

УДК 577.112.385.2:582.47

ПЕРСПЕКТИВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ ОБОГАЩЕНИЯ ДРЕВЕСНОЙ ЗЕЛЕНИ ХВОЙНЫХ L-АРГИНИНОМ И ИНГИБИТОРАМИ ЕГО КАТАБОЛИЗМА

© *Е.В. Робонен^{1*}, Н.П. Чернобровкина¹, О.В. Чернышенко², М.И. Зайцева³, А.Р. Унжаков¹,
А.В. Егорова¹*

¹ Карельский научный центр РАН, ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, 185910 (Россия), e-mail: er51@bk.ru

² Мытищинский филиал Московского государственного технического университета им. Н.Э. Баумана, ул. 1-я Институтская, 1, Мытищи, Московская обл., 141005 (Россия)

³ Петрозаводский государственный университет, пр. Ленина, 33, Петрозаводск, 185910 (Россия)

Перспективным источником L-аргинина, а также натуральных ингибиторов ферментов его катаболизма, являются растения. Значительную часть водорастворимой фракции древесной зелени хвойных растений составляют свободные аминокислоты, в том числе L-аргинин. Разрабатывается биотехнология обогащения L-аргинином древесной зелени хвойных пород путем регулирования азотного и борного обеспечения. Факт многократного увеличения пула свободного L-аргинина в хвое позволяет предположить повышение уровня ингибиторов ферментов его катаболизма. Хвойная зелень содержит гуанидиновые соединения, являющиеся терапевтическими агентами для регулирования активности синтаз оксида азота. L-аргинин, одна из наиболее универсальных аминокислот в метаболизме животного организма, у млекопитающих классифицируется как условно незаменимая. Разбалансированность активностей аргиназного и NO-синтазного путей катаболизма аргинина, конкурирующих за субстрат, может приводить к патологическим последствиям для организма. Активация индуцибельной NO-синтазы или аргиназы отражает тип воспалительной реакции в развитии конкретных заболеваний. При их лечении в качестве мишеней для фармакологического воздействия рассматриваются эффекторы, контролирующие активность ферментов катаболизма. Примеры использования в народной медицине экстрактов из некоторых видов голосеменных приводятся в работах этномедицинской направленности. Анализ современного состояния исследований метаболизма L-аргинина у живых организмов и его особенностей у хвойных растений проведен для научного обоснования перспективности получения обогащенной L-аргинином и эффекторами ферментов его катаболизма древесной зелени.

Ключевые слова: хвойные, древесная зелень, растительные экстракты, аминокислоты, L-аргинин, оксид азота, синтазы оксида азота, аргиназы, ингибиторы катаболизма.

Работа выполнена в рамках проектов: № 0220-2014-0009 по государственному заданию ИЛ КарНЦ РАН; №№ 0221-2014-0031 и 0221-2014-0037 по государственному заданию Института биологии КарНЦ РАН; по Программе развития опорного университета ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет» на 2017–2021 гг.

Введение

Экстрактивные вещества из растительного сырья широко применяются в медицине, ветеринарии,

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

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

Окончание на С. 24.

химической промышленности, сельском хозяйстве. Разрабатываются технологии экстрагирования биологически активных веществ из отходов, образующихся в процессе лесозаготовок и лесопиления [1, 2]. Создаются новые эффективные лекарственные формы с использованием природных соединений из

* Автор, с которым следует вести переписку.

древесной биомассы [3]. Свободные аминокислоты составляют значительную часть водорастворимой фракции древесной зелени хвойных и представляют большой практический интерес [4, 5]. Феномен многократного повышения содержания L-аргинина в хвое древесных растений был обнаружен при избыточном для роста азотном питании [6, 7]. Разрабатывается биотехнология обогащения аргинином древесной зелени хвойных пород путем регулирования азотного и борного обеспечения [8–15].

L-аргинин играет важную роль в метаболизме животного организма, а у млекопитающих классифицируется как условно незаменимая аминокислота [16–18]. Он присутствует в рецептуре фармакологических препаратов, используется в ветеринарной практике, в кормопроизводстве [18, 19]. Кроме участия в синтезе белков, является предшественником для синтеза мочевины, цитруллина, полиаминов, пролина, глутамата, креатина, агматина, γ -аминомасляной кислоты и оксида азота (NO) [20–23]. Разбалансированность активностей двух основных путей катаболизма L-аргинина – аргиназного и NO-синтазного (NOS), конкурирующих за субстрат, может приводить к патологическим последствиям для организма. Активно ведется поиск биологически активных соединений, регулирующих катаболизм L-аргинина [24]. Разрабатываются фармакологические селективные ингибиторы ферментов катаболизма аргинина. Перспективными являются ингибиторы природного происхождения [25]. Накопление определенных БАВ в тканях растений, значительно превышающее средний уровень, может быть обусловлено не только интенсивным синтезом, но и высоким уровнем ингибиторов их катаболизма.

Цель обзора – анализ современного состояния исследований метаболизма L-аргинина у живых организмов и его особенностей у хвойных растений для научного обоснования перспективности целенаправленного обогащения растительного сырья L-аргинином и ингибиторами его катаболизма.

Аргинин это одна из наиболее универсальных аминокислот, ее обмен строго регулируется большой группой ферментов с четкой клеточной специфичностью паттернов их экспрессии [21]. В клетках млекопитающих L-аргинин может быть катаболизирован четырьмя группами ферментов: синтазами оксида азота (NO-синтазами, EC 1.14.13.39), аргиназами (EC 3.5.3.1), аргинин:глицинамидинотрансферазами (EC 2.1.4.1) и аргининдекарбоксилазой (EC 4.1.1.19) [20–22, 26]. За исключением последней, все эти ферменты действуют на гуанидиногруппу L-аргинина. Осложняет изучение метаболизма существование нескольких изоформ участвующих в нем ферментов.

NO-синтазный и аргиназный пути катаболизма аргинина

У млекопитающих идентифицированы три различные изоформы NO-синтаз: эндотелиальная (eNOS), нейрональная (nNOS) и индуцибельная (iNOS). Открытие сигнальной функции NO привело к интенсификации исследований его синтеза как у животных, так и у растений [27, 28]. В эндотелиальных клетках NO синтезируется из гуанидинового азота L-аргинина изоформой eNOS.

Аргиназы, трехмерные металлоэнзимы, широко распространены в биосфере и представлены во всех царствах живой природы [22, 25]. Переключение между аргиназным и NOS путями катаболизма аргинина контролируется различными механизмами. Повышенная экспрессия аргиназ может ослабить путь NOS, часто со значительными физиологическими нарушениями [23, 22]. Аргиназы понижают биодоступность L-аргинина для биосинтеза NO и являются лекарственной мишенью при лечении сердечно-сосудистых заболеваний [29]. В растениях повышенная активность аргиназы может иметь защитную роль, действуя в качестве противонутриентного фактора, защищая от насекомых-фитофагов, или путем снижения клеточной пролиферации в развитии галлов, патологических образований на органах растений [25].

Чернышенко Оксана Васильевна – доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой декоративного растениеводства и физиологии растений,
e-mail: tchernychenko@mgul.ac.ru

Зайцева Мария Игоревна – кандидат технических наук,
доцент, e-mail: 2003bk@bk.ru

Унжаков Алексей Рудольфович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник,
e-mail: uar@bio.krc.karelia.ru

Егорова Анастасия Васильевна – аспирант,
e-mail: egorova.anast@mail.ru

Аргинин в кормопроизводстве, фармакотерапии, спортивном питании

Способность к эндогенному синтезу L-аргинина и потребность в нем у разных видов животных неодинакова. Плотоядные животные, рыбы, домашняя птица с низкой способностью к эндогенному синтезу L-аргинина или отсутствием таковой, как, например, у кошек и хорьков, имеют высокую

потребность в нем [11, 30, 31]. В качестве иммуностимулятора аргинин испытывали для повышения иммунного статуса телят, при лечении фасциоза коров, инфекционных заболеваний бройлеров [16, 18].

