



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112501237 B

(45) 授权公告日 2022.12.23

(21) 申请号 202011265613.X

(22) 申请日 2020.11.12

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112501237 A

(43) 申请公布日 2021.03.16

(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 李海涛 吴沿胜 张承
苏跃 童成英 孙涛 方蕾 周英
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
专利代理师 刘艳

(51) Int.Cl.

C12Q 1/02 (2006.01)

C12R 1/89 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 103074411 A, 2013.05.01

CN 102511362 A, 2012.06.27

李海涛等. 双同位素示踪定量微藻对碳源利用份额的方法研究.《中国岩溶》.2016,第35卷(第6期),第614-618页.

Haitao Li等.Effects of carbon anhydrase on utilization of bicarbonate in microalgae: a case study in lake hongfeng.《Acta Geochim》.2018,第37卷(第4期),第519-525页.

审查员 罗洋

权利要求书1页 说明书7页

(54) 发明名称

一种预测微藻重碳酸盐利用能力的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种预测微藻重碳酸盐利用能力的方法,属于应对气候变化和海洋生物工程领域。分别添加不同浓度的两种 $\delta^{13}\text{C}$ 值差异悬殊的碳酸氢钠同时培养待测微藻,测定藻体 $\delta^{13}\text{C}$ 值和藻体蛋白质增殖倍数,利用两端元的同位素混合模型获取不同浓度的重碳酸盐培养的微藻利用重碳酸盐的份额;以高斯方程分别拟合微藻蛋白质增加倍数与重碳酸盐浓度、微藻利用重碳酸盐的份额与重碳酸盐浓度的方程,获得方程中的各参数值,进一步获取重碳酸盐利用能力与重碳酸盐浓度的关系方程。将待测的培养液重碳酸盐浓度带入上述重碳酸盐利用能力与重碳酸盐浓度的关系方程中,即可计算出微藻在待测重碳酸盐浓度下的碳酸盐利用能力。

1. 一种预测微藻重碳酸盐利用能力的方法,其特征在于包括:

步骤一,选择两种 $\delta^{13}\text{C}$ 值差值大于8‰的碳酸氢钠作为同位素标记1和同位素标记2,设置不同浓度,分别添加到培养液中来培养待测微藻;同位素标记1的碳酸氢钠的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_{c1} ,同位素标记2的碳酸氢钠的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_{c2} ;

步骤二,在培养的起始期测定藻体蛋白质生物量和各培养液的重碳酸盐浓度 c ;

步骤三,将待测微藻在被考察的培养条件下培养,培养4天后,收获藻体,分别测定添加不同浓度两种同位素标记的碳酸氢钠的培养液培养的相对应的各培养条件下的、被考察微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值 δ_{T1} 、 δ_{T2} ;以及藻体蛋白质增加倍数 p ;

步骤四,通过方程 $f_B = \frac{\delta_{T1} - \delta_{T2}}{\delta_{c1} - \delta_{c2}}$,计算出微藻不同重碳酸盐浓度下利用重碳酸盐的份额 f_B ;

步骤五,以高斯方程拟合微藻蛋白质增加倍数 p 与重碳酸盐浓度 c 的方程,获得方程中的各参数值;其中,

以高斯方程拟合微藻蛋白质增加倍数 p 与重碳酸盐浓度 c 的方程为:
$$p = me \left[\frac{(c-c_0)^2}{2n^2} \right]$$
,

中,参数 m 指高斯曲线的峰值, c_0 为其对应的横坐标, n 控制着“钟”的宽度;

步骤六,以高斯方程拟合微藻利用重碳酸盐的份额 f_B 与重碳酸盐浓度 c 的方程,获得方程中的各参数值;其中,

以高斯方程拟合微藻利用重碳酸盐的份额 f_B 与重碳酸盐浓度 c 的方程为:

$$f_B = qe \left[\frac{(c-c_0)^2}{2r^2} \right]$$
,其中,参数 q 指高斯曲线的峰值, c_0 为其对应的横坐标, r 控制着“钟”的宽度;

步骤七,进一步获取重碳酸盐利用能力 BUC 与重碳酸盐浓度 c 的关系方程:

$$\text{BUC} = mqe \left[\frac{(c-c_0)^2}{2n^2} \frac{(c-c_0)^2}{2r^2} \right];$$

