

张 陶,李建鸿,蒲俊兵,等. 小球藻对岩溶水体 Ca^{2+} 、 HCO_3^- 利用效率实验研究[J]. 中国岩溶, 2018, 37(1): 81-90.
DOI:10.11932/karst20180104

小球藻对岩溶水体 Ca^{2+} 、 HCO_3^- 利用效率实验研究

张 陶^{1,2}, 李建鸿², 蒲俊兵², 李 瑞³, 吴飞红^{1,2}, 李 丽^{1,2}

(1. 西南大学地理科学学院/重庆市岩溶环境学重点实验室, 重庆 400715;
2. 中国地质科学院岩溶地质研究所/自然资源部、广西岩溶动力学重点实验室, 广西 桂林 541004;
3. 成都师范学院史地与旅游学院, 成都 610000)

摘 要:以来自广西上林县大龙洞岩溶水库中的小球藻为研究对象,探讨了封闭体系中小球藻在 $4.6\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $2.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 三种不同 HCO_3^- 浓度的水体环境中,对 Ca^{2+} 和 HCO_3^- 的利用效率。结果表明:(1)小球藻在 $4.6\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $2.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 三种不同 HCO_3^- 浓度的水体中培养 7 天后生物量从 0.04 Abs 分别增长到 0.56 Abs 、 0.50 Abs 和 0.44 Abs ,在 HCO_3^- 和 Ca^{2+} 浓度较高的环境中,A 组 28.26% 的 Ca^{2+} 和 B 组 24.14% 的 Ca^{2+} 被小球藻吸收利用,A 组 54.95% 的 HCO_3^- 和 B 组 48.00% 的 HCO_3^- 被小球藻吸收利用,生成有机碳固定下来,C 组 HCO_3^- 浓度过低($0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$),小球藻难以对其进行利用,表明岩溶水库中高浓度的 HCO_3^- 对小球藻生长起着“施肥作用”,这对岩溶碳汇的稳定性起着重要作用。(2)小球藻光合作用利用 HCO_3^- 从而引起 Ca^{2+} 沉积的量大于小球藻光合作用吸收 Ca^{2+} 的量;(3)小球藻光合作用使培养基中的 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 偏正,而呼吸作用使培养基中的 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 偏负。

关键词:岩溶水库;小球藻;碳汇; $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$;碳酸钙沉积

中图分类号:P642.25; Q948.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-4810(2018)01-0081-10

0 引 言

最新的研究成果表明,如果将大气圈、土壤圈、水圈、岩石圈和生物圈综合起来考虑(水-岩-土-气-生相互作用),陆地岩溶作用吸收大气 CO_2 产生的 DIC 将通过水循环的驱动进入地表水体中(湖泊、水库、河流等),并被水生光合生物所利用(即生物碳泵)形成有机碳和稳定的岩溶碳汇^[1-5]。在这一思想的指导下,Liu 等初步计算的陆地岩溶作用净碳汇量约 $0.477\text{ Pg C}\cdot\text{y}^{-1}$ ^[1-2],约占全球遗漏汇的 20% 左右,其中通过陆地地表水体“生物碳泵”作用形成的碳汇量为 $0.233\text{ Pg C}\cdot\text{y}^{-1}$ ^[6],这是对平衡全球碳收支的重要贡献^[7]。藻类生物是一类重要的水生生物类群,

无论是从时间尺度还是从其生物量尺度上来说,藻类对生物地球化学元素的循环和对地质圈作用的能力都是最大的^[8-10]。岩溶区碳酸盐岩的溶解导致水体中含有大量的 HCO_3^- ,水体中 HCO_3^- 含量通常达到 $3\sim 5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,远高于其他非岩溶水体^[11],在这种环境下,藻类能否利用 HCO_3^- 及其利用程度对深入揭示岩溶碳循环过程及其碳汇效应具有重要意义^[12]。许多研究已证实大部分藻类能利用岩溶水体中的 HCO_3^- 。如 Shiraishi 等^[13]及 Zaiteseva 等^[14]分别利用微电极技术和室内模拟实验表明了藻类在其新陈代谢活动中对岩溶水 HCO_3^- 和 Ca^{2+} 的利用;邓洁等^[15]通过研究一株产碳酸酐酶附生菌对铜绿微囊藻生长的影响,表明无论是在高 HCO_3^- 浓度还是低

基金项目:中央高校基本科研业务费专项(XDJK2017D024);中国地质科学院基本科研业务费项目(YYWF201636);广西自然科学基金项目(2016GXNSFC A380002,2017GXNSFF A198006);国家自然科学基金项目(41572234,41702271);中国地质调查局地质调查项目(DD20160305-03)和岩溶所基本科研业务费资助项目(2017006)
第一作者简介:张陶(1989-),男,博士,主要研究方向为岩溶环境学与碳循环。E-mail:tao21mi@163.com。
通信作者:李建鸿, E-mail:jianhongli1988@karst.ac.cn。
收稿日期:2017-09-11

HCO_3^- 浓度环境中,铜绿微囊藻不仅能通过自身产生的碳酸酐酶的作用利用水体 HCO_3^- 作为碳源进行光合作用,还能通过体外附生的能产碳酸酐酶的附生菌增加对水体 HCO_3^- 的利用,促进自身生长;刘彦等^[16]利用 pH 漂移方法对比研究了单生卵囊藻在岩溶水和非岩溶水环境下的生长状况,其结果是在岩溶水环境下单生卵囊藻溶解利用无机碳(岩溶水体中 DIC 主要以 HCO_3^- 形式存在)的能力要高于非岩溶水环境(前者为后者的 4.78 倍),而在此过程中对水体中 Ca^{2+} 沉积的影响也更高(前者为后者的 2.13 倍)。以上研究表明,在“富钙富溶解无机碳”的岩溶水中,藻类能大量利用水体中的 HCO_3^- 进行光合作用,在生成有机碳的同时,形成稳定持久的碳汇,伴随着碳酸钙的沉积^[17],由此可见,对岩溶水生生态系统中藻类碳汇效应的研究极为重要。

由于自然环境的多样性,水生植物为适应这种多样性的环境,进化出多样性的无机碳的吸收利用机制^[13-17],在自然水体中,由于碳酸酐酶参与的无机碳吸收被认为是最重要的无机碳吸收模式^[18]。不同藻类由于碳酸酐酶活性的差异其利用无机碳的能力差异较大^[19]。王培等^[20]通过实验研究表明岩溶地下河出口的小球藻、念珠藻和色球藻分别能将岩溶水中的 40.63%、54.38% 和 76.22% 的 HCO_3^- 转化为有机物进入生态系统中。吴沿友等^[21]对红枫湖、百花湖和阿哈湖三个岩溶湖泊进行藻类(菜茵衣藻和蛋白核小球藻)碳汇研究,结果却表明藻类的间接碳汇只占总碳汇的 8%,就算再添加较高浓度的碳酸氢根($8.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$),间接碳汇能力也不高于 40%(利用空气中的无机碳称为藻类直接碳汇,利用水体中的无机碳称为间接碳汇)。许多学者也通过不同方法对不同水域环境中水生植物固碳量进行估算,章程等^[22]利用二端元模型估算了会仙湿地核心区沉水植物光合作用固定 HCO_3^- 碳量在 $4.86 \sim 64.73 \text{ t C}/(\text{km}^2 \cdot \text{a})$,会仙湿地岩溶地下河补给的 HCO_3^- 中约 47% 被水生生物光合作用固定;张强^[23]用碳同位素模型计算出岩溶作用产生的 DIC 58.8% 被草海中的水生植物利用,草海地质碳汇量达 $588.67 \text{ t C} \cdot \text{a}^{-1}$ 。综上所述,不同的水生植物在不同环境下其固碳作用是有所差异的,而这种差异性还有待进一步研究。为能够进一步科学计算岩溶水库藻类的固碳量,本文以由岩溶地下水补给型水库——大龙洞水库中的小球藻为研究对象,探讨其对岩溶水中 DIC 的利用能力及岩溶水对小球藻生长的影响。

