

饱和 CO₂ 对亚心形扁藻生长及碳酸酐酶活性的影响

刘清钰¹, 莫华^{1*}, 杨海波^{2*}

(1. 大连市第八中学, 辽宁大连 116021; 2. 大连大学环境与化学工程学院, 辽宁大连 116622)

摘要 [目的]研究饱和 CO₂ 对亚心形扁藻生长及细胞内、外碳酸酐酶活性的影响。[方法]在每个光周期的光照阶段开始时通入 CO₂ 至饱和, 在每个光周期的黑暗阶段结束时取样测定亚心形扁藻细胞的生物量、叶绿素含量及碳酸酐酶比活性。[结果]与未通入 CO₂ 的对照组相比, 通入 CO₂ 至饱和时亚心形扁藻的适应期缩短, 进入生长期后生物量增加明显, 至培养结束时的生物量、叶绿素 a 和叶绿素 b 含量、细胞内外碳酸酐酶、总碳酸酐酶比活性分别是对照组的 1.19、1.75、1.66、1.32、1.26、1.43 倍。[结论]在培养体系中通入 CO₂ 至饱和时, 亚心形扁藻通过提高细胞内、外碳酸酐酶的活性来保持高光合作用效率, 促进自身生长繁殖。

关键词 CO₂; 亚心形扁藻; 生长; 碳酸酐酶

中图分类号 S963.21 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)31-0061-04

Effects of Saturated CO₂ on Growth and Activity of Carbonic Anhydrase of *Platymonas subcordiformis*

LIU Qing-yu¹, MO Hua^{1*}, YANG Hai-bo^{2*} (1. Dalian No. 8 Middle School, Dalian, Liaoning 116021; 2. College of Environmental and Chemical Engineering, Dalian University, Dalian, Liaoning 116622)

Abstract [Objective] To study the effects of saturated CO₂ on the growth of *Platymonas subcordiformis* and the activities of intracellular and extracellular carbonic anhydrases. [Method] CO₂ was bubbled to saturate at the beginning of light phase of every light cycle, and then, the biomass, the chlorophyll content and the carbonic anhydrase specific activity of *P. subcordiformis* were determined at the end of dark phase of every light cycle. [Result] Compared with the control group without bubbling CO₂, the lag phase of growth shortened, and the biomass increased obviously during the fast growing period in the medium with bubbling CO₂. meanwhile, the biomass of *P. subcordiformis*, the contents of chlorophyll a and b, and the activities of intracellular, extracellular and total carbonic anhydrases were 1.19, 1.75, 1.66, 1.32, 1.26 and 1.43 times of those in the medium without bubbling CO₂, respectively. [Conclusion] When the medium was saturated by CO₂, *P. subcordiformis* kept high photosynthetic efficiency to grow fast by increasing the activities of intracellular and extracellular carbonic anhydrases.

Key words Carbon dioxide; *Platymonas subcordiformis*; Growth; Carbonic anhydrase

化石燃料的大量使用不仅导致能源资源日渐枯竭, 而且产生的大量温室气体导致全球气候变暖、生态环境恶化, 在我国, 这种影响尤其严重。由于 CO₂ 占整个大气温室效应气体排放的 68% 以上, 对温室效应贡献最大, 因此, 控制和降低 CO₂ 排放成为应对全球气候变暖的重要举措, 是当前世界各国政府、企业界、学术界关注的焦点之一^[1-2]。海洋微藻光合效率高、生长速度快、环境适应性强, 直接利用光合作用捕捉和固定 CO₂ 形成自身有机物质, 同时产出高附加值的蛋白质、淀粉、糖类和脂类等^[3-4]。碳酸酐酶是一种含 Zn 的金属酶, 能够促进 CO₂ 和 HCO₃⁻ 的相互转化, 在藻类光合固碳中起着重要作用。一方面, 利用转运子通过质膜主动转运 HCO₃⁻ 进入胞液, 再通过细胞内碳酸酐酶将 HCO₃⁻ 转变为 CO₂; 另一方面胞外碳酸酐酶催化细胞表面的 HCO₃⁻ 转变为 CO₂, CO₂ 以自由扩散方式进入细胞内。经过胞内和胞外碳酸酐酶的共同作用保持细胞内有稳定浓度的 CO₂ 供给核酮糖-1,5-二磷酸羧化/氧化酶活性位点, 以维持较高的光合作用效率^[5-6]。

