

УДК 582.475:581.133.8:577.123.34:[581.133.1+546.27]

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА АРГИНИНА В ХВОЕ *PINUS SYLVESTRIS* L. В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СРОКОВ ВНЕСЕНИЯ АЗОТА И БОРА

© Н.П. Чернобровкина*, Е.В. Робонен, А.В. Ретин, Т.Н. Макарова

Институт леса КарНЦ РАН, ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, 185910
(Россия), e-mail: chernobrovkina50@bk.ru

Проведено исследование годичной динамики содержания аргинина в молодой и 1-летней хвое 10-летней сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) при различных сроках внесения в почву азота в высокой дозе (300 кг/га) и бора в оптимальной дозе (3 кг/га). Удобрения вносили однократно в июне, июле или августе. У контрольных растений уровень аминокислоты в молодой и 1-летней хвое оставался близким в период исследования (0.7 ± 0.1 – 1.3 ± 0.1 мкмоль/г а.с.в.) с максимальным значением в мае. Внесение в почву удобрений значительно повышало содержание аргинина в молодой и 1-летней хвое в течение первого после воздействия годичного цикла. Наибольший эффект, преимущественно в молодой хвое, наблюдали при внесении удобрений в июне. Максимальные уровни аминокислоты составляли 618 ± 60 и 152 ± 15 мкмоль/г а.с.в., 256 ± 24 и 154 ± 14 мкмоль/г а.с.в., 132 ± 13 и 76 ± 7 мкмоль/г а.с.в. при июньском, июльском и августовском внесении удобрений в молодой и 1-летней хвое соответственно. Обсуждаются закономерности накопления аргинина у хвойных растений в сезонной динамике, а также механизмы влияния азота и бора на этот процесс.

Ключевые слова: *Pinus sylvestris*, аргинин, годичная динамика, азот, бор, сроки внесения.

Работа выполнена в рамках проекта № 0220-2014-0009 по государственному заданию ИЛ КарНЦ РАН.

Введение

Древесная зелень хвойных пород содержит комплекс органических соединений, представляющих интерес для многих отраслей промышленности. Их содержание может изменяться в зависимости от различных факторов [1]. Хвойные растения способны накапливать значительное количество аргинина в экстремальных условиях среды, при избытке азота, при разбалансированности минерального питания [2–10]. Было показано стимулирующее влияние бора на накопление аргинина у хвойных растений на фоне высокого обеспечения азотом [11–13]. Разработка технологии повышения уровня аргинина у хвойных растений открывает возможности использовать хвою в фармацевтической промышленности в качестве сырья для получения этой аминокислоты, а также в животноводстве и ветеринарии в качестве биологически активных добавок животным. Следует отметить, что аргинин участвует в синтезе одной из важнейших сигнальных молекул – NO, имеет большое значение в функциональной активности органов и тканей человека, животных и широко используется в медицине и ветеринарии. Испытание хвойных препаратов, полученных из хвои сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) с высоким содержанием аргинина, достигнутым в результате регуляции минерального питания, показало положительные результаты на продуктивность кур-несушек кросса «Ломанн браун» и выживаемость щенков американской норки (*Mustela vison* Shr.) [14, 15].

Для получения обогащенной аргинином древесной зелени наиболее эффективно использование отходов при рубках 10–15-летних деревьев хвойных растений, произрастающих на территории ЛЭП, а также предназначенных для вырубki при разреживании лесных культур [16]. С учетом показателей, характеризующих распределение аргинина по мутовкам, было рекомендовано проводить отбор

Чернобровкина Надежда Петровна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, доцент, e-mail: chernobrovkina50@bk.ru

Робонен Елена Вильямовна – ведущий физик, e-mail: er51@bk.ru

Ретин Андрей Владимирович – главный биолог, e-mail: andyurepin@gmail.ru

Макарова Тамара Николаевна – ведущий химик, e-mail: tamakarova48@bk.ru

* Автор, с которым следует вести переписку.

хвои первого и второго годов со 2–4-й мутовок от вершины в кроне 10-летней сосны обыкновенной [17]. Для выявления наиболее эффективных сроков внесения удобрений и отбора растительного материала с целью разработки технологии получения хвои, обогащенной аргинином, представляло интерес исследование сезонной динамики накопления аргинина у хвойных растений в зависимости от сроков внесения азота и бора в почву. Известно, что поступление, распределение и утилизация азота у хвойных растений зависят от сроков внесения удобрений в почву, и состав азотсодержащих соединений в их тканях изменяется в течение годового цикла по фенофазам [18].

Цель работы – исследование сезонной динамики содержания аргинина в хвое *Pinus sylvestris* L. в зависимости от сроков внесения азота и бора в почву.

Экспериментальная часть

Исследования проводили в 10-летнем молодняке сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) естественного возобновления, сформировавшемся на расчищенной 10 лет назад трассе ЛЭП в условиях южной Карелии. Напочвенный покров был нарушен при работах по расчистке трассы с образованием «техногенного» ландшафта. Почва участков песчаная, напочвенный покров редкий или отсутствовал. В пахотном горизонте почвы содержание азота, фосфора, калия и бора составляло соответственно 0.06, 0.08, 0.06, 0.001% от сухой почвы при pH_{H_2O} 5.5. В 1- и 2-летней хвое исследуемых растений в мае, перед проведением эксперимента, содержание азота и бора составляло соответственно 1.3 ± 0.1 и $1.1 \pm 0.1\%$ от сухой массы и 27 ± 0.2 и 19 ± 0.2 мг/кг сухой массы.