1 材料和方法

1.1 藻种来源

大龙洞水库位于广西上林县西燕乡,红水河支流清水江上游,库区位于 $23^\circ 30' 01'' \sim 23^\circ 40' 08'' \text{N}$, $108^\circ 30' 02'' \sim 108^\circ 36' 04'' \text{E}$,是一座利用天然岩溶谷地,堵塞洞穴、落水洞和一些裂隙而形成的以灌溉为主,结合发电的大型水库,平均水深 13 m ^[24]。2016 年 6 月 17 日在大龙洞水库进行藻类取样。将 $1\,000 \text{ mL}$ 水样加入 15 mL 鲁哥氏液,静置沉淀 48 小时后,移去上层水,浓缩到 30 mL ,取 0.1 mL 于浮游植物计数框中,盖上盖玻片,于 Olympus BX51 显微镜 40 倍物镜下观察,取 100 个视野进行计数,结果表明:大龙洞水库浮游植物的种类包括绿藻门、硅藻门、甲藻门、隐藻门、裸藻门 5 个门的种类,绿藻门的种类包括小球藻属、葡萄藻属、韦斯藻属、十字藻属、栅藻属、卵囊藻属、胶网藻属、空球藻属、空星藻属 10 个属的种类,硅藻门的种类包括小环藻属、直链藻属、针杆藻属、圆筛藻属 4 个属的种类,甲藻门包括角甲藻属的种类,隐藻门主要是隐藻属的种类,裸藻门的种类包括裸藻属的种类。大龙洞水库浮游藻类细胞密度随着水深不断增加,表层以下不同深度的水样的浮游植物的数量也逐渐减少,表层、2.5 m、5 m 和 10 m 水体平均浮游藻类细胞密度分别为 974.0 (万个 $\cdot \text{L}^{-1}$)、 296.5 (万个 $\cdot \text{L}^{-1}$)、 154.6 (万个 $\cdot \text{L}^{-1}$)、 30.42 (万个 $\cdot \text{L}^{-1}$)。小球藻(*Chlorella*)为绿藻门小球藻属普生性单细胞绿藻,是一种球形单细胞淡水藻类,直径 $3 \sim 8 \mu\text{m}$,是一种高效的光合植物,以光合自养生长繁殖,是大龙洞水库优势种之一,表层水体平均小球藻细胞密度为 80.3 (万个 $\cdot \text{L}^{-1}$)。

研究所用的小球藻来源于大龙洞水库下游开阔水域表层水体,用 25 号(孔径 $200 \mu\text{m}$)浮游植物网,以每秒 $20 \sim 30 \text{ cm}$ 的速度作“ ∞ ”形循环缓慢地拖动 15 min ,收集浓缩液。将大龙洞水库表层水体用孔径为 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜抽滤,替代双蒸水配置 BG-11 培养基,并以 BG-11 培养基反复筛选获得纯种。利用 TU1810 紫外可见分光光度计测定其最大吸收峰为 685.00 nm 。

1.2 培养基配置

实验所用的岩溶水分别取于广西上林县大龙洞水库下游开阔水域表层和底层(-10 m),采集新鲜岩溶水储存于便携式小冰箱中,带回实验室并储存于 4°C 冰箱备用。岩溶水用孔径为 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜抽滤。分别用底层岩溶水(A 组培养基)、表层岩溶水

(B 组培养基)和双蒸水(C 组培养基)来配置培养基, 藻种库(FACHB),但去除其中 $\text{CaCl}_2 - 2\text{H}_2\text{O}$ 和 培养基参照中国科学院典型培养物保藏委员会淡水 Na_2CO_3 。所得三种培养基的水化学指标见表 1。

表 1 培养基水化学性质
Table 1 The hydro-chemical compositions of the culture medium

项目	pH	T/ ℃	EC/ $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$	$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$							
				K^+	Na^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	HCO_3^-	NO_3^-	Cl^-	SO_4^{2-}
底层岩溶水(A 组)	8.08	23.1	1285	0.73	0.12	91	8.63	277.55	6.63	2.97	8.61
表层岩溶水(B 组)	8.52	23.6	1182	0.68	0.08	58	7.62	152.50	2.55	2.57	7.55
双蒸水(C 组)	7.12	22.7	161	0.48	0.11	9	2.30	30.50	2.33	2.45	6.55

1.3 实验设计

将 A、B、C 三种培养基分装于体积为 250 mL 的 聚乙烯三角瓶,每瓶分别分装 200 mL 培养基液体, 每种 28 瓶。将 A、B、C 三种培养基(28 瓶)分成 7 组,每组包括三个平行样和一个空白样,在三个平行 样中加入 1 mL 小球藻液体(密度 1.6×10^6 个 · L^{-1}),空白样不加小球藻液体。用保鲜膜、牛皮纸和 棉花塞塞住三角瓶瓶口,置于恒温培养箱中光照培 养,培养条件为:温度(30 ± 1)℃,光强为 2 000 lx,全 天光照培养。每隔 24 h 分别从 7 组取出一组进行相 关数据测量,测完后舍弃,持续 7 d。