亚心形扁藻 (*Platymonas subcordiformis*) 是一种海产光合自养浮游微藻, 对环境适应性强, 光合效率高, 生长繁殖快, 富含蛋白质、脂肪、碳水化合物等营养物质, 是水产动物育苗过程中广泛使用的优质饵料, 并在医药保健和生物能源等方面有广阔的开发潜力^[7-8]。笔者研究饱和 CO₂ 对亚心形扁藻生长及细胞内外碳酸酐酶活性的影响, 分析亚心形扁藻对

饱和 CO₂ 的吸收转化能力, 旨在为开发利用亚心形扁藻吸收转化工业排放 CO₂ 的研究提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 藻种来源 亚心形扁藻 (*Platymonas subcordiformis*) 藻种为大连大学环境与化学工程学院海洋微藻课题组保存。

1.2 仪器和药品 EL204 电子天平 [梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司], 80-2 离心沉淀机 (上海荣泰生化工程有限公司), LD5-2A 台式离心机 (北京医用离心机厂), UV-5200 型紫外可见分光光度计 (上海元析仪器有限公司), HH-S 恒温水浴锅 (江苏金坛市医疗仪器厂), pH-S-2C 型精密酸度计 (上海精密科学仪器有限公司); 无水乙醇 (天津市科密欧化学试剂有限公司), 巴比妥 (上海笃玛生物科技有限公司), 巴比妥钠 (上海笃玛生物科技有限公司), 均为分析纯。

1.3 试验方法

1.3.1 微藻培养及 CO₂ 通入。取 5 L 锥形瓶, 分别加入 2 700 mL 灭菌海水 (pH = 8.12) 和 900 mL 处在对数生长期的亚心形扁藻藻液 ($A_{650\text{nm}} = 0.117$), 按 1% 的比例加入 2.7 mL 康维方营养液^[9]。在 25 °C、2 100 lx、光暗比为 12:12 的条件下培养亚心形扁藻。每天光照阶段开始和光照阶段结束时各摇瓶 1 次。

根据亨利定律, 常压下 25 °C 时 CO₂ 在纯水中的溶解度为 1.24×10^{-5} mol/L, pH = 5.67^[10]。为研究海水中 CO₂ 溶解量最大 (CO₂ 饱和) 时亚心形扁藻生长及碳酸酐酶活性的变化, 以此为依据向亚心形扁藻培养体系中通入 CO₂ 至 pH 恒定不变时 (说明 CO₂ 饱和, 此时 pH = 6.02), 停止通入。

每天在光照阶段开始时向亚心形扁藻培养液中通入

作者简介 刘清钰 (2001—), 女, 山东夏津人, 高中生。* 通讯作者: 莫华, 高级教师, 从事高中生物教学工作; 杨海波, 教授, 博士, 从事海洋生物能源研究。

收稿日期 2017-08-24

CO₂ 至 pH 不变,开始 12 h 光照,再继续 12 h 黑暗,如此反复,直至培养结束。以未通 CO₂ 的灭菌海水中接种的亚心形扁藻培养液为对照。每组试验 3 个平行样。

1.3.2 测定指标。为探究饱和 CO₂ 对亚心形扁藻生长和碳酸酐酶活性的影响,自亚心形扁藻接种培养开始,每 24 h 取培养液 500 mL,用于测定生物量、pH、细胞叶绿素含量和细胞内外的碳酸酐酶活性。

1.3.2.1 生物量测定。预试验中,用 UV-5200 型紫外可见分光光度计进行全波长扫描,确定亚心形扁藻培养液的最大吸收波长为 650 nm。试验过程中,从每次在所取的 500 mL 培养液中再取 10 mL,于 650 nm 波长处测定藻液的吸光值,以间接反映亚心形扁藻细胞的生长情况,测完后的藻液放回所取的培养液中。平行测定 3 次。

1.3.2.2 pH 测定。从每次取的 500 mL 培养液中取出 30 mL,用 pH-S-2C 型精密酸度计测定 pH,测完后的藻液仍放回所取的培养液中。平行 3 次。