В мае 2012 г. были заложены 6 опытных и 2 контрольных участка размером 15×15 м каждый. Для исследования использовали по 3 модельных дерева высотой 2.0–3.0 м с каждого участка. На опытных участках в почву вносили азот и бор по вариантам эксперимента – в первой декаде июня, в третьей декаде июля или третьей декаде августа. Вносили азот из расчета 300 кг/га в виде сухой аммиачной селитры и бор из расчета 3 кг/га в виде водного раствора борной кислоты. Аммиачную селитру и борную кислоту равномерно распределяли по всему участку. На контрольных участках азот и бор в почву не вносили. С июня 2012 по сентябрь 2013 г. с интервалом 10–20 дней в ясные дни с третьих мутовок от вершины деревьев, расположенных с юго-западной стороны, отбирали образцы хвои 1-го (молодая хвоя текущего года) и 2-го (однолетняя) годов жизни и фиксировали методом лиофилизации. Для одного анализа использовали 200 мг фиксированного растительного материала, анализ проводили в шестикратной биологической повторности. Экстракцию аминокислот из хвои проводили горячей водой (60 °C) [19]. Содержание аргинина в хвое определяли на автоматическом аминокислотном анализаторе ААА-339 («Микротехна», Чехия). Анализ содержания азота, фосфора, калия и бора в образцах почвы и хвои проводили общепринятыми спектрофотометрическими методами [20].

Математическую обработку данных осуществляли с помощью методов статистики с использованием пакета программ Microsoft Excel [21, 22]. Результаты представлены в виде средних арифметических значений и их стандартных ошибок. Значимость отличий между средними величинами оценивали по *t*-критерию Стьюдента и вероятности, которую признавали статистически значимой при $p \leq 0.05$.

Данные были получены с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Аналитическая лаборатория» Института леса КарНЦ РАН. Информация по среднесуточной температуре воздуха в районе проведения эксперимента в период исследования предоставлена Гидрометеослужбой г. Петрозаводска.

Обсуждение результатов

В контроле (без внесения азота и бора в почву) в 1-летней хвое 10-летней сосны обыкновенной содержание аргинина в начале июня 2012 г. составило 1.1 ± 0.1 мкмоль/г абсолютно сухого вещества (а.с.в.) (рис. 1). Уровень аргинина в 1-летней хвое снижался к началу третьей декады октября до своего минимального значения – 0.7 ± 0.1 мкмоль/г а.с.в. К ноябрю содержание аминокислоты повышалось и далее в течение осенне-зимне-весеннего периода колебалось в относительно небольших пределах – 0.7 ± 0.1 – 1.0 ± 0.1 мкмоль/г а.с.в. В мае – начале июня происходило повышение концентрации аргинина (до 1.1 ± 0.1 мкмоль/г а.с.в. В летний период 2013 г. уровень аргинина снова снижался.

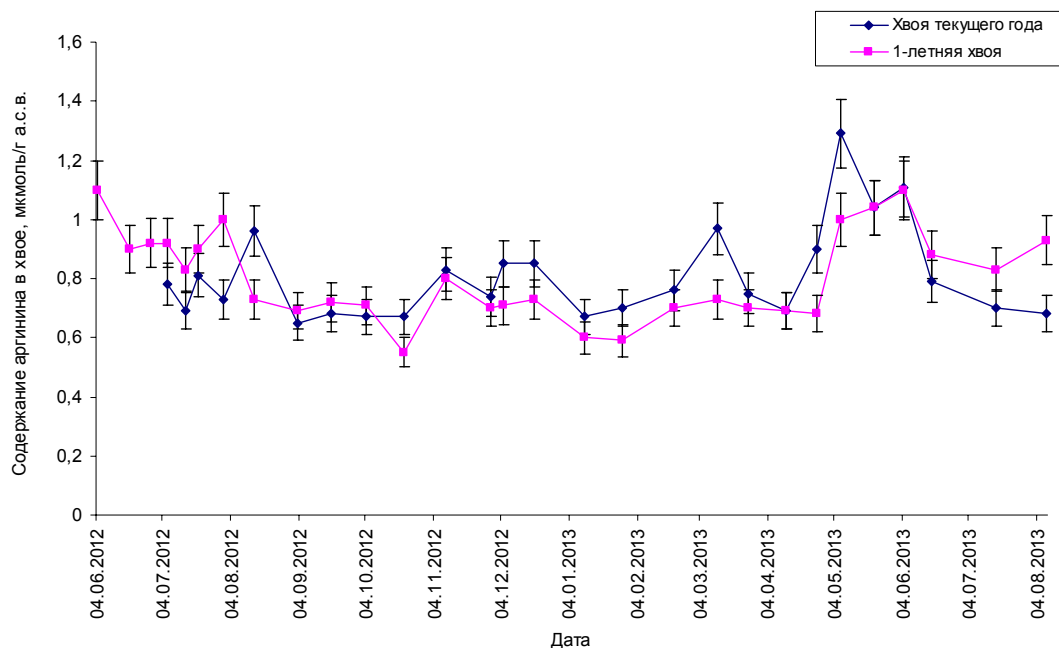


Рис. 1. Сезонная динамика содержания аргинина в молодой и 1-летней хвое сосны обыкновенной в варианте без внесения азота и бора (контроль)

В контроле во вновь сформировавшейся (молодой текущего года) хвое динамика содержания аргинина в течение осенне-зимне-весеннего периода имела сходный характер с таковой у 1-летней хвои. При этом содержание аминокислоты в молодой хвое также было близким к ее уровню в 1-летней хвое, за исключением августа, декабря 2012 г., а также марта и начала мая 2013 г., когда содержание аргинина в молодой хвое было выше, чем в 1-летней. В то время как в летний период 2013 г. напротив, содержание аргинина в молодой (теперь она становилась хвоей 2-го года жизни) было ниже, чем в 1-летней хвое (теперь 3-го года жизни). Известно, что сформировавшаяся в предыдущем году хвоя у сосны обыкновенной служит основным донором азота для распускающихся почек и роста молодого побега [18]. Разновозрастная хвоя, как и другие органы хвойного растения, сохраняет относительно постоянный уровень азотных соединений, обеспечивая, таким образом, гомеостатическое состояние обменных процессов в тканях. Этому способствует у хвойных растений очень высокая, по сравнению с лиственными древесными породами, реутилизация азота. Данные показали, что в контроле показатели концентрации аргинина в 1-летней и молодой хвое преимущественно имели близкие значения, и годичная динамика уровней аминокислоты у 1-летней и молодой хвои имела сходный характер, содержание аминокислоты варьировало в пределах $0.7 \pm 0.1 - 1.3 \pm 0.1$ мкмоль/г а.с.в.