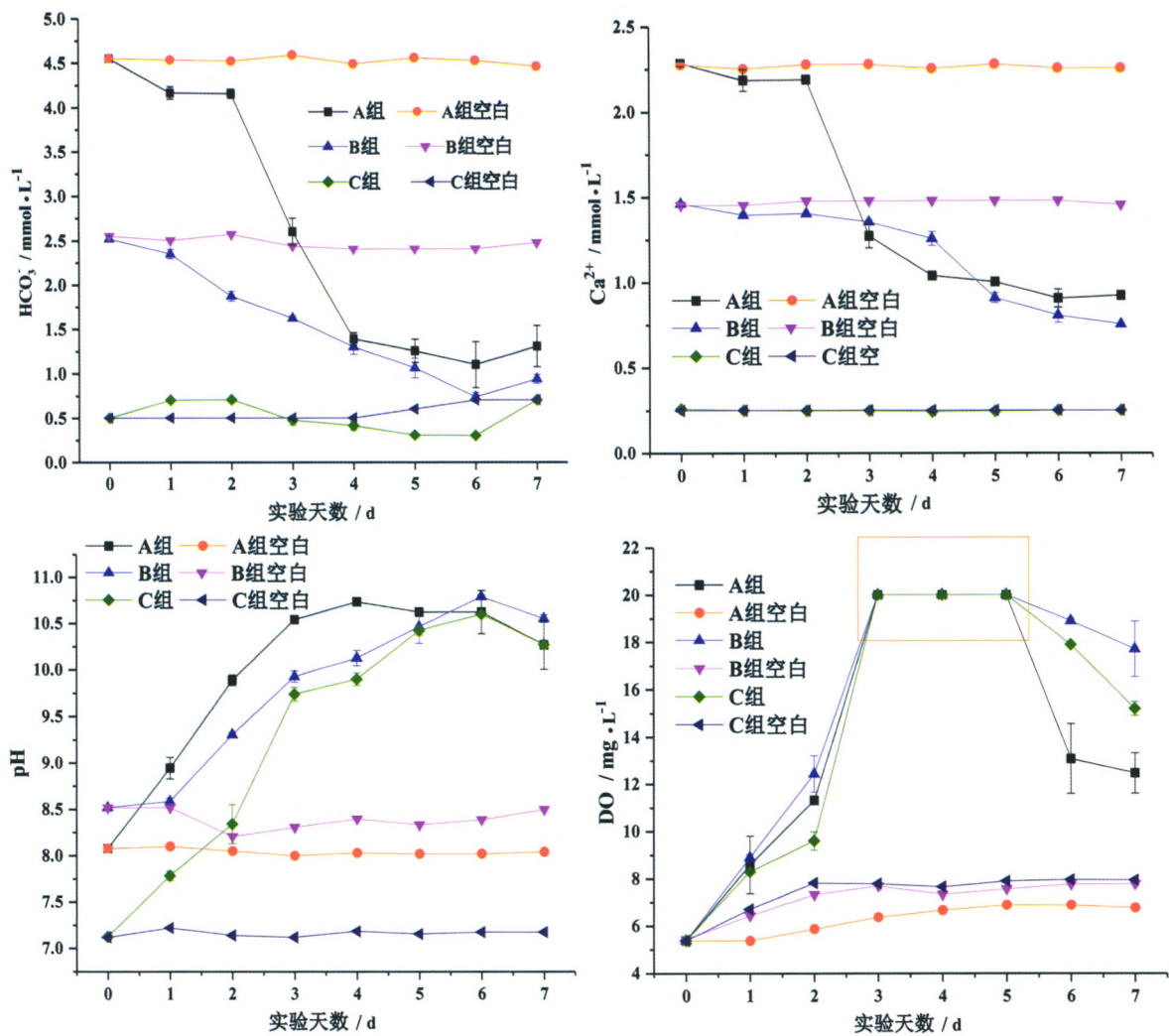
1.4 监测指标及仪器

利用 TU1810 紫外可见分光光度计测定其吸光 度来计算培养体系中的藻类生物量。利用 WTW3430 多功能水质参数分析仪来测量 pH、溶解 氧,精度分别为 0.01 pH 单位,0.01 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。 Ca^{2+} 浓度和 HCO_3^- 浓度分别用德国 Merck 公司生产的 硬度试剂盒和碱度试剂盒测定,精度分别为 2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 0.1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。用孔径为 0.22 μm 微孔滤 膜抽滤 15 mL 培养液储存于高密度聚乙烯瓶中并加 入 1~2 滴饱和 HgCl_2 ,并储存于 4℃ 冰箱用来测定 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 。利用连有 Gas-bench 进样装置的 MAT253 (美国热电公司)同位素质谱,用磷酸法对水样溶解无 机碳同位素 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 进行测试。 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 以 V-PDB 标准 给出,分析误差 $<0.15\text{‰}$ ^[25]。每个三角瓶测试完后, 缓缓倒去全部培养液,将乙烯瓶倒置于滤纸上,直至 瓶中全部水珠被吸干。向瓶中加入 0.5 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐 酸直至白色固着物全部溶解,定溶至 50 mL,利用美国 Perkin Elmer Optima 2100 ICP-OES 光谱仪测定 其 Ca^{2+} 含量,确定 CaCO_3 沉淀的量。以上培养分析工 作均在国土资源部/广西岩溶动力学重点实验室完成。

2 结 果

2.1 培养基理化指标的变化

藻类在适应外部水环境的同时,其生长代谢活动 也在一定程度对外部环境作出反馈,影响着水体的物 质构成。如图 1 所示:在三组空白试验溶液中, HCO_3^- 、 Ca^{2+} 、pH、等指标均无大波动,趋于稳定,仅 DO 的空白样在培养开始后略有上升,但第三天开始 基本稳定在 7.7 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右。而在加入小球藻的 培养基中,各项指标均因小球藻的干扰而有所变化, 但三组实验平行样之间的误差均小于 2%。A 组和 B 组实验中 HCO_3^- 和 Ca^{2+} 浓度大幅度降低,A 组 HCO_3^- 由 4.6 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 减少至 1.3 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 Ca^{2+} 由 2.28 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 减少至 0.93 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$;B 组 HCO_3^- 和 Ca^{2+} 的初始值分别为 2.5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 1.45 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,在藻类的作用下,第 7 天后,分别 降至 0.9 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、0.75 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$;C 组中的 HCO_3^- 和 Ca^{2+} 与前两组出现不同情况,其 HCO_3^- 浓 度由最初的 0.5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 升高到 0.7 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 后持续降低到 0.3 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,在第 7 天又上 升到 0.7 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,而 Ca^{2+} 始终保持在 0.25 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。用岩溶水体配置的 A 组和 B 组培养基 pH 值从初始时的 8.08 和 8.52 上升至 10.5 左右后 保持稳定,而用双蒸水配置的培养基 pH 值从初始的 7.12 上升至 10.5 左右后保持稳定(图 1)。三组实验 的 DO 均先升后降,第 3 天、第 4 天和第 5 天,DO 均 超过了 WTW 的测量范围(0~20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$),第 6 和 第 7 天,DO 均降至 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下。以上数据初 步说明,在不同的时间段,藻类表现出不同的生理过 程,进而使培养基水化学组成呈现不同的变化。



注:由于 WTW 的 DO 测量范围为 $0\sim20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,3 组实验的第 3、第 4 和第 5 天的 DO 均超过 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, DO 图中的红色矩形表示 DO 已超出了 WTW 的测量范围。

图 1 培养基理化指标的变化

Fig. 1 Variations of physical and chemical indicators in the culture medium

2.2 不同培养基中小球藻的生物量变化情况

藻类吸收系数与叶绿素 a 和藻细胞存在显著的正相关^[26],因此可以用藻类吸光值(Abs)的变化代表小球藻的相对生物量变化。图 2 表示在三种不同的培养基下小球藻相对生物量变化。虽然是生长在三种不同的培养基下,但小球藻具有相似的生长趋势:实验第 1、第 2 天小球藻生长速率较慢,生物量小幅度增加;实验的第 3—5 天,小球藻进入对数生长期,生物量迅速增加;实验第 6、第 7 天小球藻生长速率相对放缓。三种不同的培养基中 A 组生物量>B 组生物量>C 组生物量。三组空白实验组中,生物量从实验开始到结束均保持在初始值水平。