Физиологическое усвоение L-аргинина человеком при обычном питании составляет около 4–6 г в сутки [32]. Данные по количественному определению скорости образования NO в организме человека при инфузии экзогенного L-аргинина свидетельствуют о дозозависимой фармакокинетике процесса [33].

Увеличивается список заболеваний с признаками дефицита L-аргинина и аргинин-дефицитного синдрома (ADS) [34]. Европейская ассоциация клинического питания и метаболизма (ESPEN) рекомендует регулярное обогащение L-аргинином рациона хирургических пациентов [34]. При лечении ADS обеспечивают блокаду активности аргиназы I и рацион питания, восстанавливающий концентрацию L-аргинина в плазме [34].

Целый класс спортивных добавок – «донаторов NO» был разработан на основе теоретического предположения об улучшении физической выносливости в результате увеличения образования NO после приема L-аргинина [35]. Однако относительно биодоступности перорального L-аргинина у здоровых людей мнения специалистов различны. В дозах до 20 г он не давал преимуществ в отношении увеличения концентрации NO и усиления кровотока [35]. Предполагается лимитирование процесса не доступностью L-аргинина, а уровнем активности NO-синтаз [36, 35].

Ингибиторы NO-синтаз и аргиназ в фармакотерапии

Предполагается возможность использования различных аналогов L-аргинина – конкурентных ингибиторов NO-синтаз при лечении патологий, сопровождающихся гиперпродукцией NO [37]. Регуляторы, контролирующие активность NO-синтаз, могут являться мишенями для фармакологического воздействия [38, 39]. Исследуется возможность использования природных гуанидиновых соединений в качестве ингибиторов NO-синтаз [40].

Усиление активности аргиназного пути, конкурируя за субстрат с NOS-путем, приводит к сердечно-сосудистым, иммунологически опосредованным заболеваниям, болезням органов дыхания [34]. Ведутся интенсивные поиски химических соединений, обладающих свойствами ингибиторов аргиназ [24].

Растительные ингибиторы аргиназы

Перспективным источником натуральных ингибиторов аргиназ могут являться растения [24]. В первую очередь рассматривались традиционные лекарственные растения, используемые при лечении сердечно-сосудистой системы [25]. Показано ингибирующее действие аргиназ воздействием экстракта петролейного эфира из коры фикуса кистевидного (*Ficus glomerata*) [25]; экстракта какао-бобов (*Theobroma cacao*) [41]. Этилацетатный экстракт ядровой древесины цезальпинии (*Caesalpinia sappan*) проявлял дозозависимое ингибирующее действие на аргиназу II [42]. Водный экстракт корейского красного женьшеня (шестилетнего корня *Panax ginseng*), этилацетатная фракция метанольного экстракта наземной части саврурусуса китайского (*Saururus chinensis*), соединение фенольной природы, выделенное из корневища ревеня волнистого (*Rheum undulatum* L) и тритерпеноиды из растений семейства рутовых (Rutaceae) ингибировали активность аргиназ I и II [42–45]. Немного уменьшали активность аргиназ н-бутанольная или водная фракции метанольного экстракта листьев рамнецветника (*Loranthus micranthus*) [46]. В ходе скрининга растений, используемых в натуральных лекарственных средствах, значительное ингибирующее действие на активность аргиназы II показал метанольный экстракт шлемника индийского (*Sutellaria indica*) [47].

Многokратное повышение содержания L-аргинина в хвое древесных растений при повышенном азотном питании [7, 12], видимо, не только указывает на стимулирование синтеза L-аргинина, но и ингибирование его катаболизма, что позволяет предположить повышение уровня ингибиторов его ферментов. Выявлено положительное влияние водного экстракта из обогащенной L-аргинином древесной зелени хвойных на продуктивность и иммунный статус животных [11], что, предположительно, явилось результатом комплексного воздействия как самого L-аргинина, так и эфферторов ферментов его метаболизма.

Аргинин у растений

Азот является лимитирующим ресурсом для роста растений в большинстве наземных местообитаний. Аргинин, имея самое высокое, среди протеиногенных аминокислот, значение N/C, является наиболее

подходящей формой хранения органического азота в растении. В белках семян различных видов растений 40–50% от общего запаса азота представлено L-аргинином [48, 49]. Он составляет 50% пула азота свободных аминокислот в развивающихся эмбрионах сои [50] и гороха [51], часто является основной формой хранения азота в подземных запасующих органах, в корнях древесных и травянистых растений [6, 52, 53]. Его метаболизм играет ключевую роль в распределении и утилизации азота у растений [54]. Обширная информация о достижениях в области исследований метаболизма L-аргинина у высших растений в основном касается работ на арабидопсисе (*Arabidopsis thaliana* (L.) как модельном растении. Предложена двух-этапная модель биосинтеза L-аргинина в растении, согласно которой, на первом этапе из глутамата по циклическому или по линейному пути, через несколько ацелированных промежуточных соединений синтезируется орнитин, из которого далее ферментами линейного пути – L-аргинин [50, 54]. Скорость происходящего в хлоропластах синтеза L-аргинина жестко регулируется различными механизмами обратной связи в соответствии с общим статусом питания [55]. Внутриклеточный метаболизм L-аргинина распределяется по трем компартментам: цитозоль, пластиды и митохондрии (рис. 1) [56].

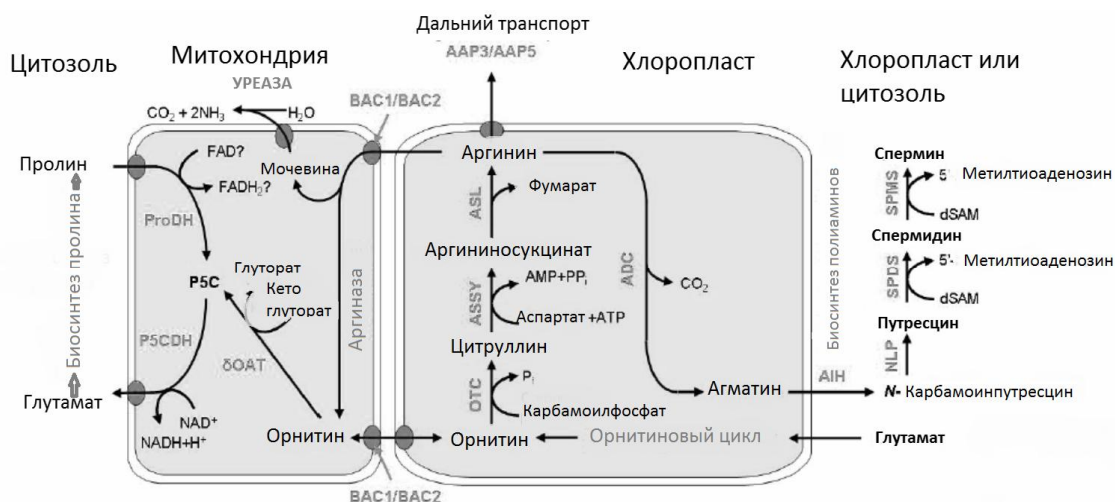


Рис. 1. Метаболизм аргинина у арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* (L.) [56]

Вновь синтезированный, он может использоваться для синтеза белка непосредственно в пластидах или, после внутриклеточного транспорта, в цитозоле и митохондриях [55]. Дальний транспорт L-аргинина в органы хранения азота или в семена происходит по сосудистой ткани с загрузкой и разгрузкой аминокислотными транспортерами [57, 55].

Ферменты биосинтеза L-аргинина у растений были частично описаны биохимически [58], но пока мало известно о генах, кодирующих эти ферменты, и многие этапы биосинтеза L-аргинина у растений по-прежнему недостаточно изучены [55].