Исследования сезонной динамики аминокислот в органах хвойных растений показали, что количественный и качественный состав свободных аминокислот у них варьирует в довольно широких пределах в зависимости от возраста растения, фазы роста, сезона года, органа растения и его расположения в кроне, климатических и почвенных условий [2–10, 18, 23–28]. Наиболее заметные изменения происходят в весенне-летний и осенний периоды. Сезонное варьирование общей концентрации аминокислот в органах и тканях хвойных растений преимущественно связано с изменениями концентрации аспарагина, глутамина, глутамата, γ -аминоасляной кислоты, пролина, аргинина [28].

В нашем эксперименте при июньском внесении высокой дозы азота и оптимальной – бора в почву у 10-летней сосны обыкновенной в 1-летней хвое содержание аргинина повышалось к первой декаде сентября до 152 ± 15 мкмоль/г а.с.в., к началу октября – снижалось до 79 ± 7 мкмоль/г а.с.в., далее изменялось в близких к этому уровню пределах в течение осенне-зимнего периода (рис. 2а). Более низкие значения отмечены с конца апреля по август 2013 г. В хвое текущего года по сравнению с 1-летней содержание аргинина было значительно выше на протяжении всего периода исследования. С июля по сентябрь оно повышалось и составляло во второй декаде сентября максимальное значение – 618 ± 60 мкмоль/г а.с.в., затем содержание аминокислоты также резко снижалось, но оставалось на уровне начала сентября –

308±30 мкмоль/г а.с.в. Далее в период исследования концентрация аргинина в молодой хвое оставалась высокой, достигая максимальных значений в феврале-марте – до 428±42 мкмоль/г а.с.в., и минимальных – в летний период 2013 г – 95±9–142±14 мкмоль/г а.с.в.

При внесении удобрений в почву в конце июля в 1-летней хвое содержание аргинина максимально накапливалось к первой декаде сентября – до 154±14 мкмоль/г а.с.в., снижалось к началу октября до 105±9 мкмоль/г а.с.в. и изменялось в течение осенне-зимне-весеннего периода в пределах 89±8–138±13 мкмоль/г а.с.в. (рис. 2б). Уровень аминокислоты в молодой хвое был преимущественно выше, чем в 1-летней. Накопление аргинина в хвое текущего года при июльском внесении удобрений продолжалось до середины сентября до 233±22 мкмоль/г а.с.в. Далее происходили значительные колебания уровня аминокислоты с максимальными значениями в середине декабря-января (до 254±24 мкмоль/г а.с.в.) и в начале июня (до 256±24 мкмоль/г а.с.в.) и с минимальными – в первой декаде декабря и второй декаде июня (соответственно до 111±10 и 101±9 мкмоль/г а.с.в.). Содержание аргинина в молодой хвое в летний период 2013 г. имело значения до 149±14 мкмоль/г а.с.в.

В одном из вариантов эксперимента азот и бор вносили в почву в конце августа, поскольку ожидалось, что в конце вегетационного периода, когда нет активного роста побегов, а ксилемный поток еще существует, то поступающий в растение азот будет преимущественно запасаться в форме аргинина. Данные показали, что при внесении удобрений в конце августа накопление аргинина в 1-летней хвое продолжалось до третьей декады октября до 72±7 мкмоль/г а.с.в. (рис. 2в). Далее в течение осенне-зимне-весеннего периода отмечались колебания его уровня в пределах 42±4–76±7 мкмоль/г а.с.в. Содержание аргинина в молодой хвое было выше, чем в 1-летней, за исключением третьей декады марта, когда уровни аминокислоты в хвое двух возрастов совпадали. Накопление аргинина в хвое текущего года продолжалось до ноября – до 104±9 мкмоль/г а.с.в. В течение осенне-зимнего периода уровень аминокислоты изменялся в пределах 76±7–122±11 мкмоль/г а.с.в. В летний период 2013 г. содержание аминокислоты в молодой хвое достигало своих максимальных значений – 132±13 мкмоль/г а.с.в.

Сравнение данных по содержанию аргинина в хвое опытных и контрольных растений с температурным режимом не выявило зависимости между этими показателями (рис. 1–3). Низкая среднесуточная температура воздуха в декабре 2012 г. – марте 2013 г. не оказала выраженного влияния на уровень аргинина в хвое контрольных и экспериментальных деревьев. Однако следует отметить, что у контрольных растений увеличение уровня аргинина в хвое в мае 2013 г. происходило на фоне повышения среднесуточной температуры воздуха в этот период.

