

## Аргинин в жизни хвойных растений

Н. П. ЧЕРНОБРОВКИНА<sup>1</sup>, Е. В. РОБОНЕН<sup>1</sup>, А. Р. УНЖАКОВ<sup>2</sup>, Н. Н. ТЮТЮННИК<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Институт леса Карельского научного центра РАН  
185910, Петрозаводск, ул. Пушкинская, 1  
E-mail:chernobrovkina50@bk.ru*

<sup>2</sup> *Институт биологии Карельского научного центра РАН  
185910, Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11*

Статья поступила 11.06.15

Принята к печати 10.02.16

### АННОТАЦИЯ

В статье обобщены результаты многолетних исследований статуса аргинина (Арг) у хвойных растений. Отражены особенности метаболизма аминокислоты (АК) у хвойных пород, годичная и суточная динамика, влияние температуры, освещенности и минерального питания на накопление в органах и тканях. Рассмотрены способы повышения содержания Арг у хвойных растений путем регуляции минерального питания.

**Ключевые слова:** хвойные растения, L-аргинин, аминокислоты, метаболизм, температура, освещенность, минеральное питание.

Аргинин является важнейшей АК в жизни растений и животных. Одной из основных функций Арг у хвойных растений является запасание азота, при его избытке осуществляется детоксикация аммония. Накопление Арг у хвойных может происходить при разбалансированности обеспечения элементами питания [Nasholm, Ericsson, 1990; Gezelius, Nasholm, 1993; Huhn, Schulz, 1996; Engvild, 2005]. Обнаружен эффект значительного, в десятки раз, повышения содержания Арг в хвое под воздействием бора на фоне определенного уровня обеспечения азотом хвойных растений [Чернобровкина и др., 2010, 2013, 2015; Робонен и др., 2012, 2014]. В литературе отмечалось 100-кратное и более

повышение содержания Арг в хвое при избыточном обеспечении азотом хвойных растений в течение 17 лет [Nasholm, Ericsson, 1990]. Бор позволяет повысить в десятки раз уровень Арг у хвойных уже в первый вегетационный период.

В обзоре приводятся сведения о возможности повышения содержания Арг у хвойных растений не только при регуляции минерального питания, но и под воздействием других факторов среды, таких как понижение температуры, влажности и освещенности [Sudachkova et al., 2002, 2007; Durzan, 2010]. Поиск путей повышения уровня Арг у хвойных растений в более короткие сроки с учетом климатических факторов, условий минерально-

го питания, сезонной и суточной динамики его содержания в органах и тканях является актуальной задачей не только в теоретическом, но и в практическом аспекте, учитывая значимость аминокислоты в медицине, ветеринарии и животноводстве.

#### МЕТАБОЛИЗМ

Генная и ферментативная регуляция биосинтеза и превращений Арг в растениях на клеточном уровне интенсивно исследуется. Относительно его статуса и метаболических путей у хвойных растений можно отметить следующие аспекты. Арг – основной источник азота для биосинтеза азотных соединений в развивающемся семени хвойных растений [Durzan, 1969]. Высвобождающийся в результате гидролиза белков в процессе прорастания семени аргинин с участием ферментов – аргиназы и уреазы – расщепляется до Орн, аммония и  $\text{CO}_2$ . Орн далее превращается в другие АК. Аммоний через ферментную систему глутаминсинтетаза/глутаматсинтаза включается в Глн и Глу – доноров азота для биосинтеза всех основных азотных соединений, необходимых для роста растения. В прорастающих семенах активизируются метаболические процессы и доминирующей кислотой становится Глу [Шуляковская и др., 2001]. Далее азот может быть направлен на биосинтез Асп и Асн, катализируемый аспаратаминотрансферазой и аспарагинсинтетазой. Эти метаболические реакции особенно важны в мобилизации азота, запасенного в семенах хвойных растений. В активно растущих проростках необходимость переноса азота к аттрагирующим центрам выдвигает на первый план транспортные функции азотных соединений. В результате растет относительное количество Асп – одного из транспортных азотсодержащих веществ, характерных для древесных растений.

При содержании азота в хвое в количестве ниже 18 мг/г сух. вещества увеличение содержания белка и накопление биомассы происходит без значительного запаса азотных соединений [Aber et al., 1989]. Если уровень азота в хвое превышает 19 мг/г сух. вещества, деревья сохраняют и утилизируют избыточный азот главным образом в виде

растворимой небелковой фракции, основным компонентом которой являются растворимые АК, представляющие собой первичные органические компоненты метаболизма азота в растениях [Huhn, Schulz, 1996]. Азот в растениях преимущественно усваивается в цикле Глу – Глн. Глу – прямой предшественник различных АК, включая Про, Асп, Асн и таких, как Цит, Арг и Орн, которые участвуют в цикле мочевины. У хвойных растений азот Арг происходит в основном из Глу, Глн и Асп [Durzan, Steward, 1983]. Азот Асп необходим для синтеза аргининсукциниловой кислоты, которая является переходным и непосредственным предшественником при переходе Цит в Арг.

