

Проведенные исследования показали, что пестролистность *Coleus blumei* трудно классифицировать как аномалию онтогенетического развития, скорее это его норма, которая устойчиво сохраняется механизмом эпигенетического контроля онтогенеза. Большинство экспериментальных попыток ликвидировать или усилить пестролистность завершались возвратом к исходной картине пестролистности. Модель пестролистности, основанная на донорно-акцепторном балансе фотосинтатов, по-видимому, может быть полезной для объяснения сдвигов, наблюдаемых в экспериментах. Восстановление исходной нормы пестролистности после снятия экспериментальных условий свидетельствует о наличии эпигенетической памяти, контролирующей донорно-акцепторный баланс фотосинтатов у растений *Coleus blumei* [4].

ЛИТЕРАТУРА

1. Гамалей Ю.В. Транспортная система сосудистых растений. С-Пб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та. 2004. 424 с.
2. Гамалей Ю.В. Флоэма листа. Л, 1990. 144 с.
3. Чеботарева К.Е., Шерстнева О.А., Иванова Т.И., Пахомова М.В., Гамалей Ю.В. Характеристика ультраструктуры и дыхательного метаболизма белых и зеленых зон листа *Coleus blumei* в норме и в эксперименте // Труды Междун. конф. по анатомии и морфологии растений. 1997. С.211–212.
4. Rensing L., Koch M., Becker A. A comparative approach to the principal mechanisms of different memory systems // Naturwissenschaften. 2009. Vol. 96. P. 1373–1384.

L-ARGININE STORAGE IN SCOTS PINE NEEDLES UNDER THE INFLUENCE OF NITROGEN AND BORON

Chernobrovkina N.P., Robonen E.V.

Forest Research Institute, Karelian Research Centre, Pushkinskaya St. 11, Petrozavodsk
E-mail: chernobrovkina@krc.karelia.ru

Abstract. Content of total and protein nitrogen, and free amino acids in Scots pine needles in relation to differences in nitrogen and boron availability was studied. Boron was found to enhance L-arginine storage in needles when nitrogen nutrition was excessive. We suggest utilizing needles rich in L-arginine as feedstock in amino acid production.

НАКОПЛЕНИЕ L-АРГИНИНА В ХВОЕ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ АЗОТА И БОРА

Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В.

Учреждение Российской академии наук Институт леса Кар.НЦ РАН, г. Петрозаводск,
ул. Пушкинская, 11, тел. (8142) 76-81-60, E-mail: chernobrovkina@krc.karelia.ru

Разбалансированность минерального питания хвойных растений приводит к изменению состава свободных аминокислот в их тканях [13–16]. При избытке азота, а также при дефиците фосфора у хвойных происходит накопление L-аргинина и других аминокислот с высоким содержанием азота. Изменения уровня L-аргинина и орнитина при дефиците серы, кальция, магния и микроэлементов не отмечено [13]. Известна полифункциональная роль бора у растений, в том числе в процессах трансформации аминокислот [5]. Представляло интерес выявить влияние бора при высоком уровне азотного питания на накопление L-аргинина в хвое сосны обыкновенной.

Исследования были проведены на территории Прионежского лесничества в южной части Карелии. Объектом исследования была сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.). Супесчаные почвы характеризовались оптимальной для роста хвойных растений кислотностью (рН 5,1). Содержание макро- и микроэлементов составляло (в % от веса сухой почвы): азота – 0,12, фосфора – 0,45, калия – 0,31, кальция – 0,42, бора – 0,0008, меди – 0,009, марганца – 0,027, цинка – 0,005, кобальта – 44×10^{-4} и молибдена – 4×10^{-5} % от сухой почвы.

В начале периода роста, в мае, было заложено два варианта опыта. Для каждого варианта были выбраны изолированные участки площадью 6 м² в трех повторностях. В опытных вариантах в почву в

