氢根离子的碳同位素值 $\delta_{C-W}$ ;

第十一,依据 $\delta_{C-W}$ 、 $f_b$ 和 $\Delta$ 计算出微藻仅利用硅酸盐岩风化产生的碳酸氢根离子所形成的藻体碳同位素值 $\delta_{TB}$ ;

第十二,依据 $\delta_{T-E}$ 、 $\delta_{T-C}$ 和 $\delta_{TB}$ 计算出微藻利用硅酸盐岩风化的无机碳源的利用份额 $f_B$ ;

第十三,依据微藻利用硅酸盐岩风化的无机碳源的利用份额 $f_B$ 、测试组的微藻增值倍数 $P_T$ ,计算出待测微藻利用源于硅酸盐岩风化的无机碳能力 $D$ ;

在第九步骤中,计算测试组和对照组微藻的碳酸氢根离子途径份额 $f_b$ 的方程为:

$f_b = \frac{\Delta + \delta_{T-C} - \delta_{air-E}}{9\text{‰}}$ ;在第十步骤中,计算测试组中硅酸盐岩风化过程中产生的碳酸氢根离子的碳同位素值 $\delta_{C-W}$ 的方程为:

$\delta_{C-W} = \delta_{air-E} - 1.1\text{‰}$ ;在第十一步骤中,计算微藻仅利用硅酸盐岩风化产生的碳酸氢根离子所形成的藻体碳同位素值 $\delta_{TB}$ 的方程为: $\delta_{TB} = \delta_{C-W} - \Delta + 9\text{‰}f_b$ 。

2. 根据权利要求1所述的定量微藻利用源于硅酸盐岩风化的无机碳能力方法,其特征在于:在第一步骤中,包括如下分步骤:

分步一、首先选择两种 $\delta^{13}C$ 值差值大于10‰的碳酸氢钠作为同位素标记1和同位素标记2分别添加到检测培养液中,同时在同样的培养条件下培养起始生物量相同的待测微藻;检

测培养液为添加碳酸氢钠的浓度为16mM以上、同时附加10mM乙酰唑胺也即AZ的藻类培养液；测定待测微藻的起始生物量 $M_0$ 和微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值 $\delta_0$ ；同位素标记1的碳酸氢钠的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 $\delta_{C1}$ ，同位素标记2的碳酸氢钠的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 $\delta_{C2}$ ；

分步二、其次将待测微藻在添加同位素标记的检测培养液中培养4天后，测定待测微藻的最终生物量 $M_N$ 和在两种同位素标记的检测培养液培养的被考察微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值 $\delta_{S1}$ 和 $\delta_{S2}$ ；

分步三、测定此培养期间每天培养环境中大气二氧化碳的日平均稳定碳同位素组成；由此计算出在培养期间，培养环境中大气二氧化碳的平均稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值 $\delta_{\text{air}}$ ；

分步四、获取待测微藻增值倍数 $P=M_N/M_0$ ；

分步五、将待测微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta_0$ 、待测微藻增值倍数 $P$ 以及在两种同位素标记的检测培养液培养的被考察微藻的稳定碳同位素组成 $\delta_{S1}$ 或 $\delta_{S2}$ 代入方程：

$\delta_{T1} = \frac{P\delta_{S1} - \delta_0}{P-1}$  和  $\delta_{T2} = \frac{P\delta_{S2} - \delta_0}{P-1}$ ，计算出在两种同位素标记的检测培养液培养的被考察微藻的新生藻体稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值 $\delta_{T1}$ 和 $\delta_{T2}$ ；

分步六、将 $\delta_{T1}$ 、 $\delta_{T2}$ 、 $\delta_{C1}$ 和 $\delta_{C2}$ 代入到方程： $f_{B-A} = \frac{\delta_{T1} - \delta_{T2}}{\delta_{C1} - \delta_{C2}}$ ，计算出待测微藻在碳酸氢根离子利用途径完全被抑制的情况下利用添加的无机碳源的份额 $f_{B-A}$ ；

分步七、将 $f_{B-A}$ 、 $\delta_{\text{air}}$ 以及 $\delta_{T1}$ 和 $\delta_{C1}$ 或 $\delta_{T2}$ 、 $\delta_{C2}$ 代入到方程：

$\Delta = \delta_{\text{air}} + f_{B-A}\delta_{C1} - \delta_{T1} - f_{B-A}\delta_{\text{air}}$  或  $\Delta = \delta_{\text{air}} + f_{B-A}\delta_{C2} - \delta_{T2} - f_{B-A}\delta_{\text{air}}$ ，计算出待测微藻二氧化碳同化过程中的稳定碳同位素分馏值 $\Delta$ 。

3. 根据权利要求1所述的定量微藻利用源于硅酸岩风化的无机碳能力方法，其特征在于：在第六步骤中，对照组和测试组的微藻增值倍数 $P_C$ 和 $P_T$ 的计算方法为 $P_C = M_{CN}/M_{C0}$ ， $P_T = M_{TN}/M_{T0}$ 。

4. 根据权利要求1所述的定量微藻利用源于硅酸岩风化的无机碳能力方法，其特征在于：在第七步骤中，计算对照组中微藻的新生藻体稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 值 $\delta_{T-C}$ 的方法为：将对照组的微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta_{0-C}$ 、培养后的微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值 $\delta_{S-C}$ 以及微藻增值倍数 $P_C$ 代入方程： $\delta_{T-C} = \frac{P_C\delta_{S-C} - \delta_{0-C}}{P_C - 1}$ ，计算 $\delta_{T-C}$ 。

5. 根据权利要求1所述的定量微藻利用源于硅酸岩风化的无机碳能力方法，其特征在于：在第八步骤中，计算出测试组中微藻的新生藻体稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 值 $\delta_{T-E}$ 的方法为：将测试组的微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta_{0-E}$ 、培养后的微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值 $\delta_{S-E}$ 以及微藻增值倍数 $P_T$ 代入方程： $\delta_{T-E} = \frac{P_T\delta_{S-E} - \delta_{0-E}}{P_T - 1}$ ，计算 $\delta_{T-E}$ 。

6. 根据权利要求1所述的定量微藻利用源于硅酸岩风化的无机碳能力方法，其特征在于：在第十二步骤中，计算微藻利用硅酸盐岩风化产生的无机碳源的利用份额 $f_B$ 的方程为：

$$f_B = \frac{\delta_{T-E} - \delta_{T-C}}{\delta_{TB} - \delta_{T-C}}$$

7. 根据权利要求1所述的定量微藻利用源于硅酸岩风化的无机碳能力方法，其特征在于：在第十三步骤中，计算出待测微藻利用源于硅酸岩风化的无机碳能力 $D$ 的方程为： $D = f_B (P_T - 1)$ 。