Изотопные исследования на хвойных растениях показали, что Арг синтезируется *de novo* по орнитиновому циклу [Durzan, 1968, 1969]. Арг, высвобождающийся при гидролизе белков, обогащая пул растворимого азота, вовлекает азот белков в метаболические процессы. Меченый Арг включается в белки и в качестве продуктов, полученных из него – Про, Глу, Глн. Судьба углерода Арг у деревьев ели белой (*Picea Glauca* (Moench.) Voss.), переходящих к зимнему покою, прослежена на нескольких гуанидиновых соединениях [Durzan, 1968, 1969]. Передача амидной части  $[-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2]$  Арг ГАМК происходит при синтезе  $\gamma$ -гуанидиномасляной кислоты. Агматин образуется при декарбоксилировании Арг. Арг помимо того, что метаболизируется через орнитиновый цикл в монозамещенные гуанидины, также преобразуется в Про предположительно через Орн, глутамат- $\gamma$ -полуальдегид и  $\Delta^1$ -пирролин-5-карбоновую кислоту. Продукты метаболизма Арг в катионной фракции включали Орн, Цит, Глу, Про,  $\Delta^1$ -пирролин-5-карбоновую кислоту, ГАМК, а также различные монозамещенные гуанидины.

#### ГОДИЧНАЯ ДИНАМИКА

Исследования сезонной динамики АК во всех органах хвойных растений, проведенные в различных регионах, показали, что количественный и качественный состав свободных АК у них варьирует в довольно широких пределах в зависимости от возраста расте-

ния, фазы роста, сезона года, органа растения и его расположения в кроне дерева, климатических и почвенных условий [Durzan, 1968, 2010; Новицкая, Чикина, 1980; Nasholm, Ericsson, 1990; Чернобровкина, 2010, 2013, 2015; Робонен и др., 2012, 2014]. Наиболее заметные изменения происходят в осенне-летний и осенний периоды.

Отмечена обратная зависимость между содержанием суммы Гис и Лиз и суммы Арг, Асн и Асп в органах сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) [Новицкая, Чикина, 1980]. Высокая концентрация суммы первых двух АК отмечается зимой, а суммы трех последних – также и осенью. Предполагается, что их накопление в указанные сроки происходит в результате расщепления гистонов, в состав которых входит Арг. Зимний минимум Арг вызван обратным процессом, т. е. его включением в белки, в частности в гистоны, которые повышают устойчивость растений. Гис в составе белков таким свойством не обладает и в зимний период накапливается в свободном состоянии. Отмечалось, что Арг в определенных условиях может замедлять гидролиз белков, и относительно высокое его содержание в составе белков зимой способствует защите белковых структур от повреждений [Durzan, 1968]. При высоком уровне азота ткани сосны обыкновенной сохраняют растворимый азот в течение зимы в основном в форме Арг, который в дополнение к высокому содержанию азота может нейтрализовать кислотные цитоплазматические компоненты, такие как нитраты и нитриты [Lahdesmaki, Pietilainen, 1988].

В растворимом азоте почек и верхушек побегов сосны и ели (*Pinus banksiana*, *Picea glauca*) в значительной степени преобладает Арг, Глн и Про, количественный состав их изменяется в зависимости от времени года и от того, находится ли побег в стадии роста или в состоянии покоя [Durzan, Steward, 1967]. В начале периода покоя (в конце августа) в почках преобладает Арг, в середине зимы, в период покоя, превалирует Про, при этом отмечается низкий уровень Арг и Глн. Весной, до распускания почек, Глн составляет почти 60 % растворимого азота, однако он быстро используется в процессе роста побега, при этом содержание белковых АК возрастает. В летний период, когда удлине-

ние побега прекращается и становится видимой новая почка, уровень Арг в новых побегах снова повышается. Затем цикл повторяется.

В меристеме почек сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и ели европейской (*Picea abies* L.) в условиях Сибири преобладали АК глутаминового пула – 37–50 %, в который входили Глу, Глн, ГАМК, Про, Арг, Цит и Орн [Алаудинова, 2011]. В наибольшем количестве в зимний период в составе глутаминового пула АК почек сосны и ели присутствовали Орн и Арг. У сосны преимущественно накапливался Орн, у ели наблюдался примерно одинаковый уровень накопления обеих АК. Весной содержание Арг увеличивалось, а Орн – снижалось. Депонирование аминокислот в составе Арг и метаболически связанных с ним в орнитиновом цикле АК – Орн и Цит – обусловлено аккумуляцией аммонийного азота, не используемого для синтеза стрессовых белков. В тканях хвойных растений повышенный уровень их содержания рассматривается в качестве индикатора водного стресса [Sudachkova et al., 2002]. Учитывая, что содержание воды в меристемах почек в зимний период также значительно ниже, чем в период вегетации, предполагается, что более высокий уровень накопления Арг и Орн зимой в меристемах может быть обусловлен и водным дефицитом [Алаудинова, 2011].

При подготовке хвойного растения к зимнему покою в почках, камбии и корнях формируются реакцией трансаминирования Арг с аминами богатые азотом свободные гуанидиновые соединения, часть которых являются ингибиторами дыхания [Durzan, 2010]. Весной азот гуанидинов возвращается в азот Арг, таким образом, азот может быть перенаправлен, включая реакции цикла мочевины, в амиды и АК для синтеза белка и нуклеиновых кислот.