步骤八,将待测的培养液重碳酸盐浓度带入步骤七重碳酸盐利用能力与重碳酸盐浓度的关系方程中,即可计算出微藻在待测重碳酸盐浓度下的碳酸盐利用能力。

2. 根据权利要求1所述的一种预测微藻重碳酸盐利用能力的方法,其特征在于:在步骤二中,在培养的起始期测定各培养液的重碳酸盐浓度 c 是指培养时间为0时的培养液中重碳酸盐浓度。

3. 根据权利要求1所述的一种预测微藻重碳酸盐利用能力的方法,其特征在于:在步骤三中,藻体蛋白质增加倍数 p 为处理后的微藻蛋白质生物量相对于接种时的增殖倍数。

一种预测微藻重碳酸盐利用能力的方法

技术领域

[0001] 本发明公开了一种预测微藻重碳酸盐利用能力的方法,属于应对气候变化和海洋生物工程领域。不仅能够预测任意重碳酸盐浓度下微藻的重碳酸盐利用能力,而且还能够寻找微藻生长的最适重碳酸盐浓度。测定结果可以量化,具有可比性,为岩溶湖泊微藻碳汇的精确估算提供了科技支撑。

背景技术

[0002] 微藻(microalgae)包括所有生活在水中营浮游生活方式的微小植物,通常就指浮游藻类。微藻结构简单,其生理过程也相对简单,有些种类是科学研究的模式植物,如:莱茵衣藻、小球藻,很多种类还可以人工培养,这为我们的研究提供了便利。微藻对水体无机碳的利用有两种方式,(1)利用大气中的二氧化碳。 CO_2 作为线性非极性分子,呈电中性,它可以自由扩散进入细胞双层脂膜,进入细胞中的 CO_2 为微藻细胞的光合作用所利用;(2)利用溶液中碳酸氢根离子。碳酸氢根离子既可以直接转运也可间接转运到细胞中为微藻细胞所利用。碳酸氢根离子的直接转运指的是经过细胞质膜表面载体蛋白或阴离子交换蛋白,直接把碳酸氢根离子转运到细胞内,在胞内经碳酸酐酶转化为 CO_2 或直接以碳酸氢根离子的形式由叶绿体膜蛋白主动运输到叶绿体内,经碳酸酐酶转化成 CO_2 供核酮糖-1,5二磷酸羧化/加氧酶(Rubisco)固定;碳酸氢根离子的间接转运是指依赖于胞外碳酸酐酶的碳酸氢根离子的间接转运。

[0003] 水体中存在4种无机碳形式,它们分别是 CO_2 , HCO_3^- , H_2CO_3 和 CO_3^{2-} ,这四种形式存在着如下平衡:



[0005] 因此,无论微藻利用二氧化碳还是利用碳酸氢根离子,它们都可能有两个来源,一个是来源于空气中的无机碳,另一个来源于溶液中固有的碳酸氢根离子。无论藻类采用二氧化碳利用途径还是采用碳酸氢根离子利用途径,只要来源空气的无机碳被同化,我们称为藻类直接碳汇,而无论藻类采用二氧化碳利用途径还是采用碳酸氢根离子利用途径,来源水体固有的无机碳被同化称为间接碳汇。直接碳汇直接移去大气中的二氧化碳,而间接碳汇通过移去水体固有的无机碳改变水体无机碳的平衡,间接移去大气中的二氧化碳。以前人们测定或估算的微藻碳汇都为直接碳汇,而间接碳汇为人们所忽视,更谈不上定量了。

[0006] 自然界中碳元素有两种稳定同位素: ^{12}C 和 ^{13}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‰。稳定碳同位素的强烈分馏特征是识别微藻无机碳来源的基础。质量平衡原理以及同位素混合模型和化学计量学方法,是定量识别微藻无机碳来源的基础。

[0007] 喀斯特地区的岩石类型以碳酸岩盐为主,主要成分为 CaCO_3 和 MgCO_3 等。基岩碳酸岩盐在岩溶作用下释放出大量的 HCO_3^- 和 Ca^{2+} ,进入水体,致使岩溶湖泊水体呈现出高pH和高重碳酸盐的环境。低浓度的重碳酸盐可以促进微藻的生长和重碳酸盐的利用,高浓度的重碳酸盐可以抑制微藻的生长和降低重碳酸盐的利用份额。本发明通过构建微藻蛋白质增加