2.3 培养基无机碳同位素($\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$)组成

本次实验 B 组、C 组空白样中溶液的 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 从

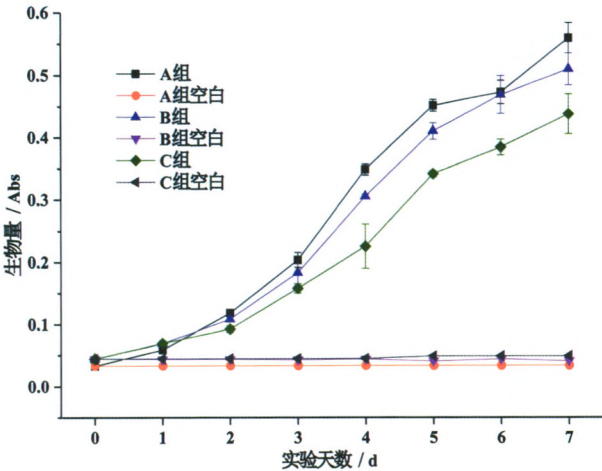
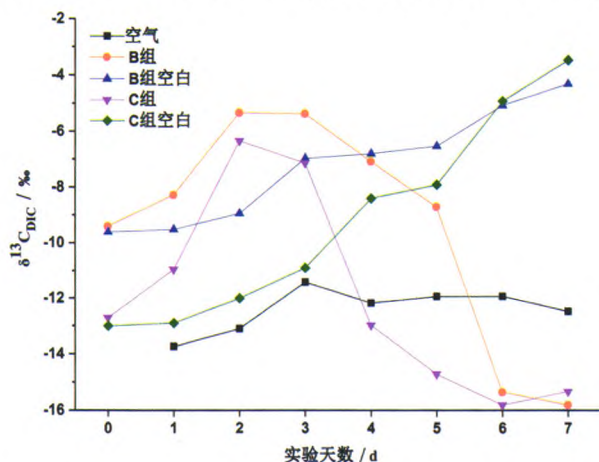


图 2 小球藻生物量变化曲线

Fig. 2 Variations curve of Chlorella biomass

实验开始的一9.61‰, -13.00‰逐渐偏正,到实验结束时,其 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 值分别为-4.27‰, -3.44‰(图 3); 加入小球藻后 B 组、C 组培养基的无机碳同位素出现较大的波动变化,分为明显的三个阶段:第 1~2 天逐渐偏正,第 3~6 天迅速偏负,第 7 天趋于平稳或小幅偏正。在实验期间,测得培养箱中空气 CO_2 浓度在 494~665 ppm 之间波动,平均 501 ppm,与培养液和空白样不同的是,其 $\delta^{13}\text{C}_{\text{CO}_2}$ 组成较为稳定,仅在一 13.74‰~-11.43‰间小幅度波动,平均-12.40‰。



注:在测量 A 组培养基的 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 时由于仪器故障导致数据不正常,在此未把 A 组培养基的 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 值列出。

图 3 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 变化曲线

Fig. 3 Variations curve of $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$

3 讨 论

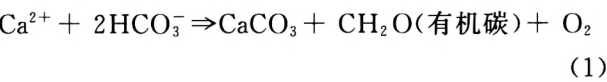
3.1 小球藻生长对 HCO_3^- 、 Ca^{2+} 的利用

溶解无机碳(DIC)的含量在水生生态系统中起着极为重要的作用,其决定了用于光合作用的无机碳的量。藻类能利用的无机碳源主要包括 HCO_3^- 和游离 CO_2 ,藻类在生长过程中具有较强大 CO_2 亲和力,它会优先利用水体中 CO_2 。然而在岩溶水生生态系统中,水的 pH 值多在 7~9,水中 DIC 主要以 HCO_3^- 的形式存在,游离 CO_2 含量较低,即在岩溶水体中,为藻类光合作用提供的碳源主要为 HCO_3^- 的形式。当游离 CO_2 含量太低时,藻类会诱导产生大量碳酸酐酶进而吸收环境中的 HCO_3^- 作为碳源进行光合作用^[21]。结合图 2 和图 3 可以看出,与空白样相比,三组生物量均呈现相似的增长规律(图 2),而培养基中 HCO_3^- 浓度变化却存在一定的差异。图 4 所示, A 组、B 组小球藻生物量的变化与 HCO_3^- 浓度变化呈显著负相关关系($R^2=0.9$, $P<0.05$; $R^2=0.92$, $P<0.05$)。培养实验的第 1、2 天藻类生物量逐渐增加,

伴随着生物量的增加,含量较低的游离 CO_2 被利用殆尽,小球藻转而利用水中的 HCO_3^- ,因此 A、B 两组 HCO_3^- 小幅度下降;第 3~4 天藻类生物量呈对数增加,相应的,三组实验中 HCO_3^- 也直线下降;由于培养基中营养物质因小球藻的吸收利用而减少,限制了小球藻的生长,在实验第 6、第 7 天,小球藻生物量的增加速度相对放缓, HCO_3^- 在第 7 天甚至有小幅度上升趋势。实验发现,在由双蒸水配成的 C 组培养基中,因其 HCO_3^- 浓度较低,加入小球藻后, HCO_3^- 含量虽发生小幅度波动,但始终保持初始值 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右。Maberly^[27] 和 UnsITable^[28] 等的研究认为,在密闭条件下,如果 pH 补偿点高于 9.2 时,可以作为藻类具有 HCO_3^- 利用能力的证据。从本文的实验结果来看,用岩溶水体配置的 A 组和 B 组培养基 pH 值从初始时的 8.08 和 8.52 上升至 10.5 左右后保持稳定,而用双蒸水配置的培养基 pH 值从初始的 7.12 上升至 10.5 左右后保持稳定(图 1)。由此证明大龙洞水库里的小球藻具有吸收 HCO_3^- 的能力。

三种不同的培养基中 A 组生物量>B 组生物量>C 组生物量。此次培养实验中,A、B、C 三组溶液中小球藻生长所必须的光照、温度等条件均相同,其造成其生物量差异的原因来自于培养基内小球藻生长所需的营养物质的差异,三种培养基分别由深层岩溶水、表层岩溶水和双蒸水作为基础配置而来,由表 1 可知三种水溶液 K^+ 、 Na^{2+} 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 Mg^{2+} 、 NO_3^- 浓度差异较小,而其差异主要体现在 HCO_3^- 、 Ca^{2+} 这两种离子浓度上,因此可以认为小球藻的生长变化主要受这两种离子的主导。从图 4 可知,对应于 A 组生物量>B 组生物量>C 组生物量, A 组 HCO_3^- 浓度>B 组 HCO_3^- 浓度>C 组 HCO_3^- 浓度, A、B、C 组 HCO_3^- 的减少量分别为 $3.24 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1.58 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $-0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,说明 HCO_3^- 不仅是小球藻光合作用所利用的碳源,而且 HCO_3^- 丰富程度对小球藻的生长具有重要影响,在实验中,岩溶区高浓度的 HCO_3^- 能够促进小球藻的生长,而低浓度的 HCO_3^- 反而不利于小球藻的生长。这与刘彦等^[16]实验发现的 HCO_3^- 对藻类生长有“施肥效应”的结论相一致。