Содержание некоторых АК четко связано с фазами развития хвои сосны обыкновенной. Как отмечено выше, значительное накопление Арг наблюдалось в формирующихся почках, вызванное сильным притоком соединений азота к почкам и связыванием избытка аммония. В фазу распускания почек отмечается максимальное количество свободных АК, что свидетельствует о накоплении

значительного количества азота и повышении жизненного тонуса растений [Боровикова, 1980]. Снижение количества свободных АК в ходе роста листовой пластинки связано с синтезом белка, что необходимо для формирования новых клеточных структур. В период полного развития хвои наблюдали накопление Глн, что объясняется достаточным обеспечением хвои углеводами в связи с хорошим развитием ассимиляционной ткани. В опадающей хвое количество свободных АК, особенно Арг, возрастает. В результате распада белков образуются АК и аммоний, а биосинтез кетокислот, необходимых для связывания аммония, отсутствует, при этом Арг служит соединением для связывания избытка аммония. Таким образом, уровень Арг снижается после распускания почек и вновь возрастает в опадающей хвое.

Основную часть свободных АК тонких корней сосны обыкновенной в период вегетации составляют Глу, ГАМК, Арг и Асп [Chernobrovkina, Shulyakovskaya, 1998]. В тонких корнях ели европейской Глн и Арг составляли большую часть фракции растворимых азотных соединений в течение всего вегетационного периода [Gessler et al., 1998]. Арг, Глн и Асп составляли в сумме до 90 % от растворимых азотных соединений ксилемного сока ели. Арг во флоэме корней ели составлял до 60–85 % от растворимых азотных соединений в течение всего вегетационного периода.

В целом сезонное варьирование общей концентрации АК в органах и тканях хвойных растений преимущественно связано с изменениями концентрации Асн, Глн, Глу, ГАМК, Про, Арг. Арг является главной запасующей АК во многих тканях хвойных в течение большей части года, однако Про и Глн периодически заменяют Арг как господствующую запасующую АК.

#### СУТОЧНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ

Показано значительное варьирование содержания АК у хвойных растений в течение суток [Durzan, 1969; Новицкая, Чикина, 1980]. У 20-летней сосны обыкновенной, произрастающей на территории Карелии, качественный состав свободных АК однолетней хвои в

сентябре сохраняется в течение суток, суммарное содержание их изменяется незначительно, а концентрация отдельных АК претерпевает большие суточные колебания [Новицкая, Чикина, 1980]. В фонде свободных АК в наибольшем количестве во все часы суток представлены Асп и Глу. Их максимумы отмечены в вечерние часы (18:00). Максимальное накопление в хвое большинства свободных АК, в первую очередь Арг, Асн, ГАМК, наблюдается ночью, когда подавляется процесс фотосинтеза и усиливается степень гетеротрофности. Арг накапливается в хвое в ночное время, когда не функционирует конкурирующий за  $\text{CO}_2$  фотосинтез, во время которого  $\text{CO}_2$  расходуется на синтез органических соединений в темновой фазе фотосинтеза, а не на синтез карбамоилфосфата, который является важным компонентом орнитинового цикла, участвуя в связывании аммония,  $\text{CO}_2$  и их превращении в органические азотные соединения. Таким образом, накопление Арг ночью объясняется усиленным синтезом его в орнитиновом цикле. В дневные часы уровень свободных АК в хвое сосны снижается вследствие использования их в процессах синтеза белков, более интенсивно протекающих на свету.

В растущих побегах и хвое сосны обыкновенной в условиях Карелии в середине июня качественный состав свободных АК не изменяется в течение суток, но суммарное содержание и количество отдельных АК в побегах заметно варьируют [Новицкая, Чикина, 1980]. Самая высокая сумма АК отмечается в полночь. Утром она сокращается до минимума и вновь повышается днем (14:00), сохраняясь на этом уровне в вечерние часы. В наибольшем количестве в побегах содержится Глу (до 34,3 % от суммы АК). На долю Тир, ГАМК, Лиз, Асп, Ала, Сер, Про приходится до 47,5 %. Содержание остальных АК, включая Арг, еще более низкое.

Весной, в период подготовки к росту, в почках ели белой максимальное содержание растворимого азота, который состоял в основном из Про и на более низком уровне из Арг, амидов, Ала и ГАМК, наблюдалось на закате и на рассвете [Durzan, 1969]. Содержание остальных АК оказалось наибольшим в течение дневных и ночных часов. Уровни бел-

кового азота в почках также отмечены самыми высокими в период заката и восхода солнца. Состав белкового азота характеризовался высоким уровнем Арг, Лиз и дикарбоновых АК. Таким образом, в течение сезона состав свободных АК в еловых почках и верхушках побегов колеблется непрерывно. Эти колебания изменяются по амплитуде и обычно достигают максимума весной и в конце лета, на закате и восходе солнца. Хотя причина и функции суточных изменений состава АК не ясны, они часто сосредоточены на основном запасующем соединении, Арг или близкородственных соединениях и особенно заметны у растений, произрастающих в естественных условиях.