倍数与重碳酸盐浓度、微藻利用重碳酸盐的份额与重碳酸盐浓度的方程,进一步耦合出重碳酸盐利用能力与重碳酸盐浓度的关系方程,。将待测的培养液重碳酸盐浓度带入上述方程中,即可预测出微藻在任意重碳酸盐浓度下的碳酸盐利用能力,为岩溶湖泊微藻的生产力和碳汇的精确估算提供了科技支撑。

发明内容

[0008] 本发明要解决的技术问题是,提供一种预测微藻重碳酸盐利用能力的方法,不仅能够预测任意重碳酸盐浓度下微藻的重碳酸盐利用能力,而且还能够寻找微藻生长的最适重碳酸盐浓度。克服了现有技术不能预测和评估微藻间接碳汇能力的缺陷。

[0009] 本发明采取以下技术方案:它包括以下步骤:

[0010] 步骤一,选择两种 $\delta^{13}\text{C}$ 值差值大于8‰的碳酸氢钠作为同位素标记1和同位素标记2,设置不同浓度,分别添加到培养液中培养待测微藻;同位素标记1的碳酸氢钠的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_{C1} ,同位素标记2的碳酸氢钠的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_{C2} ;

[0011] 步骤二,在培养的起始期测定培养时间为0时藻体蛋白质生物量和各培养液的重碳酸盐浓度 c ;

[0012] 步骤三,将待测微藻在被考察的培养条件下培养,培养4天后,收获藻体,分别测定添加不同浓度两种同位素标记的碳酸氢钠的培养液培养的相对应的各培养条件下的、被考察微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值 δ_{T1} 、 δ_{T2} ;以及藻体微藻蛋白质生物量,计算处理后的微藻蛋白质生物量相对于接种时的增殖倍数,也即藻体蛋白质增加倍数 p ;

[0013] 步骤四,通过方程 $f_B = \frac{\delta_{T1} - \delta_{T2}}{\delta_{C1} - \delta_{C2}}$,计算出微藻不同重碳酸盐浓度下利用重碳酸盐的份额 f_B ;

[0014] 步骤五,以高斯方程拟合微藻蛋白质增加倍数 p 与重碳酸盐浓度 c 的方程,获得方程中的各参数值;以高斯方程拟合微藻蛋白质增加倍数 p 与重碳酸盐浓度 c 的方程为:

$$p = me \left[-\frac{(c-c_0)^2}{2n^2} \right]$$
,其中,参数 m 指高斯曲线的峰值, c_0 为其对应的横坐标, n 控制着“钟”的宽度;

[0015] 步骤六,以高斯方程拟合微藻利用重碳酸盐的份额 f_B 与重碳酸盐浓度 c 的方程,获得方程中的各参数值;以高斯方程拟合微藻利用重碳酸盐的份额 f_B 与重碳酸盐浓度 c 的方程为:

$$f_B = qe \left[-\frac{(c-c_0)^2}{2r^2} \right]$$
,其中,参数 q 指高斯曲线的峰值, c_0 为其对应的横坐标, r 控制着“钟”的宽度;

[0016] 步骤七,进一步获取重碳酸盐利用能力 BUC 与重碳酸盐浓度 c 的关系方程,重碳酸盐利用能力 BUC 与重碳酸盐浓度 c 的关系方程为:
$$BUC = mqe \left[-\frac{(c-c_0)^2}{2n^2} - \frac{(c-c_0)^2}{2r^2} \right];$$

[0017] 步骤八,将待测的培养液重碳酸盐浓度带入上述重碳酸盐利用能力与重碳酸盐浓度的关系方程中,即可计算出微藻在待测重碳酸盐浓度下的碳酸盐利用能力。

[0018] 本发明的基本原理为:

[0019] 低浓度的重碳酸盐可以促进微藻的生长和重碳酸盐的利用,高浓度的重碳酸盐可

以抑制微藻的生长和降低重碳酸盐的利用份额。微藻利用的无机碳源为空气的无机碳和培养液中添加的无机碳。因此,可以利用两端元的同位素混合模型获取微藻利用来自于空气的无机碳源和利用添加的无机碳源的份额。

[0020] 两端元的同位素混合模型可以表示为:

$$[0021] \quad \delta_{T_i} = \delta_{A_i} - f_{B_i} \delta_{A_i} + f_{B_i} \delta_{B_i} \quad (i=1,2,3, \dots) \quad (1)$$

