

单生卵囊藻对 DIC 的利用 及其对 CaCO₃ 沉积影响的研究

刘彦¹, 张金流¹, 何媛媛³, 孙海龙¹, 刘再华^{1,2*}

(1. 中国科学院地球化学研究所 环境地球化学国家重点实验室, 贵州 贵阳 550002; 2. 中国地质科学院 岩溶地质研究所 国土资源部岩溶动力学重点实验室, 广西 桂林 541004; 3. 广西师范大学 生命科学学院, 广西 桂林 541004)

摘要: 以生长在钙华池中的单生卵囊藻 (*Oocystis solitaria* Witt) 为研究对象, 利用 pH 漂移方法, 探讨了封闭系统中单生卵囊藻在岩溶水和非岩溶水环境下对溶解无机碳 (DIC) 利用及其对水体 Ca²⁺ 沉积影响的差异。结果表明, 单生卵囊藻在低 CO₂ 浓度时, 通过胞外碳酸酐酶的催化, 以 HCO₃⁻ 作为无机碳源进行光合作用。在岩溶水环境下单生卵囊藻 DIC 利用能力要高于非岩溶水环境 (4.78 倍), 而在此过程中对水体中 Ca²⁺ 沉积的影响也更高 (2.13 倍)。在岩溶水 (非岩溶水) 环境下, 有 42.6% (8.9%) 的 Ca²⁺ 通过物理化学效应以 CaCO₃ 形式沉积, 其余 Ca²⁺ 可能被藻体生长而吸收利用。

关键词: CaCO₃ 沉积; 无机碳利用; 单生卵囊藻; 岩溶水; 非岩溶水

中图分类号: P593 文献标识码: A 文章编号: 0379-1726(2010)02-0191-06

The utilization of dissolved inorganic carbon by *Oocystis solitaria* Witt and its influence on the precipitation of calcium carbonate

LIU Yan¹, ZHANG Jin-liu¹, HE Yuan-yuan³, SUN Hai-long¹ and LIU Zai-hua^{1,2*}

1. State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China;
2. Karst Dynamics Laboratory, MLR, Institute of Karst Geology, CAGS, Guilin 541004, China;
3. College of Life Science, Guangxi Normal University, Guilin

Abstract: The difference in dissolved inorganic carbon (DIC) utilization and calcium carbonate precipitation by *Oocystis solitaria* Witt which grown in closed systems of karst water and non-karst water was investigated by using free pH-drift method. The results show that the HCO₃⁻ is the carbon resource of *Oocystis solitaria* Witt photosynthesis catalyzed by carbonic anhydrase (CA), at low CO₂ concentration. The DIC utilization and calcium carbonate precipitation by *Oocystis solitaria* Witt were 2 and 4 times higher in karst water than in non-karst water, respectively. About 42.6% and 8.9% of calcium ions was precipitated as calcium carbonate in karst and non-karst water via physiochemical effect, respectively and the remaining was utilized by *Oocystis solitaria* Witt for its growth.

Key words: calcite precipitation; inorganic carbon utility; *Oocystis solitaria* Witt; karst water; non-karst water

0 引言

在全球碳循环研究中, 岩溶作用的碳汇 (carbon

sink) 效应正在受到越来越多的重视^[1-4]。当 CaCO₃ 发生溶蚀时, 岩溶作用表现为碳汇效应, 而当发生 CaCO₃ 沉积时, 岩溶作用表现为碳源 (carbon source) 效应, 即发生如下可逆反应:

收稿日期 (Received): 2009-05-11; 改回日期 (Revised): 2009-07-28; 接受日期 (Accepted): 2009-09-28

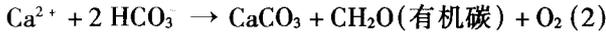
基金项目: 中国科学院百人计划项目; 国家自然科学基金 (40872168)

作者简介: 刘彦 (1981-), 男, 博士研究生, 主要从事生物地球化学研究。E-mail: liuyan8862@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author): LIU Zai-hua, E-mail: liuzaihua@vip.gyig.ac.cn, Tel: +86-851-5892338



然而,在有水生藻类对溶解无机碳(DIC)光合利用的情况下,反应(1)不向左进行,而发生以下化学反应^[5]:



即水体的DIC将转化为有机碳而被固定下来,并不释放回大气。此时,随着CaCO₃的沉积和有机碳的合成,岩溶作用与水生藻类的光合作用相结合将表现为碳的净汇(net sink)效应^[4]。因此,在岩溶作用的碳循环研究中,藻类生物的代谢作用是非常值得关注的^[4]。

目前有关藻类对CaCO₃沉积和CO₂固定方面的成果多集中于海洋钙化藻类方面^[5-11],尤其是海洋颗粒藻(*Emiliania huxley*)的CaCO₃沉积过程有比较多的研究成果^[9-11]。Zaitseva *et al.*^[12]和Ushatinskaya *et al.*^[13]通过室内试验,探讨了蓝藻在不同的pH、光照和培养条件等环境下对CaCO₃沉积的作用机制。李强等^[14]和吴庆余^[15]的研究已经证明,在封闭状态下某些淡水藻类的生理活动能降低水体环境下的DIC浓度和Ca²⁺浓度,促使水体的pH值升高。Shiraishi *et al.*^[16]和Bissett *et al.*^[17]利用微电极(Microelectrode)技术,研究了藻类生物的代谢活动对岩溶水环境的影响。结果表明,水生藻类的生理活动对岩溶水体有明显的影响:pH值和CO₃²⁻浓度等白天升高,夜间降低。而水体Ca²⁺日变化中有10%~20%的Ca²⁺沉积是由于藻类的光合作用引起的。刘再华等^[18]通过对云南白水台钙华池中水化学指标的日变化研究,发现水生植物的生理活动对CaCO₃沉积有显著的影响:光合作用促进了CaCO₃的沉积,而呼吸作用正相反。卢国平^[19]和王海静等^[20]通过对黄龙钙华池的研究,认为在岩溶水体中,生物作用有利于CaCO₃的析出和沉淀,并初步估算了淡水藻类的代谢作用对钙华沉积量的贡献。

总之,作为广适性藻类的蓝藻和绿藻,代谢活动对环境有重要的影响,尤其是其中的钙化藻,了解其对CaCO₃沉积的特点有助于认识淡水藻类代谢作用在钙华沉积中所起的作用,同时对探讨气候环境的变迁以及藻类生物对碳循环的影响也具有重要意义^[21-22]。然而,相对于蓝藻,目前关于绿藻对溶解无机碳(DIC)利用和Ca²⁺沉积作用的研究报道并不多见。而且,在DIC和Ca²⁺浓度存在显著差异的条件下,藻类对DIC的利用及其对CaCO₃沉积影响是否也存在明显不同仍然是岩溶作用碳循环研究^[4]中

急需解决的重要科学问题。本研究拟通过比较封闭条件下岩溶水(高HCO₃⁻和高Ca²⁺浓度)和非岩溶水(低HCO₃⁻和低Ca²⁺浓度)环境中,单生卵囊藻(*Oocystis solitaria* Witt)借助碳酸酐酶对DIC利用的特点,探讨其对水体DIC的利用机制和对水体环境Ca²⁺沉积的影响,旨在对淡水藻类在岩溶作用与碳循环中所起的作用有新的认识。

1 材料与方法

1.1 碳酸酐酶的测定

将取自四川黄龙钙华池中的单生卵囊藻在Allen培养液中于(25±1)℃温度下培养,光照条件为4700 lx,培养7 d后进行分析。胞外碳酸酐酶活性的测定采用Makino *et al.*的测定方法^[23]。收集细胞培养液26 g,离心10 min后收集细胞,取出一部分完整细胞,其余部分加Tris-H₂SO₄缓冲液(0.1 mol/L, pH=8.3),在0℃低温下制备匀浆。取出部分匀浆,余下的匀浆以22062×g(g为重力加速度)在低温条件下离心20 min制得上清液和沉淀。在0℃下分别收集完整细胞、匀浆、上清液和沉淀各1 mL迅速加入15 mL巴比妥缓冲液(12 mmol/L, pH=8.3)和4 mL饱和CO₂蒸馏水(蒸馏水中通入纯CO₂气体0.5 h以上,达到CO₂饱和),用精密pH计监测反应体系pH变化,记录pH值降低0.5 pH单位所需的时间,碳酸酐酶活性(U)计算公式为:

$$U = 10 \times (T_0 / T - 1) \quad (3)$$

式中:T₀为反应体系中未加样品时pH值下降所需时间;T为反应体系中加入样品时pH值下降所需时间。

1.2 pH漂移法

取适量以上经过7 d培养后处于对数生长期的藻细胞,悬浮在装满去离子水的密闭培养瓶中8 h,消耗藻体残存无机碳后,再分别转移到一系列50 mL的测定瓶中,保证每瓶中藻细胞的浓度为1.0×10⁸个/L。测定瓶分为两组:一组为Allen液体培养基,另一组为从桂林岩溶试验场采集的表层岩溶水(高Ca²⁺和高HCO₃⁻浓度),经过微孔滤膜过滤后替代蒸馏水配制Allen液体培养基。随后将WTW340i水化学测定仪的pH探头分别插入两组测定瓶中的一个测定瓶中,密封后设定为15 min间隔自动监测。其余测定瓶密封后(将培养液加入到超过测定瓶顶部

后,用 PE 保鲜膜密封再加瓶盖密闭,保证测定瓶中没有气泡,以去除大气 CO₂ 影响) 放置于光照强度为 4700 lx,温度为 (25 ± 1) °C 的培养箱中。每隔 4 h 取一次测定瓶,测定其中 Ca²⁺ 浓度、溶解氧含量、HCO₃⁻ 浓度和碱度,直到整个培养体系中 pH 值在 1 h 内没有变化为止。

1.3 溶解氧、Ca²⁺ 和 HCO₃⁻ 浓度的测定

溶解氧含量用碘量法滴定^[24],Ca²⁺ 浓度和 HCO₃⁻ 浓度分别用德国 Merck 公司生产的硬度计和碱度计测定^[18,20]。

1.4 DIC 浓度、自由 CO₂ 浓度和碱度的计算

DIC 浓度由碳酸盐碱度 [Calk] 和 pH 计算得出^[24]:

$$[\text{DIC}] = [\text{Calk}] \left(\frac{[\text{H}^+]}{K_1 + 1 + K_2/[\text{H}^+]} / (1 + 2K_2/[\text{H}^+]) \right) \quad (4)$$

式中:K₁ 和 K₂ 分别为 25 °C 时碳酸的第 1 离解常数和第 2 离解常数。自由 CO₂ 浓度则按照 Dong *et al.* 的方法^[25] 计算。碱度用盐酸滴定法测定。

2 结果及其分析

2.1 单生卵囊藻碳酸酐酶的活性

在岩溶水环境中,pH 值多在 7~9 之间,此时水体的溶解无机碳 DIC 主要以 HCO₃⁻ 的形式存在,CO₂ 含量较低^[26]。在岩溶水环境下,藻类等水生生物在低 CO₂ 浓度下,叶绿体进行光合作用时,需要有一定的机制将 HCO₃⁻ 转化为 CO₂ 加以利用。而在自然条件下,HCO₃⁻ 与 CO₂ 的转化速率大约只有 0.5 × 10⁻³ mmol/s,且其自身带有负电荷,难以透过细胞质膜进入叶绿体,因此无法满足叶绿体固定 CO₂ 的需要。碳酸酐酶(carbon anhydrase,生物学上的通用编号为:CA,EC 4.2.11) 的存在可以将 HCO₃⁻ 与 CO₂ 的转化速率提高几个数量级^[26],从而满足叶绿体光合作用的需要。其催化的反应为:



本文利用分级分离法,将单生卵囊藻的藻细胞分为四个部分:完整细胞、匀浆、上清液和沉淀。分别测得其碳酸酐酶活性为 1.95U、2.43U、0.34U 和 0.45U (n=3)。