1.3.2.3 叶绿素含量的测定。参照文献[8]的方法,将测完吸光度和 pH 的培养液(495 mL),于 3 000 r/min 离心 3 min,弃上清液,收集藻泥,分成 3 份,1 份用于测定叶绿素,另外 2 份用于测定细胞内、外的碳酸酐酶活性。将用于测定叶绿素的藻泥用去离子水清洗 3 次后按质量平均分成 3 份,用 85% 乙醇提取叶绿素,并测定提取液在波长 649 和 665 nm 处的吸光度值。按照公式(1)、(2)分别计算待测液中叶绿素 a 和叶绿素 b 的质量浓度,按照公式(3)计算亚心形扁藻细胞内的叶绿素含量。

$$C_a = 13.95A_{665\text{ nm}} = 6.88A_{649\text{ nm}} \quad (1)$$

$$C_b = 24.96A_{649\text{ nm}} = 7.32A_{665\text{ nm}} \quad (2)$$

式中, C_a 、 C_b 分别为待测液中叶绿素 a、叶绿素 b 的质量浓度(mg/L); A_{649} 、 A_{665} 分别为 649、665 nm 处的吸光度值。

$$\text{叶绿素含量(湿质量)}(\text{mg/g}) = CV/m \quad (3)$$

式中, C 为叶绿素 a 或 b 的质量浓度(mg/L); V 为提取液体积(L); m 为湿藻泥质量(g)。

1.3.2.4 细胞内、外碳酸酐酶活性的测定。参照 wilbur-Anderson 法^[11]测定碳酸酐酶活性。取上述操作中获得的另外 2 份藻泥,首先将其中的 1 份按质量平均分成 3 份,立即悬浮于 pH 为 8.30 的 12 mL 巴比妥-巴比妥钠缓冲溶液中,再加入 6 mL 在 4℃ 冷藏的 CO₂ 饱和蒸馏水,用 pH 计测量反应体系的 pH 变化,记录 pH 从 8.30 降至 7.30 时所需的时间 t_1 ,测定细胞外碳酸酐酶活性,取平均值。将另外一份藻泥冻融 4 次破碎细胞后,再按质量平均分成 3 份,重复胞外碳酸酐酶活性的测定过程,用于测定细胞总的碳酸酐酶活性,取平均值。按照下式计算碳酸酐酶活性:

$$\text{碳酸酐酶活性(湿质量)}(\text{EU/g}) = 10 \times (t_0/t_1 - 1)/m \quad (4)$$

式中, t_0 为反应体系未加藻泥时 pH 下降所用的时间(min); t_1 是反应体系中加入藻泥后 pH 下降所用的时间(min); m 为湿藻泥质量(g)。

细胞内碳酸酐酶比活性(湿质量)(EU/g) = 细胞总碳酸

酐酶比活性 - 细胞外碳酸酐酶比活性 (5)

1.4 数据统计与方法 试验数据用 Excel 进行统计及处理。在采用 SPSS 18.0 软件进行单因素方差分析的基础上进行 Duncan 多重比较,显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 饱和 CO₂ 对亚心形扁藻培养液 pH 的影响 按照上述方法,在灭菌海水(pH = 8.12)中接种处于对数生长期的亚心形扁藻藻液($A_{650\text{ nm}} = 0.117$),从培养开始时计时每隔 24 h 测定培养液的 pH,并与未通入 CO₂ 的对照组进行比较,结果见表 1。由表 1 可知,培养时间为 0~144 h 时,未通入 CO₂ 的亚心形扁藻培养液 pH 从 8.12 上升到 8.26。自开始培养至 24 h 时 pH 有显著差异($P < 0.05$),自培养 24 h 至试验结束,pH 差异不显著($P > 0.05$),说明亚心形扁藻通过光合作用吸收的 CO₂ 和通过呼吸作用释放的 CO₂ 基本处于平衡状态;而在每日光照开始时通入 CO₂ 至饱和(pH = 6.02)的亚心形扁藻培养液,自培养开始至结束,pH 逐日升高,每日差异显著($P < 0.05$),且显著低于未通入 CO₂ 的亚心形扁藻培养液($P < 0.05$)。通入 CO₂ 至饱和的亚心形扁藻培养液,pH 自开始时的 6.02 上升至结束时的 7.65,明显低于未通 CO₂ 的对照组(8.12~8.26)。这一方面说明通入 CO₂ 能降低培养体系的 pH,另一方面说明适宜亚心形扁藻生长的 pH 范围较宽。

表 1 饱和 CO₂ 对亚心形扁藻培养液 pH 的影响

Table 1 Effect of saturated CO₂ on pH of *Platymon subcordiformis* culture medium