## 一种定量微藻利用源于硅酸岩风化的无机碳能力方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种定量微藻利用源于硅酸岩风化的无机碳能力方法,属于全球变化以及生态环境系统监测领域。

### 背景技术

[0002] 全球大气二氧化碳(CO<sub>2</sub>)浓度逐渐升高,全球气候变暖,全球碳循环已成为国际科学界关注的热点。全球碳储存库主要有化石燃料、陆地、大气、海洋,碳酸盐岩等,随着人类对化石燃料资源的开采燃烧及其土地开荒,扰动了前农业时期的全球碳循环。地球系统的碳循环影响着全球气候变化,它对世界经济、社会和生态环境等产生了重大影响,大气CO<sub>2</sub>浓度升高对世界各国经济的可持续发展和国家安全,等带来严峻挑战。钙镁硅酸盐岩的风化作用形成较为稳定的碳酸氢根离子(HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>),对气候调节起决定性的作用。



[0004] 硅酸盐在风化作用中,微藻作为古老的生命形式,贯穿整个地质,微藻能利用风化产生的碳酸氢根离子(HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>),形成“生物泵”,加速岩石的风化。定量出微藻利用源于硅酸岩风化的无机碳能力,可指示微藻对硅酸岩的生物溶蚀能力,为寻找遗失的碳汇提供新的途径。

### 发明内容

[0005] 本发明要解决的技术问题是:提供一种定量微藻利用源于硅酸岩风化的无机碳能力方法,实现微藻利用源于硅酸岩风化无机碳的光合碳汇的定量,可以补充部分被忽视的“遗失碳汇”,填补碳汇计算的空白。

[0006] 本发明采取以下技术方案:它包括以下步骤:

[0007] 第一,利用添加碳酸氢钠的浓度为16mM及以上、同时附加10mM乙酰唑胺也即AZ双向同位素标记培养待测微藻,获取待测微藻二氧化碳同化过程中的稳定碳同位素分馏值 $\Delta$ ;分步骤如下:

[0008] 分步一、首先选择两种 $\delta^{13}\text{C}$ 值差值大于10‰的碳酸氢钠作为同位素标记1和同位素标记2分别添加到检测培养液中,同时在同样的培养条件下培养起始生物量相同的待测微藻;检测培养液为添加碳酸氢钠的浓度为16mM及以上、同时附加10mM乙酰唑胺也即AZ的藻类培养液;测定待测微藻的起始生物量 $M_0$ 和微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值 $\delta_0$ 。同位素标记1的碳酸氢钠的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 $\delta_{c1}$ ,同位素标记2的碳酸氢钠的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 $\delta_{c2}$ ;

[0009] 分步二、其次将待测微藻在添加同位素标记的检测培养液中培养4天后,测定待测微藻的最终生物量 $M_N$ 和在两种同位素标记的检测培养液培养的被考察微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值 $\delta_{s1}$ 和 $\delta_{s2}$ ;

[0010] 分步三、测定此培养期间每天培养环境中大气二氧化碳的日平均稳定碳同位素组成;由此计算出在培养期间,培养环境中大气二氧化碳的平均稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值 $\delta_{\text{air}}$ ;

[0011] 分步四、获取待测微藻增值倍数 $P=M_N/M_0$ ;

[0012] 分步五、将待测微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta_0$ 、待测微藻增值倍数 $P$ 以及在两种同位素标记的检测培养液培养的被考察微藻的稳定碳同位素组成 $\delta_{S1}$ 或 $\delta_{S2}$ 代入方程:

$\delta_{T1} = \frac{P\delta_{S1} - \delta_0}{P-1}$  和  $\delta_{T2} = \frac{P\delta_{S2} - \delta_0}{P-1}$ , 计算出在两种同位素标记的检测培养液培养的被考察微藻的新生藻体稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 的值 $\delta_{T1}$ 和 $\delta_{T2}$ ;

[0013] 分步六、将 $\delta_{T1}$ 、 $\delta_{T2}$ 、 $\delta_{C1}$ 和 $\delta_{C2}$ 代入到方程:  $f_{B-A} = \frac{\delta_{T1} - \delta_{T2}}{\delta_{C1} - \delta_{C2}}$ , 计算出待测微藻在碳酸氢根离子利用途径完全被抑制的情况下利用添加的无机碳源的份额 $f_{B-A}$ ;

[0014] 分步七、将 $f_{B-A}$ 、 $\delta_{air}$ 以及 $\delta_{T1}$ 和 $\delta_{C1}$ 或 $\delta_{T2}$ 、 $\delta_{C2}$ 代入到方程:

[0015]  $\Delta = \delta_{air} + f_{B-A}\delta_{C1} - \delta_{T1} - f_{B-A}\delta_{air}$  或  $\Delta = \delta_{air} + f_{B-A}\delta_{C2} - \delta_{T2} - f_{B-A}\delta_{air}$ , 计算出待测微藻二氧化碳同化过程中的稳定碳同位素分馏值 $\Delta$ ;

[0016] 第二,同时设置对照组和测试组,培养条件相同;对照组为培养液中不添加硅酸盐岩,培养待测微藻;测试组为培养液中添加硅酸盐岩,培养待测微藻;

[0017] 第三,将对照组中的待测微藻在培养液中培养7天或7天以上,分别测定待测微藻的最初和最终生物量 $MC_0$ 和 $MC_N$ ;微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta_{0-C}$ ;培养后的微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 的值 $\delta_{S-C}$ ;

[0018] 第四,将测试组待测微藻在培养液中同样培养7天或7天以上,同样分别测定待测微藻的最初和最终生物量 $ME_0$ 和 $ME_N$ ;微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta_{0-E}$ ;培养后的微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 的值 $\delta_{S-E}$ ;

[0019] 第五,测定对照组和测试组每天培养环境中大气二氧化碳的日平均稳定碳同位素组成,由此计算出对照组和测试组的培养环境中大气二氧化碳的平均稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 的值 $\delta_{air-E}$ 。

[0020] 第六,分别计算对照组和测试组的微藻增值倍数 $P_C$ 和 $P_T$ ,  $P_C = MC_N/MC_0$ ,  $P_T = ME_N/ME_0$ ;

[0021] 第七,将对照组的微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta_{0-C}$ 、培养后的微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 的值 $\delta_{S-C}$ 以及微藻增值倍数 $P_C$ 代入方程:  $\delta_{T-C} = \frac{P_C\delta_{S-C} - \delta_{0-C}}{P_C - 1}$ , 计算出对照组中微藻的新生藻体稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 值 $\delta_{T-C}$ ;