Подробная биохимическая и физиологическая характеристика ферментов, опосредующих метаболизм L-аргинина, обеспечит лучшее понимание его роли в эффективности использования азота растениями [55]. Знания об основных посредниках и триггерах процессов запасаания азота в форме L-аргинина и его ремобилизации необходимы в селекционной работе по улучшению культурных растений, по совершенствованию методов культивирования [55], для разработки технологий получения обогащенного L-аргинином и ингибиторами его катаболизма растительного сырья, постановки новых задач фармацевтических исследований [13, 28].

Синтез оксида азота у растений и его роль

Исследования синтеза NO у растений и у животных в историческом плане складывались по-разному. NO продуцируется в различных клеточных компартментах: митохондриях, пероксисомах и хлоропластах [59]. Первым был обнаружен механизм образования NO в растениях с участием нитратредуктазы, которая обычно редуцирует нитраты в нитриты, но может восстанавливать нитриты до NO. Относительно механизмов образования и утилизации NO у растений единое мнение пока не сложилось. В то время как хорошо доказано, что цитозольная нитратредуктаза является важным источником NO, вклады других ме-

ханизмов, в том числе использующих полиамины, гидроксилламин, аргинин, исследуются [28, 59]. Многими исследованиями было показано, что растения, как и животные, могут синтезировать NO и цитруллин из аргинина и кислорода в качестве субстратов [28, 60]. Предполагается возможным неферментативное образование NO [55, 74]. Механизм синтеза NO в растительных клетках, в отличие от животных, остается предметом дискуссий [61]. Предложено рассматривать этот вопрос, опираясь на сведения, полученные при изучении особенностей функционирования NO у животных [62]. Такой сравнительный анализ позволяет выявлять аналогии и различия в современном понимании механизмов синтеза NO и его роли у растений и животных. Используя ингибиторы NO-синтазы животных в экспериментах с растениями, удалось подтвердить существование у них NOS-подобных ферментов, преобразующих аргинин [63, 64]. NOS-подобная активность была обнаружена у табака, арабидопсиса, сои, кукурузы, люпина [65–69]. Анализ полностью секвенированных геномов арабидопсиса и риса (*Oryza sativa*) не обнаружил ни одного гена или белка, полностью гомологичного известным NO-синтазам животных, следовательно, обнаруженная NO-синтазная активность в растениях может происходить с участием ферментов, отличных от белков млекопитающих [61]. Из фотосинтезирующих организмов у одноклеточной зеленой водоросли *Ostreococcus tauri* обнаружена функционально активная NOS, которая на 45% гомологична NOS человека [62, 70].

Вопросы, связанные с NO у растений, впервые привлекли внимание исследователей в связи с регуляцией защитных реакций от воздействия патогенов [59, 66, 67]. Известно, что ряд сигнальных молекул или гормонов, в том числе салициловая кислота, жасмонаты и этилен, участвуют в таких реакциях [71]. Накапливаются данные, свидетельствующие о роли NO в активации реакций устойчивости. Экзогенный NO индуцировал экспрессию генов защиты, производство антимикробных соединений, известных как фитоалексины, у различных видов растений [66, 67]. В растениях NO регулирует многие процессы: покой семян, рост листа, вегетативный рост побегов, клеточное деление, ксилемную дифференцировку, развитие корневой системы, взаимодействие растение – ризобактер, гравитропическую реакцию, время цветения, рост пыльцевой трубки, нутриентный статус и, опосредованно, через АБК – устьичную регуляцию [28, 70, 72]. Роль NO как эффективного эндогенного регулятора покоя семян показана в экспериментах с семенами арабидопсиса и ячменя (*Hordeum vulgare* L.). Использование экзогенного донора NO нитропруссид натрия показал дозозависимый характер влияния. Его воздействие на покоящиеся семена арабидопсиса в концентрации до 25 мкМ нарушало покой и стимулировало прорастание, но при 250 мкМ или более ингибировало прорастание, ухудшало рост проростков, корней [73].

Аргиназный путь катаболизма аргинина у растений

На ранней стадии развития проростков большое количество L-аргинина, хранящегося в семенах, транспортируется к митохондриально локализованной аргиназе, где его катаболизм начинается с деградации в орнитин и мочевины [74]. Мочевина экспортируется в цитозоль, где уреазы катализируют ее гидролиз до аммиака и карбаминовой кислоты; спонтанно гидролизуемой на аммиак и бикарбонат. Быстрый гидролиз мочевины уреазой может вызвать локализованное ощелачивание, дополнительно стимулирующее аргиназу, для которой $\text{pH} \geq 9.5$ является оптимальным. Кроме участия в процессе прорастания уреазы играют ключевую роль в утилизации азота, запасенного преимущественно в форме L-аргинина, во время старения или в процессе сезонных изменений [55]. Дефицит сахаров вызывал существенное увеличение активности ферментов аргиназы, уреазы и аргининдекарбоксилазы, запуская синтез полиаминов, что было показано для люпина желтого (*Lupinus luteus* L.) [55, 72]. Орнитин может быть перенесен обратно в пластиды, чтобы повторно включиться в биосинтез аргинина, как в цикле мочевины у млекопитающих [44].

Особенности метаболизма аргинина у хвойных растений

Метаболические пути, циклы, и ферменты, ответственные за метаболизм L-аргинина у хвойных активно изучаются. Первое сообщение об образовании NO из L-аргинина у хвойных было предоставлено Магалхаес [75]. Предложена схема синтеза NO с помощью NOS из L-аргинина [40]. У хвойных защитный уровень NO быстро вырабатывается в ответ на механическое воздействие, экологические стрессы, ранения, в качестве защитного механизма от вредителей и болезней [40, 60, 76]. NO активирует вторичные мессенджеры, которые участвуют в фосфорилировании белков, нитрозилировании, экспрессии генов, активации адаптивной пластичности. Производство NO из L-аргинина явилось значительным эволюционным прогрессом у голосеменных еще до появления покрытосеменных [40].

Аргинин является ключевым звеном цикла мочевины для синтеза мочевины и орнитина через аргиназу (рис. 2). Он является субстратом для образования NO и цитруллина через NOS, и для гуанидиновых соединений, и для синтеза белка. При наступлении зимнего покоя азот аргинина и других гуанидиновых соединений, а также пролина накапливается в тканях хвойных растений. Аргинин хранится в запасных белках, чтобы обеспечить азотом синтез аминокислот, амидов и возобновления синтеза белка и нуклеиновых кислот в весенний период [40].

На рисунке 2 реакции с 1 до 4 представляют частные реакции цикла мочевины в растениях. Не показан синтез и круговорот белков, которые изменяют пул доступного L-аргинина и других белковых аминокислот. Реакции 2, 3 и 5 содержат путь L-аргинин-NO и цикл цитруллин-NO, которые отвечают за стрессиндуцированное формирование NO из аргинина и кислорода. 6. Аргинин деиминаза пока неизвестна у хвойных, но обнаружена в других растений. Шаги 7 и 8 выводят L-аргинин из цикла мочевины и переводят азот в гуанидиновые соединения, встречающиеся в природе, некоторые из которых являются ингибиторами дыхания.

Богаты L-аргонином запасующие белки семян хвойных. У сосны ладанной L-аргинин составляет более 23% от аминокислот мегагаметофита и составляет более 46% от общего содержания азота [49]). Азот L-аргинина высвобождается для использования сеянцем через активность фермента аргиназы. Активность аргиназы онтогенетически регулируется во время раннего роста сеянцев; увеличение внеклеточной активности фермента совпадает с увеличением пула свободных аминокислот сеянца, наиболее обильным компонентом которого является L-аргинин [49]. Показано, что аргиназа сосны ладанной положительно реагировала на повышенный уровень L-аргинина в сеянце, но ее активность ингибировалась при повышении уровня мочевины в семядолях (рис. 3) [49].