#### ТЕМПЕРАТУРА

Температура среды оказывает большое влияние на показатели азотного обмена у хвойных растений. В период похолодания в начале июня при временном снижении интенсивности роста 25–30-летних деревьев сосны обыкновенной содержание АК в ксилемном соке снижается, в значительном количестве обнаруживается аммоний [Чернобровкина, Макаревский, 1988]. Длительное пребывание корней 10-летней сосны обыкновенной в замерзшей и сильно охлажденной почве приводило к повышению содержания белкового азота, а также Арг и его метаболитических предшественников – Цит и Орн [Sudachkova et al., 2007]. Поскольку аналогичная закономерность отмечена также при водном стрессе [Sudachkova et al., 2002], высказано предположение, что растения испытывали водный дефицит вследствие физиологической засухи на холодных почвах. Арг и его предшественники рассматриваются как стрессовые метаболиты, в то же время пока нет достаточного количества данных, чтобы утверждать, что аккумуляция Арг представляет собой специфическую реакцию на какой-то определенный стрессор [Sudachkova et al., 2007]. Высказано мнение, что Арг в стрессовых условиях является источником NO, участвующего в передаче стрессового сигнала [Durzan, 2002]. Приводятся сведения о наличии у хвойных растений возможности производить NO из Арг и осуществлять с по-

мощью гуанидиновых соединений регуляцию активности синтеза NO. Хотя в литературе окончательно не решен вопрос об источниках генерации и локализации NO в растениях, в настоящее время общепринято, что основными источниками образования NO в растениях являются Арг- и нитрат-нитрит-зависимые пути генерации оксида азота. Пути синтеза NO и его роль во многих метаболитических процессах у растений активно изучаются.

#### ОСВЕЩЕННОСТЬ

Результаты длительного эксперимента с затенением теневыносливых саженцев ели белой, которые выращивали непрерывно при 100, 45, 25 и 13%-й освещенности в течение четырех лет, показали, что в ответ на затенение изменения уровней азота Глу, Глн и Арг во всех органах (хвое, побегах с новыми почками и корнях) оказались весьма значительными [Durzan, 2010]. Количество азота Глу сократилось во всех органах. Уровень азота Глн снизился в хвое и стеблях с почками, но увеличился в корнях при 25 и 13 % света. Азот Арг при затенении накапливался во всех органах, при этом относительное содержание азота Арг отмечено наибольшим в корнях и стеблях с новыми почками. При 13 % света азот Глу, Глн, Асп и Арг составлял 76 % от общего растворимого азота корней. Изменения уровня азота Асп являлись незначительными. Большая часть азота свободных АК найдена в корнях саженцев при полном свете, а наименьший уровень – при 13 % света. Повышение в корнях уровня азота Глу, Глн и Асп способствовало накоплению растворимого азота Арг. Производные Арг –  $\gamma$ -гуанидиномасляная кислота, агматин и гуанидиновые соединения – накапливались в основном в стеблях с почками при 25 и 13%-й освещенности. Исследование метаболизма азота и Арг-производных гуанидиновых соединений у ели способствует выявлению механизмов ее теневыносливости, основанных главным образом на фотосинтезе, дыхании и поглощении углерода. Более века прошло после открытия Арг у хвойных, и только теперь стало известно, что Арг способствует сезонным метаболитическим реакци-

ям на снижение света теневыносливой елью. Увеличивающееся с затенением количество Арг-производных гуанидиновых соединений способствует в качестве ингибиторов дыхания переходу хвойного растения в состояние покоя. При нарушении покоя хвойного растения весной распад ингибирующих гуанидиновых соединений обеспечивает поступление азота для нового синтеза Арг, азот которого используется для синтеза других АК, некоторые из них являются предшественниками гормонов роста, полиаминов и окиси азота [Durzan, Steward, 1983; Durzan, Pedroso, 2002]. NO поддерживает метаболический гомеостаз у хвойных растений и защищает от окислительного и нитратного повреждения клетки при высокой интенсивности света [Durzan, 2002; Corpas et al., 2008].

#### МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ

При исследовании реакции сосновых древостоев, произрастающих на территориях с тремя различными уровнями содержания азота в почве, найдены очевидные изменения в количестве АК относительно содержания азота в молодой хвое [Huhn, Schulz, 1996]. Концентрация Глн значительно увеличилась в ответ на увеличение содержания азота в хвое. Содержание Арг повышалось максимально в 100 раз при высоких уровнях азота в хвое, но имело самую высокую вариабельность в пределах модельных участков. Количество Орн увеличивалось только в тех случаях, где содержание азота в хвое было очень высоким. Зависимости содержания Глн с уровнем азота в хвое не обнаружено. У листовых древесных растений, в частности у березы повислой (*Betula pendula* var. *Pendula*) и карельской березы (*B. pendula* var. *carelica* (Merclin) Hamet Ahti), накопления Арг в органах под воздействием высоких доз азота не наблюдалось [Шуляковская и др., 2010]. При этом возрастало содержание цитруллин в коре и древесине (до 68 % от суммы АК).

Разбалансированность минерального питания хвойных растений приводит к изменению состава свободных АК в их тканях [Nasholm, Ericsson, 1990; Gezelius, Nasholm, 1993; Huhn, Schulz, 1996; Engvild, 2005]. При избытке азота, а также при дефиците фосфо-

ра и калия у хвойных происходит накопление Арг и других АК с высоким содержанием азота – Лиз и Орн. Распределение азота между растворимыми фракциями в значительной степени зависит от обеспеченности растений азотом, фосфором и другими ЭМП. Рибулозо-1,5-бисфосфат-карбоксилаза/оксигеназа (Рубиско), АК и аммоний могут рассматриваться как соединения, в которых преимущественно накапливается азот, но аккумулируются они в органах и тканях при различных условиях [Warren, Adams, 2002]. С увеличением обеспеченности растений фосфором содержание Рубиско увеличивается, а при высоких дозах азота и низкой обеспеченности фосфором избыточный азот накапливается в форме азота АК и аммония.