первой половине вегетации вносили азот в дозе 180 кг га^{-1} . Два варианта опыта с внесением в почву азота отличались обеспеченностью растений бором. В первом варианте бор в почву не вносили (А), во втором (Б) в первой половине вегетационного периода в почву вносили бор в дозе $1,5 \text{ кг га}^{-1}$ в виде водного раствора борной кислоты. Контролем для двух вариантов опыта служили соответствующие по уровню минерального питания участки, в почву которых азот и бор не вносили. В третьей декаде июля отбирали образцы хвои для определения содержания азота и свободных аминокислот. Хвою фиксировали методом лиофилизации. Общий и белковый азот в хвое определяли методом Кьельдаля, модифицированным для тканей хвойных растений [11]. Извлечение аминокислот из хвои осуществляли по методу Плешкова [8]. Очистку экстракта от сахаров проводили на колонке с катионитом (смола КУ-2). Аминокислотный состав хвои определяли с помощью автоматического аминокислотного анализатора ААА-339. Перед введением в анализатор упаренный экстракт растворяли в цитрат-литиевом буфере (рН 2,2). Разделение аминокислот проводили в различных системах буферных растворов, состоящих из пяти компонентов. Введенные смеси сорбировали на ионообменной смоле колонки. Затем каждую из аминокислот вымывали буферными растворами в определенной последовательности с последующей обработкой нингидрином и регистрацией спектрофотометрическим детектором в видимой области спектра. Идентифицировали аминокислоты по времени удерживания аминокислоты на сорбенте. Перед анализом проводили калибровку прибора путем разделения стандартной смеси аминокислот, содержащей по 2,5 мкл каждой из них в 1 мл стандартного раствора. Далее для каждой из аминокислот рассчитывали среднюю (из пяти измерений) площадь регистрируемого сигнала, приходящуюся на 1 нм, и получали константы для количественной оценки содержания аминокислот в опытных образцах. Общее содержание аминокислот высчитывали суммированием. В таблице и на рисунке приведены средние значения из трех биологических повторностей и их стандартные ошибки. Для определения сухой массы хвои использовали по 100 растений в каждом варианте эксперимента. Содержание азота и L-аргинина в хвое рассчитывали на тонну сухой массы. Содержание элементов минерального питания (ЭМП) в почве определяли спектрофотометрическим и пламенно-фотометрическим методами [2].

При внесении в почву, под сосну обыкновенную азота и бора, согласно схеме эксперимента, сухая масса хвои повысилась в 2,7 (вариант А) и в 3,5 (вариант Б) раза (соответственно, на 167 и 246 % по сравнению с контролем) (табл.). Повышение прироста хвои под воздействием дополнительного обеспечения азотом и бором свидетельствовало о том, что почва характеризовалась их дефицитом для интенсивного роста сосны. Содержание общего и белкового азота в хвое при внесении азота, особенно в сочетании с бором, также повышалось.

Таблица. Сухая масса хвои сосны обыкновенной, содержание азота и аргинина в хвое в связи с обеспеченностью азотом и бором растений

Показатели	Контроль – без внесения в почву азота и бора	Опыт 1 – в почву внесен азот в дозе 180 кг га^{-1}	Опыт 2 – в почву внесены азот в дозе 180 кг га^{-1} и бор в дозе $1,5 \text{ кг га}^{-1}$
Сухая масса хвои, % от контроля	100	267	346
Содержание общего азота в хвое, кг т^{-1}	$18,21 \pm 1,43$	$25,19 \pm 1,98$	$28,54 \pm 2,44$
Содержание белкового азота в хвое, кг т^{-1}	$17,40 \pm 1,35$	$23,02 \pm 1,84$	$25,47 \pm 2,06$
Содержание аргинина в хвое, кг т^{-1}	$0,10 \pm 0,01$	$1,26 \pm 0,10$	$2,03 \pm 0,17$

В контроле (без внесения азота и бора в почву) сумма свободных аминокислот в хвое составила $0,82 \pm 0,07 \text{ кг т}^{-1}$ сухого вещества (рис.). В составе свободных аминокислот хвои определены 19 аминокислот. В наибольшем количестве были представлены глутаминовая кислота (15 % от суммы аминокислот) и аргинин (12 %). Глутаминовая кислота занимает центральное место в обмене аминокислот растений, синтезируется активнее, чем другие аминокислоты и является универсальным донором и акцептором аминогруппы и углеродного скелета в превращениях азотных соединений [6]. Аргинин является основной запаасающей азот аминокислотой в хвое сосны обыкновенной в течение большей части года [16].