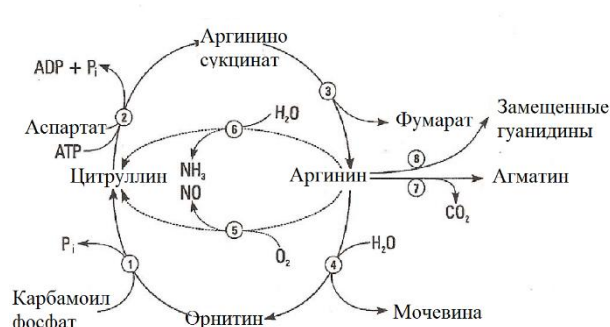


Рис. 2. Метаболизм L-аргинина. Частные реакции цикла мочевины, пути L-аргинин-NO, цикла цитруллин-NO, и точки разветвления, ведущего к образованию гуанидиновых соединений у хвойных. Ферменты: 1. орнитин карбамоила трансферазы, 2. аргининосукцинат синтетазы, 3. аргининосукцинат лиазы, 4. аргиназа, 5. синтазы окиси азота, 6. аргинин деиминаза, 7. аргининдекарбоксилаза, 8. многочисленные ферменты, действующие на аргинин и отвечающие за формирование гуанидиновых соединений [40]

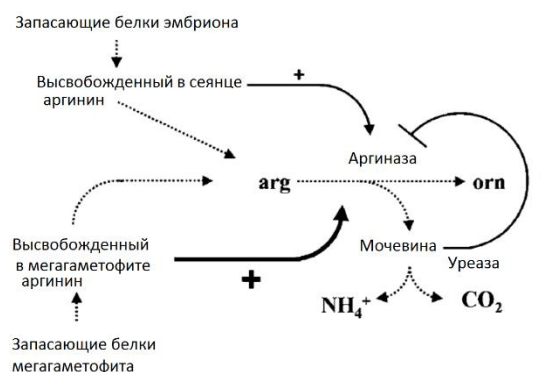


Рис. 3. Схематическое представление использования аргинина и регулирования аргиназы у сеянцев сосны ладанной (*Pinus taeda* L.). Поток обмена веществ (- - ->). Положительная (+) или отрицательная (-) регуляция (->) [49]

Роль минерального питания

Содержание аминокислот в органах хвойных растений является динамическим показателем, изменяющимся под действием различных факторов среды [5, 7, 77]. Хвойные леса, как правило, растут на кислых подзолистых лесных почвах, которые характеризуются низким содержанием нитратов и нитритов. Разбалансированность минерального питания хвойных растений, наряду с другими неблагоприятными условиями среды, приводит к изменению состава свободных аминокислот в их тканях [5, 6, 9, 13, 78, 79]. К разбалансированности в обеспеченности элементами питания, прежде всего фосфором, и ограничению

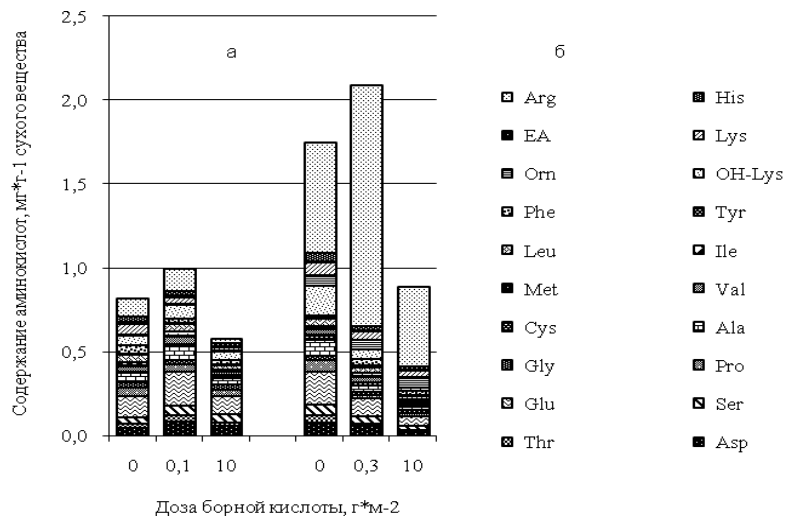
интенсивности фотосинтеза может приводить внесение азота в высоких дозах [80, 81]. В пуле свободных аминокислот у хвойных растений на богатых азотом почвах обычно доминирует L-аргинин [6, 82]. Синтез L-аргинина часто наблюдается в ответ на низкую доступность фосфора, но может быть вызван недостатком других макро- и микроэлементов и, предположительно, является общей реакцией на стрессы, снижающие рост, а не в ответ на доступность какого-то конкретного элемента питания [82].

В условиях Финноскандии дефицитным для роста хвойных растений, наряду с азотом, является бор [13]. Проведенные в Южной Карелии полевые и вегетационные эксперименты показали стимулирующее влияние азота и бора на накопление L-аргинина в хвое сосны обыкновенной [7, 8, 10, 13, 14] (рис. 4).

Выявлены особенности взаимного влияния азота и бора на аминокислотный состав хвои. Высокая доза азота и оптимальная – бора повышали содержание суммы свободных аминокислот в хвое [83]. При внесении азота, независимо от обеспеченности бором, повышался уровень аргинина, орнитина и лизина. В условиях дефицита бора содержание в хвое OH-лизина, глутаминовой и аспарагиновой кислот, аланина, серина, треонина, пролина и метионина при внесении азота увеличивалось, а в условиях оптимального борного обеспечения – сокращалось. Оптимизация борного питания сеянцев приводила к повышению суммы свободных аминокислот в хвое в условиях низкого фона азота за счет глутамата, аспартата, аланина и OH-лизина, а в условиях высокого фона азота – преимущественно за счет аргинина (рис. 3). Уровень фенилаланина и тирозина в последнем варианте также повышался, а всех остальных аминокислот снижался [83].

Активируя поглощение азота корневой системой, бор способствовал повышению синтеза аргинина в хвое. В то же время, стимулируя транспорт углеводов в растении и устраняя, таким образом, дефицит сахаров – необходимое условие для активности ферментов аргиназы, уреазы и аргининдекарбоксилазы, бор может опосредованно ингибировать катаболизм аргинина. В результате, бор стимулирует синтез и в то же время ингибирует катаболизм аргинина, обеспечивая его накопление в хвое, что подтверждают экспериментальные данные [7–9, 14]. Возможно, механизм подавления активности ферментов катаболизма аргинина объясняется не только устранением дефицита углеводов, но и стимуляцией ингибиторов этих ферментов. Необходимы дальнейшие исследования для выявления возможной роли ингибиторов аргиназы в накоплении L-аргинина, высокую активность которых логично предположить при столь значительной его аккумуляции в хвое. Такие исследования могут иметь большое практическое значение.

Рис. 4. Содержание свободных аминокислот в хвое сеянцев сосны обыкновенной при различном обеспечении азотом и бором: а – низкий фон азотного питания, б – высокий [83]



Поглощение почвенного органического азота. Почвенный аргинин

Статус азота в растении зависит от совместного наличия органических и неорганических его источников [85]. Различные растения бореальных лесов, как микоризные, так и не микоризные, имеют способность поглощать органический азот в полевых условиях; однако степень, в которой он служит в качестве существенного источника азотного питания растений, по-прежнему обсуждается [84, 85]. В бореальных лесах в почвах преобладает органический азот и, следовательно, он может составлять значительную часть азота, доступного для поглощения растениями. В этих почвах с доминированием органического азота по скорости минерализации полностью не оценить доступный для растений азот [85]. Было высказано предположение, что узким местом в доступности азота для растений в этих экосистемах является скорость

деполимеризации органических соединений с высокой молекулярной массой в органические соединения с низкой молекулярной массой, такие как небольшие пептиды и аминокислоты [85, 86].

Много исследований посвящено выяснению значения неорганического и органического почвенного азота для хвойных растений. Было изучено поглощение неорганического азота в аммонийной (NH_4^+) и нитратной (NO_3^-) формах и взаимодействие этих форм азота при корневом поглощении. Показано, что многие виды хвойных имеют сильное предпочтение NH_4^+ по сравнению с NO_3^- , кроме того, присутствие NH_4^+ ингибирует поглощение NO_3^- [87].