[0022] 第八,同时,将测试组的微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta_{0-E}$ 、培养后的微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 的值 $\delta_{S-E}$ 以及微藻增值倍数 $P_T$ 代入方程:  $\delta_{T-E} = \frac{P_T\delta_{S-E} - \delta_{0-E}}{P_T - 1}$ , 计算出测试组中微藻的新生藻体稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 值 $\delta_{T-E}$ ;

[0023] 第九,将 $\delta_{air-E}$ 、 $\delta_{T-C}$ 、 $\Delta$ 代入方程 $f_b = \frac{\Delta + \delta_{T-C} - \delta_{air-E}}{9\%}$ 即可计算出测试组和对照组微藻的碳酸氢根离子途径份额 $f_b$ ;

[0024] 第十,确定测试组中硅酸盐岩风化过程中产生的碳酸氢根离子的碳同位素值 $\delta_{C-W}$ ;  
 $\delta_{C-W} = \delta_{air-E} - 1.1\%$ ;

[0025] 第十一,将 $\delta_{C-W}$ 、 $f_b$ 、 $\Delta$ 代入方程 $\delta_{TB} = \delta_{C-W} - \Delta + 9\%f_b$ 计算出微藻仅利用硅酸盐岩风化产生的碳酸氢根离子所形成的藻体碳同位素值 $\delta_{TB}$ ;

[0026] 第十二,将 $\delta_{T-E}$ 、 $\delta_{T-C}$ 、 $\delta_{TB}$ 代入方程 $f_B = \frac{\delta_{T-E} - \delta_{T-C}}{\delta_{TB} - \delta_{T-C}}$ ,即可算出微藻利用硅酸盐岩风化产

生的无机碳源的利用份额 $f_B$ ;

[0027] 第十三,将微藻利用硅酸盐岩风化产生的无机碳源的利用份额 $f_B$ 、测试组的微藻增值倍数 $P_T$ ,代入方程 $D=f_B(P_T-1)$ ,计算出待测微藻利用源于硅酸盐岩风化的无机碳能力 $D$ 。

[0028] 本发明的基本原理为:

[0029] 稳定碳同位素的强烈分馏特征是识别不同无机碳来源的基础。自然界中碳元素有两种稳定同位素: $^{12}\text{C}$ 和 $^{13}\text{C}$ ,它们的天然平均丰度分别为98.89%和1.11%。稳定碳同位素组成通常用 $\delta^{13}\text{C}$ (‰)表示,自然界中 $\delta^{13}\text{C}$ 的变化为-90‰~+20‰(PDB标准)。稳定碳同位素的强烈分馏特征有利于识别不同无机碳来源。质量平衡原理以及同位素混合模型和化学计量学方法,是定量识别不同无机碳来源的基础。

[0030] 微藻能且只能利用 $\text{CO}_2$ 与 $\text{HCO}_3^-$ 作为自身的碳源,一方面 $\text{CO}_2$ 作为线性非极性,呈电中性,能以分子形式经自由扩散进入细胞双层脂膜,进入细胞内为微藻光合作用所利用,此过程称为二氧化碳途径;另一方面碳酸氢根离子( $\text{HCO}_3^-$ )通过碳酸酐酶(CA)催化,被微藻直接利用(直接利用: $\text{HCO}_3^-$ 通过载体蛋白或阴离子交换蛋白转运进入细胞,一部分在细胞内经胞内碳酸酐酶转化为 $\text{CO}_2$ ,另一部分通过叶绿体膜蛋白主动转运到叶绿体内,经叶绿体碳酸酐酶转化为 $\text{CO}_2$ 参与光合作用)或间接利用(间接利用: $\text{HCO}_3^-$ 在胞外碳酸酐酶的催化作用水解,形成 $\text{CO}_2$ 直接自由扩散进行光合作用),此过程为微藻的碳酸氢根离子利用途径。

[0031] (一)微藻二氧化碳同化过程中的稳定碳同位素分馏值( $\Delta$ )的计算原理

[0032] 乙酰唑胺(acetazolamide,AZ)是含1,3,4-噻二唑环的杂环磺酰胺类碳酸酐酶胞外酶抑制剂,高浓度碳酸氢钠也对碳酸酐酶胞外酶有抑制作用,在高浓度碳酸氢钠和10mMAZ的作用下,依赖于胞外碳酸酐酶的碳酸氢根离子的间接转运途径和碳酸氢根离子的直接转运途径将同时被完全抑制。通过添加的两种标记的重碳酸盐的方法可以定量出微藻同化二氧化碳过程中的稳定碳同位素分馏值,进而建立计算无机碳利用途径份额的计算方法。

[0033] 微藻可以利用大气的无机碳源和添加的无机碳源,且对于每一种来源的无机碳的利用,都存在 $\text{CO}_2$ 和 $\text{HCO}_3^-$ 两种无机碳利用途径,为此,我们可以建立如下两端元的同位素混合模型:

$$[0034] \quad \delta_{T_i} = (1-f_{B_i}) \delta_{T_A} + f_{B_i} \delta_{T_B} = (1-f_{B_i}) [(1-f_{b_i}) (\delta_{\text{air}} - \Delta) + f_{b_i} (\delta_{\text{air}} - \Delta + 9\text{‰})] + f_{B_i} [(1-f_{b_i}) (\delta_{\text{C}_i} - \Delta) + f_{b_i} (\delta_{\text{C}_i} - \Delta + 9\text{‰})] \quad (i=1,2) \quad (1)$$

[0035]  $\delta_{T_A}$ 是指微藻只利用大气来源的无机碳时的藻体碳同位素值,包括: $\text{CO}_2$ 和 $\text{HCO}_3^-$ 这两种利用途径; $\delta_{T_B}$ 是指微藻只利用添加的碳酸氢钠来源的无机碳时的藻体碳同位素值,同样包括: $\text{CO}_2$ 和 $\text{HCO}_3^-$ 这两种利用途径。 $\delta_{T_i}$ 为添加已知 $\delta^{13}\text{C}$ 的某一碳酸氢钠培养的微藻藻体的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, $f_{B_i}$ 为微藻利用添加的无机碳占总碳源的份额,( $1-f_{B_i}$ )为微藻利用大气二氧化碳占总碳源的份额。 $f_{b_i}$ 为微藻利用碳酸氢根离子途径,( $1-f_{b_i}$ )为微藻二氧化碳利用途径份额。 $\delta_{\text{air}}$ 、 $\Delta$ 以及 $\delta_{\text{C}_i}$ 分别为环境中大气二氧化碳的平均稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值、二氧化碳同化过程中的稳定碳同位素分馏值以及同位素标记的碳酸氢钠的 $\delta^{13}\text{C}$ 值。