В случае незначительного или краткосрочного воздействия азотом хвойные растения реагируют увеличением интенсивности синтеза белка, если другие элементы питания доступны в достаточном количестве. Чтобы избежать накопления токсичного аммиака при избытке азота в растительных клетках ассимилируемые соединения азота обезвреживаются путем включения в состав свободных АК, преимущественно в Арг, имеющего наиболее низкое по сравнению с другими АК отношение С/Н (1,5). Увеличение содержания Арг и Глн в хвое сосны обыкновенной в 25-летнем, а также 60–80-летних древостоях указывало на поступление избыточного количества азота в хвойное растение [Huhn, Schulz, 1996]. При выращивании ели европейской в течение двух сезонов в вегетационных сосудах в условиях фона азотного питания, повышенного в 4 раза по сравнению с оптимальным, содержание свободного Арг в хвое увеличивалось и составляло до 2 % сырого веса [Engvild, 2005]. Отмечалось увеличение содержания и других АК с высоким содержанием азота – Орн и Лиз. Уровень Арг и Глн рассматривается как чувствительный биохимический индикатор загрязнения азотом сосновых древостоев [Huhn, Schulz, 1996]. Необходимо учитывать, однако, что состав и содержание свободных АК в хвое может варьировать в пределах кроны, имеет сезонную, суточную динамику, зависит от внешних воздействий.

Накопление Арг у хвойных растений в определенных условиях может происходить и при низкой обеспеченности азотом. Сеянцы сосны обыкновенной накапливали и запасали до 80 % азота в форме Арг в случае, если синтез белка ограничивался дефицитом серы [Gezelius, Nasholm, 1993]. При этом низкая внутриклеточная концентрация серы может отрицательно повлиять на синтез серосодержащих метаболитов, среди них Мет и Цис, что приводит к ассимиляции азота в виде Арг вместо белка. Кроме того, положительно заряженный свободный Арг, который может накапливаться в вакуолях, должен быть уравновешен отрицательными противоионами, такими как органические кислоты, фосфаты и сульфаты, что может увеличить дисбаланс органических соединений и повлиять на клеточный метаболизм. Таким образом, хвойные растения могут накапливать растворимый азот в форме Арг не только при избытке азота, но и тогда, когда синтез белка ограничен факторами, отличными от обеспеченности азотом.

Сеянцы сосны обыкновенной проявляют значительное предпочтение поглощению  $\text{NH}_4^+$  и Арг по сравнению с  $\text{NO}_3^-$ , предположительно из-за негативного влияния эндогенного  $\text{NH}_4^+$  на поглощение  $\text{NO}_3^-$  [Gruffman et al., 2014]. Поглощение сеянцами  $\text{NH}_4^+$  и Арг оказалось примерно одного порядка, но почти в 10 раз выше, чем  $\text{NO}_3^-$ . Поглощение Арг наблюдалось высоким в сеянцах, ранее подвергшихся воздействию высоких концентраций Арг, что позволило предположить наличие механизма, регулирующего его поступление и транспорт, независимо от высокого статуса эндогенного азота. Напротив, на поглощение  $\text{NO}_3^-$  и  $\text{NH}_4^+$  отрицательно сказался высокий статус эндогенного азота сеянцев. В диапазоне высоких концентраций экзогенного азота сеянцы с низким статусом азота снизили активность поглощения  $\text{NO}_3^-$  в присутствии  $\text{NH}_4^+$ , но не в присутствии Арг, что предлагается учитывать при выращивании хвойных в коммерческих целях.

Ель, в отличие от сосны, преимущественно использует нитратный азот и хорошо растет на этом источнике азота [Durzan, Steward, 1967]. Когда наблюдалось замедление роста ели под влиянием аммонийного питания, азот в стеблях и корнях входил в бога-

тые азотом соединения – Арг и амиды, а также пул гуанидиновых соединений. Экспериментальные данные, полученные на растениях ели белой, показали, что после прекращения роста в побегах, равномерно меченых  $^{14}\text{C}$ -Арг, он в основном превращается в  $\gamma$ -гуанидиномасляную кислоту, а не включается в орнитиновый цикл. При этом происходил синтез некоторого количества и других свободных гуанидиновых соединений. Кроме того, показано, что предварительная обработка различными АК в высокой концентрации, не включая Арг, подавляет поглощение  $\text{NO}_3^-$  у ели (*Picea abies* L. (Karst)) и бука (*Fagus sylvatica* L.) [Gessler et al., 1998].