由此可知,单生卵囊藻完整细胞的活性最高,占总酶活性(匀浆)的 80.2%。表明单生卵囊藻的碳酸

酐酶活性以胞外碳酸酐酶活性为主,在胞外碳酸酐酶的催化下利用水体的 HCO₃⁻ 作为碳源,并影响水体的碳-水-钙平衡体系。

2.2 单生卵囊藻试验的 pH 漂移过程

从图 1 可以看出,在封闭条件下的 pH 漂移试验中,由于单生卵囊藻的光合作用对碳源的利用,两个培养体系的 pH 值均从初始的 7.5 升高到 10.7 的 pH 饱和点后保持稳定。Maberly *et al.*^[27] 和 Unsitalo *et al.*^[28] 的研究认为,当 pH 补偿点高于 9.2 时,可以作为藻类具有 HCO₃⁻ 利用能力的证据。pH 补偿点的高低,可以反映其利用无机碳的能力。因此可以认为单生卵囊藻不以 CO₂ 为惟一的碳源,具有利用 HCO₃⁻ 的能力,可能与上述单生卵囊藻的碳酸酐酶活性以胞外碳酸酐酶活性为主有关。

在非岩溶水环境下,整个培养体系的 pH 值上升速度较快,在 25 h 后即达到了 pH 饱和点,比岩溶水环境要快 3 h。但两种环境下,pH 值上升最快的阶段均为前 8 h 左右,岩溶水从 7.5 上升至 9.12,自由 CO₂ 浓度从 0.34 mmol/L 降低至 0.006 mmol/L。非岩溶水 pH 值则上升至 9.79,自由 CO₂ 浓度从 0.08 mmol/L 降低至 0.001 mmol/L。与此同时,两个培养体系内的 HCO₃⁻、Ca²⁺、DIC 也都在快速下降,而溶解氧则在快速上升(图 1)。

2.3 封闭体系中单生卵囊藻对无机碳的利用和 CaCO₃ 沉积的特点

封闭状态下,单生卵囊藻借助碳酸酐酶的催化,对水体的无机碳利用使得整个培养体系中的总无机碳降低,溶解氧浓度升高(图 1)。28 h 的封闭培养后,在岩溶水环境下,总 DIC 由 4.26 mmol/L 降低至 1.84 mmol/L,平均下降速率为 0.086 mmol/(L·h);HCO₃⁻ 浓度从 3.9 mmol/L 降低至 1.1 mmol/L,平均下降速率为 0.1 mmol/(L·h);溶解氧浓度则从 5.24 mg/L 上升至 68.44 mg/L,平均上升速率为 2.26 mg/(L·h)。在非岩溶水环境下,总 DIC 由 0.99 mmol/L 降低至 0.48 mmol/L,平均下降速率为 0.018 mmol/(L·h);HCO₃⁻ 浓度从 0.9 mmol/L 降低至 0 mmol/L,平均下降速率为 0.032 mmol/(L·h);溶解氧浓度仅从 5.22 mg/L 上升至 19.42 mg/L,平均上升速率为 0.51 mg/(L·h)。由此可见,岩溶水环境中 DIC、HCO₃⁻ 和溶解氧等这些指标的下降或上升速度较非岩溶水环境快得多,前者分别是后者的 4.78、3.13 和 4.43 倍。单生卵囊藻的