[0036] 在同一条件下培养的同一种微藻,对于添加的两种标记的重碳酸盐来说,方程(1)可以分别表示如下:

$$[0037] \quad \delta_{T_1} = (1-f_{B_1}) [(1-f_{b_1}) (\delta_{\text{air}} - \Delta) + f_{b_1} (\delta_{\text{air}} - \Delta + 9\text{‰})] + f_{B_1} [(1-f_{b_1}) (\delta_{\text{C}_1} - \Delta) + f_{b_1} (\delta_{\text{C}_1} - \Delta + 9\text{‰})] \quad (2)$$

$$[0038] \quad \delta_{T2} = (1-f_{B2}) [(1-f_{b2}) (\delta_{air} - \Delta) + f_{b2} (\delta_{air} - \Delta + 9\%)] + f_{B2} [(1-f_{b2}) (\delta_{C2} - \Delta) + f_{b2} (\delta_{C2} - \Delta + 9\%)] \quad (3)$$

[0039] 在方程(2)和(3)中,  $\delta_{T1}$ 为添加第一种已知 $\delta^{13}C$ 的碳酸氢钠培养的微藻藻体的 $\delta^{13}C$ 值;  $\delta_{T2}$ 为添加第二种已知 $\delta^{13}C$ 的碳酸氢钠培养的微藻藻体的 $\delta^{13}C$ 值;  $f_{B1}$ 为微藻利用添加的第一种碳酸氢钠占总碳源的份额;  $f_{B2}$ 为微藻利用添加的第二种碳酸氢钠占总碳源的份额;  $f_{b1}$ 为培养在添加第一种已知 $\delta^{13}C$ 的碳酸氢钠的培养液中的微藻利用碳酸氢根离子途径所占的份额;  $f_{b2}$ 为培养在添加第二种已知 $\delta^{13}C$ 的碳酸氢钠的培养液中的微藻利用碳酸氢根离子途径所占的份额。 $\delta_{C1}$ 为同位素标记1的碳酸氢钠的 $\delta^{13}C$ 值,  $\delta_{C2}$ 为同位素标记2的碳酸氢钠的 $\delta^{13}C$ 值;  $\Delta$ 值为微藻 $CO_2$ 同化过程中的稳定碳同位素分馏值;  $\delta_{air}$ 值为培养微藻时房间空气中的碳同位素值。

[0040] 不论添加哪种标记的碳酸氢钠,只要在同一培养条件下,同一种微藻利用添加的重碳酸盐所占总碳源的份额是相同的,即:  $f_{B1} = f_{B2} = f_B$ 。不论添加哪种标记的碳酸氢钠,只要在同一培养条件下,同一种微藻利用碳酸氢根离子途径所占的份额是相同的,由此可以得到:  $f_{b1} = f_{b2} = f_b$ 。此基础上,将方程(2)与方程(3)做差、化简可得:

$$[0041] \quad f_B = \frac{\delta_{T1} - \delta_{T2}}{\delta_{C1} - \delta_{C2}} \quad (4)$$

[0042] 在高浓度碳酸氢钠和10mMAZ的作用下,依赖于胞外碳酸酐酶的碳酸氢根离子的间接转运途径和碳酸氢根离子的直接转运途径将同时被完全抑制,所以:

$$[0043] \quad f_{b1} = f_{b2} = f_b = 0 \quad (5)$$

[0044] 这样,此时的(2)和(3)式可分别简化成:

$$[0045] \quad \Delta = \delta_{air} + f_B \delta_{C1} - \delta_{T1} - f_B \delta_{air} \quad (6)$$

$$[0046] \quad \Delta = \delta_{air} + f_B \delta_{C2} - \delta_{T2} - f_B \delta_{air} \quad (7)$$

[0047]  $\delta_{T1}$ 为添加第一种已知 $\delta^{13}C$ 的碳酸氢钠培养的微藻藻体的 $\delta^{13}C$ 值;  $\delta_{T2}$ 为添加第二种已知 $\delta^{13}C$ 的碳酸氢钠培养的微藻藻体的 $\delta^{13}C$ 值;

[0048] 收获后的微藻藻体的 $\delta^{13}C$ 值,不完全是新生成的藻体的 $\delta^{13}C$ ,而是含有培养时的原始藻体加新生成的藻体的 $\delta^{13}C$ 混合值,因此,为了获取新生成的藻体的 $\delta^{13}C$ 值 $\delta_{Ti}$ 或 $\delta_{T2}$ ;我们建立了如下方程:

$$[0049] \quad \delta_0 + (P-1) \times \delta_{Ti} = P \times \delta_{Si} \quad (8)$$

[0050]  $P$ 为微藻增值倍数,其值为实验处理后的微藻生物量( $M_N$ )/初始接种时的微藻生物量( $M_0$ );

[0051]  $\delta_0$ 为初始接种的微藻藻体碳同位素组成( $\delta^{13}C$ );

[0052]  $\delta_{Si}$ 为实验处理后的微藻藻体碳同位素组成( $\delta^{13}C$ ) ( $i=1, 2$ );

[0053]  $\delta_{Ti}$ 为实验处理新生成的藻体碳同位素组成( $\delta^{13}C$ ) ( $i=1, 2$ )。

[0054] (8)式变形后为:

$$[0055] \quad \delta_{Ti} = \frac{P\delta_{Si} - \delta_0}{P-1} \quad (i=1, 2) \quad (9)$$

[0056] 因此知道了 $\delta_{Ti}$ 、 $\delta_{Ci}$ 以及培养期间培养环境中大气二氧化碳平均稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 的值 $\delta_{air}$ ,由(6)和(7)式计算微藻二氧化碳同化过程中的稳定碳同位素分馏值 $\Delta$ 。

[0057] (二)微藻利用硅酸盐岩风化产生的无机碳源的利用份额的计算原理

[0058] 在风化水体中微藻可以利用直接来源于大气的无机碳源和硅酸盐岩风化产生的

无机碳源,建立微藻碳同位素的两端元混合模型为:

$$[0059] \quad \delta_T = (1-f_B) \delta_{TA} + f_B \delta_{TB} \quad (10)$$

[0060] 化简可得:

$$[0061] \quad f_B = (\delta_T - \delta_{TA}) / (\delta_{TB} - \delta_{TA}) \quad (11)$$

[0062] 式中: $\delta_{TA}$ 为微藻只利用直接来源于空气二氧化碳的无机碳时的碳同位素值;