[0022] 这里 δ_{T_i} 为微藻的 $\delta^{13}C$ 值, δ_{A_i} 为假定为微藻完全利用空气的无机碳源时藻体的 $\delta^{13}C$ 值, δ_{B_i} 为假定为微藻完全利用添加的无机碳源时藻体的 $\delta^{13}C$ 值, f_{B_i} 为该考察微藻利用添加的无机碳源所占的份额。

[0023] 很显然,只知道 δ_{T_i} 很难求出 f_{B_i} ,因此,本发明采用具有较大差异的 $\delta^{13}C$ 值碳酸氢钠分别同时培养微藻,以稳定碳同位素双标记来识别微藻利用添加的无机碳源的份额。

[0024] 对于同位素标记1 ($i=1$) 来说,方程(1)表示如下式:

$$[0025] \quad \delta_{T_1} = \delta_{A_1} - f_{B_1} \delta_{A_1} + f_{B_1} \delta_{B_1} \quad (2)$$

[0026] 这里 δ_{T_1} 为用第一种已知 $\delta^{13}C$ 值的碳酸氢钠培养的微藻藻体的 $\delta^{13}C$ 值, δ_{A_1} 为假定为微藻完全利用空气的无机碳源时藻体的 $\delta^{13}C$ 值, δ_{B_1} 为假定为微藻完全利用添加的无机碳源时藻体的 $\delta^{13}C$ 值, f_{B_1} 为该考察微藻利用添加的无机碳为碳源所占的份额。

[0027] 对于同位素标记2 ($i=2$) 来说,方程(1)表示如下式:

$$[0028] \quad \delta_{T_2} = \delta_{A_2} - f_{B_2} \delta_{A_2} + f_{B_2} \delta_{B_2} \quad (3)$$

[0029] 这里 δ_{T_2} 为用第二种已知 $\delta^{13}C$ 值的碳酸氢钠培养的微藻藻体的 $\delta^{13}C$ 值, δ_{A_2} 为假定为微藻完全利用空气的无机碳源时藻体的 $\delta^{13}C$ 值, δ_{B_2} 为假定为微藻完全利用添加的无机碳源时藻体的 $\delta^{13}C$ 值, f_{B_2} 为该考察微藻利用添加的无机碳所占的份额。

[0030] (2)和(3)两个方程中 $\delta_{A_1} = \delta_{A_2}$, $f_B = f_{B_1} = f_{B_2}$,联立求解

$$[0031] \quad f_B = \frac{\delta_{T_1} - \delta_{T_2}}{\delta_{B_1} - \delta_{B_2}} \quad (4)$$

[0032] (4)式中 $\delta_{B_1} - \delta_{B_2}$ 则可以换算成同位素标记1的碳酸氢钠的 $\delta^{13}C$ 值 δ_{C_1} 与同位素标记2的碳酸氢钠的 $\delta^{13}C$ 值 δ_{C_2} 的差,则:

$$[0033] \quad f_B = \frac{\delta_{T_1} - \delta_{T_2}}{\delta_{C_1} - \delta_{C_2}} \quad (5)$$

[0034] 因此,可以通过测定同位素标记1的碳酸氢钠的 $\delta^{13}C$ 值 δ_{C_1} 与同位素标记2的碳酸氢钠的 $\delta^{13}C$ 值 δ_{C_2} ,同时测定用对应的标记的碳酸氢钠培养的微藻 $\delta^{13}C$ 值,即测定出 δ_{T_1} 和 δ_{T_2} 值,依(5)式计算出该考察微藻利用添加的无机碳所占的份额。

[0035] 微藻蛋白质增加倍数 p 与重碳酸盐浓度 c 的净光合速率与重碳酸盐浓度的关系可以用高斯方程表示。以高斯方程拟合微藻蛋白质增加倍数 p 与重碳酸盐浓度 c 的方程为:

$p = me \left[-\frac{(c-c_0)^2}{2n^2} \right]$,其中,参数 m 指高斯曲线的峰值, c_0 为其对应的横坐标, n 控制着“钟”的宽度。