Сопоставление уровней содержания аргинина в хвое сосны в зависимости от срока внесения азота и бора в почву показало, что максимальное накопление аминокислоты происходило при июньском внесении удобрений в хвое текущего года. При внесении азота и бора в июле и особенно августе аргинин в молодой хвое накапливался в меньшей степени. При всех сроках внесения удобрений хвоя текущего года содержала более высокое количество аминокислоты по сравнению с 1-летней хвоей, за исключением отдельных сроков в вариантах июльского и августовского воздействий, когда их уровни сближались. В исследуемый период наиболее нестабильное содержание аргинина зафиксировано в молодой хвое при июльском внесении удобрений. Сроки внесения азота и бора отразились в меньшей степени на содержании аргинина в 1-летней хвое. В вариантах июньского и июльского внесения удобрений уровни аргинина в 1-летней хвое были близки, при августовском внесении зафиксированы более низкие значения. В летний период 2013 г. содержание аргинина в молодой хвое при июньском и июльском внесении понижалось, а при августовском – повышалось. Абсолютные значения количества аргинина, соответственно, в молодой и 1-летней хвое деревьев при трех сроках внесения удобрений становились в этот период близкими. При необходимости использовать свежую хвою, обогащенную аргинином, в летнее время (в ветеринарии, животноводстве) можно вносить азот и бор под сосну также в августе. Выбор срока внесения удобрений с целью получения обогащенной аргинином хвои может определяться сроками лесохозяйственных мероприятий, при которых осуществляются рубки молодняков сосны обыкновенной в летний период, а также сроками использования растительного сырья.

Таким образом, максимальное накопление аргинина в хвое происходило при июньском внесении удобрений по сравнению с вариантами двух других сроков внесения. Известно, что самое активное поглощение азота корневой системой сеянцев сосны обыкновенной в вегетационном периоде происходит в июне, когда отмечается в хвое и особенно корнях самая высокая в сезоне активность фермента усвоения

азота – глутаминсинтетазы [18]. Деревьями сосны обыкновенной в июле поглощается 30–60% поглощенного за сезон азота [29]. Тем не менее, даже при внесении удобрений в конце августа аргинин в хвое накапливался в повышенных по сравнению с контролем количествах, поскольку дополнительно поступающий в хвою азот при сниженной интенсивности роста в этот период утилизировался в запасные формы. Запасание азота в форме аргинина характерно для хвойных, но не является универсальным для древесных пород. Так, у лиственных древесных растений, в частности у березы повислой (*Betula pendula* var. *Pendula*) и карельской березы (*B. pendula* var. *carelica* (Merclin) Hamet Ahti) накопления аргинина под воздействием высоких доз азота не наблюдалось [30]. При этом возрастало содержание цитруллина в органах (до 68% от суммы аминокислот).

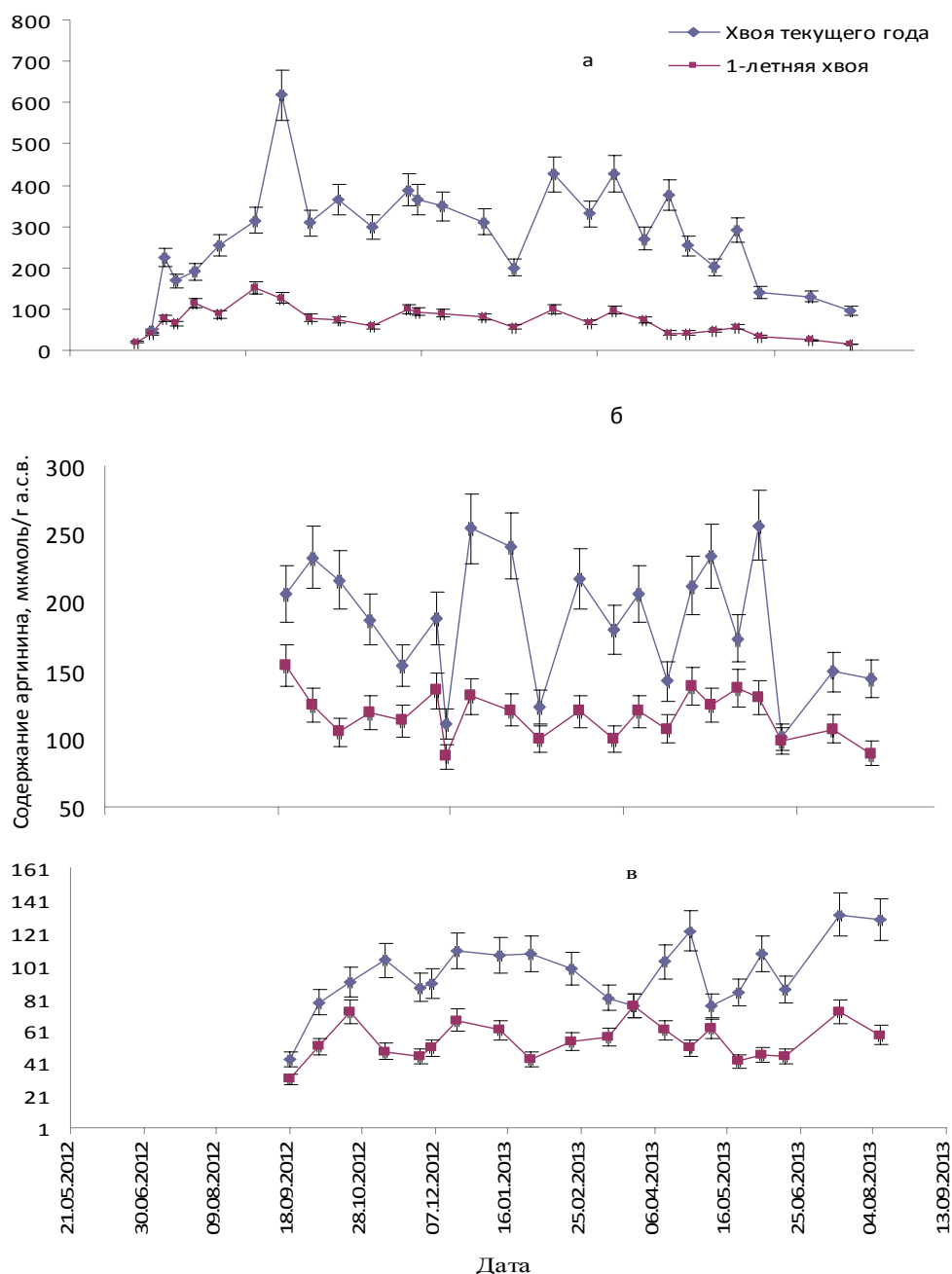


Рис. 2. Сезонная динамика содержания аргинина в молодой и 1-летней хвое сосны обыкновенной в связи с внесением в почву азота (300 кг/га) и бора (3 кг/га) в первой декаде июня (а), в третьей декаде июля (б) и августа (в) 2012 г.