[0063]  $\delta_{TB}$ 为微藻只利用硅酸盐岩风化产生的无机碳源时的碳同位素值;

[0064]  $\delta_T$ 值为硅酸盐岩处理下的微藻藻体的碳同位素值;

[0065]  $f_B$ 为微藻利用硅酸盐岩风化产生的无机碳源的利用份额;

[0066]  $1-f_B$ 为微藻利用直接来源于空气二氧化碳的无机碳的的利用份额。

[0067] 且对于每一种来源的无机碳的利用,都存在 $CO_2$ 和 $HCO_3^-$ 两种无机碳利用途径,在无机碳利用过程中, $HCO_3^-$ 的直接转运过程存在约10‰的碳同位素分馏,由CAex催化的 $HCO_3^-$ 的间接转运过程只存在约1.1‰的碳同位素分馏,两者之间存在约9‰的稳定碳同位素分馏差异。故建立的两端元混合模型(10)式可化为:

$$[0068] \quad \delta_T = (1-f_B) [(1-f_b) (\delta_{air} - \Delta) + f_b (\delta_{air} - \Delta + 9\text{‰})] + f_B [(1-f_b) (\delta_C - \Delta) + f_b (\delta_C - \Delta + 9\text{‰})] \quad (11)$$

[0069] 化简得:

$$[0070] \quad f_b = [f_B (\delta_{air} - \delta_C) + (\Delta + \delta_T - \delta_{air})] / 9\text{‰} \quad (12)$$

[0071] 式中: $\delta_C$ 值为硅酸盐岩风化过程中产生的碳酸氢根离子的碳同位素值;

[0072]  $\Delta$ 值为微藻 $CO_2$ 同化过程中的稳定碳同位素分馏值;

[0073]  $\delta_{air}$ 值为培养微藻时环境空气中的碳同位素值;

[0074]  $f_b$ 值为微藻的碳酸氢根离子途径利用份额;

[0075]  $1-f_b$ 值为微藻的二氧化碳途径利用份额。

[0076] 根据(12)式,微藻在有硅酸盐岩和无硅酸盐岩处理的情况下,其碳酸氢根离子途径份额并不会改变,则 $f_b = f_{b1} = f_{b2}$ :

$$[0077] \quad f_{b1} = [f_{B1} (\delta_{air} - \delta_C) + (\Delta + \delta_{T1} - \delta_{air})] / 9\text{‰} \quad (13)$$

$$[0078] \quad f_{b2} = [f_{B2} (\delta_{air} - \delta_C) + (\Delta + \delta_{T2} - \delta_{air})] / 9\text{‰} \quad (14)$$

[0079] 其中: $f_{B1}$ 值为微藻在没有硅酸盐岩处理下利用硅酸盐岩风化产生的无机碳源的利用份额;

[0080]  $f_{B2}$ 值为微藻在有硅酸盐岩处理下利用硅酸盐岩风化产生的无机碳源的利用份额;

[0081]  $f_{b1}$ 值为微藻在没有硅酸盐岩处理下的碳酸氢根离子途径利用份额;

[0082]  $f_{b2}$ 值为微藻在有硅酸盐岩处理下的碳酸氢根离子途径利用份额;

[0083]  $\delta_{T1}$ 值为在没有硅酸盐岩处理下微藻藻体的碳同位素值;

[0084]  $\delta_{T2}$ 值为在有硅酸盐岩处理下微藻藻体的碳同位素值。

[0085] 当不添加硅酸盐岩时 $f_{B1}$ 值为0,计算出 $f_b$ 如(15)式

$$[0086] \quad f_b = (\Delta + \delta_{T1} - \delta_{air}) / 9\text{‰} \quad (15)$$

[0087] 根据(11)式,可将 $\delta_{TB}$ 表示为(16)式:

$$[0088] \quad \delta_{TB} = (1-f_b) (\delta_C - \Delta) + f_b (\delta_C - \Delta + 9\text{‰}) \quad (16)$$

[0089] (16)式化简得:

$$[0090] \quad \delta_{TB} = \delta_C - \Delta + 9\text{‰} f_b \quad (17)$$

[0091]  $\delta_C$ 值为硅酸盐岩风化过程中产生的碳酸氢根离子的碳同位素值,其值可根据空气中的二氧化碳分馏值计算得到,如(18)式:

$$[0092] \quad \delta_C = \delta_{air} - 1.1\% \quad (18)$$

[0093]  $\Delta_{CO_2-HCO_3^-}$ 在25℃下,缓慢的平衡状态下约为8.5‰,但是由于藻类快速吸收利用,使得二氧化碳水解平衡一直向着碳酸氢根离子方向发展,因此,在有藻类快速利用碳酸氢根离子的情况下硅酸盐岩风化过程产生的 $\Delta_{CO_2-HCO_3^-}$ 碳同位素分馏值取为1.1‰。

[0094] (11)式中微藻利用硅酸盐岩风化产生的无机碳源的利用份额 $f_B = (\delta_T - \delta_{TA}) / (\delta_{TB} - \delta_{TA})$ 中 $\delta_T$ 值为添加硅酸盐岩培养的藻体碳同位素值, $\delta_{TA}$ 即为同条件下不加硅酸盐岩培养的藻体碳同位素值, $\delta_{TB}$ 可根据(17)式计算出,即可算出微藻利用硅酸盐岩风化产生的无机碳源的利用份额 $f_B$ 。最后,以微藻利用硅酸盐岩风化产生的无机碳源的利用份额 $f_B$ 与微藻新增值倍数的乘积来表征微藻利用源于硅酸盐岩风化的无机碳能力。

[0095] 本发明的有益效果:

[0096] 1) 本方法不仅能量化在微藻对硅酸盐的生物溶蚀作用过程中的碳酸氢根离子途径份额,而且还能量化出微藻利用硅酸盐岩风化产生的碳酸氢根离子的份额。

[0097] 2) 本方法可以定量出不同微藻利用源于不同的硅酸盐岩风化的无机碳能力,结果具有可比性。

[0098] 3) 本方法提供了一种微藻易被忽视的部分“碳汇”的获取方法,为寻找遗失的碳汇提供技术支撑。

[0099] 4) 本方法还可以通过定量出不同微藻利用源于不同的硅酸盐岩风化的无机碳能力来比较不同微藻对硅酸盐的生物溶蚀作用。

## 具体实施方式

[0100] 本发明的实例:它包括以下步骤:

[0101] 第一步骤,利用添加碳酸氢钠的浓度为16mM及以上、同时附加10mM乙酰唑胺也即AZ双向同位素标记培养待测微藻,获取待测微藻二氧化碳同化过程中的稳定碳同位素分馏值 $\Delta$ ;分步骤如下:

[0102] (1) 首先选择两种 $\delta^{13}C$ 值差值大于10‰的碳酸氢钠作为同位素标记1和同位素标记2分别添加到检测培养液中,同时在同样的培养条件下培养起始生物量相同的待测微藻;检测培养液为添加碳酸氢钠的浓度为16mM及以上、同时附加10mM乙酰唑胺也即AZ的藻类培养液。测定待测微藻的起始生物量 $M_0$ 和微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 的值 $\delta_0$ 。同位素标记1的碳酸氢钠的 $\delta^{13}C$ 值为 $\delta_{C1}$ ,同位素标记2的碳酸氢钠的 $\delta^{13}C$ 值为 $\delta_{C2}$ ;将待测微藻在添加同位素标记的检测培养液中培养收获后,测定待测微藻的最终生物量 $M_N$ 和在两种同位素标记的检测培养液培养的被考察微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 的值 $\delta_{S1}$ 和 $\delta_{S2}$ 。测定培养期间每天培养环境中大气二氧化碳的日平均稳定碳同位素组成,由此计算出在培养期间,培养环境中大气二氧化碳的平均稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 的值 $\delta_{air}$ 。

[0103] (2) 待测微藻增值倍数 $P = M_N / M_0$ 。将微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta_0$ 、待测微藻增值倍数 $P$ 以及在两种同位素标记的检测培养液培养的被考察微藻的稳定碳同位素组成 $\delta_{S1}$ 或 $\delta_{S2}$ 代入方程:

$$\delta_{T1} = \frac{P\delta_{S1} - \delta_0}{P-1} \text{ 和 } \delta_{T2} = \frac{P\delta_{S2} - \delta_0}{P-1}, \text{ 计算出在两种同位素标记的检测培养液培养的}$$

被考察微藻的新生藻体稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值 $\delta_{\text{T1}}$ 和 $\delta_{\text{T2}}$ 。将 $\delta_{\text{T1}}$ 、 $\delta_{\text{T2}}$ 、 $\delta_{\text{C1}}$ 和 $\delta_{\text{C2}}$ 代入到方程：

$$f_{\text{B-A}} = \frac{\delta_{\text{T1}} - \delta_{\text{T2}}}{\delta_{\text{C1}} - \delta_{\text{C2}}}, \text{计算出待测微藻利用添加的无机碳源的份额 } f_{\text{B-A}}。$$

[0104] (3) 将 $f_{\text{B-A}}$ 、 $\delta_{\text{air}}$ 以及 $\delta_{\text{T1}}$ 和 $\delta_{\text{C1}}$ 或 $\delta_{\text{T2}}$ 、 $\delta_{\text{C2}}$ 代入到方程：

[0105]  $\Delta = \delta_{\text{air}} + f_{\text{B-A}}\delta_{\text{C1}} - \delta_{\text{T1}} - f_{\text{B-A}}\delta_{\text{air}}$ 或 $\Delta = \delta_{\text{air}} + f_{\text{B-A}}\delta_{\text{C2}} - \delta_{\text{T2}} - f_{\text{B-A}}\delta_{\text{air}}$ ，计算出待测微藻二氧化碳同化过程中的稳定碳同位素分馏值 $\Delta$ ；

[0106] 第二步骤，同时设置对照组和测试组，培养条件相同；对照组为培养液中不添加硅酸盐岩，培养待测微藻；测试组为培养液中添加硅酸盐岩，培养待测微藻；

[0107] 第三步骤，将对照组中的待测微藻在培养液中培养7天后，分别测定待测微藻的最初和最终生物量 $\text{MC}_0$ 和 $\text{MC}_\text{N}$ ；微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta_{0-\text{C}}$ ；培养后的微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值 $\delta_{\text{S-C}}$ ；

[0108] 第四步骤，将测试组待测微藻在培养液中同样培养7天后，同样分别测定待测微藻的最初和最终生物量 $\text{ME}_0$ 和 $\text{ME}_\text{N}$ ；微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta_{0-\text{E}}$ ；培养后的微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值 $\delta_{\text{S-E}}$ ；

[0109] 第五步骤，测定对照组和测试组每天培养环境中大气二氧化碳的日平均稳定碳同位素组成，由此计算出对照组和测试组的培养环境中大气二氧化碳的平均稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值 $\delta_{\text{air-E}}$ 。

[0110] 第六步骤，分别计算对照组和测试组的微藻增值倍数 $P_\text{C}$ 和 $P_\text{T}$ ， $P_\text{C} = \text{MC}_\text{N}/\text{MC}_0$ ， $P_\text{T} = \text{ME}_\text{N}/\text{ME}_0$ ；

[0111] 第七步骤，将对照组的微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta_{0-\text{C}}$ 、培养后的微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值 $\delta_{\text{S-C}}$ 以及微藻增值倍数 $P_\text{C}$ 代入方程： $\delta_{\text{T-C}} = \frac{P_\text{C}\delta_{\text{S-C}} - \delta_{0-\text{C}}}{P_\text{C} - 1}$ ，计算出对照组中微藻的新生藻体稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 值 $\delta_{\text{T-C}}$ ；

[0112] 第八步骤，同时，将测试组的微藻的起始稳定碳同位素组成 $\delta_{0-\text{E}}$ 、培养后的微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值 $\delta_{\text{S-E}}$ 以及微藻增值倍数 $P_\text{T}$ 代入方程： $\delta_{\text{T-E}} = \frac{P_\text{T}\delta_{\text{S-E}} - \delta_{0-\text{E}}}{P_\text{T} - 1}$ ，计算出测试组中微藻的新生藻体稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 值 $\delta_{\text{T-E}}$ ；

[0113] 第九步骤，将 $\delta_{\text{air-E}}$ 、 $\delta_{\text{T-C}}$ 、 $\Delta$ 代入方程 $f_\text{b} = \frac{\Delta + \delta_{\text{T-C}} - \delta_{\text{air-E}}}{9\text{‰}}$ 即可计算出测试组和对照组微藻的碳酸氢根离子途径份额 $f_\text{b}$ ；

[0114] 第十步骤，依据 $\delta_{\text{air-E}}$ 确定测试组中硅酸盐岩风化过程中产生的碳酸氢根离子的碳同位素值 $\delta_{\text{C-W}}$ ， $\delta_{\text{C-W}} = \delta_{\text{air-E}} - 1.1\text{‰}$ ；