[0036] 微藻利用重碳酸盐的份额 f_B 与重碳酸盐浓度 c 的方程可以用高斯方程表示。以高斯方程拟合微藻利用重碳酸盐的份额 f_B 与重碳酸盐浓度 c 的方程为:

$$f_B = qe \left[-\frac{(c-c_0)^2}{2r^2} \right], \text{ 其中,}$$

参数 q 指高斯曲线的峰值, c_0 为其对应的横坐标, r 控制着“钟”的宽度。

[0037] 微藻重碳酸盐利用能力则是微藻利用重碳酸盐的份额 f_B 与微藻蛋白质增加倍数 p 的乘积。因此重碳酸盐利用能力 BUC 与重碳酸盐浓度 c 的关系方程为：

$$BUC = mqe \left[-\frac{(c-c_0)^2}{2n^2} - \frac{(c-c_0)^2}{2r^2} \right]$$

[0038] 将待测的培养液重碳酸盐浓度带入上述重碳酸盐利用能力与重碳酸盐浓度的关系方程中,即可计算出微藻在待测重碳酸盐浓度下的碳酸盐利用能力。

[0039] 本发明的优点如下：

[0040] 1) 本发明能定量预测能够预测任意重碳酸盐浓度下微藻的重碳酸盐利用能力。

[0041] 2) 本发明能够便捷、精确定量微藻生长的最适重碳酸盐浓度。

[0042] 3) 本发明能够定量研究重碳酸盐对微藻生长发育和碳汇作用的影响。

[0043] 4) 本发明克服了现有技术不能预测和评估微藻间接碳汇能力的缺陷,为岩溶湖泊微藻的生产力和碳汇的精确估算提供了科技支撑。

具体实施方式

[0044] 本发明的实施例:它包括以下步骤,

[0045] 步骤一,选择两种 $\delta^{13}C$ 值差值大于8‰的碳酸氢钠作为同位素标记1和同位素标记2,设置不同浓度,分别添加到培养液中来培养待测微藻;同位素标记1的碳酸氢钠的 $\delta^{13}C$ 值为 δ_{C1} ,同位素标记2的碳酸氢钠的 $\delta^{13}C$ 值为 δ_{C2} ;

[0046] 步骤二,在培养的起始期测定培养时间为0时藻体蛋白质生物量和各培养液的重碳酸盐浓度 c ;

[0047] 步骤三,将待测微藻在被考察的培养条件下培养,培养4天后,收获藻体,分别测定添加不同浓度两种同位素标记的碳酸氢钠的培养液培养的相对应的各培养条件下的、被考察微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 的值 δ_{T1} 、 δ_{T2} ;以及藻体微藻蛋白质生物量,计算处理后的微藻蛋白质生物量相对于接种时的增殖倍数,也即藻体蛋白质增加倍数 p ;

[0048] 步骤四,通过方程 $f_B = \frac{\delta_{T1} - \delta_{T2}}{\delta_{C1} - \delta_{C2}}$,计算出微藻不同重碳酸盐浓度下利用重碳酸盐的份额 f_B ;

[0049] 步骤五,以高斯方程拟合微藻蛋白质增加倍数 p 与重碳酸盐浓度 c 的方程,获得方程中的各参数值;以高斯方程拟合微藻蛋白质增加倍数 p 与重碳酸盐浓度 c 的方程为:

$p = me \left[-\frac{(c-c_0)^2}{2n^2} \right]$, 其中,参数 m 指高斯曲线的峰值, c_0 为其对应的横坐标, n 控制着“钟”的宽度;

[0050] 步骤六,以高斯方程拟合微藻利用重碳酸盐的份额 f_B 与重碳酸盐浓度 c 的方程,获得方程中的各参数值;以高斯方程拟合微藻利用重碳酸盐的份额 f_B 与重碳酸盐浓度 c 的方程为:

$f_B = qe \left[-\frac{(c-c_0)^2}{2r^2} \right]$, 其中,参数 q 指高斯曲线的峰值, c_0 为其对应的横坐标, r 控制着“钟”的宽度;

[0051] 步骤七,进一步获取重碳酸盐利用能力 BUC 与重碳酸盐浓度 c 的关系方程,重碳酸

盐利用能力BUC与重碳酸盐浓度c的关系方程为：
$$BUC = mqe^{\left[-\frac{(c-c_0)^2}{2n^2} - \frac{(c-c_0)^2}{2r^2}\right]}$$
;