Экспериментально показано, что хвойные поглощают сравнимые или даже более высокие количества органического азота, чем азота NH_4^+ [85, 87]. Показано, что семена сосны обыкновенной проявляют сильное предпочтение азоту в форме NH_4^+ и АРГ по сравнению с азотом в форме NO_3^- [85].

Наряду с возможным влиянием совместного присутствия различных источников азота и воздействия его экзогенных концентраций, поглощение азота также зависит от внутреннего азотного статуса растения. Отмечается, что поглощение азота при различных его уровнях в неорганической и органической формах было выше у не удобренных, чем у предварительно удобренных семян.

Для оптимизации технологии целенаправленного обогащения растительного сырья азотными соединениями, в частности L-аргинином, важно понимание того, как одновременное присутствие почвенного азота в органической и неорганической формах, влияет на корневое поглощение, выяснение относительной важности этих форм азота в питании хвойных растений.

Аргинин хвойных как нутриент и фармацевтическая субстанция

При разработке продуктов лечебного питания, поиске сырьевых источников натуральных нутриентов и фармацевтических субстанций, привлекается обширная информация из этноботанической и этномедицинской литературы, используется междисциплинарный подход [40]. Водорастворимая фракция древесной зелени хвойных содержит в своем составе свободные аминокислоты, которые могут использоваться в качестве компонентов лечебного питания. При восстановлении от цинги они активизируют зависимый от витамина С биосинтез коллагена, способствуют заживлению ран, снижают восприимчивость к сепсису и вносят вклад в увеличение веса [40]. Хвойные растения содержат образованные из L-аргинина гуанидиновые соединения – потенциальные терапевтические агенты для регулирования различных NO-синтаз в случаях, когда перепроизводство NO связано с септическим шоком, нейродегенерацией, воспалением. Предложена гипотеза о нутриентной и синергической роли L-аргинина и его метаболитов, дополняющих роль витамина С [40]. Одним из ранних задокументированных фактов использования хвойных растений в народной медицине было лечение от цинги зимой 1536 года экипажа Жака Картье полученным у ирокезов отваром зимней хвои и коры вечнозеленого дерева, названного «Annedda», или «дерево жизни». Семена хвойных деревьев, являясь источником аргинина и веществ, содержащих гуанидиновую группу, широко использовались американскими индейцами в качестве пищи и в лечебных целях [40]. В Канаде издавна был популярен «Sapinette», отвар из почек хвойных древесных растений видов: пихты белой (*Abies alba*), пихты бальзамической (*A. Balsamea*), ели обыкновенной (*Picea abies*), рецепт которого, как предполагают, пришел с Балтийского побережья, где широко использовался на российском флоте [40]. Чай, отвары и пиво готовили из хвои ели и сосны, использовали для лечения от цинги.

Экстракты сосновой коры, которые содержат комплекс гуанидинов и процианидинов, используются для лечения некоторых патологий человека. Антиоксидантные свойства процианидинов модулируют iNOS, усиливают иммунную и кроветворную функции, противодействуют сужению кровеносных сосудов через ингибитор ангиотензинпревращающего фермента, способствуют противовоспалительной активности, а также защищают от ультрафиолетового излучения [60]. При лечении множества заболеваний могут использоваться флавоноиды и другие фенолы, аскорбат, глутатион, витамин Е и β -каротин из древесной зелени и коры хвойных. В доклинических испытаниях показано, что гуанидиносукцинат имитировал действие L-аргинина как вазодилататора в качестве источника NO, дигуанидины оказались эффективными в лечении сахарного диабета [46].

Широкий спектр вторичных метаболитов растений влияет на физиологию человека посредством контроля активности NO-синтаз и апоптоза. Однако, агент, активирующий апоптоз в предраковых клетках, полезен для человека из группы риска развития опухоли, но не является общеукрепляющим средством, так как активируя апоптоз в постмитотических клетках, способствует дегенеративным заболеваниям [46]. Не-

обходима осторожность при интерпретации исследований, связанных с полезными и вредными свойствами гуанидинов и активных форм азота, особенно когда в рассмотрение вовлечен апоптоз [46].

Разработка и внедрение технологии производства фармацевтических субстанций, галеновых и новогаленовых препаратов из обогащенной L-аргинином хвои позволит сократить импорт дорогостоящих лекарственных препаратов для медицинской и ветеринарной практики. L-аргинин входит в состав многих терапевтических препаратов и противовирусных средств. Применяется в кардиологии и иммунологии, поскольку является источником образования окиси азота (NO) – мощного сосудорасширяющего фактора и нейромедиатора, замедляет рост доброкачественных и злокачественных опухолей, способствует заживлению ран, регулирует выработку гормонов, используется при заболеваниях почек, в лечении или предотвращении цирроза печени. Аргинин широко применяется также в сельском хозяйстве. Его добавление к кормам, наряду с лизином и метионином, способствует быстрому росту животных и повышает их продуктивность. Сведения об участии L-аргинина в метаболизме, укреплении иммунитета, в процессах роста и воспроизводства млекопитающих животных представлены ранее [15]. Разрабатывается биотехнология повышения уровня L-ргинина в древесной зелени хвойных пород и получения из нее хвойных препаратов – хвойной муки и водного хвойного экстракта. Положительное влияние на физиологическое состояние и продуктивность сельскохозяйственной птицы, иммунный статус пушных зверей наблюдали при испытании разработанных препаратов [15, 88, 89].

Заключение

Представлена информация о достижениях в исследовании некоторых аспектов метаболизма аргинина у растений и животных, его роли в качестве источника оксида азота. Подчеркнуты особенности в исследовании синтеза оксида азота у животных и растений. В связи с изысканием новых сырьевых источников биологически активных веществ, показана перспективность получения аргинина и ингибиторов ферментов его катаболизма из растительного сырья. Разрабатываются способы целенаправленного изменения биохимического состава и фармакологических свойств органов и тканей растений. Приводятся результаты исследований метаболизма аргинина у хвойных растений в связи с условиями минерального питания. Отмечается способность хвойных накапливать в органах и тканях значительное количество L-аргинина. Предложено рассматривать хвойные как источник растительного сырья, богатого L-аргинином и эффекторами ферментов его метаболизма для использования в фармацевтике, ветеринарии, кормопроизводстве. Приводятся работы этномедицинской направленности с примерами использования экстрактов из некоторых видов голосеменных в народной медицине.

Список литературы

1. Ушанова В.М. Переработка древесной зелени и коры пихты сибирской с получением биологически активных продуктов // Хвойные бореальной зоны. 2013. Т. 30. №1-2. С. 138–142.
2. Хуршайнен Т.В., Скрипова Н.Н., Кучин А.В. Сравнительная оценка экстракционного оборудования для эффективного выделения экстрактивных веществ хвойной древесной зелени // Теоретическая и прикладная экология. 2017. №1. С. 25–30.
3. Короткий В.П., Великанов В.И., Богданович Н.И., Рошин В.И., Водопьянов И.Ф., Чечет И.В. Разработка новых технологий получения лекарственных форм для ветеринарной медицины на основе живицы сосновой // Известия высших учебных заведений. Лесной журнал. 2012. №5. С. 125–133.
4. Ягодин В.И. Основы химии и технологии переработки древесной зелени. Л.: Изд-во ЛГУ, 1981. 224 с.
5. Алаудинова Е.В., Миронов П.В. Свободные аминокислоты вегетативных органов *Picea obovata* L. и *Pinus sylvestris* L. // Химия растительного сырья. 2017. №3. С. 85–91.
6. Nordin A., Uggla C., Nasholm T. Nitrogen forms in bark, wood and foliage of nitrogen-fertilized *Pinus sylvestris* // Tree Physiology. 2001. N21. Pp. 59–64
7. 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. 71–75.
8. 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. Т. 86. №3. С. 11–15.
9. 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.