相关研究证明, Ca^{2+} 浓度的降低一方面是藻类自身繁殖的吸收利用,另一方面是藻类的光合作用利用 HCO_3^- 而引起 Ca^{2+} 沉积的结果^[29],即发生以下化学反应:



从图 5 可知,经过对三组培养基中 CaCO_3 的测试,发现除 C 组外,A、B 两组均出现明显 CaCO_3 沉积,证实藻类将 HCO_3^- 吸收利用,生成有机碳而被固定下来,同时引起 CaCO_3 沉积,为明确培养液中 Ca^{2+} 的降低主要是源于小球藻本身生长对培养液中 Ca^{2+} 的利用还是由于 Ca^{2+} 沉积,通过计算 Ca^{2+} 减少量和 CaCO_3 的沉积量,分别计算出 Ca^{2+} 被小球藻吸收的

量和沉积的量。两组实验均揭示 Ca^{2+} 沉积是培养液中 Ca^{2+} 减少的重要因素,随着实验的进行,培养基中 CaCO_3 的沉积量逐渐增多(图 5)。实验的第 1、2 天主要是由藻类生长对 Ca^{2+} 的吸收,但到小球藻呈对数增长的第 3~5 天,藻类对 HCO_3^- 的吸收引起的 CaCO_3 沉积开始占据主导地位,甚至在 B 组出现 Ca^{2+} 的减少均是由于 CaCO_3 引起的情况。实验的第 6、7 天,随着小球藻生长速度的减缓,对 HCO_3^- 的利用量减少,生成 CaCO_3 沉淀量保持稳定,藻类对

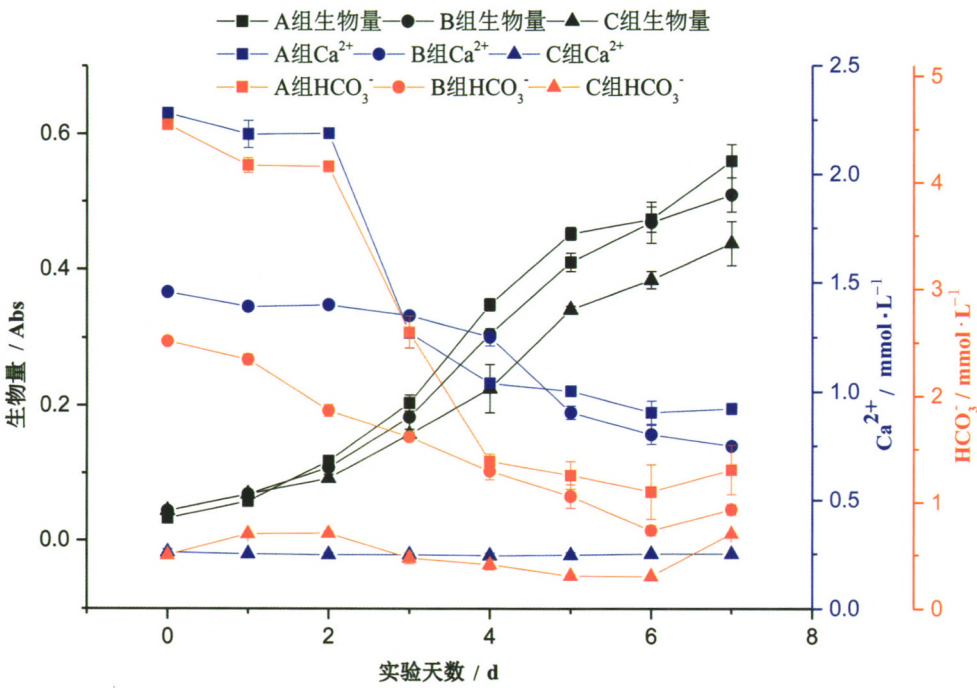


图 4 小球藻生物量变化与 HCO_3^- 、 Ca^{2+} 变化曲线

Fig. 4 The relation between Chlorella biomass and HCO_3^- , Ca^{2+}

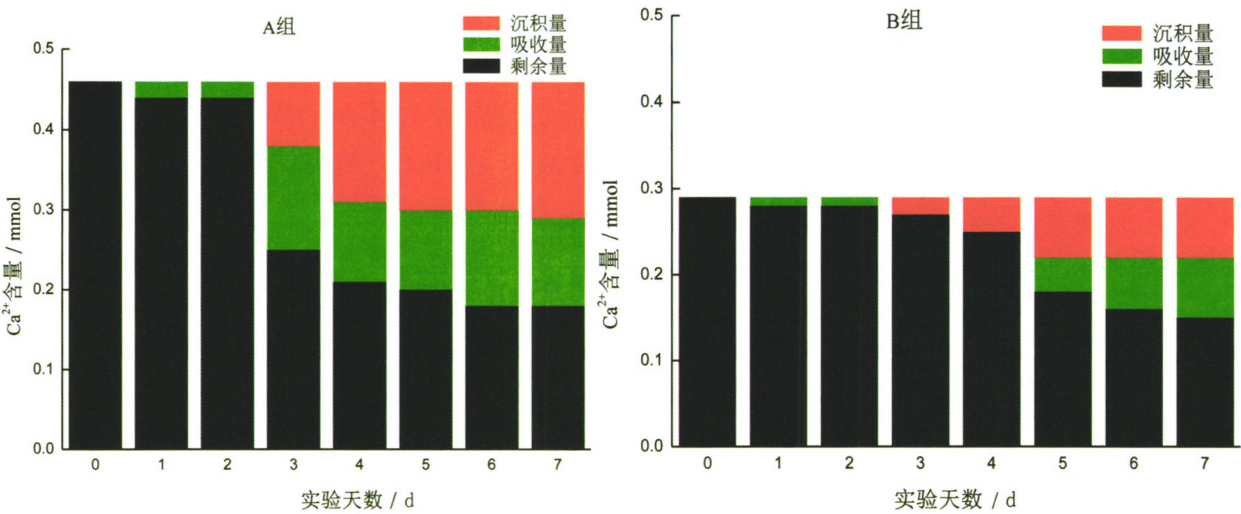


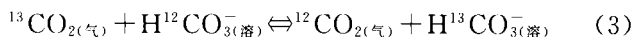
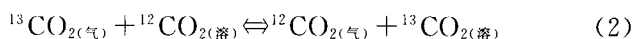
图 5 小球藻对 Ca^{2+} 的吸收量及 Ca^{2+} 沉积量

Fig. 5 Amounts of calcium carbonate precipitation causing by Chlorella assimilating HCO_3^- and the utilization amounts of Ca^{2+} by Chlorella