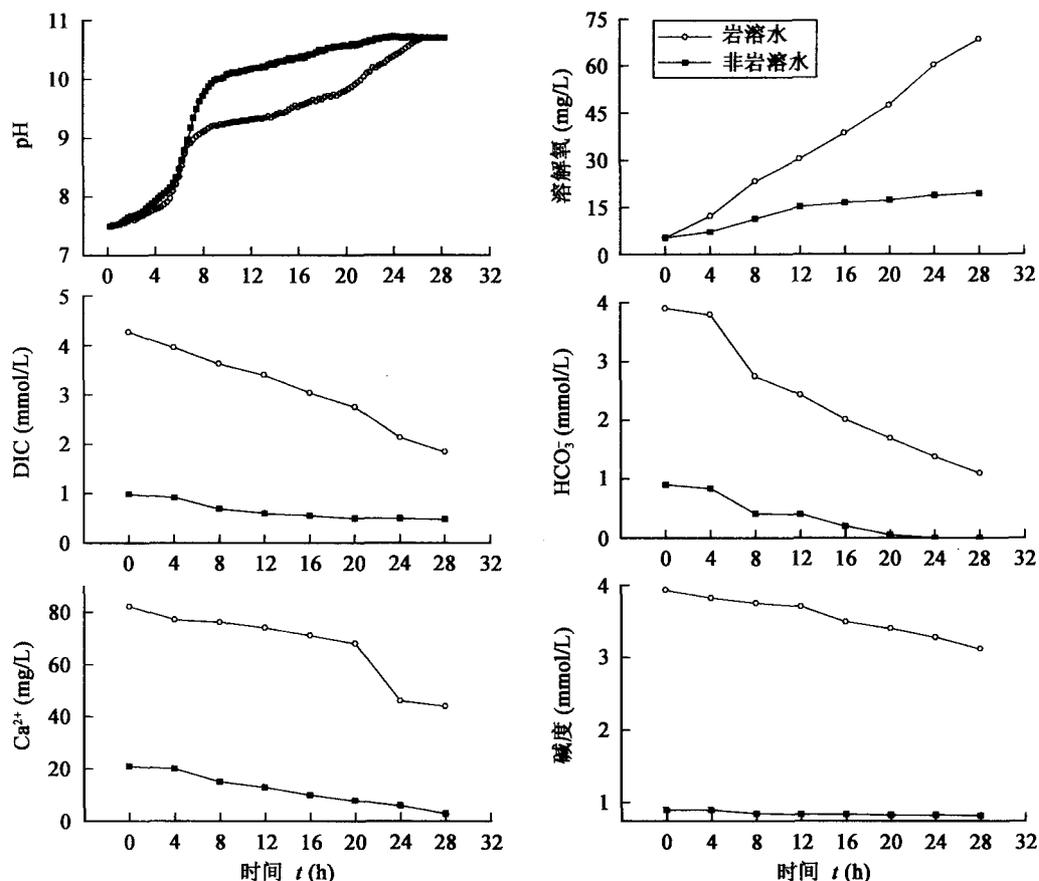


图1 岩溶水和非岩溶水环境下藻类对无机碳利用引起的水化学变化对比

Fig. 1 Comparison of hydrochemical change during *Oocystis solitaria* Wütr photosynthesis in karst water versus non-karst water

光合固碳能力在 HCO_3^- 充足的岩溶水环境中要比非岩溶水环境下更大, 这充分说明培养体系中碳源浓度对单生卵囊藻利用无机碳的能力有明显的影响, 在岩溶水环境下, 有机碳合成的速率更高, 这也清楚地表明岩溶环境下藻类碳汇和 CaCO_3 沉积的潜力比非岩溶水大得多。

在有关淡水藻类的 pH 漂移试验中, 封闭培养期间碱度并不发生明显变化^[29], 而在海洋藻类的 pH 漂移试验中由于钙化作用的存在, 封闭体系的碱度将会降低^[6]。笔者在以上藻类的 pH 漂移试验中, 也发现有碱度降低的现象(图1)。在岩溶水环境下, 碱度从 3.93 mmol/L 降低至 3.12 mmol/L。而在非岩溶水环境下, 碱度从 0.9 mmol/L 降低至 0.82 mmol/L。从碳酸酐酶催化的反应(5)可以看出, 在藻类利用 HCO_3^- 的过程中, H^+ 浓度不断降低, 导致 pH 值上升, 在这一过程中, HCO_3^- 浓度降低而 OH^- 浓度同步升高, 所以碱度并不发生变化。因此在单生卵囊藻对无机碳利用过程中, 碱度的降低主要是由于整个培养体系中 pH 值上升, 导致水体的 CO_3^{2-} 与 Ca^{2+} 反应生成 CaCO_3 而降低。作为碳-水-钙三

者相互作用的体系, 岩溶水体对 pH 的变化是非常敏感的。所以在藻类对 HCO_3^- 的利用过程中, Ca^{2+} 发生沉积。由图1可见, 在岩溶水环境下, Ca^{2+} 浓度从 82 mg/L 减少到 44 mg/L, 降低速率为 1.36 mg/(L·h)。而在非岩溶水环境下, Ca^{2+} 浓度则从 21 mg/L 减少到 3 mg/L, 降低速率为 0.64 mg/(L·h), 前者是后者的 2.13 倍。Obsts *et al.*^[30] 利用透射电子显微镜技术对藻类细胞表面的研究表明, 在高 Ca^{2+} 浓度的环境下, CaCO_3 能以多种晶体形态沉积在藻细胞壁, 并且随着水体环境的改变而发生沉积或溶蚀。