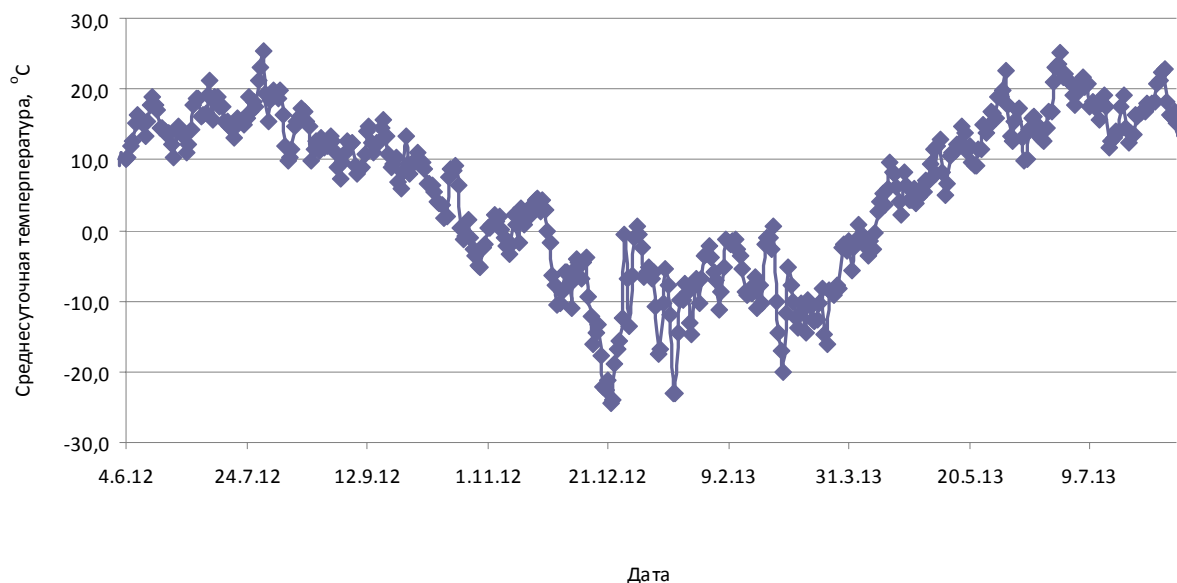


Рис. 3. Ежедневная средняя температура воздуха на экспериментальном участке в 2012–2013 гг.

В связи с увеличением концентрации аргинина в тканях хвойных растений после внесения азотных удобрений было заключено, что высокая концентрация аргинина отражает благоприятный азотный статус [24]. Поскольку хвойные накапливают аргинин в хвое, когда поступление азота превышает поступление других элементов питания и количество азота, необходимое для роста, высказано мнение, что основная роль аргинина может состоять как в удалении чрезмерного аммония, так и в запасании азота [28, 31]. Показано, что при высоком уровне азота ткани сосны обыкновенной сохраняют растворимый азот в течение зимы в основном в форме аргинина, который в дополнение к высокому содержанию азота, может нейтрализовать кислотные цитоплазматические компоненты, такие как нитраты и нитриты [32].

Стимулирующее влияние бора на накопление аргинина у хвойных растений можно объяснить его воздействием на процессы синтеза и катаболизма аминокислоты. Известно, что бор стимулирует поступление азота в хвойное растение, влияет на активность ферментов азотного обмена и способствует активации метаболических процессов у них [18, 33]. При высоком по сравнению с другими элементами питания 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, преимущественно в форме аргинина. Катаболизм аргинина, как и его синтез, регулируется в соответствии с общим состоянием питания растительной клетки. Утилизация аргинина у растений зависит от наличия углеводов. Дефицит сахаров вызвал увеличение активности ферментов – аргиназы, уреазы, аргининдекарбоксилазы, запуская катаболизм аргинина у люпина желтого (*Lupinus luteus* L.) [34]. Исходя из того, что бор активирует транспорт углеводов в растениях и повышает их углеводный статус, можно предположить, что бор ингибирует процесс катаболизма аргинина. Таким образом, оптимизация борного питания хвойного растения на фоне высокого уровня азота способствует накоплению аминокислоты в хвое предположительно в результате стимуляции ее синтеза и ингибирования катаболизма.

Заключение

Внесение в почву высокой дозы азота (300 кг/га) и оптимальной – бора (3 кг/га) однократно за сезон по вариантам эксперимента в три срока вегетационного периода – в июне, июле и августе значительно повышало содержание аргинина в молодой и 1-летней хвое в течение годового цикла в год внесения удобрений. Июньское внесение удобрений, по сравнению с июльским внесением и особенно августовским, оказало наибольший эффект на накопление аргинина преимущественно в молодой хвое. В годовом цикле максимальное накопление аргинина в молодой хвое происходило при июньском внесении в сентябре, а также в феврале-марте, при июльском и августовском – в декабре. В противоположность вариантам июньского и июльского сроков внесения удобрений, при внесении азота и бора в августе уровень аргинина

в молодой хвое повышался в летний период следующего после внесения удобрений года. Данные позволили заключить, что все три срока внесения азота и бора являются эффективными в целях получения обогащенной аргинином хвои в течение первого годичного цикла после внесения удобрений. Выбор срока внесения азота и бора определяется периодом в вегетационном сезоне, когда будут проводиться лесохозяйственные мероприятия, связанные с рубками молодняков хвойных растений, и сроками использования обогащенной аргинином хвои. Следует подчеркнуть, что рекомендуемый способ внесения удобрений предназначен для получения обогащенной аргинином древесной зелени, но не является способом ухода с целью повышения продуктивности хвойного древостоя. В последнем случае используются более низкие дозы азота [35].