[0115] 第十一步骤，将 $\delta_{\text{C-W}}$ 、 $f_\text{b}$ 、 $\Delta$ 代入方程 $\delta_{\text{TB}} = \delta_{\text{C-W}} - \Delta + 9\text{‰}f_\text{b}$ 计算出微藻仅利用硅酸盐岩风化产生的碳酸氢根离子所形成的藻体碳同位素值 $\delta_{\text{TB}}$ ；

[0116] 第十二步骤，将 $\delta_{\text{T-E}}$ 、 $\delta_{\text{T-C}}$ 、 $\delta_{\text{TB}}$ 代入方程 $f_\text{B} = \frac{\delta_{\text{T-E}} - \delta_{\text{T-C}}}{\delta_{\text{TB}} - \delta_{\text{T-C}}}$ ，即可算出微藻利用硅酸盐岩风化产生的无机碳源的利用份额 $f_\text{B}$ ；

[0117] 第十三步骤，将微藻利用硅酸盐岩风化产生的无机碳源的利用份额 $f_\text{B}$ 、测试组的微藻增值倍数 $P_\text{T}$ ，代入方程 $D = f_\text{B}(P_\text{T} - 1)$ ，计算出待测微藻利用源于待测硅酸盐岩风化的无机碳能力 $D$ 。

[0118] 实施例1:在不同营养下莱茵衣藻利用源于硅酸岩风化的无机碳能力

[0119] 实施例1的实施效果如下:

[0120] 实验1:莱茵衣藻在二氧化碳同化过程中的稳定碳同位素分馏值( $\Delta$ )的计算;

[0121] 培养材料为:莱茵衣藻。培养基为在基本培养液(SE培养基)添加16mM碳酸氢钠和10mMAZ,基本培养条件为:光周期L/D:12h/12h;温度25℃;光照强度为100 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , pH值8.3。添加的碳酸氢钠的 $\delta^{13}\text{C}$ 分别为-17.4‰(PDB) ( $\delta_{\text{C1}}$ )和-28.4‰(PDB) ( $\delta_{\text{C2}}$ ),表1表示莱茵衣藻有关实验数据。

[0122] 表1莱茵衣藻新生藻体稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值

藻体	$\delta_{\text{S1}}$	$\delta_{\text{S2}}$	$\delta_{\text{O}}$	P	$\delta_{\text{T1}}$	$\delta_{\text{T2}}$
	‰	‰	‰		‰	‰
莱茵衣藻	-29.5	-33.9	-23.0	4.34	-31.4	-37.2

[0124] 依据表1可以获得莱茵衣藻的二氧化碳同化过程中的稳定碳同位素分馏值 $\Delta$ 如表2。

[0125] 表2莱茵衣藻的二氧化碳同化过程中的稳定碳同位素分馏值 $\Delta$ (‰)

藻体	$\delta_{\text{T1}}$	$\delta_{\text{T2}}$	$f_{\text{B-A}}$	$\delta_{\text{air}}$	$\Delta_1$	$\Delta_2$
	‰	‰		‰	‰	‰
莱茵衣藻	-31.4	-37.2	0.527	-14.6	15.3	15.3

[0127] 实验2:莱茵衣藻利用硅酸岩风化产生的无机碳源的利用份额以及莱茵衣藻对硅酸岩的溶蚀作用能力的计算;

[0128] 培养材料为:莱茵衣藻。培养基为SE培养基与别镁SE培养基(用等质量的硫酸钠代替硫酸镁),其pH值6.3。基本培养条件为:光周期L/D:12h/12h;温度25℃;光照强度为100 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。SE培养基条件下培养莱茵衣藻,一组为添加橄榄岩的,一组不添加橄榄岩;别镁SE培养基条件下培养莱茵衣藻,一组为添加橄榄岩的,一组不添加橄榄岩;每一组处理均设置三个实验平行,培养7天后测定各个处理的藻体碳同位素值,测定空气的稳定碳同位素值 $\delta_{\text{air}}$ ,结果见表3。

[0129] 表3莱茵衣藻的碳同位素值、空气稳定碳同位素值以及微藻增值倍数

莱茵衣藻	$\delta_{\text{O-C}}$ ( $\delta_{\text{O-E}}$ )	$\delta_{\text{S-C}}$ ( $\delta_{\text{S-E}}$ )	$\delta_{\text{T-C}}$ ( $\delta_{\text{T-E}}$ )	$\delta_{\text{air-E}}$	$\Delta$	$P_{\text{C}}$ ( $P_{\text{T}}$ )
	‰	‰	‰	‰	‰	
<i>C.R+L</i>	-16.84	-16.56	-16.47	-10.6	15.3	4.17
<i>C.R+R+L</i>	-16.84	-16.84	-16.84	-10.6	15.3	4.38
<i>C.R+F</i>	-16.84	-16.91	-16.94	-10.6	15.3	3.64
<i>C.R+R+F</i>	-16.84	-16.96	-17.01	-10.6	15.3	3.46

[0131] 注:C.R+L表示别镁SE培养基、添加莱茵衣藻的处理组;

[0132] C.R+R+L表示剔镁SE培养基、添加莱茵衣藻与橄榄岩样品的处理组；

[0133] C.R+F表示SE培养基、添加莱茵衣藻的处理组；

[0134] C.R+R+F表示SE培养基、添加莱茵衣藻与橄榄岩样品的处理组。

[0135] 根据表3的相关实验数据,根据本发明的计算方法,可计算出测试组和对照组微藻的碳酸氢根离子途径份额 $f_b$ ;硅酸盐岩风化过程中产生的碳酸氢根离子的碳同位素值 $\delta_{C-W}$ 、微藻仅利用硅酸盐岩风化产生的碳酸氢根离子所形成的藻体碳同位素值 $\delta_{TB}$ 、微藻利用硅酸盐岩风化产生的无机碳源的利用份额 $f_B$ 以及微藻利用源于硅酸盐岩风化无机碳能力D(如表4)

[0136] 表4莱茵衣藻利用的橄榄岩风化过程中的碳酸氢根的份额和微藻利用源于硅酸盐岩风化无机碳能力

	莱茵衣藻	$\delta_{C-W}$ ‰	$f_b$	$\delta_{TB}$ ‰	$f_B$	D
[0137]	C.R+R+L	-11.7	1.05* (取 1.00)	-18.0	0.24	0.81.
	C.R+R+F	-11.7	1.00	-18.0	0.07	0.17