10. Робонен Е.В., Чернобровкина Н.П., Макарова Т.Н., Короткий В.П., Прытков Ю.Н., Марисов С.С. Накопление L-аргинина в хвое и распределение по кроне сосны обыкновенной при регуляции азотного и борного обеспечения // Известия высших учебных заведений. Лесной журнал. 2014. Т. 339. №3. С. 67–78.
11. Унжаков А.Р., Тютюнник Н.Н., Узенбаева Л.Б., Баишникова И.В., Антонова Е.П., Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В., Илюха В.А. Физиологическое состояние щенков американской норки (*Mustela vison*) при действии экстракта из обогащенной L-аргинином хвои // Труды КарНЦ РАН. 2014. №5. С. 222–226.
12. 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 / 18.12.2014.
13. Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В., Унжаков А.Р., Тютюнник Н.Н. Аргинин в жизни хвойных растений // Сибирский экологический журнал. 2016. №5. С. 729–738.
14. Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В., Макарова Т.Н., Репин А.В. Сезонная динамика содержания аргинина в хвое сосны обыкновенной после внесения азота и бора // Лесоведение. 2017. №5. С. 39–46.
15. Унжаков А.Р., Антонова Е.П., Сергина С.Н., Баишникова И.В., Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В. Влияние обогащенного L-аргинином хвойного экстракта на биохимические показатели крови щенков-гипотрофиков норки // Кролиководство и звероводство. 2017. №3. С. 104–105.
16. Дахно И.С. Влияние иммуностимуляторов L-аргинина и РНК на иммунный статус коров при фасциолезе // Вісник Полтавського державного сільськогосподарського інституту. 2000. №5. С. 32–34.
17. Марков Х.М. L-аргинин – оксид азота в терапии болезней сердца и сосудов // Кардиология. 2005. №6. С. 87–95.
18. Cengiz Ö., Küçükersan S. Effects of graded contents of arginin supplementation on growth performance, haematological parameters and immune system in broilers // Revue Méd. Vét. 2010. Vol. 161. N8-9. Pp. 409–417.
19. Ульянов А.М., Оберган Т.Ю., Шубина Т.А. Пасторова В.Е., Ляпина Л.А. Исследование протектирующего действия комплекса аргинина с гепарином при экспериментальном развитии инсулинзависимого диабета // Известия РАН. Сер. биол. 2010. №1. С. 109–114.
20. Wu G.Y., Morris S.M. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond // Biochem. J. 1998. Vol. 336. Pp. 1–17.
21. Morris S.M. Arginine Metabolism: Enzymology, Nutrition, and Clinical Significance // Annu. Rev. Nutr. 2002. Vol. 22. Pp. 87–105.
22. Chen H., McCaig B.C., Melotto M., He S.Y., Howell G.A. Regulation of Plant Arginase by Wounding, Jasmonate, and the Phytotoxin Coronatine // J. Biol. Chem. 2004. Vol. 279. N44. Pp. 45998–46007. DOI: 10.1074/jbc.M407151200.
23. Якушев В.И., Покровский М.В., Корокин М.В. Покровская Т.Г., Куликовская В.Д., Ершов И.Н., Бесхмельница Е.А., Арустамова А.А., Котельникова Л.В. Аргиназа – новая мишень для фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции // Научные ведомости БелГУ. Серия Мед. Фармация. 2012. №22 (141). Вып. 20/3. С. 36–40.
24. Pham T.N., Bordage S., Pudlo M., Demougeot C., Thai K.M., Girard-Thernier C. Cinnamide Derivatives as Mammalian Arginase Inhibitors: Synthesis, Biological Evaluation and Molecular Docking // Int. J. Mol. Sci. 2016. Vol. 17(10). E1656
25. Girard-Thernier C., Pham T.N., Demougeot C. Promise of Plant-Derived Substances as Inhibitors of Arginase // Mini Rev Med Chem. 2015. Vol. 15. N10. Pp. 798–808.
26. Satriano J. Agmatine: At the Crossroads of the Arginine Pathways // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2003. Vol. 1009. Pp. 34–43.
27. Balaban R.S., Nemoto S., Finkel T. Mitochondria, oxidants, and aging // Cell. 2005. Vol. 120. Pp. 483–495.
28. Crawford N.M. Mechanisms for nitric oxide synthesis in plants // J. Exp. Botany 2006. Vol. 57. N3. Pp. 471–478.
29. D'Antonio E.L., Christianson D.W. Binding of the unreactive substrate analog L-2-amino-3-guanidinopropionic acid (dinor-L-arginine) to human arginase // Acta Cryst. 2012. Vol. F68. Pp. 889–893.
30. Ball R.O., Urschel K.L., Pencharz P.B. Nutritional consequences of interspecies differences in arginine and lysine metabolism // J. Nutr. 2007. Vol. 137. N6. Pp. 1626S–1641S.
31. Eisert R.L. Hypercarnivory and the brain: protein requirements of cats reconsidered // J. Comp. Physiol. B. 2011. Vol. 181. N1. Pp. 1–17. DOI: 10.1007/s00360-010-0528-0.
32. Visek W.J. Arginine needs, physiological state and usual diets // A reevaluation. J. Nutr. 1986. Vol. 116. Pp. 36–46.
33. Bode-Boger S.M., Boger R.H., Galland A., Tsikas D., Frolich J.C. L-arginine- induced vasodilation in healthy humans: pharmacokinetic- pharmacodynamic relationship // Br. J. Clin. Pharmacol. 1998. Vol. 46. N5. Pp. 489–497.
34. Popovic P.J., Zeh H.J. III, Ochoa J.B. Arginine and immunity // J. Nutrition. 2007. Vol. 137. Pp. 1681S–1686S.
35. Bloomer R.J., Farney T.M., Trepanowski J.F., McCarthy C.G., Canale R.E., Schilling B.K. Comparison of pre-workout nitric oxide stimulating dietary supplements on skeletal muscle oxygen saturation, blood nitrate/nitrite, lipid peroxidation, and upper body exercise performance in resistance trained men // J Int Soc Sports Nutr. 2010. N7. Pp. 1–15. DOI: 10.1186/1550-2783-7-16.
36. Kurz S., Harrison D.G. Insulin and the arginine paradox // J. Clin. Invest. 1997. Vol. 99. N3. Pp. 369–370.
37. Филимонова М.В. Фармакологические свойства и радиобиологические эффекты линейных и циклических производных изотиомочевинны – конкурентных ингибиторов синтаз оксида азота: дисс. ... докт. биол. наук. Обнинск, 2015. 239 с.
38. Граник В.Г., Григорьев Н.Б. Оксид азота (NO). Новый путь к поиску лекарств. М., 2004. 360 с.
39. Косенкова Ю.С., Половинка М.П., Салахутдинов Н.Ф. Ингибиторы NO-синтаз: химический аспект проблемы // Химия в интересах устойчивого развития. 2010. №18. С. 669–690.