Список литературы

1. Ушанов С.В., Степень Р.А., Ушанова В.М. Возрастная динамика содержания пихтового масла в древесной зелени *Abies sibirica*. Теоретические аспекты оценки // Химия растительного сырья. 2017. №1. С. 129–136.
2. Näsholm T., Ericsson A. Seasonal changes in amino acids, protein and total nitrogen in needles of fertilized Scots pine trees // Tree Physiology. 1990. Vol. 6. Pp. 267–281.
3. Gezelius K., Näsholm T. Free amino acids and protein in Scots pine seedlings cultivated at different nutrient availabilities // Tree Physiology. 1993. Vol. 13. Pp. 71–86.
4. Huhn B.G., Schulz H. Contents of free amino acids in Scots pine needles from field sites with different levels of nitrogen deposition // New Phytology. 1996. Vol. 134. Pp. 95–101.
5. Судачкова Н.Е., Милютин Л.И., Кудашова Ф.Н., Семенова Г.П., Кожевникова Н.Н. Влияние засухи на состав свободных аминокислот в тканях сосны обыкновенной и лиственницы сибирской // Лесоведение. 1996. №3. С. 57–67.
6. Судачкова Н.Е., Милютин И.Л., Романова Л.И. Влияние стрессовых воздействий в ризосфере на состав свободных аминокислот в тканях сосны обыкновенной // J. Stress Physiol. 2007. Vol. 3. N2. Pp. 4–14.
7. 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 Journal of Forest Research. 2002. Vol. 4. Pp. 1–11.
8. Engvild K.C. The "red" decline of Norway spruce or "røde rødgraner" – is it ammonium overload or topdying? (Denmark. Forskningscenter Risoe. Risoe-R; N 1513(EN)) (2005). Online at: [http://orbit.dtu.dk/en/publications/the-red-decline-of-norway-spruce-or-roede-roedgraner--is-it-ammonium-overload-or-topdying\(93038db2-98a5-496a-b15b-880289c4c7a2\).html](http://orbit.dtu.dk/en/publications/the-red-decline-of-norway-spruce-or-roede-roedgraner--is-it-ammonium-overload-or-topdying(93038db2-98a5-496a-b15b-880289c4c7a2).html).
9. Симкина С.Ю., Алаудинова Е.В. Состав свободных аминокислот зимующих и набухших меристем почек *Pinus sylvestris* L. // Актуальные проблемы лесного комплекса. 2009. №23. С. 134–136.
10. Алаудинова Е.В. Экологические особенности низкотемпературной адаптации лесообразующих хвойных видов Сибири: структурно-химические изменения меристем почек: дисс. ... д-ра биол. наук. Красноярск, 2011. 462 с.
11. Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В., Зайцева М.И. Накопление L-аргинина в хвое сосны обыкновенной при регуляции азотного и борного обеспечения // Химия растительного сырья. 2010. №3. С. 11–14.
12. 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 // Труды КарНЦ РАН. 2013. №3. С. 159–165.
13. Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В. Содержание азота, бора и аминокислот в хвое сеянцев сосны обыкновенной при регуляции азотного и борного обеспечения // Труды КарНЦ РАН. 2015. №12. С. 35–44.
14. Патент №2515015 (РФ). Хвойная биологически активная добавка, обогащенная L-аргинином, для повышения продуктивных качеств кур-несушек / В.П. Короткий, Ю.Н. Прытков, С.С. Марисов, Н.И. Гибалкина, А.А. Кистина, Н.П. Чернобровкина, Е.В. Робонен / 2014.
15. Патент №2540354 (РФ). Способ кормления пушных зверей / Н.П. Чернобровкина, Е.В. Робонен, Т.Н. Макарова, А.Р. Унжаков, Н.Н. Тютюнник, Л.Б. Узенбаева, И.Б. Баишникова / 2014.
16. Робонен Е.В., Чернобровкина Н.П., Чернышенко О.В., Зайцева М.И. Источники получения древесной зелени для производства аргининового иммуностимулятора // Вестник Московского государственного университета леса – Лесной вестник. 2012. №3. С. 11–15.
17. 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 // ИВУЗ. Лесной журнал. 2014. №3. С. 67–78.
18. Чернобровкина Н.П. Экофизиологическая характеристика использования азота сосной обыкновенной. СПб., 2001. 175 с.
19. Калинкина Л.Х., Назаренко Л.В., Гордеева Е.Е. Модифицированный метод выделения свободных аминокислот для определения на аминокислотном анализаторе // Физиология растений. 1990. Т. 37, вып. 3. С. 617–621.
20. Аринушкина С.В. Руководство по химическому анализу почв. М., 1970. 487 с.
21. Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1984. 424 с.
22. Ивантер Э.В., Коросов А.В. Введение в количественную биологию. Петрозаводск, 2003. 304 с.