[0138] \* $f_b$ 不能超过1,超过1为测定精度造成的,所以取1。

[0139] 从表4中可以看出,莱茵衣藻在缺镁培养基与不缺镁培养基的两种培养条件下微藻利用源于硅酸盐岩风化的无机碳能力明显不同。在缺镁条件下,微藻能利用的橄榄岩风化过程产生的碳酸氢根离子份额较大,促进了溶蚀反应方程式向右进行,产生的碳酸氢根离子多,因此,微藻利用源于硅酸盐岩风化无机碳能力强,这与实际相符。上述测得的模式藻类利用的橄榄岩风化过程中的碳酸氢根的份额一方面可用于估算野外环境下微藻利用硅酸盐岩风化产生的无机碳形成的碳汇,另一方面还可以用于不同培养环境下无机碳利用途径的份额、无机碳源利用份额的确定。

[0140] 实施例2:在不同营养下蛋白核小球藻利用源于硅酸盐风化的无机碳能力

[0141] 实施例2的实施效果如下:

[0142] 实验1:蛋白核小球藻二氧化碳同化过程中的稳定碳同位素分馏值( $\Delta$ )的计算;

[0143] 培养材料为:蛋白核小球藻。培养基为在基本培养液(SE培养基)添加16mM碳酸氢钠和10mMAZ,基本培养条件为:光周期L/D:12h/12h;温度25℃;光照强度为 $100\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,pH值8.3。添加的碳酸氢钠的 $\delta^{13}\text{C}$ 分别为-17.4‰(PDB) ( $\delta_{C1}$ )和-28.4‰(PDB) ( $\delta_{C2}$ ),表5表示蛋白核小球藻的有关实验数据。

[0144] 表5蛋白核小球藻新生藻体稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值

	藻体	$\delta_{S1}$ ‰	$\delta_{S2}$ ‰	$\delta_O$ ‰	P	$\delta_{T1}$ ‰	$\delta_{T2}$ ‰
[0145]	蛋白核小球藻	-28.9	-33.3	-22.7	4.16	-30.9	-36.7

[0146] 依据表5可以获得蛋白核小球藻的二氧化碳同化过程中的稳定碳同位素分馏值 $\Delta$ 如表6。

[0147] 表6蛋白核小球藻的二氧化碳同化过程中的稳定碳同位素分馏值 $\Delta$ (‰)

藻体	$\delta_{T1}$	$\delta_{T2}$	$f_{B-A}$	$\delta_{air}$	$\Delta_1$	$\Delta_2$
	‰	‰		‰	‰	‰
蛋白核小球藻	-30.9	-36.7	0.527	-14.6	14.8	14.8

[0149] 实验2:蛋白核小球藻利用硅酸岩风化产生的无机碳源的利用份额以及蛋白核小球藻利用源于硅酸岩风化无机碳能力的计算;

[0150] 培养材料为:蛋白核小球藻。培养基为SE培养基与剔镁SE培养基(用等物质量的硫酸钠代替硫酸镁),其pH值6.3。基本培养条件为:光周期L/D:12h/12h;温度25℃;光照强度为 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。SE培养基条件下培养莱茵衣藻,一组为添加橄榄岩的,一组不添加橄榄岩;剔镁SE培养基条件下培养蛋白核小球藻,一组为添加橄榄岩的,一组不添加橄榄岩;每一组处理均设置三个实验平行,培养七天后测定各个处理的藻体碳同位素值,测定空气的稳定碳同位素值 $\delta_{air}$ ,其结果见表7。

[0151] 表7蛋白核小球藻的碳同位素值、空气稳定碳同位素值以及微藻增值倍数

蛋白核小球藻	$\delta_{O-C}$ ( $\delta_{O-E}$ ) ‰	$\delta_{S-C}$ ( $\delta_{S-E}$ ) ‰	$\delta_{T-C}$ ( $\delta_{T-E}$ ) ‰	$\delta_{air-E}$ ‰	$\Delta$ ‰	$P_C$ ( $P_T$ )
<i>C.P+L</i>	-17.32	-17.39	-17.41	-10.6	14.8	4.64
<i>C.P+R+L</i>	-17.32	-17.59	-17.64	-10.6	14.8	6.06
<i>C.P+F</i>	-17.32	-17.45	-17.50	-10.6	14.8	3.70
<i>C.P+R+F</i>	-17.32	-17.55	-17.59	-10.6	14.8	6.77

[0153] 注:C.P+L表示剔镁SE培养基、添加蛋白核小球藻的处理组;

[0154] C.P+R+L表示剔镁SE培养基、添加小球藻与橄榄岩样品的处理组;

[0155] C.P+F表示SE培养基、蛋白核小球藻的处理组;

[0156] C.P+R+F表示SE培养基、蛋白核小球藻、橄榄岩样品的处理组;

[0157] 根据表7的相关实验数据,根据本发明的计算方法,可计算出测试组和对照组微藻的碳酸氢根离子途径份额 $f_b$ ;硅酸盐岩风化过程中产生的碳酸氢根离子的碳同位素值 $\delta_{C-W}$ 、微藻仅利用硅酸盐岩风化产生的碳酸氢根离子所形成的藻体碳同位素值 $\delta_{TB}$ 、微藻利用硅酸盐岩风化产生的无机碳源的利用份额 $f_B$ 以及微藻利用源于硅酸岩风化无机碳能力D(如表8)

[0158] 表8蛋白核小球藻利用的橄榄岩风化过程中的碳酸氢根的份额和蛋白核小球藻利用源于硅酸岩风化无机碳能力

蛋白核小球藻	$\delta_{C-W}$ ‰	$f_b$	$\delta_{TB}$ ‰	$f_B$	D
<i>C.P+R+L</i>	-11.7	0.89	-18.49	0.22	1.11
<i>C.P+R+F</i>	-11.7	0.88	-18.58	0.08	0.46

[0160] 从表8中可以看出,在缺镁培养基与不缺镁培养基的两种培养条件下蛋白核小球

藻利用源于硅酸岩风化的无机碳能力差异也较大。同样地,在缺镁条件下,蛋白核小球藻能利用的橄榄岩风化过程产生的碳酸氢根离子份额也大于不缺镁培养基中蛋白核小球藻能利用的橄榄岩风化过程产生的碳酸氢根离子份额,最终导致蛋白核小球藻在缺镁培养基中利用源于硅酸岩风化的无机碳能力大于不缺镁培养基中的蛋白核小球藻利用源于硅酸岩风化的无机碳能力。

[0161] 综合实施例1和实施例2的结果可以看出,蛋白核小球藻利用源于橄榄岩风化的无机碳能力远远大于莱茵衣藻利用源于橄榄岩风化的无机碳能力,这与蛋白核小球藻的细胞显著小于莱茵衣藻的细胞有关。具有同样生物量的蛋白核小球藻因细胞小,比表面积大,接触硅酸岩的面积大,因此具有较强的溶蚀能力,产生的碳酸氢根离子量大,最终导致微藻利用源于硅酸岩风化的无机碳能力强。