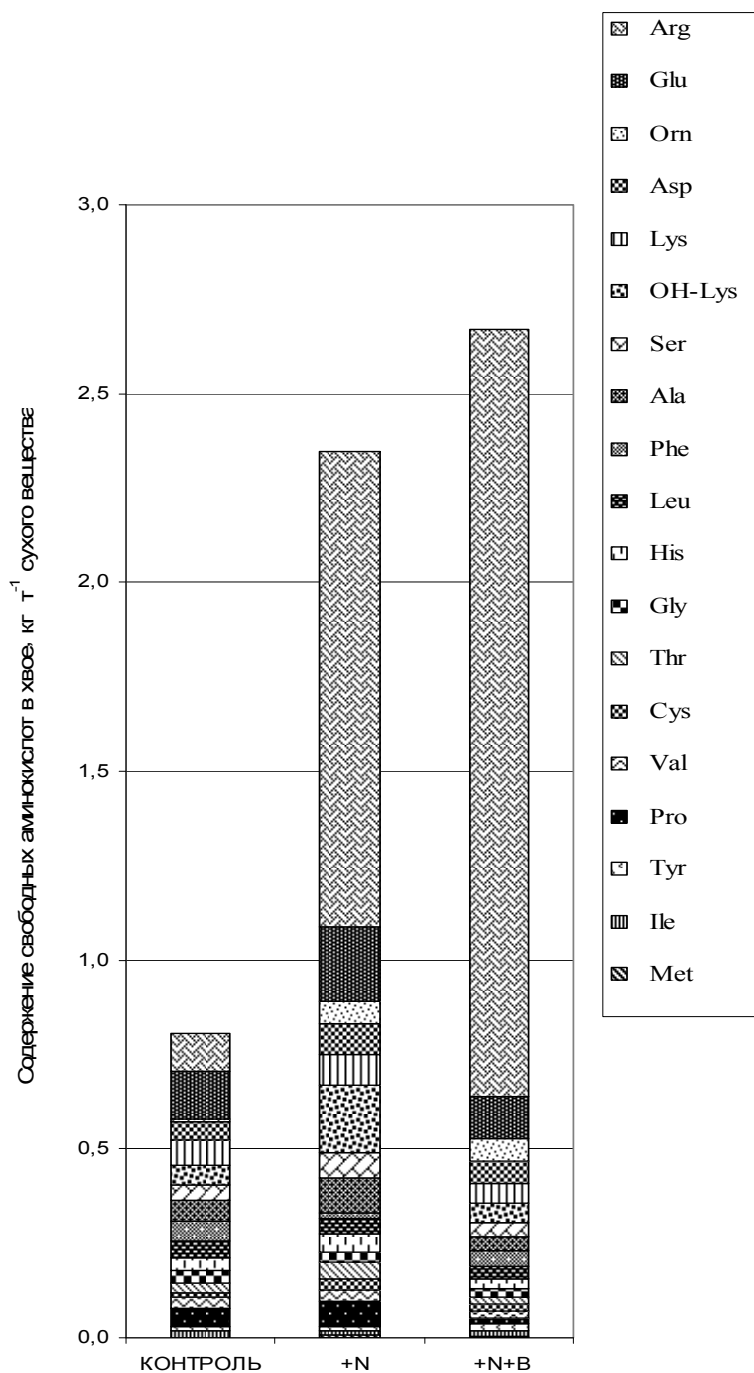


Рисунок. Влияние обеспеченности азотом и бором сосны обыкновенной на содержание свободных аминокислот в хвое, кг т⁻¹ сухого вещества

Дополнительное обеспечение растений азотом, особенно в сочетании с бором, повысило содержание суммы свободных аминокислот в хвое, соответственно, до $2,35 \pm 0,21$ и $2,67 \pm 0,24$ кг т⁻¹ сухого вещества. В опытных вариантах достоверно не изменялось содержание глицина, метионина, изолейцина, лейцина, тирозина и гистидина. В двух опытных вариантах содержание аргинина, орнитина, лизина и цистеина повышалось по сравнению с контролем. Уровень ОН-лизина, глутаминовой и аспарагиновой кислот, аланина, серина, треонина и пролина повышался при внесении в почву азота и снижался при использовании азота в сочетании с бором. Содержание валина достоверно не изменялось при внесении в почву азота, а при использовании азота и бора – снижалось. Количество

фенилаланина в хвое снижалось в варианте с внесением азота и повышалось в варианте с использованием азота и бора. При внесении в почву азота сумма свободных аминокислот без учета аргинина в хвое повысилась, а в варианте с внесением в почву азота и бора – понизилась. Предположительно, понижение суммы свободных аминокислот, без учета аргинина, происходило в результате стимуляции белкового синтеза, поскольку содержание белкового азота при этом повышалось.