40. Durzan D.J. Arginine, scurvy, and Jacques Cartier's "tree of life" // *J. Ethnobiology & Ethnomedicine*. 2009. N5. P. 5. DOI: 10.1186/1746-4269-5-5.
41. Schnorr O., Brossette T., Momma T.Y., Kleinbongard P., Keen L., Schroeter H., Sies H. Cocoa flavanols lower vascular arginase activity in human endothelial cells in vitro and in erythrocytes in vivo // *Arch. Biochem. Biophys.* 2008. Vol. 476. N2. Pp. 211–215.
42. Shin W., Cuong T.D., Lee J.H., Min B., Jeon B.H., Lim H.K., Ryoo S. Arginase inhibition by ethylacetate extract of *Caesalpinia sappan* lignum contributes to activation of endothelial nitric oxide synthase // *Korean J. Physiol. Pharmacol.* 2011. Vol. 15. N3. Pp. 123–128.
43. Woo A., Min B., Ryoo S. Piceatannol-3-O-P-D-glucopyranoside as an active component of rhubarb activates endothelial nitric oxide synthase through inhibition of arginase activity // *Exp. Mol. Med.* 2010. Vol. 42. N7. Pp. 524–532.
44. Lim C.J., Cuong T.D., Ryoo S., Lee J.H., Kim E.-H., Woo M.H., Choi J.S., Min B.S. Arginase II inhibitory activity of phenolic compounds from *Saururus chinensis* // *Bull. Korean Chem. Soc.* 2012. Vol. 33. N9. Pp. 3079–3082.
45. Yoon J., Park M., Lee J.-H., Min B.S., Ryoo S. Endothelial nitric oxide synthase activation through obacunone-dependent arginase inhibition restored impaired endothelial function in ApoE- Null Mice // *Vasc. Pharmacol. M.* 2014. Vol. 60. N3. Pp. 102–109.
46. Iwalokun B.A., Hodonu S.A., Nwoke S., Ojo O., Agomo P.U. Evaluation of the possible mechanisms of antihypertensive activity of *Loranthus micranthus*: an African mistletoe // *Biochem. Res. Int.* 2011. 159439. DOI: 10.1155/2011/159439.
47. Kim S.W., Cuong T.D., Hung T.M., Ryoo S., Lee J.H., Min B.S. Arginase II inhibitory activity of flavonoid compounds from *Scutellaria indica* // *Arch. Pharm Res.* 2013. Vol. 36. N8. Pp. 922–926.
48. VanEtten C.H., Wolff I.A., Jones Q., Miller R.W. Amino acid composition of seeds from 200 angiospermous plant species // *J. Agric. Food Chem.* 1963. Vol. 11. Pp. 399–410.
49. King J.E., Gifford D.J. Amino acid utilization in seeds of loblolly pine during germination and early seedling growth (I. arginine and arginase activity) // *Plant Physiol.* 1997. Vol. 113. Pp. 1125–1135.
50. Micallef B.J., Shelp B.J. Arginine metabolism in developing soybean cotyledons: I. Relationship to nitrogen nutrition // *Plant Physiol.* 1989. Vol. 90. Pp. 624–630.
51. de Ruiter H., Kolluffel C. Arginine catabolism in the cotyledons of developing and germinating pea seeds // *Plant Physiol.* 1983. Vol. 73. Pp. 525–528.
52. Bausenwein U., Millard P., Thornton B., Raven J.A. Seasonal nitrogen storage and remobilization in the forb *Rumex acetosa*. // *Funct. Ecol.* 2001. Vol. 15. Pp. 370–377. DOI: 10.1046/j.1365-2435.2001.00524.x.
53. Rennenberg H., Wildhagen H., Ehling B. Nitrogen nutrition of poplar trees // *Plant Biol. (Stuttg.)* 2010. Vol. 12. Pp. 275–291. DOI: 10.1111/j.1438-8677.2009.00309.x.
54. Slocum R.D. Genes, enzymes and regulation of arginine biosynthesis in plants // *Plant Physiol. Biochem.* 2005. Vol. 43. Pp. 729–745.
55. Winter G., Todd C.D., Trovato M., Forlani G. Funck D. Physiological implications of arginine metabolism in plants // *Front. Plant Sci.* 2015. Vol. 6. Pp. 534. DOI: 10.3389/fpls.2015.00534.
56. Winter G. Molecular and Physiological Characterization of Arginine and Proline Catabolism in *Arabidopsis*. Ph.D. thesis. Konstanz, 2013. 77 p.
57. Tegeder M. Transporters involved in source to sink partitioning of amino acids and ureides: opportunities for crop improvement // *J. Exp. Bot.* 2014. Vol. 65. Pp. 1865–1878.
58. Shargool P.D., Jain J.C., McKay G. Ornithine biosynthesis, and arginine biosynthesis and degradation in plant cells // *Phytochemistry*. 1988. Vol. 27. Pp. 1571–1574. DOI: 10.1016/0031-9422(88)80404-7.
59. Mur L.A.J., Mandon J., Persijn S., Cristescu S.M., Moshkov I.E., Novikova G.V., Hall M.A., Harren F.J.M., Hebelstrup K.H., Gupta K.J. Nitric oxide in plants: an assessment of the current state of knowledge // *AoB Plants*. 2013. Vol. 5. pls052. DOI: 10.1093/aobpla/pls052.
60. Durzan D.J. Stress-induced nitric oxide and adaptive plasticity in conifers // *J. For. Sci.* 2002. Vol. 48. N7. Pp. 281–291.
61. Gas E., Flores-Pérez U., Sauret-Güeto S., Rodríguez-Concepción M. Hunting for Plant Nitric Oxide Synthase Provides New Evidence of a Central Role for Plastids in Nitric Oxide Metabolism // *Plant Cell*. 2009. Vol. 21. N1. Pp. 18–23.
62. Мамаева А.С., Фоменков А.А., Носов А.В., Мошков И.Е., Дж. Мур Л.А., Холл М.А., Новикова Г.В. Регуляторная роль оксида азота у растений // *Физиология растений*. 2015. Т. 62. №4. С. 459–474.
63. Zhang J.-J., Li X.-Q., Sun J.-W., Jin S.-H. Nitric oxide functions as a signal in ultraviolet-B-induced baicalin accumulation in *Scutellaria baicalensis* suspension cultures // *Int. J. Mol. Sci.* 2014. Vol. 15. Pp. 4733–4746.
64. Domingos P., Prado A.M., Wong A., Gehring C., Feijo J.A. Nitric oxide: a multitasked signaling gas in plants // *Mol. Plant*. 2015. N8. Pp. 506–520. DOI:10.1016/j.molp.2014.12.010.
65. Cueto M., Hernandez-Perera O., Martin R., Bentura M.L., Rodrigo J., Lamas S. Presence of nitric oxide synthase activity in roots and nodules of *Lupinus albus* // *FEBS Lett.* 1996. Vol. 398. Pp. 159–164.
66. Delledonne M., Xia Y., Dixon R.A., Lamb C. Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance // *Nature*. 1998. Vol. 394. Pp. 585–588.
67. Durner J., Wendehenne D., Klessig D.F. Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP, and cyclic ADP-ribose // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 1998. Vol. 95. Pp. 10328–10333.
68. Ribeiro E.A. Jr., Cunha F.Q., Tamashiro W.M., Martins I.S. Growth phase-dependent subcellular localization of nitric oxide synthase in maize cells // *FEBS Lett.* 1999. Vol. 445. Pp. 283–286.