Ca^{2+} 的吸收利用量保持稳定。小球藻的生长引起培养液 Ca^{2+} 浓度降低, A 组中 Ca^{2+} 从 $2.28 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 降低到 $0.93 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, Ca^{2+} 浓度在第 1、2 天浓度变化较小, 而从第 3~5 天急剧降低, 第 6~7 天趋于稳定(图 4), 这表明, 当环境中 Ca^{2+} 浓度较高时, 高浓度的 Ca^{2+} 能刺激小球藻快速并大量利用环境中的 Ca^{2+} [20]; B 组 Ca^{2+} 初始浓度为 $1.45 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 实验结束时, 浓度降低到 $0.75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 实验的第 1—3 天均保持稳定, 在第 4—6 天降低幅度增大, 但与 A 组相比降幅仍较为平稳, 在第 7 天保持稳定, 最合理的解释是: 当环境中 Ca^{2+} 降低时, 利用难度增大, 小球藻对 Ca^{2+} 的吸收速度变缓, 利用量降低; C 组中 Ca^{2+} 浓度始终保持在初始的 $0.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 小球藻生长对其利用可能存在最低浓度限制, 当浓度过低时, Ca^{2+} 难以被小球藻利用。

3.2 小球藻光合作用造成的同位素分馏

作为自然界中碳同位素分馏最重要过程, 藻类光合作用和呼吸作用造成的同位素分馏可以很好地解释藻类的碳利用过程。如图 3 所示, 我们对 B 组、C 组培养基的无机碳同位素($\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$)以及培养箱中空气 CO_2 的碳同位素($\delta^{13}\text{C}_{\text{CO}_2}$)进行了检测。培养箱中空气 CO_2 浓度在 $494 \sim 665 \text{ ppm}$ 之间波动, 平均 501 ppm , 其 $\delta^{13}\text{C}_{\text{CO}_2}$ 值较为偏负, 在 $-13.74\text{‰} \sim -11.43\text{‰}$ 间小幅度波动, 平均 -12.40‰ 。B 组、C 组空白样的 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 从实验开始到结束逐渐偏正, 主要是因为培养期间, 培养基与培养瓶上部的 CO_2 交换逐渐达到平衡, 这种交换的结果是导致水体无机碳富集 ^{13}C (公式 2~4) [30]。



加入小球藻后 B 组、C 组的无机碳同位素则分为明显的三个变化阶段: 第 1、第 2 天逐渐偏正, 第 3—6 天迅速偏负, 第 7 天趋于平稳或小幅偏正, 这种变化趋势与 HCO_3^- 的浓度变化趋势相一致。B 组、C 组 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 均在第 1、第 2 天出现偏正情况, 分析认为造成偏正的原因略有不同。藻类主要通过光合作用和呼吸作用造成的同位素分馏, 藻类光合作用形成有机质过程中优先利用 ^{12}C [31~33], 使剩余水体 DIC 的 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 偏正, 反之, 藻类呼吸作用产生的 CO_2 ($\delta^{13}\text{C}_{\text{CO}_2} = -23\text{‰}$) 溶于水后使水体 DIC 的 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 偏负 [30]。B 组 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 在第 1、第 2 天偏正主要是因为小球藻培养初期光合作用大于呼吸作用, 其光合作用优先使用 ^{12}C , 使剩余水体 DIC 的 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 偏正。C 组 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 第 1、第

2 天虽然偏正, 但 HCO_3^- 没有减少, 表明由此看出 C 组 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 第 1、第 2 天偏正并非因为第 1、第 2 天小球藻利用 HCO_3^- 导致的, 而是由于 C 组藻类吸收游离 CO_2 , 使得公式 (2—4) 向右反应, 从而使水体 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 偏正。B 组和 C 组 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 第 3—6 天迅速偏负的原因相同, 均是因为在封闭系统中随着小球藻的生长, 培养基内 CO_2 被消耗殆尽, 小球藻转而大量利用比溶解 CO_2 更能富集 ^{13}C 的 HCO_3^- [34], 使基液中无机碳含量急剧降低, 促使培养瓶上部同位素偏轻的 CO_2 进入溶液, 使培养液碳同位素值偏轻, 同时后期还存在呼吸作用逐渐增强, 呼吸作用产生的富集 ^{12}C 的 CO_2 溶于水后使水体 DIC 的 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 偏负的情况。培养到第 6、第 7 天时各组小球藻的生长速率开始放缓(图 2), 封闭系统中有限的营养物质被大量消耗, 限制了小球藻的生长, 部分甚至开始衰亡, 此时小球藻的呼吸作用和光合作用渐趋平衡, 因此 B 组和 C 组的 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 值趋于稳定。

3.3 小球藻的碳汇转化量

在封闭系统中 A、B、C 组培养基初始 Ca^{2+} 浓度分别为: $2.28 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1.46 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; HCO_3^- 浓度分别为 $4.55 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $2.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。培养 7 天后, A 组 Ca^{2+} 浓度下降至 $0.92 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, HCO_3^- 浓度下降至 $1.31 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 减少量分别为 0.28 mmol 和 0.65 mmol , 其中分别有 0.15 mmol 的 Ca^{2+} 和 HCO_3^- 以 CaCO_3 沉淀的形式返回到无机环境中; 培养 7 天后, B 组 Ca^{2+} 浓度下降至 $0.75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, HCO_3^- 浓度下降至 $0.93 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 减少量分别为 0.14 mmol 和 0.31 mmol , 其中分别有 0.07 mmol 的 Ca^{2+} 和 HCO_3^- 以 CaCO_3 沉淀的形式返回到无机环境中; 而培养 7 天后, C 组 Ca^{2+} 浓度下降不明显, HCO_3^- 浓度则有所增加。因此小球藻光合作用将 A 组岩溶水中 28.26% 和 B 组岩溶水中 24.14% 的 Ca^{2+} 吸收利用(表 2), 从小球藻对 HCO_3^- 的利用来看, A 组培养基中 HCO_3^- 的初始浓度为 $4.55 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 利用率达 54.95% , B 组 HCO_3^- 的初始浓度为 $2.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, HCO_3^- 的利用率有所降低, 但仍较高 (48.00%); C 组的 HCO_3^- 浓度较低, 小球藻无法利用 HCO_3^- 进行光合作用, C 组藻类的生长主要是利用溶解的 CO_2 , 由于是在封闭的系统中, 所以当水体中溶解性 CO_2 降低时就会促进培养瓶上部的 CO_2 进入水体, 当从培养瓶上部的 CO_2 也消耗完后, 藻类的生长就会受到抑制, 因此 C 组生物量会低于 A 组和 B 组。从本次实验可看出小球藻的

碳汇转化能力与环境中的 HCO_3^- 浓度有关,高浓度的 HCO_3^- 有利于小球藻的光合作用,一方面高 HCO_3^- 的岩溶水刺激藻类的生长从而将更多的无机碳转化为稳定的有机物形式;另一方面藻类繁殖速度比较快,岩溶水中的 Ca^{2+} 从分子和细胞水平促进藻类的增殖。

表 2 小球藻对 Ca^{2+} 和 HCO_3^- 的利用
Table 2 The utilization amounts of Ca^{2+} and HCO_3^- by Chlorella