Повышение суммы аминокислот в хвое опытных растений произошло преимущественно за счет L-аргинина. Его содержание в хвое составило в контроле $0,1 \pm 0,01$ кг т⁻¹ сухой массы, в опыте с использованием азота – $1,26 \pm 0,10$, с использованием азота и бора – $2,03 \pm 0,17$ кг т⁻¹ сухой массы (табл., рис.). Таким образом, уровень L-аргинина в хвое в расчете на единицу сухого вещества увеличился по сравнению с контролем при внесении в почву азота, а также азота и бора, соответственно, в 12,2 и 19,7 раз и составил 53 и 76 % от общего содержания аминокислот.

Распределение азота между растворимыми фракциями в значительной степени зависит от обеспеченности растений азотом, фосфором и другими ЭМП. Рибулозо-1,5-бисфосфат- карбоксилаза/оксигеназа (Рубиско), аминокислоты и аммоний могут рассматриваться как соединения, в которых преимущественно накапливается азот, но аккумулируются они в органах и тканях при различных условиях [17]. С увеличением обеспеченности растений фосфором содержание Рубиско увеличивается, а при высоких дозах азота и низкой обеспеченности фосфором, избыточный азот накапливается в форме азота аминокислот и аммония.

В случае незначительного или краткосрочного воздействия азотом растения реагируют увеличением интенсивности синтеза белка, если другие элементы питания доступны в достаточном количестве [15]. Высокие дозы азота или долгосрочные воздействия азотом в сосновых древостоях приводят к изменениям в механизме детоксикации избытка азотных соединений. Во избежание накопления токсичного аммиака в растительных клетках, ассимилируемые соединения азота включаются в состав свободных аминокислот, преимущественно в состав L-аргинина, имеющего наиболее низкое по сравнению с другими аминокислотами отношение C/N (1,5) [15]. В литературе показано, что семена сосны обыкновенной накапливали и запасали до 80 % азота в форме L-аргинина в случае, если синтез белка был ограничен факторами, отличными от доступности азота [14]. Увеличение содержания аргинина и глутамина в хвое сосны обыкновенной, наблюдавшееся в 25-летнем и в 60–80-летнем древостоях, указывало на поступление избыточного количества азота в хвойное растение [15]. Необходимо учитывать, однако, что состав и содержание свободных аминокислот в хвое может варьировать в пределах кроны, имеет сезонную, суточную динамику, зависит от внешних воздействий [14, 16, 11, 10]. При внесении в течение 17 лет избыточного количества азота под деревья сосны обыкновенной в условиях Северной Швеции отмечалось значительное повышение уровня L-аргинина в хвое [16]. Максимальное количество аминокислоты в хвое в сезонной динамике было отмечено в феврале. Содержание свободного L-аргинина в хвое ели норвежской (*Picea abies*), выращиваемой в вегетационных сосудах с уровнем азотного питания, в 4 раза превышающем оптимальное, значительно увеличивалось (до 2 % сырого веса) [13]. Отмечалось увеличение содержания и других аминокислот с высоким содержанием азота – орнитина и лизина. При дефиците фосфора у сосны обыкновенной также повышалось содержание L-аргинина в хвое [16].

Высокий уровень L-аргинина и других аминокислот в органах растений можно рассматривать как чувствительный биохимический индикатор разбалансированности их минерального питания. При высоком по сравнению с другими ЭМП поступлении азота в хвойное растение, часть его органы и ткани не способны использовать для синтеза белков и запасают в форме аминокислот с высоким содержанием азота, прежде всего в форме L-аргинина. Дополнительное обеспечение бором хвойного растения ускоряет процессы роста и вместе с тем усиливает дефицит других ЭМП, что приводит к повышению накопления L-аргинина в хвое.