Обеспеченность древесных растений не только макро- но и микроэлементами может оказывать влияние на накопление Арг. Под воздействием бора на определенном фоне азотного питания обнаружено накопление Арг у хвойных растений [Чернобровкина и др., 2010, 2013, 2015]. На низком фоне минерального питания при внесении в почву высокой дозы азота сумма свободных АК в хвое сосны обыкновенной без учета Арг повышалась, а в варианте с внесением в почву высокой дозы азота и оптимальной бора – понижалась [Чернобровкина и др., 2010]. Предположительно, понижение суммы свободных АК, без учета Арг, происходило в результате стимуляции бором белкового синтеза, поскольку содержание белкового азота при этом увеличивалось. Повышение суммы АК в хвое под воздействием азота и бора произошло преимущественно за счет Арг. Его уровень в хвое в расчете на единицу сухого вещества увеличивался по сравнению с контролем при внесении в почву азота, а также азота и бора соответственно в 12 и 20 раз и составил 53 и 76 % от общего содержания АК. Уровень Арг в хвое может увеличиваться более чем до 3 % от сухой массы. Стимулирующее влияние бора на накопление Арг в хвое можно объяснить тем, что бор повышает поступление азота ( $^{15}\text{N}$ ) в хвойное растение [Чернобровкина, 1994].

Содержание Арг в хвое ели европейской увеличивалось в десятки раз в условиях высокого уровня азота и оптимума других ЭМП [Чернобровкина и др., 2013]. В условиях оптимального фона минерального питания многократное накопление аминокислоты в хвое

происходило при избыточной дозе борной кислоты и невысокой дозе азота. Последнее обстоятельство представляет интерес с экономической точки зрения – при небольших затратах на азотные удобрения можно достигнуть значительного повышения уровня Арг в хвое.

Исследование распределения Арг в кроне 10-летних деревьев сосны обыкновенной при внесении в почву азота в высокой и бора в оптимальной для роста дозах и влияния сроков их внесения на накопление аминокислоты в хвое показало, что максимальное накопление Арг в хвое наблюдалось в средней части кроны, и наиболее эффективным оказалось внесение удобрений в первой декаде июня, после которого в период с октября по декабрь среднее содержание аминокислоты в хвое первого, второго и третьего годов составило 3,3, 0,9, 0,6 % от сухой массы соответственно [Робонен и др., 2014]. С учетом показателей, характеризующих долю массы хвои к массе стеблей в зависимости от положения в кроне дерева, а также распределения Арг по мутовкам, рекомендовали отбор хвои первого и второго годов со 2–4-й мутовки дерева. Рекомендовали также проводить внесение удобрений в первой декаде июня для наиболее эффективного накопления Арг в хвое сосны обыкновенной в осенне-зимний период.

Сравнительный анализ потенциальных источников обогащенной Арг древесной зелени в условиях южной части Карелии показал, что рациональным является использование хвойных деревьев, растущих на лесных территориях, планируемых под рубки ухода, на лесных плантациях, а также рациональным является вариант с использованием хвойной древесной зелени, образующейся при расчистке трасс путей сообщения, линий электропередач [Робонен и др., 2012]. Использование древесной зелени, получаемой при рубках ухода, расчистке трасс, в качестве сырья для получения биологически активных веществ позволит сделать процесс более экономичным, ресурсосберегающим. Для того, чтобы хвойные деревья, растущие на территории, планируемой к расчистке, имели высокое содержание Арг, необходимо заблаговременно внести азотные и бор-

ные удобрения по схеме, разработанной с учетом почвенных условий данной территории и категории деревьев, преобладающих в молодняке.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований статуса Арг у хвойных растений дают основания сделать следующее обобщение. У хвойных растений Арг синтезируется *de novo* по орнитинового цикла. Непосредственным предшественником Арг являются в основном Глу, Глн и Асп. Арг включается в синтез белков наряду с протеиногенными АК, предшественником которых он является. Продуктами метаболизма Арг у хвойных растений являются Орн, Цит, Глу, Про, ГАМК,  $\Delta^1$ -пирролин-5-карбоновая кислота, а также различные монозамещенные гуанидины. С участием аргиназы Арг превращается в Орн и мочевины.

Важной функцией Арг у хвойных растений является запасание азота. В связи с этим в годичной динамике накопление его в органах и тканях происходит особенно активно в период окончания роста, и его интенсивное использование отмечается в начале ростовых процессов. В течение суток Арг накапливается в хвое в ночное время, что объясняется усиленным синтезом его в орнитинном цикле, когда не функционирует конкурирующий за  $\text{CO}_2$  фотосинтез.

Низкая температура, водный дефицит приводят к накоплению у хвойных растений белкового азота, аммония, Арг и его метаболитических предшественников – Цит и Орн. При длительном затенении в основном в стеблях с почками накапливаются также производные Арг – гуанидиновые соединения, в том числе  $\gamma$ -гуанидиномасляная кислота и агматин. Арг способствует сезонным метаболитическим реакциям хвойных растений на снижение света. Повышающееся при затенении количество Арг-производных гуанидиновых соединений в качестве ингибиторов дыхания способствует переходу хвойного растения в состояние покоя.

Содержание Арг в хвойных растениях может значительно увеличиваться при высоких уровнях азота, а также при дефиците других элементов питания. Арг и Глн рассмат-



риваются как биоиндикаторы загрязнения азотом сосновых древостоев. Чтобы избежать накопления токсичного аммиака в растительных клетках, ассимилируемые соединения азота обезвреживаются путем включения в состав свободных АК, преимущественно в состав Арг, имеющего наиболее низкое по сравнению с другими АК отношение С/Ν. Хвойные отражают в АК составе их реакцию на минеральное питание. Форма азота влияет не только на массу растений, но и на содержание Арг и других азотных соединений. Высокий уровень Арг и других АК у хвойных растений рассматривается как чувствительный биохимический индикатор разбалансированности их минерального питания. Концентрирование растворимого азота в виде Арг может экономить ассимилянты для синтеза богатых углеродом вторичных метаболитов, которые могут защитить растение от патогенных микроорганизмов, насекомых и заморозков.