类别	初始含量/ mmol	7 天后含量/ mmol	净减少量/ mmol	CaCO_3 沉淀量/ mmol	利用率/ %
A 组 Ca^{2+}	0.46	0.18	0.28	0.15	28.26
A 组 HCO_3^-	0.91	0.26	0.65	0.15	54.95
B 组 Ca^{2+}	0.29	0.15	0.14	0.07	24.14
B 组 HCO_3^-	0.50	0.19	0.31	0.07	48.00
C 组 Ca^{2+}	0.05	0.05	0.00	0.00	0.00
C 组 HCO_3^-	0.10	0.14	-0.04	0.00	0.00

不同学者计算出的水生植物对 HCO_3^- 的利用率有所差异,但差异不大(表 3)。从数据对比中可知,尽管研究的水生植物不同,但同为生长在岩溶区水生植物,其计算出的 HCO_3^- 利用率相近,有很高的可比性。从其生活的 HCO_3^- 浓度来看,水生植物对 HCO_3^- 的利用与其浓度有关,根据统计数据,水生植物生长的 HCO_3^- 在 $1.77\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上,其对 HCO_3^- 的利用率在 40% 以上,而本次实验中,C 组 HCO_3^- 浓度低至 $0.50\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,小球藻难以利用。在岩溶区,水体偏碱性,水体中无机碳以 HCO_3^- 为主要形式,岩溶区地下河中 HCO_3^- 浓度常常高达 $3\sim5\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,岩溶区地表河流中 HCO_3^- 浓度也达 $1\sim3\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ [23],据此有理由认为,在大部分岩溶区,水生植物对 HCO_3^- 的利用率可达 40% 以上。藻类是岩溶生态系统中最主要的生产者。在水生生态系统中藻类通过光合作用将岩溶作用产物利用从而促进整个生态系统的物质能量循环。因此,从生态系统的角度出发,岩溶水体中的藻类及水生植物的碳汇效应不容忽视[20,35-36]。

表 3 水生植物对 HCO_3^- 的利用率
Table 3 The utilization amounts of Ca^{2+} and HCO_3^- by aquatic plant

出处	水体来源	$\text{HCO}_3^-/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	利用率/%
章程[22]	会仙湿地	2.91	47.00
张强[23]	草海	1.77	58.80
王培[20]	寨底地下河	3.2	40.63
本次实验	大龙洞水库	4.55	54.95
本次实验	大龙洞水库	2.5	48.00
本次实验	双蒸水	0.5	0.00

4 结 论

- (1)在 A、B、C 三组不同 HCO_3^- 浓度下(分别为 $4.6\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $2.5\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.5\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$),A 组生物量>B 组生物量>C 组生物量,A、B 组小球藻生物量的变化与 HCO_3^- 浓度变化呈显著负相关关系,揭示 HCO_3^- 不仅是小球藻光合作用所利用的碳源,而且 HCO_3^- 丰富程度对小球藻的生长具有重要影响,在实验中,岩溶区高浓度的 HCO_3^- 能够促进小球藻的生长,而低浓度的 HCO_3^- 反而不利于小球藻的生长,即 HCO_3^- 对藻类生长有“施肥效应”。
- (2)藻类生长繁殖对 Ca^{2+} 的吸收利用和 Ca^{2+} 沉积是培养基中 Ca^{2+} 减少的两个重要原因。实验的第 1、2 天主要是由藻类生长对 Ca^{2+} 的吸收,但到小球藻呈对数增长的第 3—5 天,小球藻利用 HCO_3^- 引起的 CaCO_3 沉积开始占据主导地位,甚至出现 Ca^{2+} 的减少均是由于 CaCO_3 引起的情况。实验的第 6、7 天,随着小球藻生长速度的减缓,对 HCO_3^- 的利用量减少,生成 CaCO_3 沉淀量与藻类对 Ca^{2+} 的吸收利用量保持稳定。
- (3)B、C 组培养基 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 值在 $-15.80\text{‰} \sim -5.32\text{‰}$ 间波动,与藻类生物量变化的三阶段相对应, $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 值的波动变化也分为明显的三个变化阶段,小球藻的新陈代谢活动及大气圈—水圈系统的同位素交换是引起其阶段性变化的主要因素。
- (4)小球藻对 HCO_3^- 的利用率与其浓度相关,A、B 两组培养基中 HCO_3^- 充足,小球藻光合作用能将 A 组岩溶水中 28.26%,B 组中 24.14% 的 Ca^{2+} 吸收利用,将 A 组 54.95% 的 HCO_3^- 、B 组 48.00% 的 HCO_3^- 利用,生成有机碳固定下来,表现出巨大的岩