由碱度的变化可以计算出在岩溶水环境下由物理化学作用产生的 Ca^{2+} 沉积量为 16.2 mg/L, 非岩溶水环境下, Ca^{2+} 沉积量仅为 1.6 mg/L, 分别占减少的 Ca^{2+} 浓度的 42.6% 和 8.9%。在岩溶和非岩溶水环境中, 藻细胞浓度从初始的 1.0×10^8 个/L 分别增加至 1.8×10^9 个/L 和 7.0×10^8 个/L, 分别增加到 18 倍和 7 倍, 前者是后者的 2.57 倍。由此可见, 岩溶水环境比非岩溶水环境更有利于藻类生物量的增加, 反映了 DIC 的施肥效应。另一方面, Ca^{2+}

对藻类生物的代谢活动有重要的生理意义^[31], 因此其余降低的 Ca²⁺可能是由于藻体自身的繁殖而被藻细胞吸收的结果。

3 结 论

(1) 在 pH 漂移试验过程中, 单生卵囊藻的 pH 补偿点为 10.7, 表明单生卵囊藻能够在 CO₂ 不足的情况下, 以 HCO₃⁻ 为碳源进行光合作用。

(2) 单生卵囊藻在高 pH 值的岩溶水体环境中, 对无机碳的利用, 主要通过碳酸酐酶催化 HCO₃⁻ 的脱水反应获得碳源, 而且对无机碳的利用效率也要高于非岩溶水环境。单生卵囊藻的碳酸酐酶活性主要以胞外碳酸酐酶活性为主。随着藻体对水体中无机碳的消耗, pH 值升高, 整个培养体系中的 Ca²⁺ 浓度也随之降低。反映了水生藻类的代谢活动对水体中 Ca²⁺ 沉积的影响。Ca²⁺ 浓度的降低主要受两个方面的影响: 一是水体 pH 值升高引起的 CaCO₃ 沉积; 二是藻体在代谢过程对水体 Ca²⁺ 的吸收。

(3) 在岩溶水环境下, 藻类生物的光合作用对水体无机碳的影响除了自身利用合成有机碳消耗水体 DIC 外, 还存在 CaCO₃ 沉积而消耗水体的 DIC 的情况, 这些可以看作是在岩溶环境下藻类生物的净碳汇作用。

参考文献(References):