Под воздействием бора на определенном фоне азотного питания происходит значительное накопление Арг у хвойных растений. Максимальное накопление Арг в кроне 10-летних деревьев сосны обыкновенной при внесении в почву азота и бора наблюдается в средней части кроны, и наиболее эффективным является внесение удобрений в первой декаде июня. Рациональным источником хвои, обогащенной Арг, может рассматриваться древесная зелень, образующаяся при рубках ухода, расчистке трасс путей сообщения и линий электропередач.

Дальнейшее совершенствование биотехнологии получения обогащенной Арг древесной зелени и хвойных препаратов из нее, а также разработка технологии выделения Арг из обогащенной Арг древесной зелени позволят отказаться от импорта этой аминокислоты и предусматривают организацию в России производства импортозамещающих Арг-содержащих продуктов. В результате в лесном комплексе возможно снижение количества отходов древесной зелени за счет более полной утилизации биомассы леса.

Исследования поддержаны грантами: Программы фундаментальных исследований ОБН РАН "Биологические ресурсы России: динамика в условиях глобальных климатических и антропогенных воздействий" в рамках проекта № 01201257867 и

Президента РФ "НШ-1410.2014.4". Работа выполнена в рамках государственного задания ИЛ и ИБ КарНЦ РАН.

## ЛИТЕРАТУРА

- Алаудинова Е. В. Экологические особенности низкотемпературной адаптации лесообразующих хвойных видов Сибири: структурно-химические изменения меристем почек: дис. ...д-ра биол. наук. Красноярск, 2011. 462 с.
- Боровикова А. М. Динамика свободных аминокислот в хвое сосны обыкновенной в течение вегетационного периода // Лесоведение и лесное хозяйство. Минск: Высш. шк., 1980. Вып. 15. С. 21–24.
- Новицкая Ю. Е., Чикина П. Ф. Динамика свободных аминокислот в органах и тканях сосны // Азотный обмен у сосны на Севере. Л.: Наука, 1980. С. 46–69.
- Робонен Е. В., Чернобровкина Н. П., Чернышенко О. В., Зайцева М. И. Источники получения древесной зелени для производства аргининового иммуностимулятора // Лесной вестн. 2012. № 3. С. 11–15.
- Робонен Е. В., Чернобровкина Н. П., Макарова Т. Н., Короткий В. П., Прытков Ю. Н., Марисов С. С. Накопление L-аргинина в хвое сосны обыкновенной при регуляции азотного и борного обеспечения в различные сроки вегетации // Лесной журн. 2014. № 3. С. 67–78.
- Чернобровкина Н. П. Усвоение и распределение азота по органам у 15-летней сосны обыкновенной // Физиология растений. 1994. Т. 41, № 3. С. 338–343.
- Чернобровкина Н. П., Макаревский М. Ф. Аминокислотный состав киселемного сока сосны в связи с интенсивностью роста // Лесоведение. 1988. № 3. С. 66–69.
- Чернобровкина Н. П., Робонен Е. В. Содержание азота, бора и аминокислот в хвое сеянцев сосны обыкновенной при регуляции азотного и борного обеспечения // Тр. КарНЦ РАН. 2015. № 12. С. 35–44.
- Чернобровкина Н. П., Робонен Е. В., Зайцева М. И. Накопление L-аргинина в хвое сосны обыкновенной при регуляции азотного и борного обеспечения // Химия растит. сырья. 2010. № 3. С. 11–14.
- Чернобровкина Н. П., Робонен Е. В., Морозов А. К., Макарова Т. Н. Накопление L-аргинина в хвое ели европейской при регуляции азотного и борного обеспечения // Тр. КарНЦ РАН. 2013. № 3. С. 159–165.
- Шуляковская Т. А. Особенности основного метаболизма на ранних этапах онтогенеза сосны обыкновенной // Вестн. Башкир. ун-та. 2001. № 2. С. 180–183.
- Шуляковская Т. А., Репин А. В., Шредерс С. М. Влияние подкормок азотом на развитие саженцев березы повислой и карельской березы // Лесной вестн. 2010. № 1. С. 9–13.
- Aber J. D., Nadelhoffer K. I., Steadier P., Melillo J. M. Nitrogen saturation in northern forest ecosystems // BioScience. 1989. Vol. 39. P. 378–386.
- Chernobrovkina N. P., Shulyakovskaya T. A. Metabolic characteristics of growing and dormant Scotch pine roots in the course of tree development // Plant and Soil. 1998. Vol. 200, N 1. P. 357–367.
- Corpas F. J., Chaki M., Frandez-Orcana A., Valderrama R., Paloma J. M., Carreras A., Begara-Morales J. C., Airaki M., Del Rio L. A., Barroso J. B. Metabolism of