溶碳汇效应;C组 HCO_3^- 浓度过低,小球藻难以利用,说明小球藻对 HCO_3^- 的利用存在最低浓度限制。

致谢:感谢王培博士,刘文博士在野外和实验室工作中的帮助。

参考文献

- [1] Liu Z, Dreybrodt W, Wang H. A new direction in effective accounting for the atmospheric CO_2 budget: Considering the combined action of carbonate dissolution, the global water cycle and photosynthetic uptake of DIC by aquatic organisms[J]. *Earth-Science Reviews*, 2010, 99:162-172.
- [2] Liu Z, Dreybrodt W. Significance of the carbon sink produced by H_2O -carbonate- CO_2 -aquatic phototroph interaction on land[J]. *Science Bulletin*, 2015, 2(60):182-191.
- [3] Maier-Reimer E. The biological pump in the greenhouse. *Global and planetary change*, 1993, 8(1-2): 13-15.
- [4] Cole J J, Prairie Y T, Caraco N F, et al. Plumbing the global carbon cycle: Integrating inland waters into the terrestrial carbon budget. *Ecosystems (New York. Print)*, 2007, 10(1): 172-185.
- [5] Pu J, Li J, Khadka M B, et al. In-stream metabolism and atmospheric carbon sequestration in a groundwater-fed karst stream[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 579: 1343-1355.
- [6] 刘再华. 岩石风化碳汇研究的最新进展和展望[J]. *科学通报*, 2012, 57(2): 95-102.
- [7] Larson C. An unsung carbon sink[J]. *Science*, 2011, 334(6058): 886-887.
- [8] Wu Q Y. Algae creatures and the nature of the biogeochemical cycle of carbon dioxide[J]. *Exploration of Nature*, 1987, 6(21): 44-46.
- [9] 吴庆余, 刘志礼, 朱浩然. 前寒武纪藻类对某些层纹状隧石形成作用的生物地球化学模式和模拟实验研究[J]. *地质学报*, 1986, 60(4):375-389.
- [10] 吴庆余. 微体藻类化石与红有机色素在前寒武纪地层中的同时发现[J]. *微体古生物学报*, 1988, 3(1): 61-68.
- [11] Cao J H, Yuan D X, Chris G, et al. Carbon fluxes and sinks: the consumption of atmospheric and soil CO_2 by carbonate rock dissolution. *Acta Geological Sinica (English Edition)*, 2012, 86(4): 963-972.
- [12] Liu Y, Liu Z, Zhang J, et al. Experimental study on the utilization of DIC by *Oocystis solitaria* Witttr and its influence on the precipitation of calcium carbonate in karst and non-karst waters[J]. *Carbonates and evaporites*, 2010, 25(1): 21-26.
- [13] Shiraishi F, Reimer A, Bissett A, et al. Microbial effects on biofilm calcification, ambient water chemistry and stable isotope records in a highly supersaturated setting (Westerhofsee, Germany). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 2008, 262(1): 91-106.
- [14] Zaitseva L V, Orleanskii V K, Gerasimenko L M, et al. The role of cyanobacteria in crystallization of magnesium calcites[J]. *Paleontological Journal*, 2006, 40(2): 125-133.
- [15] 邓洁, 李建宏, 管章玲, 等. 一株产碳酸酐酶附生菌对铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 生长的影响[J]. *湖泊科学*, 2012, 24(3): 429-435.
- [16] 刘彦, 张金流, 何媛媛 等. 单生卵囊藻对 DIC 的利用及其对 CaCO_3 沉积影响的研究[J]. *地球化学*, 2010, 39(2):191-196.
- [17] Lerman A, Mackenzie FT. CO_2 air-sea exchange due to calcium carbonate and organic matter storage and its implications for the global carbon cycle. *Aquatic Geochemistry*, 2005, 11(4): 345-390.
- [18] Colman B, Huertas I E, Bhatti S, et al. The diversity of inorganic carbon acquisition mechanisms in eukaryotic microalgae. *Functional Plant Biology*, 2002, 29(3): 261-270.
- [19] Martin C L, Tortell P D. Bicarbonate transport and extracellular carbonic anhydrase activity in Bering Sea phytoplankton assemblages: Results from isotope disequilibrium experiments. *Limnol. Oceanogr*, 2006, 51(5): 2111-2121.
- [20] 王培, 曹建华, 李亮, 等. 不同来源小球藻对岩溶水 Ca^{2+} 、 HCO_3^- 利用的初步研究[J]. *水生生物学报*, 2013, 37(4):626-631.
- [21] 吴沿友, 李海涛, 谢腾祥, 等. 微藻碳酸酐酶生物地球化学作用[M]. 北京: 科学出版社, 2015:4-14.
- [22] 章程, 谢运球, 宁良丹, 等. 桂林会仙岩溶湿地典型水生植物 $\delta^{13}\text{C}$ 特征与固碳量估算[J]. *中国岩溶*, 2013, 32(3): 247-252.
- [23] 张强. 岩溶地质碳汇的稳定性:以贵州草海地质碳汇为例[J]. *地球学报*, 2015, 33(6):107-112.
- [24] 李建鸿, 蒲俊兵, 袁道先, 等. 岩溶区地下水补给型水库表层无机碳时空变化特征及影响因素[J]. *环境科学*, 2015, 36(8): 2833-2842.
- [25] Houghton J T, Ding Y, Griggs D J, et al. *Climate change 2001: The scientific basis* [R]. Cambridge: Cambridge University Press, 2001: 944.
- [26] 殷燕, 张运林, 王明珠, 等. 光照强度对铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 和斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 生长及吸收特性的影响[J]. *湖泊科学*, 2012, 24(5): 755-764.
- [27] Maberly S C. Exogenous sources of inorganic carbon for photosynthesis by marine macroalgae[J]. *Journal of Phycology*, 1990, 26(3):439-449.
- [28] Unsitalo J, Axelsson L, Carberg S. CO_2 storage and CO_2 concentrating in brown seaweeds [C]//Baltcheffsky M. *Current Research in Photosynthesis*. Dordrech: Kluwer Academic Publishers, 1990:521-524.
- [29] 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.
- [30] 王将克, 常弘, 廖金凤, 等. *生物地球化学* [M]. 广州: 广东科技出版社, 1999:294-350.
- [31] 喻元秀, 刘丛强, 汪福顺, 等. 乌江流域梯级水库中溶解无机碳及其同位素分异特征[J]. *科学通报*, 2008, 53(16):1935-1941.
- [32] 王亮, 肖尚斌, 刘德富, 等. 香溪河库湾夏季温室气体通量及影响因素分析[J]. *环境科学*, 2012, 33(5):1471-1475.
- [33] 刘丛强. 生物地球化学过程与地表物质循环:西南喀斯特流域

侵蚀与生源要素循环[M]. 北京:科学出版社, 2007:487-511.

[34] Mook W G, Bommerson J C, Staverman W H. Carbon isotope fractionation between dissolved bicarbonate and gaseous carbon dioxide[J]. Earth and Planetary Science Letters. 1974. 22 (2): 169-176.

[35] 王培, 胡清菁, 曹建华, 等. 念珠藻对岩溶水中 Ca^{2+} , HCO_3^- 利用效率实验研究[J]. 广西植物, 2014, 34(6): 799-805.

[36] 张彦辉, 安彦杰, 朱迟, 等. 水体无机碳条件对常见沉水植物生长和生理的影响[J]. 水生生物学报, 2009, 33(6):1020-1030.

Experimental study on the utilization efficiency of Chlorella to Ca^{2+} and HCO_3^- in karst water

ZHANG Tao^{1,2}, LI Jianhong², PU Junbing², LI Rui³, WU Feihong^{1,2}, LI Li^{1,2}

(1. Chongqing Key Laboratory of Karst Envrionments, School of Geographical Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China);
2. Institute of Karst Geology, CAGS/Key Laboratory of Karst Dynamics, MNR&GZAR, Guilin, Guangxi 541004, China;
3. School of History, Geography and Tourism, Chengdu Normal University, Chengdu, Sichuan 611130, China)

Abstract Chlorella was collected from Dalongdong cave in Shanglin county of Guangxi to study its utilization efficiency of Ca^{2+} and HCO_3^- in three water bodies with different concentrations of DIC ($4.6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ and $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) in the closed system. The results show that: (1)After 7 days of cultivation in three different DIC solution of $4.6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ and $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, Chlorella biomass increased from 0.04 Abs, to 0.56 Abs, 0.50 Abs and 0.44 Abs, respectively. In the environment with high HCO_3^- and Ca^{2+} concentration, Chlorella absorbed 54.95% of HCO_3^- in group A and 48.00% of HCO_3^- in group B, it also absorbed 28.26% of Ca^{2+} in group A and 24.14% of Ca^{2+} in group B. In the environment with low HCO_3^- concentration, it was difficult for Chlorella to absorb HCO_3^- in group C ($0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$). These findings indicate that the high concentration of HCO_3^- in karst reservoirs plays a role of "fertilization" on the growth of Chlorella, which is significant to the karst process-related carbon sink; (2)The amount of Ca^{2+} deposition caused by Chlorella photosynthesis using HCO_3^- was higher than the amount of Ca^{2+} absorbed by Chlorella photosynthesis; (3)Photosynthesis from Chlorella make $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ positive, while the respiration make $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ negative in the culture medium.

Key words karst reservoir, Chlorella, carbon sink, $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$, Calcium carbonate precipitation

(编辑 吴华英)