23. Durzan D.J., Steward F.C. The nitrogen metabolism of *Picea glauca* (Moench) Voss and *Pinus banksiana* Lamb. as influenced by mineral nutrition // Canadian Journal of Botany. 1967. Vol. 45. Pp. 695–710.
24. Боровикова А.М. Динамика свободных аминокислот в хвое сосны обыкновенной в течение вегетационного периода // Лесоведение и лесное хозяйство. Минск, 1980. Вып. 15. С. 21–24.
25. Кудашова Ф.Н. Сезонная динамика свободных аминокислот в хвое и корнях сеянцев некоторых хвойных // Биохимическая характеристика хвойных пород Сибири в связи с ростом и морфогенезом. Новосибирск, 1974. С. 111–127.
26. Новицкая Ю.Е., Чикина П.Ф. Азотный обмен у сосны на Севере. Л.: Наука, 1980. 166 с.
27. Durzan D.J. Arginine and the shade tolerance of white spruce saplings entering winter dormancy // Journal of Forest Science. 2010. Vol. 56. Pp. 77–83.
28. Durzan D.J., Steward F.C. Nitrogen metabolism // Plant Physiology: An advanced treatise. Eds. F.C. Steward, R.G.S. Bidwell. N.Y.: Academic Press, 1983. Vol. VIII. Pp. 255–2635.
29. Прокушкин С.Г. Минеральное питание сосны (на холодных почвах). Новосибирск, 1982. 190 с.
30. Шуляковская Т.А., Репин А.В., Шредерс С.М. Влияние подкормок азотом на развитие саженцев березы повислой и карельской березы // Вестник МГУЛ – Лесной вестник. 2010. №1. С. 9–13.
31. Nommik H., Larsson K. Assessment of fertilizer nitrogen accumulation in *Pinus sylvestris* trees and retention in soil by 15N recovery technique // Scandinavian Journal of Forest Research. 1989. Vol. 4. Pp. 427–442.
32. Lahdesmaki P., Pietilainen P. Seasonal variation in the nitrogen metabolism of young Scots pine // Tiivistelmä: Mannyn taimien typpiainevaihdunnan vuodenaikaisvaihtelusta. 1988. Vol. 22(3). Pp. 233–240.
33. Camacho-Cristobal J.J., Gonzalez-Fontes A. Boron deficiency causes a drastic decrease in nitrate content and nitrate reductase activity, and increases the content of carbohydrates in leaves from tobacco plants // Planta. 1999. Vol. 209. Pp. 528–536.
34. Borek S., Morkunas J., Ratajczak W. Metabolism of amino acids in germinating yellow lupin (*Lupinus luteus* L.) seeds. III // Plant Physiol. 2001. Vol. 168. Pp. 179–803.
35. Коновалов В.Н., Зарубина Л.В. Эколого-физиологические особенности хвойных на удобренных почвах. Архангельск, 2011. 338 с.

Поступило в редакцию 5 сентября 2017 г.

После переработки 16 ноября 2017 г.

Для цитирования: Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В., Репин А.В., Макарова Т.Н. Сезонная динамика аргинина в хвое *Pinus Sylvestris* L. в зависимости от сроков внесения азота и бора // Химия растительного сырья. 2018. №2. С. 159–168. DOI: 10.14258/jcrpm.2018022862

Chernobrovkina N.P.*, Robonen E.V., Makarova T.N., Repin A.V. SEASONAL DYNAMICS OF ARGININE CONTENT IN *PINUS SYLVESTRIS* L. NEEDLES DEPENDING ON THE TIMING OF NITROGEN AND BORON APPLICATION

Forest Research Institute, Karelian Research Centre RAS, ul. Pushkinskaya, 11, Petrozavodsk, 185910 (Russia),
e-mail:chernobrovkina50@bk.ru

The annual cycle of arginine content in young and 1-year-old needles of 10-year-old Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) was studied as related to various periods of nitrogen deposition into the soil at a high dose (300 kg/ha) and boron deposition in the optimal dose (3 kg/ha). Fertilizers were applied once, in June, July or August. The amino acid levels in young and 1-year-old needles of control plants remained similar throughout the study period ($0.7 \pm 0.1 - 1.3 \pm 0.1$ $\mu\text{mol/g}$ absolute dry matter), with the peak in May. The placement of the fertilizers in the soil at three instances considerably augmented arginine content in young and 1-year-old needles during the first annual cycle following the impact. Nitrogen and boron application to the soil in June had the highest effect on arginine accumulation, primarily in young needles. The maximum amino acid levels were 618 ± 60 and 152 ± 15 $\mu\text{mol/g DM}$, 256 ± 24 and 154 ± 14 $\mu\text{mol/g DM}$, 132 ± 13 and 76 ± 7 $\mu\text{mol/g DM}$ at the June, July and August fertilization in the young and 1-year-old needles, respectively. The seasonal patterns of arginine accumulation in coniferous plants, as well as the mechanisms through which nitrogen and boron influence this process are discussed.

Keywords: *Pinus sylvestris*, arginine, annual cycle, nitrogen, boron, timing of fertilization.