培养时间 Culture time//h	通入 CO ₂ Bubbling CO ₂	未通 CO ₂ Without bubbling CO ₂
0	6.02 ± 0.006 a	8.12 ± 0.015 h
24	6.42 ± 0.010 b	8.22 ± 0.020 i
48	6.54 ± 0.015 c	8.22 ± 0.015 i
72	6.87 ± 0.025 d	8.24 ± 0.015 i
96	7.24 ± 0.006 e	8.25 ± 0.012 i
120	7.56 ± 0.020 f	8.25 ± 0.023 i
144	7.65 ± 0.006 g	8.26 ± 0.020 i

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)

Note: Different lowercases in the same column indicated significant differences ($P < 0.05$)

光合作用包括光反应和暗反应 2 个过程。亚心形扁藻通过光反应将光能转化为生物能(ATP)和还原势能(NADPH),再通过暗反应利用所转化的生物能(ATP)及还原势能(NADPH)将已被固定的 CO₂ 最终转化为碳水化合物等细胞组成物质^[12]。

在开始培养的 24 h 内,亚心形扁藻的生物量增加少,光反应弱,转化的生物能和还原势能少,导致暗反应对 CO₂ 的利用少,进而培养液的 pH 上升缓慢。随着培养时间的延长,生物量明显增多,光反应增强,为暗反应提供了更多的生物能和还原势能,使其对 CO₂ 的利用增强,导致 pH 明显增加。

2.2 饱和 CO₂ 对亚心形扁藻生长的影响 碳是构成细胞骨架的重要元素,该试验中所用的康维方营养盐中不含碳元

素,亚心形扁藻通过光合作用的暗反应过程将外环境提供的 CO₂ 转化为碳水化合物等细胞组成物质,促进生长繁殖。以培养液吸光度 $A_{650\text{ nm}}$ 间接反映亚心形扁藻的生物量,图 1 显示了外加 CO₂ 至饱和时亚心形扁藻培养液的吸光度值随培养时间的变化趋势。由图 1 可见,通入饱和 CO₂ 的亚心形扁藻培养液,在开始培养的 24 h 内,培养液的吸光度值基本没变,表明亚心形扁藻细胞处于生长的适应期;从 24 ~ 120 h,培养液的吸光度明显增加,表明亚心形扁藻进入快速生长期;在培养最后的 24 h,培养液的吸光度变化不大,表明生长进入静止期。未通入 CO₂ 亚心形扁藻培养液的吸光度除适应期延长 24 h 外,其他 2 个时期基本呈现与通入 CO₂ 相似的变化趋势,但吸光度明显低于通入 CO₂ 的亚心形扁藻培养液。至培养结束时,通入饱和 CO₂ 的亚心形扁藻培养液的吸光度是未通入 CO₂ 的 1.19 倍。

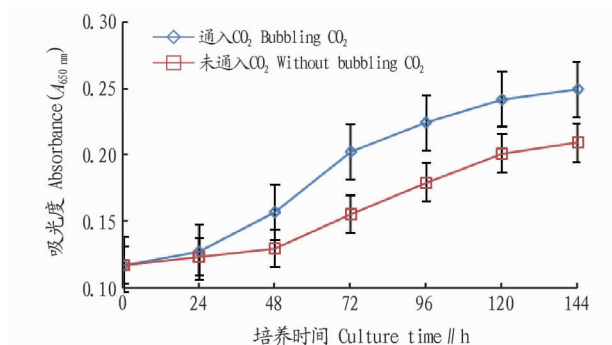


图 1 饱和 CO₂ 对亚心形扁藻生长的影响

Fig. 1 Effects of saturated CO₂ on the growth of *Platymonas subcordiformis*

表 1 和图 1 的结果显示,通入饱和 CO₂ 后,降低了亚心形扁藻培养液的 pH,但经过 24 h 的适应期后,亚心形扁藻进入了快速生长期。这说明亚心形扁藻能够将培养液中的饱和 CO₂ 转化为细胞组分,促进细胞分裂和繁殖,增加生物量。

2.3 饱和 CO₂ 对亚心形扁藻叶绿素含量的影响 叶绿素是光合作用的主要色素,在光合作用的光吸收中起着核心作用,其含量高低反映微藻光合作用能力的强弱。试验测定了亚心形扁藻中叶绿素含量随培养时间的变化,结果见图 2。