- reactive nitrogen species in pea plants under abiotic stress conditions // *Plant Cell Physiol.* 2008. Vol. 49. P. 1711–1722.
- Durzan D. J. Arginine and the shade tolerance of white spruce saplings entering winter dormancy // *J. Forest Sci.* 2010. Vol. 56. P. 77–83.
- Durzan D. J. Nitrogen metabolism of *Picea glauca*. I. Seasonal changes of free amino acids in buds, shoots, apices and leaves and the metabolism of uniformly labeled C-I-arginine by buds during the onset of dormancy // *Canad. Journ. Bot.* 1968. Vol. 46, N 7. P. 909–919.
- Durzan D. J. Nitrogen metabolism of *Picea glauca*. IV. Metabolism of uniformly labelled  $^{14}\text{C}$ -L-arginine, [carbamyl- $^{14}\text{C}$ ]-L-citrulline, and [1,2,3,4- $^{14}\text{C}$ ]-gamma-guanidinobutyric acid during diurnal changes in the soluble and protein nitrogen associated with the onset of expansion of spruce buds // *Can. Journ. Biochem.* 1969. Vol. 47. P. 771–783.
- Durzan D. J. Stress-induced nitric oxide and adaptive plasticity in conifers // *J. Forest Sci.* 2002. Vol. 48. P. 281–291.
- Durzan D. J., Pedroso M. C. Nitric oxide and reactive nitrogen oxide species in plants // *Biotechnol. Genet. Engineering Rev.* 2002. Vol. 19. P. 293–337.
- Durzan D. J., Steward F. C. The nitrogen metabolism of *Picea glauca* (Moench) Voss and *Pinus banksiana* Lamb. as influenced by mineral nutrition // *Can. Journ. Bot.* 1967. Vol. 45. P. 695–710.
- Durzan D. J., Steward F. C. Nitrogen metabolism // *Plant Physiology: An Advanced Treatise*. V. VIII / eds. F. C. Steward, R. G. S. Bidwell. N.Y.: Acad. Press, 1983. P. 255–265.
- Engvild K. C. The “red” decline of Norway spruce or “røde rødgraner” – is it ammonium overload or top-dying? (Denmark. Forskningscenter Risoe. Risoe-R; N 1513(EN)) (2005). Online at: <http://www.dtu.dk/Resultat?&qt=dtupublicationquery&fr=1&sw=Engvild&tab=3#tabs> Date of access 13.11.2015.
- Gessler A., Schneider S., Weber P., Hanemann U., Rennenberg H. Soluble N compounds in trees exposed to high loads of N: a comparison between the roots of Norway spruce (*Picea abies*) and beech (*Fagus sylvatica*) trees grown under field conditions // *New Phytol.* 1998. Vol. 138. P. 385–399.
- Gezelius K., Nasholm T. Free amino acids and protein in Scots pine seedlings cultivated at different nutrient availabilities // *Tree Physiol.* 1993. Vol. 13, N 1. P. 71–86.
- Gruffman L., Jämtgerd S., Näsholm T. Plant nitrogen status and co-occurrence of organic and inorganic nitrogen sources influence root uptake by Scots pine seedlings // *Tree Physiol.* 2014. Vol. 34, Iss. 2. P. 205–213.
- Huhn B. G., Schulz H. Contents of free amino acids in Scots pine needles from field sites with different levels of nitrogen deposition // *New Phytol.* 1996. Vol. 134. P. 95–101.
- Lahdesmaki P., Pietilainen P. Seasonal variation in the nitrogen metabolism of young Scots pine. Tiivistelmä: Mannyn taimien typpiainevaihdunnan vuodenaikaisvaihtelusta // *Silva Fennica.* 1988. Vol. 22(3). P. 233–240.
- Näsholm T., Ericsson A. Seasonal changes in amino acids, protein and total nitrogen in needles of fertilized Scots pine trees // *Tree Physiol.* 1990. Vol. 6. P. 267–281.
- Sudachkova N. E., Milyutina I. L., Romanova L. I. Free amino acid composition in Scots pine tissues under stress impact in rhizosphere // *J. Stress Physiol. & Biochem.* 2007. Vol. 3, N 2. P. 4–14.
- Sudachkova N. E., Milyutina I. L., Semenova G. P. Influence of water deficit on contents of carbohydrates and nitrogenous compounds in *Pinus sylvestris* L. and *Larix sibirica* Ledeb. Tissues // *Eurasian Journ. For. Res.* 2002. Vol. 4. P. 1–11.
- Warren C. R., Adams M. A. Phosphorus affects growth and partitioning of nitrogen to Rubisco in *Pinus pinaster* // *Tree Physiol.* 2002. Vol. 22. P. 11–19.

## Arginine in the Life of Coniferous Plants

N. P. CHERNOBROVKINA<sup>1</sup>, E. V. ROBONEN<sup>1</sup>, A. R. UNZHAKOV<sup>2</sup>, N. N. TYUTYUNNIK<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Forest Research Institute, Karelian Research Centre RAS  
185910, Petrozavodsk, Pushkinskaya str., 11  
E-mail: chernobrovkina50@bk.ru

<sup>2</sup> Institute of Biology, Karelian Research Centre RAS  
185910, Petrozavodsk, Pushkinskaya str., 11

The results of long-term studies on the status of arginine in coniferous plants are summarized. The characteristics of amino acid metabolism in coniferous species, the annual and daily dynamics, effects of temperature, light and mineral nutrition on its accumulation in organs and tissues are described. Methods for increasing Arg content in conifers by regulating mineral nutrition are considered.

**Key words:** coniferous plants, L-arginine, amino acids, metabolism, temperature, light intensity, mineral nutrition.