

喀斯特适生植物叶片中游离氨基酸含量 以及 $\delta^{15}\text{N}$ 的初步研究

张忠义^{1,2}, 肖化云¹, 朱仁果^{1,3}, 郑能建^{1,2}, 徐宇^{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, 贵阳 550081

2. 中国科学院大学, 北京 100049

3. 江西科学院应用化学研究所, 南昌, 330096

笔者应用已经建立的准确可靠的氨基酸含量及 $\delta^{15}\text{N}$ 分析手段, 以贵州省特有的几种喀斯特适生植物为研究对象, 探讨喀斯特脆弱的地表植被生态体系对外界环境压力的响应机制。主要选取的研究对象包括: 细叶小羽藓、诸葛菜、鼠李、马尾松。

游离氨基酸含量采用 HPLC 法测定, 同时使用两个检测器: DAD 和 FLD。本方法一次色谱分析可以测定 27 种氨基酸, 其中包括 20 种常见的蛋白质氨基酸, 5 种非蛋白质氨基酸(鸟氨酸、焦谷氨酸、羟基脯氨酸、瓜氨酸、 γ -氨基丁酸), 以及用于内标法定量的两种氨基酸(正缬氨酸和肌氨酸)。各氨基酸在 4.5~450 $\mu\text{mol/L}$ 的范围内具有良好的线性关系, 相关系数为 0.9993~0.9999。本实验室建立的游离氨基酸提取测定方法的检测限(MDL)为 1.97 $\mu\text{mol/L}$ ~3.98 $\mu\text{mol/L}$; 定量限为 6.50 $\mu\text{mol/L}$ ~13.13 $\mu\text{mol/L}$ 。除了蛋氨酸、色氨酸外, 其余氨基酸的加标回收率均在 90% 以上, 25 种氨基酸加标回收率平均值为 94.0%。

氨基酸氮同位素值采用 GC/C/IRMS 法测定。通过 MTBSTFA 衍生后氨基酸转变为相应的硅烷化衍生物(tBDMSi)。其沸点低、热稳定较好, 适用于气相色谱分离分析。在整个测定过程中, 21 种氨基酸(20 种蛋白质氨基酸以及 γ -氨基丁酸)均能得到良好的分离, 一次质谱分析所需时常为 57min。20 种氨基酸的 GC/C/IRMS 测定值通过相应方程校正后, 校正值和真实值之间的氮同位素平均差异($\Delta\delta$)为 0.005%, 说明该分析方法没有产生明显的氮同位素分馏。GC/C/IRMS 测得的氮同位素值精度范围在 0.3‰和 0.8‰之间, 平均精度为 0.5‰, 并且在 0.3 到 4.5nmol 范围内氨基酸混标的氮同位素测定值保持稳定。

通过对不同生境下适生植物叶片分析, 结果表明: 叶片中谷氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、脯氨酸、丙氨酸、赖氨酸以及 γ -氨基丁酸含量较高, 占总氨基酸含量的 80% 以上。其中含量最高的是脯氨酸, 占总氨基酸含量的 20%~35%。不同种的适生植物表现氨基酸含量组成模式的差异性较大, 但是含量较高的氨基酸种类具有相似性。同时还对不同季节下, 氨基酸模式动态变化进行了初步测定。

通过对同一小生境下(无干旱胁迫), 不同植物叶片氨基酸含量分析发现: 大部分阔叶植物叶片中谷氨酸含量最高, 谷氨酸/谷氨酰胺含量比值在 4 附近波动, 位于 3.3~4.5 之间, 而针叶植物马尾松该比值接近 7, 这可能和不同物种叶片中氨基酸代谢过程或者氮源的差异相关。谷氨酸是转氨作用最常见的氮供体, 谷氨酸和谷氨酰胺比值可能和氮源以及环境压力有一定相关性。

氨基酸氮同位素值($\delta^{15}\text{N}$)在同一植物叶片中差异较大。比如马尾松针叶中, 以谷氨酰胺氮同位素值最为偏正, +10.21‰; 而脯氨酸氮同位素值偏正, -3.92‰, 表明适生植物叶片中脯氨酸的积累可能来源于谷氨酰胺途径。其中游离氨基酸氮同位素值加权平均值为 5.27‰。同一个生境条件下, 氮同位素值在不同植物间差别也比较大, 可能是由于其响应环境胁迫机制不同造成的。

氨基酸含量以及氮同位素分析方法的建立, 为解决与氨基酸有关的生态问题提供了有力的技术支持, 尤其能为喀斯特脆弱的生态系统演替以及地表植被系统对环境因子的响应研究提供一定的理论依据。