亚心形扁藻中主要含有叶绿素 a 和叶绿素 b^[8]。从图 2 可见,随着培养时间的延长,通入 CO₂ 和未通入 CO₂ 的培养液中,亚心形扁藻细胞的叶绿素含量均逐渐增加,但通入 CO₂ 后的藻细胞中叶绿素 a 和叶绿素 b 含量分别显著高于未通入 CO₂ 的藻细胞中叶绿素 a、b 的含量,与图 1 中吸光度的变化趋势一致。这说明 CO₂ 的通入能够促进亚心形扁藻细胞产生更多的叶绿素进行光合作用转化 CO₂,加速细胞生长。培养结束时通入饱和 CO₂ 的亚心形扁藻叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量分别是未通入 CO₂ 的 1.75 和 1.66 倍。

2.4 饱和 CO₂ 对亚心形扁藻碳酸酐酶活性的影响 天然海水中 CO₂ 浓度低,为了适应海水中低 CO₂ 环境并保持较高的光合作用效率,大多数藻类通过自身的 CO₂ 浓缩机制提高所需 CO₂ 浓度^[6]。碳酸酐酶作为 CO₂ 浓缩机制的关键酶之一,对藻类的光合作用起重要作用^[5]。图 3 显示了通入饱和

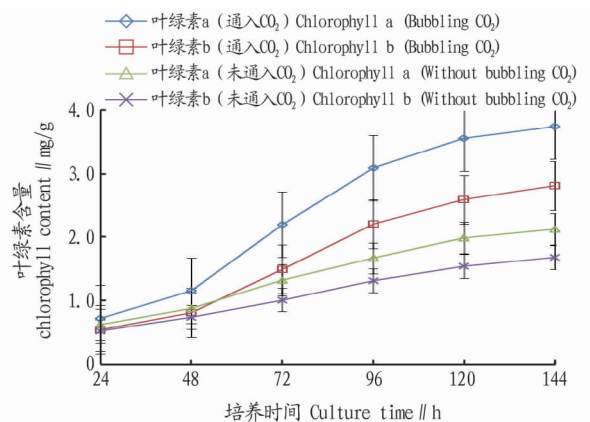


图 2 饱和 CO₂ 对亚心形扁藻叶绿素含量的影响

Fig. 2 Effects of saturated CO₂ on the chlorophyll content of *Platymonas subcordiformis*

CO₂ 对亚心形扁藻细胞内、外碳酸酐酶活性的影响。图 3 显示,除未通入 CO₂ 的胞内碳酸酐酶活性在培养过程中缓慢增加外,其他 5 组碳酸酐酶活性均随培养时间的延长呈逐渐增大至最后基本不变的趋势。但同一培养时间,通入饱和 CO₂ 后的细胞内、外及总碳酸酐酶活性均明显高于未通入 CO₂ 的相对应的碳酸酐酶活性,而且 2 个体系的胞外碳酸酐酶活性均高于各自的胞内碳酸酐酶活性。培养结束时通入饱和 CO₂ 的亚心形扁藻细胞内、外碳酸酐酶和总碳酸酐酶比活性分别是未通入 CO₂ 的 1.32、1.26 和 1.43 倍。

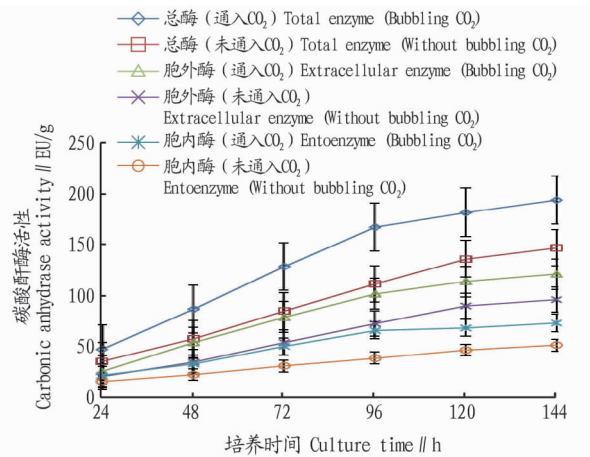


图 3 饱和 CO₂ 对亚心形扁藻碳酸酐酶活性的影响

Fig. 3 Effects of saturated CO₂ on the activity of carbonic anhydrase of *Platymonas subcordiformis*