Регулирование азотного и борного обеспечения сосны обыкновенной позволяет в десятки раз повысить содержание свободного L-аргинина в хвое за один вегетационный период. При этом повышается также прирост биомассы хвои и содержание в ней общего и белкового азота. Древесная зелень, обогащенная L-аргинином, может использоваться для производства биологически активных препаратов лечебно-профилактического и кормового назначения [1, 17]. Повышение содержания L-аргинина в хвое путем регуляции минерального питания растений открывает новые возможности использования древесной зелени в качестве сырья для получения биологически активных веществ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аминокислоты в медицине. Киев, 1982. 200 с.
2. Аринушкина С.В. Руководство по химическому анализу почв. М., 1970. 487 с.
3. Волкова Т.Г. Биотехнология. Новосибирск, 1999. 252 с.
4. Дахно И.С. Влияние иммуностимуляторов L-аргинина и РНК на иммунный статус коров при фасциозе // Вісник Полтавського державного сільськогосподарського інституту. 2000. № 5. С. 32–34.
5. Кибаленко А.П. Значение бора в метаболизме растительной клетки // Микроэлементы в обмене веществ растений. Киев, 1976. С. 93–125.
6. Кретович В.Л. Обмен азота в растениях. М., 1972. 528 с.
7. Левин Э.Д., Репях С.М. Переработка древесной зелени. М., 1984. 120 с.
8. Плешков Б.П. Практикум по биохимии растений. М., 1976. 256 с.
9. Рыбак К.В., Сливинская Е.А., Саврасова Е.А., Ахвердян В.З., Клячко Е.В., Машко С.В., Дорошенко В.Г., Айрих Л.Г., Леонова Т.В. Способ получения L-аминокислот с использованием бактерий, принадлежащих к роду *Escherichia* // Патент на изобретение № 2304615, РФ. 2005.
10. Чернобровкина Н.П. Экофизиологическая характеристика использования азота сосной обыкновенной. СПб., 2001. 175 с.
11. Чикина П.Ф. Азотный обмен // Физиолого-биохимические основы роста и адаптации сосны на Севере. Л., 1985. С. 57–82.
12. Ягодина В.И. Основы химии и технологии переработки древесной зелени. Л., 1981. 224 с.
13. Engvild K.C. The «Red» Decline of Norway Spruce or «Røde Rødgraner» – Is it Ammonium Overload or Top-Dying? // Risø National Laboratory. April, 2005. 16 p.
14. Gezelius K, Nasholm T. Free amino acids and protein in Scots pine seedlings cultivated at different nutrient availabilities // Tree Physiology. 1993. Vol. 13. № 1. P. 71–86.
15. 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.
16. Nasholm T., Ericsson A. Seasonal changes in amino acids, protein and total nitrogen in needles of fertilized Scots pine trees // Tree Physiology. 1990. Vol. 6. P. 267–281.
17. Warren C. R., Adams M.A. Phosphorus affects growth and partitioning of nitrogen to Rubisco in *Pinus pinaster* // Tree Physiology. 2002. Vol. 22. P. 11–19.

EFFECT OF INTRASPECIFIC COMPETITION ON THE ACTIVITY OF ENZYMES INVOLVED IN THE METABOLISM OF GLUTAMIC ACID IN KAMBIAL ZONE OF PINUS SYLVESTRIS L.

Deych K.O., Sudachkova N.E., Milyutina I.L.

V.N. Sukachev Institut of forest SB RAS, 660036, Krasnoyarsk, Akademgorodok 50 – Institut of forest,
8 (391) 2-49-46-14, E-mail: biochem@ksc.krasn.ru

Abstract. the 6–7 aged biogroups of pine trees (*Pinus sylvestris* L.) with density 1, 10 and 40 tree·m⁻² were investigated. It is shown that an increase of density of planting causes a decrease in the linear and radial sizes of trees and change dynamic and level of enzymes activity of γ -aminobutyric and glutamic acids metabolism. The revealed specific change of dynamic γ -aminobutyric acid can be used as biochemical indicator of phytocenotic stress.

ВЛИЯНИЕ ВНУТРИВИДОВОЙ КОНКУРЕНЦИИ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В МЕТАБОЛИЗМЕ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ, В ПРИКАМБИАЛЬНОЙ ЗОНЕ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

Дейч К.О., Судацкова Н.Е., Милютин И.Л.

Институт леса им. В.Н.Сукачева СО РАН, 660036, г. Красноярск, Академгородок 50, строение 28 – Институт леса,
(391) 2-49-46-14, E-mail: biochem@ksc.krasn.ru

Растительные сообщества, сформированные на территориях с нарушенным ландшафтом (гари, брошенные сельскохозяйственные угодья, урбанизированные и промышленные территории), приобре-