- [1] Yuan Daoxian. The carbon cycle in karst [J]. Z Geomorphol, 1997, 108(suppl): 91 - 102.
- [2] Liu Z, Zhao J. Contribution of carbonate rock weathering to the atmospheric CO₂ sink [J]. Environ Geol, 2000, 39(9): 1053 - 1058.
- [3] Gombert P. Role of karstic dissolution in global carbon cycle [J]. Glob Planet Chang, 2002, 33(1/2): 177 - 184.
- [4] 刘再华, Dreybrodt W, 王海静. 一种由全球水循环产生的可能重要的 CO₂ 汇[J]. 科学通报, 2007, 52(20): 2418 - 2422. Liu Zaihua, Dreybrodt W, Wang Haijing. A possible important CO₂ sink by the global water cycle [J]. Chinese Sci Bull, 2008, 53(3): 402 - 407.
- [5] Lerman A, Mackenzie F T. CO₂ air-sea exchange due to calcium carbonate and organic matter storage, and its implications for the global carbon cycle [J]. Aquat Geochem, 2005, 11(4): 345 - 390.
- [6] McConnaughey T. Calcification in *Chara corallina*: CO₂ hydroxylation generates protons for bicarbonate assimilation [J]. Limnol Oceanogr, 1991, 36(4): 619 - 628.
- [7] Dennison W C, Barnes J D. Effect of water motion on coral photosynthesis and calcification [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1988, 115(1): 67 - 77.
- [8] Riebesell U, Zondervan I, Rost B, Tortell P D, Zeebe R E, Morel F M. Reduced calcification of marine plankton in response to increased atmospheric CO₂ [J]. Nature, 2000, 407(6802): 364 - 367.
- [9] Zondervan I. The effects of light, macronutrients, trace metals and CO₂ on the production of calcium carbonate and organic carbon in coccolithophores—A review [J]. Deep Sea Res II, 2007, 54(5 - 7): 521 - 537.
- [10] Sekino K, Shiraiwa Y. Accumulation and utilization of dissolved inorganic carbon by a marine unicellular coccolithophorid, *Emiliania huxleyi* [J]. Plant Cell Physiol, 1994, 35(3): 353 - 361.
- [11] 缪晓玲, Merrett M J. *E. huxleyi* 藻无机碳转运与藻龄及无机碳浓度的关系 [J]. 宁德师专学报(自然科学版), 1999, 11(2): 93 - 96. Miao Xiao-ling, Merrett M J. Inorganic carbon transport in relation to culture age and inorganic carbon concentration in *E. huxleyi* [J]. J Ningde Teach Colleg (Nat Sci), 1999, 11(2): 93 - 96 (in Chinese with English abstract).
- [12] Zaitseva L V, Orleanskii V K, Gerasimenko L M, Ushatinskaya G T. The role of cyanobacteria in crystallization of magnesium calcites [J]. Paleontol J, 2006, 40(2): 125 - 133.
- [13] Ushatinskaya G T, Gerasimenko L M, Zhegallo E A, Zaitseva L V, Orleanskii V K. Significance of bacteria in natural and experimental sedimentation of carbonates, phosphates, and silicates [J]. Paleontol J, 2006, 40(suppl 4): 524 - 531.
- [14] 李强, 靳振江, 孙海龙. 现代藻类碳酸钙沉积试验及其同位素不平衡现象[J]. 中国岩溶, 2005, 24(4): 261 - 264. Li Qiang, Jin Zhen-jiang, Sun Hai-long. Experiment on calcite precipitation in the presence of modern algae and isotope nonequilibrium [J]. Carsol Sinica, 2005, 24(4): 261 - 264 (in Chinese with English abstract).
- [15] 吴庆余. 藻类生物与自然界 CO₂ 循环的生物地球化学[J]. 大自然探索, 1987 (3): 43 - 47. Wu Qing-yu. Research on biogeochemistry of relationship between algae and CO₂ cycle in nature [J]. Discover Nat, 1987 (3): 43 - 47 (in Chinese with English abstract).
- [16] Shiraishi F, Reimer A, Bissett A, de Beer D, Arp G. Microbial effects on biofilm calcification, ambient water chemistry and stable isotope records in a highly supersaturated setting (Westerhöfer Bach, Germany) [J]. Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol, 2008, 262(1/2): 91 - 106.
- [17] Bissett A, de Beer D, Schoon R, Shiraishi F, Reimer A, Arp G. Microbial mediation of stromatolite formation in karst-water creeks [J]. Limnol Oceanogr, 2008, 53(3): 1159 - 1168.
- [18] 刘再华, 李强, 孙海龙, 汪进良, 吴孔运. 云南白水台钙华水池中水化学日变化及其生物控制的发现[J]. 水文地质工程地质, 2005, 32(6): 10 - 15. Liu Zai-hua, Li Qiang, Sun Hai-long, Wang Jin-liang, Wu Kong-yun. Diurnal variations in hydrochemistry in a travertine-depositing stream at Baishuitai, Yunnan, SW China: Observations and explanations [J]. Hydrogeol Eng Geol, 2005, 32(6): 10 - 15 (in Chinese with English abstract).