碳酸酐酶是一种诱导酶,在 CO₂ 和 HCO₃⁻ 相互转化的可逆反应中起催化作用。其活性受多种环境因素的调控,如 CO₂ 浓度、光照、pH、温度及金属元素等^[5]。CO₂ 通入水后,一部分是溶解性的 CO₂ 气体,一部分与水发生反应,生成 HCO₃⁻ 和 H⁺,各组分所占的比例与溶液的 pH 有关^[13]。通入 CO₂ 至饱和的亚心形扁藻培养液中,CO₂ 供应量多,培养液的 pH 由初始的 6.02 上升至结束时的 7.65。根据式 (6)^[13] 可计算出 HCO₃⁻ 所占比例相应地由 0.310 上升至 0.953,与亚心形扁藻的生物量、叶绿素含量、细胞内外碳酸酐酶比活性的变化趋势一致。这说明当体系中 CO₂ 过量时,

藻细胞将产生更多的细胞内、外碳酸酐酶调节 HCO_3^- 和 CO_2 之间的转化,以保证光合作用的正常进行,进而促进细胞生长和叶绿素的形成。

$$\delta_{\text{HCO}_3^-} = \frac{[\text{HCO}_3^-]}{C_{\text{总}}} = \frac{[\text{H}^+]K_{a1}}{[\text{H}^+]^2 + [\text{H}^+]K_{a1} + K_{a1}K_{a2}} \quad (6)$$

式中, $K_{a1} = 4.5 \times 10^{-7}$, $K_{a2} = 4.7 \times 10^{-11}$ 。

未通入 CO_2 的对照组培养液的 pH 在 8.12 ~ 8.26, 此时 HCO_3^- 分布系数在 0.98 左右, 少数 HCO_3^- 通过主动转运进入细胞内, 再经过胞内碳酸酐酶转化为 CO_2 , 多数 HCO_3^- 通过胞外碳酸酐酶转化为 CO_2 进入细胞内, 确保维持稳定的 CO_2 流汇聚在核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/氧化酶的羧化位点。随着培养时间的延长, 细胞生物量增多, 更多的细胞内外碳酸酐酶参与 HCO_3^- 和 CO_2 的转化中。

3 讨论

CO_2 是微藻光合自养的唯一碳源, 但不同微藻所需的最适 CO_2 含量不同, 改变其含量会影响微藻生长和细胞组分的变化^[3]。范金凤等^[14]研究表明, 二形栅藻 (*S. dimorphus*) 在 CO_2 含量为 10% 时生长最好, 此时 pH 为 6.0 ~ 7.0。该试验中外加 CO_2 至饱和时, 培养液的 pH 从最初的 6.02 上升至培养结束时的 7.65, 与其 pH 接近, 所得结果也一致, 说明亚心形扁藻也能够利用高浓度的 CO_2 。

该试验中通入 CO_2 至饱和时亚心形扁藻生物量、叶绿素含量、细胞内外碳酸酐酶及总碳酸酐酶活性均比未通入 CO_2 时的高, 且胞外碳酸酐酶活性比胞内碳酸酐酶活性高, 这与刘洪霞^[15]和夏建荣等^[16]的试验结果一致。在亚心形扁藻培养液中通入 CO_2 至饱和时, 部分 CO_2 通过自由扩散方式进入细胞内, 部分 CO_2 与水发生质子交换反应生成 HCO_3^- , 其中少部分 HCO_3^- 通过质膜主动转运进入胞液, 在胞内碳酸酐酶的作用下转变为 CO_2 , 大部分 HCO_3^- 通过胞外碳酸酐酶催化转变为 CO_2 , CO_2 再通过扩散作用进入细胞内。姜加伟等^[17]研究认为, HCO_3^- 通过主动转运以及碳酸酐酶参与 CO_2 和 HCO_3^- 的转化都需要消耗能量。该试验中通入饱和 CO_2 时, 亚心形扁藻细胞可能以消耗自身部分能量的方式调节细胞内、外碳酸酐酶活性以保证有稳定的 CO_2 流供给核酮糖-1,5-二磷酸羧化/氧化酶的活性位点, 维持光合作用的高效进行, 进而促进生物量和叶绿素含量的增加。因为这些能量的