[0052] 步骤八,将待测的培养液重碳酸盐浓度带入上述重碳酸盐利用能力与重碳酸盐浓度的关系方程中,即可计算出微藻在待测重碳酸盐浓度下的碳酸盐利用能力。

[0053] 实施例:

[0054] 培养材料为:莱茵衣藻和蛋白核小球藻。基本培养液采用SE培养基,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8.0(用盐酸和氢氧化钠调节)。添加0、0.5、2.0、4.0、8.0、16.0mmol/L碳酸氢钠到培养液中,添加的碳酸氢钠的 $\delta^{13}\text{C}$ 分别为-28.4‰(PDB) (δ_{c1})和-17.4‰(PDB) (δ_{c2})。在培养的起始期测定培养时间为0时藻体蛋白质生物量和各培养液的重碳酸盐浓度c(表1);收获培养4天后藻体,分别测定藻体蛋白质生物量和藻体的 $\delta^{13}\text{C}$ 值(表2)。用本发明方法,得出微藻利用添加的无机碳源的份额 f_b (表3),构建出莱茵衣藻和蛋白质核小球藻蛋白质增加倍数与重碳酸盐浓度(p-c)、利用重碳酸盐的份额与重碳酸盐浓度(f_b -c)的方程,获得的方程的参数(如表4),进一步获取重碳酸盐利用能力BUC与重碳酸盐浓度c的关系方程,将重碳酸浓度为2.75、3、4.45、5、8、8.30、10、15.70mmol/L带入到重碳酸盐利用能力BUC与重碳酸盐浓度c的关系方程中,获得莱茵衣藻和蛋白质核小球藻在重碳酸浓度为2.75、3、4.45、5、8、8.30、10、15.70mmol/L时重碳酸盐利用能力(BUC)的预测结果如表5。

[0055] 表1不同浓度重碳酸盐处理下微藻蛋白质增加倍数(p)

[0056]

| $[\text{HCO}_3^-]^a$ | $[\text{HCO}_3^-]^b$ | 莱茵衣藻 | 蛋白核小球藻 |
|----------------------|----------------------|-----------------|-----------------|
| mmol/L | mmol/L | p | p |
| 0.00 | 0.65 | 3.51 ± 0.27 | 4.24 ± 0.22 |
| 0.50 | 1.55 | 4.00 ± 0.30 | 4.31 ± 0.22 |
| 2.00 | 2.75 | 4.11 ± 0.18 | 4.51 ± 0.23 |
| 4.00 | 4.45 | 4.26 ± 0.20 | 5.28 ± 0.17 |
| 8.00 | 8.30 | 4.97 ± 0.23 | 4.67 ± 0.21 |
| 16.00 | 15.70 | 4.56 ± 0.29 | 4.64 ± 0.23 |

[0057] ^a向培养液中添加的碳酸氢钠浓度

[0058] ^b培养液中起始期实测的碳酸氢根离子(重碳酸盐)浓度

[0059] p为处理后的微藻生物量相对于接种时的增殖倍数,即藻体蛋白质增加倍数

[0060] 表2不同浓度重碳酸盐处理下的微藻碳同位素组成

| [HCO ₃ ⁻] ^b | 莱茵衣藻 | | 蛋白核小球藻 | |
|---|-----------|---------------|---------------|---------------|
| | mmol/L | δ_{T1} | δ_{T2} | δ_{T1} |
| 0.65 | -20.3±0.1 | -20.3±0.1 | -22.1±0.2 | -22.1±0.2 |
| 1.55 | -20.3±0.2 | -20.5±0.2 | -21.8±0.2 | -22.1±0.1 |
| 2.75 | -19.9±0.1 | -20.8±0.1 | -21.0±0.3 | -21.8±0.2 |
| 4.45 | -20.6±0.1 | -22.4±0.2 | -19.9±0.2 | -21.6±0.3 |
| 8.30 | -20.5±0.1 | -23.5±0.2 | -19.3±0.3 | -23.4±0.2 |
| 15.70 | -26.0±0.3 | -28.5±0.3 | -25.6±0.2 | -28.4±0.1 |