References

1. Ushanov S.V., Stepen' R.A., Ushanova V.M. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2017, no. 1, pp. 129–136. (in Russ.).
2. Näsholm T., Ericsson A. *Tree Physiology*, 1990, vol. 6, pp. 267–281.
3. Gezelius K., Näsholm T. *Tree Physiology*, 1993, vol. 13, pp. 71–86.
4. Huhn B.G., Schulz H. *New Phytology*, 1996, vol. 134, pp. 95–101.
5. Sudachkova N.E., Miliutina L.I., Kudashova F.N., Semenova G.P., Kozhevnikova N.N. *Lesovedenie*, 1996, no. 3, pp. 57–67. (in Russ.).
6. Sudachkova N.E., Miliutina I.L., Romanova L.I. *J. Stress Physiol.*, 2007, vol. 3, no. 2, pp. 4–14. (in Russ.).
7. Sudachkova N.E., Milyutina I.L., Semenova G.P. *Eurasian Journal of Forest Research*, 2002, vol. 4, pp. 1–11.
8. Engvild K.C. *The "red" decline of Norway spruce or "røde rødgraner" – is it ammonium overload or topdying?* (Denmark. Forskningscenter Risoe. Risoe-R; N 1513(EN)) (2005). Online at: [http://orbit.dtu.dk/en/publications/the-red-decline-of-norway-spruce-or-roede-roedgraner-is-it-ammonium-overload-or-topdying\(93038db2-98a5-496a-b15b-880289c4c7a2\).html](http://orbit.dtu.dk/en/publications/the-red-decline-of-norway-spruce-or-roede-roedgraner-is-it-ammonium-overload-or-topdying(93038db2-98a5-496a-b15b-880289c4c7a2).html).
9. Simkina S.Iu., Alaudinova E.V. *Aktual'nye problemy lesnogo kompleksa*, 2009, no. 23, pp. 134–136. (in Russ.).
10. Alaudinova E.V. *Ekologicheskie osobennosti nizkotemperaturnoi adaptatsii lesobrazuiushchikh khvoinykh vi-dov Sibiri: strukturno-khimicheskie izmeneniia meristem pochek: diss. ... d-ra biol. nauk.* [Ecological features of low-temperature adaptation of forest-forming coniferous species of Siberia: structural and chemical changes in meristems of the kidney: diss. ... Dr. Biol. sciences]. Krasnoyarsk, 2011, 462 p. (in Russ.).
11. Chernobrovkina N.P., Robonen E.V., Zaitseva M.I. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2010, no. 3, pp. 11–14. (in Russ.).
12. Chernobrovkina N.P., Robonen E.V., Morozov A.K., Makarova T.N. *Trudy KarNTs RAN*. 2013, no. 3, pp. 159–165. (in Russ.).
13. Chernobrovkina N.P., Robonen E.V. *Trudy KarNTs RAN*, 2015, no. 12, pp. 35–44. (in Russ.).
14. Patent 2515015 (RU). 2014. (in Russ.).
15. Patent 2540354 (RU). 2014. (in Russ.).
16. Robonen E.V., Chernobrovkina N.P., Chernyshenko O.V., Zaitseva M.I. *Vestnik Moskovskogo gosudarstvennogo universiteta lesa – Lesnoi vestnik*, 2012, no. 3, pp. 11–15. (in Russ.).
17. Robonen E.V., Chernobrovkina N.P., Makarova T.N., Korotkii V.P., Prytkov Iu.N., Marisov S.S. *IVUZ. Lesnoi zhurnal*, 2014, no. 3, pp. 67–78. (in Russ.).
18. Chernobrovkina N.P. *Ekofiziologicheskaiia kharakteristika ispol'zovaniia azota sosnoi obyknovnoi.* [Ecophysiological Characteristics of Pine Nitrogen Usage]. St. Petersburg, 2001, 175 p. (in Russ.).
19. Kalinkina L.Kh., Nazarenko L.V., Gordeeva E.E. *Fiziologiya rastenii*, 1990, vol. 37, no. 3, pp. 617–621. (in Russ.).
20. Arinushkina S.V. *Rukovodstvo po khimicheskomu analizu pochv.* [Guidelines for the chemical analysis of soils]. Moscow, 1970, 487 p. (in Russ.).
21. Zaitsev G.N. *Matematicheskaiia statistika v eksperimental'noi botanike.* [Mathematical statistics in experimental botany]. Moscow, 1984, 424 p. (in Russ.).
22. Ivanter E.V., Korosov A.V. *Vvedenie v kolichestvennuiu biologiiu.* [Introduction to quantitative biology]. Petrozavodsk, 2003, 304 p. (in Russ.).
23. Durzan D.J., Steward F.C. *Canadian Journal of Botany*, 1967, vol. 45, pp. 695–710.
24. Borovikova A.M. *Lesovedenie i lesnoe khoziaistvo.* [Forestry and forestry]. Minsk, 1980, no. 15, pp. 21–24. (in Russ.).
25. Kudashova, F.N. *Biokhimicheskaiia kharakteristika khvoinykh porod Sibiri v sviazi s rostom i morfogenezom.* [Biochemical characteristics of coniferous rocks of Siberia in connection with growth and morphogenesis]. Novosibirsk, 1974, pp. 111–127. (in Russ.).
26. Novitskaia Iu.E., Chikina P.F. *Azotnyi obmen u sosny na Severe.* [Nitrogen Exchange in Pine in the North]. Leningrad, 1980, 166 p. (in Russ.).
27. Durzan D.J. *Journal of Forest Science*, 2010, vol. 56, pp. 77–83.

* Corresponding author.

28. Durzan D.J., Steward F.C. *Plant Physiology: An advanced treatise*, eds. F.C. Steward, R.G.S. Bidwell, N.Y.: Academic Press, 1983, vol. VIII, pp. 255–2635.
29. Prokushkin S.G. *Mineral'noe pitanie sosny (na kholodnykh pochvakh)*. [Mineral nutrition of pine (on cold soils)]. Novosibirsk, 1982, 190 p. (in Russ.).
30. Shuliakovskaia T.A., Repin A.V., Shreders S.M. *Vestnik MGUL – Lesnoi vestnik*, 2010, no. 1, pp. 9–13. (in Russ.).
31. Nommik H., Larsson K. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 1989, vol. 4, pp. 427–442.
32. Lahdesmaki P., Pietilainen P. *Tiivistelmä: Mannyn taimien typpiainevaihdunnan vuodenaikaisvaihtelusta*, 1988, vol. 22(3), pp. 233–240.
33. Camacho-Cristobal J.J., Gonzalez-Fontes A. *Planta*, 1999, vol. 209, pp. 528–536.
34. Borek S., Morkunas J., Ratajczak W. *Plant Physiol.*, 2001, vol. 168, pp. 179–803.
35. Konovalov V.N., Zarubina L.V. *Ekologo-fiziologicheskie osobennosti khvoinykh na udobrennykh pochvakh*. [Ecological and physiological features of conifers on fertilized soils]. Arkhangel'sk, 2011, 338 p. (in Russ.).

Received September 5, 2017

Revised November 16, 2017

For citing: Chernobrovkina N.P., Robonen E.V., Makarova T.N., Repin A.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2018, no. 2, pp. 159–168. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2018022862