“意外消耗”, 导致生物量和叶绿素并未成倍数增长, 这可能也是亚心形扁藻适应饱和 CO_2 环境的一种机制。对此, 是否可通过调整光照强度和光照时间来补偿这些“意外消耗”的能量以促进生物量和叶绿素含量的成倍增长, 需要进一步探究。

火电厂烟道气中的 CO_2 一般在 10% ~ 20%^[18], 若能进一步明确亚心形扁藻对饱和 CO_2 的转化吸收能力, 将烟道气应用到亚心型扁藻的培养工艺中, 不仅会为降低大气中 CO_2 的含量提供有效的利用途径, 而且能产生更多的亚心形扁藻生物量用于水产饵料、医疗保健、食品添加剂、精细化工品和液体燃料等领域。

参考文献

- [1] 周文广, 阮榕生. 微藻生物固碳技术进展和发展趋势[J]. 中国科学(化学), 2014, 44(1): 63-78.
- [2] 宋成军, 董保成, 赵立欣, 等. 纯二氧化碳条件下小球藻固定 CO_2 [J]. 环境工程学报, 2012, 6(12): 4566-4572.
- [3] 李林, 王帅, 郑立. 海洋微藻固碳及其培养技术的研究进展[J]. 海洋科学, 2015, 39(3): 135-140.
- [4] 张芯, 张云明, 何晨柳, 等. 微藻生物能源的产业化进程及其在 CO_2 减排中的应用进展[J]. 生物产业技术, 2013(5): 45-51.
- [5] 黄瑾, 夏建荣, 邹定辉. 微藻碳酸酐酶的特性及其环境调控[J]. 植物生理学通讯, 2010, 46(7): 631-636.
- [6] 夏建荣, 余锦兰. 高浓度 CO_2 对小新月菱形藻胞外碳酸酐酶活性和光合作用的影响[J]. 广州大学学报(自然科学版), 2009, 8(3): 49-53.
- [7] 陈晓娟, 廖利民, 赵昕宇, 等. 一株饵料微藻: 亚心形扁藻的生长条件优化[J]. 福建水产, 2015, 37(4): 287-292.
- [8] 白飞妮, 穆富香, 杨代宇, 等. 亚心形扁藻中叶绿素优化提取条件[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(3): 108-110.
- [9] 王友利. 氮磷交互作用对两种海洋微藻生长及细胞组分的影响[D]. 大连: 大连大学, 2015: 13-14.
- [10] 戴树桂. 环境化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002: 102-105.
- [11] WILBUR K M, ANDERSON N G. Electronic and colorimetric determination of carbonic anhydrase[J]. Journal of biological chemistry, 1948, 176(1): 147-154.
- [12] 杨春虹. 关于光合机器的合成生物学研究的几点思考[J]. 生物产业技术, 2012(4): 20-22.
- [13] 李发美. 分析化学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 39-42.
- [14] 范金凤, 张姗姗, 于红, 等. CO_2 对产油微藻 *Scenedesmus dimorphus* 生长和产油特性的影响[J]. 太阳能学报, 2013, 34(6): 1103-1108.
- [15] 刘洪霞. 环境因子对球等鞭毛藻胞外碳酸酐酶活性的影响[D]. 烟台: 烟台大学, 2007.
- [16] 夏建荣, 黄瑾. 氮、磷对小新月菱形藻无机碳利用与碳酸酐酶活性的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(15): 4085-4092.
- [17] 姜加伟, 程丽华, 徐新华, 等. 微藻固定转化烟气 CO_2 强化技术[J]. 化工进展, 2014, 33(7): 1884-1894.
- [18] 刘玉环, 阮榕生, 孔庆学, 等. 利用市政废水和火电厂烟道气大规模培养高油微藻[J]. 生物加工过程, 2008, 6(3): 29-33.

科技论文写作规范——数字

公历世纪、年代、年、月、日、时刻和各种计数和计量, 均用阿拉伯数字。年份不能简写, 如 1990 年不能写成 90 年, 文中避免出现“去年”“今年”等写法。小于 1 的小数点前的零不能省略, 如 0.245 6 不能写成 .245 6。小数点前或后超过 4 位数(含 4 位数), 从小数点向左每 3 位空半格, 不用“,” 隔开。如 18 072.235 71。尾数多的数字(5 位以上)和小数点后位数多的小数, 宜采用 $\times 10^n$ (n 为正负整数) 的写法。数字应正确地写出有效数字, 任何一个数字, 只允许最后一位存在误差。