[0062] ^b培养液中实测的起始期碳酸氢根离子(重碳酸盐)浓度

[0063] δ_{T1} :添加 $\delta^{13}C$ 为-17.4‰的NaHCO₃的培养液所培养出的微藻 $\delta^{13}C$ 值

[0064] δ_{T2} :添加 $\delta^{13}C$ 为-28.4‰的NaHCO₃的培养液所培养出的微藻 $\delta^{13}C$ 值

[0065] 表3不同浓度重碳酸盐处理下微藻利用重碳酸盐的份额(f_B)

| [HCO ₃ ⁻] ^b | 莱茵衣藻 | | 蛋白核小球藻 | |
|---|--------|-------|--------|-------|
| | mmol/L | f_B | f_B | f_B |
| 0.65 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |

| | | |
|-------|------|------|
| 1.55 | 0.02 | 0.03 |
| 2.75 | 0.09 | 0.08 |
| 4.45 | 0.18 | 0.17 |
| 8.30 | 0.30 | 0.41 |
| 15.70 | 0.24 | 0.28 |

[0068] ^b培养液中起始期实测的碳酸氢根离子(重碳酸盐)浓度

[0069] f_B 为微藻利用重碳酸盐的份额

[0070] 表4莱茵衣藻和蛋白质核小球藻蛋白质增加倍数与重碳酸盐浓度(p-c)、利用重碳酸盐的份额与重碳酸盐浓度(f_B -c)的方程参数

| 微藻种类 | 方程类型 | 参数m(q) | 参数n(r) | 参数 c_0 |
|--------|----------|--------|---------|----------|
| 莱茵衣藻 | p-c | 4.9884 | 12.3151 | 10.5390 |
| 莱茵衣藻 | f_B -c | 0.3725 | 4.8032 | 11.1324 |
| 蛋白核小球藻 | p-c | 4.9919 | 15.6987 | 9.2193 |
| 蛋白核小球藻 | f_B -c | 0.5095 | 4.2519 | 11.0310 |

[0072] 表5莱茵衣藻和蛋白质核小球藻在重碳酸浓度为2.75、3、4.45、5、8、8.30、10、15.70mmol/L时重碳酸盐利用能力(BUC)预测结果和实测结果

| | 藻类 | 重碳酸浓度 | 实测值 | 预测值 | 误差 |
|--------|---------|-------|--------|--------|--------|
| [0073] | 莱茵衣藻 | 2.75 | 0.3699 | 0.3318 | 0.0191 |
| | 莱茵衣藻 | 3.00 | 未测定 | 0.3675 | - |
| | 莱茵衣藻 | 4.45 | 0.7668 | 0.6248 | 0.071 |
| | 莱茵衣藻 | 5 | 未测定 | 0.7434 | - |
| | 莱茵衣藻 | 8 | 未测定 | 1.4706 | - |
| | 莱茵衣藻 | 8.30 | 1.4910 | 1.5360 | 0.0225 |
| | 莱茵衣藻 | 10 | 未测定 | 1.8055 | - |
| | 莱茵衣藻 | 15.70 | 1.0944 | 1.0829 | 0.0058 |
| | 蛋白质核小球藻 | 2.75 | 0.3608 | 0.3507 | 0.0051 |
| | 蛋白质核小球藻 | 3.00 | 未测定 | 0.3950 | - |
| | 蛋白质核小球藻 | 4.45 | 0.8976 | 0.7331 | 0.0823 |
| [0074] | 蛋白质核小球藻 | 5 | 未测定 | 0.8971 | - |
| | 蛋白质核小球藻 | 8 | 未测定 | 1.9668 | - |
| | 蛋白质核小球藻 | 8.30 | 1.9147 | 2.0658 | 0.0756 |
| | 蛋白质核小球藻 | 10 | 未测定 | 2.4666 | - |
| | 蛋白质核小球藻 | 15.70 | 1.2992 | 1.2781 | 0.0106 |

[0075] 本发明的实施效果如下：从表4中可以看出，莱茵衣藻和蛋白质核小球藻的生长最适重碳酸盐浓度分别为10.5390mmol/L和9.2193mmol/L，利用重碳酸盐份额最大的重碳酸盐浓度分别为11.1324mmol/L和11.0310mmol/L，数值均很接近，表明本发明具有较好的可信性。从表5中可以看出，从重碳酸盐2.75mmol/L到15.7mmol/L范围均具有很好的预测能力，预测误差为0.0051到0.0823BUC，表明本发明可以很好地预测岩溶湖泊中微藻的重碳酸盐利用能力，为岩溶湖泊微藻生产力和碳汇的精确估算提供了科技支撑。