- [19] 卢国平. 四川黄龙 - 九寨沟自然风景区冷水型钙华成因的水文地球化学研究[J]. 矿物岩石, 1994, 14(3): 71 - 78.
Lu Guo-ping. Hydrogeochemical research of cold-water travertine in Huanglong-Jiuzhai scenic spots, Sichuan Province [J]. J Mineral Petrol, 1994, 14(3): 71 - 78 (in Chinese with English abstract).
- [20] 王海静, 刘再华, 曾成, 刘香玲, 孙海龙, 安德军, 唐淑, 张清明. 四川黄龙沟源头黄龙泉泉水及其下游溪水的水化学变化研究[J]. 地球化学, 2009, 38(3): 307 - 314.
Wang Hai-jing, Liu Zai-hua, Zeng Cheng, Liu Xiang-ling, Sun Hai-long, An De-jun, Tang Shu, Zhang Qing-ming. Hydrochemical variations of Huanglong Spring and the stream in Huanglong Ravine, Sichuan Province [J]. Geochimica, 2009, 38(3): 307 - 314 (in Chinese with English abstract).
- [21] 范嘉松, 吴亚生. 从塔北隆起奥陶纪钙藻化石探讨奥陶纪的占环境[J]. 微体古生物学报, 2004, 21(3): 251 - 266.
Fan Jia-song, Wu Ya-sheng. Palaeoenvironmental analyses of Ordovician rocks in the northern uplift of Tarim Basin in terms of calcareous algae and cyanobacteria [J]. Acta Micropalaeontol Sinica, 2004, 21(3): 251 - 266 (in Chinese with English abstract).
- [22] 阮祚禧, 高坤山. 钙化藻类的钙化过程与大气中 CO₂ 浓度变化的关系[J]. 植物生理学通讯, 2007, 43(4): 773 - 778.
Ruan Zuo-xi, Gao Kun-shan. Relationship between algal calcification and elevating atmospheric CO₂ concentration [J]. Plant Physiol Commun, 2007, 43(4): 773 - 778 (in Chinese with English abstract).
- [23] Makino A, Sakashita H, Hidema J, Mae T, Ojima K, Osmond B. Distinctive responses of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase and carbonic anhydrase in wheat leaves to nitrogen nutrition and their possible relationships to CO₂-transfer resistance [J]. Plant Physiol, 1992, 100(4): 1737 - 1743.
- [24] 王琪, 袁翠, 李雪花, 胡红英, 王凯, 刘丽丽. 碘量法测定水中溶解氧有关问题的探讨及改进[J]. 干旱环境监测, 2006, 20(3): 181 - 183.
Wang Qi, Yuan Cui, Li Xue-hua, Hu Hong-ying, Wang Kai, Liu Li-li. Discussion on determination of dissolved oxygen in water by iodimetry [J]. Arid Environ Monitor, 2006, 20(3): 181 - 183 (in Chinese with English abstract).
- [25] Dong L F, Nimer N A, Okus E, Merrett M J. Dissolved inorganic carbon utilization in relation to calcite production in *Emiliana huxleyi* (Lohmann) Kamptner [J]. New Phytol, 1993, 123(4): 679 - 684.
- [26] Dreybrodt W. Processes in Karst Systems: Physics, Chemistry, and Geology [M]. Berlin: Springer-Verlag, 1988: 1 - 288.
- [27] Maberly S C. Exogenous sources of inorganic carbon for photosynthesis by marine macroalgae [J]. J Phycol, 1990, 26(3): 439 - 449.
- [28] Unsitalo J, Axelsson L, Carlberg S. CO₂ storage and CO₂ concentrating in brown seaweeds [C]// Baltscheffsky M. Current Research in Photosynthesis. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1990: 521 - 524.
- [29] 肖月娥, 陈开宁, 戴新宾, 许晓明. 太湖两种大型沉水植物无机碳利用效率差异及其机理[J]. 植物生态学报, 2007, 31(3): 490 - 496.
Xiao Yue-e, Chen Kai-ning, Dai Xin-bin, Xu Xiao-ming. Dissolved inorganic carbon uptake in two submerged macrophytes from Taihu Lake, China [J]. J Plant Ecol, 2007, 31(3): 490 - 496 (in Chinese with English abstract).
- [30] Obst M, Dynes J J, Lawrence J R, Swerhone G D W, Benzerara K, Karunakaran C, Kaznatcheev K, Tyliczszak T, Hitchcock A P. Precipitation of amorphous CaCO₃ (aragonite-like) by cyanobacteria: A STXM study of the influence of EPS on the nucleation process [J]. Geochim Cosmochim Acta, 2009, 73(14): 4180 - 4198.
- [31] Berridge M J, Bootman M D, Lipp P. Calcium—A life and death signal [J]. Nature, 1998, 395(6703): 645 - 648.