69. Modolo L.V., Augusto O., Almeida I.M.G., Magalhaes J.R., Salgado I. Nitrite as the major source of nitric oxide production by *Arabidopsis thaliana* in response to *Pseudomonas syringae* // *FEBS Letters*. 2005. Vol. 579. Pp. 3814–3820.
70. Foresi N., Correa-Aragunde N., Parisi G., Caly G., Salerno G., Lamattina L. Characterization of a nitric oxide synthase from the plant kingdom: NO generation from the green alga *Ostreococcus tauri* is light irradiance and growth phase dependent // *Plant Cell*. 2010. Vol. 22. Pp. 3816–3830. DOI: 10.1105/tpc.109.073510.
71. Chandok M.R., Ytterberg A.J., van Wijk K.J., Klessig D.F. The Pathogen-inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) in Plants Is a Variant of the P Protein of the Glycine Decarboxylase Complex // *Cell*. 2003. Vol. 113. Pp. 469–482.
72. Borek S., Morkunas I., Ratajczak W., Ratajczak L. Metabolism of amino acids in germinating yellow lupin seeds – III. Breakdown of arginine in sugar-starved organs cultivated in vitro // *Acta Physiol. Plant*. 2001. Vol. 23. Pp. 141–148. DOI: 10.1007/s11738-001-0001-5.
73. Bethk P.C., Gubler F., Jacobsen J.V., Jones R.L. Dormancy of *Arabidopsis* seeds and barley // *Planta*. Sep. 2004. Vol. 219 (5). Pp. 847–855.
74. Flores T., Todd, C.D. Tovar-Mendez A., Dhanoa P.K., Correa-Aragunde N., Hoyos M.E., et al. Arginase-negative mutants of *Arabidopsis* exhibit increased nitric oxide signaling in root development // *Plant Physiol*. 2008. Vol. 147. Pp. 1936–1946.
75. Magalhaes J.R., Pedrosa M.C., Durzan D.J. Nitric oxide, apoptosis and plant stresses // *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 1999. Vol. 5. Pp. 115–125.
76. Pedrosa M.C., Magalhaes J.R., Durzan D.J. Nitric oxide induces cell death in *Taxus* cells // *Plant Science*. 2000. Vol. 157. Pp. 173–181.
77. Иванов А.И., Стаценко А.П. Использование изменчивости азотного обмена хвойных растений в биоиндикации // *Теоретическая и прикладная экология*. 2010. №1. С. 42–45.
78. Gezelius K., Nasholm T. Free amino acids and protein in Scots pine seedlings cultivated at different nutrient availabilities // *Tree Physiology*. 1993. Vol. 13. N1. Pp. 71–86.
79. 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. Pp. 95–101.
80. Ellsworth D.S., Crous K.Y., Lambers H., Cooke J. Phosphorus recycling in photorespiration maintains high photosynthetic capacity in woody species // *Plant Cell Environ*. 2015. Vol. 38. Pp. 1142–1156. DOI: 10.1111/pce.12468.
81. Tarvainen L., Lutz M., Rantfors M., Nasholm T., Wallin G. Increased Needle Nitrogen Contents Did Not Improve Shoot Photosynthetic Performance of Mature Nitrogen-Poor Scots Pine Trees. // *Frontiers in Plant Science*. 2016. Vol. 7. Pp. 1–17. DOI: 10.3389/fpls.2016.01051.
82. Nasholm T., Ericsson A. Seasonal changes in amino acids, protein and total nitrogen in needles of fertilized Scots pine trees // *Tree Physiol*. 1990. Vol. 6. Pp. 267–281. DOI: 10.1093/treephys/6.3.267.
83. Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В. Содержание азота, бора и аминокислот в хвое сосны обыкновенной при регуляции азотного и борного обеспечения // *Труды Карельского научного центра РАН*. 2015. №12. С. 35–44.
84. Nasholm T., Kielland K., Ganeteg U. Uptake of organic nitrogen by plants // *New Phytol*. 2009. Vol. 182. Pp. 31–48.
85. Gruffman L., Jämtgård S., Näsholm T. Plant nitrogen status and co-occurrence of organic and inorganic nitrogen sources influence root uptake by Scots pine seedlings // *Tree Physiology*. 2014. Vol. 34. N2. Pp. 205–213.
86. Rennenberg H., Dannenmann M., Gessler A., Kreuzwieser J., Simon J., Papen H. Nitrogen balance in forest soils: nutritional limitation of plants under climate change stresses // *Plant Biol (Stuttg)*. 2009. Vol. 11. Pp. 4–23.
87. Ohlund J., Nasholm T. Regulation of organic and inorganic nitrogen uptake in Scots pine (*Pinus sylvestris*) seedlings // *Tree Physiol*. 2004. Vol. 24. Pp. 1397–1402.
88. 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 / 06.07.2012.
89. 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.В. Баишникова / 18.12.2014.

Поступила в редакцию 26 июня 2018 г.

После переработки 31 августа 2018 г.

Принята к публикации 31 августа 2018 г.

Для цитирования: Робонен Е.В., Чернобровкина Н.П., Чернышенко О.В., Зайцева М.И., Унжаков А.Р., Егорова А.В. Перспективы биотехнологии обогащения древесной зелени хвойных L-аргинином и ингибиторами его катаболизма // *Химия растительного сырья*. 2019. №1. С. 23–37. DOI: 10.14258/jcrpm.2019014243.

Robonen E.V.^{1*}, Chernobrovkina N.P.¹, Chernyshenko O.V.², Zaytseva M.I.³, Unzhakov A.R.¹, Egorova A.V.¹ PERSPECTIVES OF WOOD-GREENERY BIOTECHNOLOGY ENRICHMENT WITH L-ARGININE AND INHIBITORS OF ITS CATABOLISM

¹ Karelian Research Center, Russian Academy of Sciences, ul. Pushkinskaya, 11, Petrozavodsk, 185910 (Russia), e-mail: er51@bk.ru

² Mytishchi branch of Moscow State Technical University. N.E. Bauman, ul. 1st Institutskaya, 1, Mytishchi, Moscow Region, 141005 (Russia)

³ Petrozavodsk State University, 33, pr. Lenina, Petrozavodsk, 185910 (Russia)

A promising source of L-arginine, as well as natural inhibitors of its catabolism enzymes, are plants. Free amino acids constitute a significant part of the water-soluble fraction of woody greenery of coniferous plants, including L-arginine. The biotechnology of L-arginine enrichment of coniferous woody greenery is developed by regulating nitrogen and boron support. The fact of a multiple increase in the pool of free L-arginine in needles suggests an increase in the level of enzyme inhibitors of its catabolism. Coniferous greens contain guanidine compounds, which are therapeutic agents for controlling the activity of nitric oxide synthases. L-arginine, one of the most universal amino acids in the metabolism of the animal body, in mammals is classified as a conditionally essential amino acid. The imbalance of the activities of the arginic and NO-synthase catabolism pathways of arginine, competing for the substrate, can lead to pathological consequences for the organism. Activation of inducible NO synthase or arginase reflects the type of inflammatory response in the development of specific diseases. In their treatment, the effectors controlling the activity of catabolism enzymes are considered as targets for pharmacological action. Examples of the use in folk medicine of extracts from some species of gymnosperms are given in the works of ethnomedical orientation. Analysis of the current state of studies of the metabolism of L-arginine in living organisms and its features in coniferous plants was carried out for the scientific substantiation of the prospects of obtaining enzymes for its metabolism of woody greens enriched with L-arginine and effector enzymes.

Keywords: coniferous, woody greenery, plant extracts, amino acids, L-arginine, nitric oxide, nitric oxide synthase, arginase, catabolism inhibitors.

References

1. Ushanova V.M. *Khvoynyye boreal'noy zony*, 2013, vol. 30, no. 1-2, pp. 138–142. (in Russ.).
2. Khurshkaynen T.V., Skripova N.N., Kuchin A.V. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*, 2017, no. 1, pp. 25–30. (in Russ.).
3. Korotkiy V.P., Velikanov V.I., Bogdanovich N.I., Roshchin V.I., Vodop'yanov I.F., Chechet I.V. *IVUZ. «Lesnoy zhurnal»*, 2012, no. 5, pp. 125–133. (in Russ.).
4. Yagodin V.I. *Osnovy khimii i tekhnologii pererabotki drevesnoy zeleni*. [Fundamentals of chemistry and technology of processing green wood.]. Leningrad, 1981, 224 p. (in Russ.).
5. Alaudinova Ye.V., Mironov P.V. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2017, no. 3, pp. 85–91. (in Russ.).
6. Nordin A., Uggla C., Nasholm T. *Tree Physiology*, 2001, no. 21, pp. 59–64
7. Chernobrovkina N.P., Robonen Ye.V., Zaytseva M.I. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2010, no. 3, pp. 71–75. (in Russ.).
8. Robonen Ye.V., Chernobrovkina N.P., Chernyshenko O.V., Zaytseva M.I. *Vestnik Moskovskogo gosudarstvennogo universiteta lesa – Lesnoy vestnik*, 2012, vol. 86, no. 3, pp. 11–15. (in Russ.).
9. Chernobrovkina N.P., Robonen Ye.V., Morozov A.K., Makarova T.N. *Trudy KarNTS RAN*, 2013, no. 3, pp. 159–165. (in Russ.).
10. Robonen Ye.V., Chernobrovkina N.P., Makarova T.N., Korotkiy V.P., Prytkov YU.N., Marisov S.S. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Lesnoy zhurnal*, 2014, vol. 339, no. 3, pp. 67–78. (in Russ.).
11. Unzhakov A.R., Tyutyunnik N.N., Uzenbayeva L.B., Baishnikova I.V., Antonova Ye.P., Chernobrovkina N.P., Robonen Ye.V., Ilyukha V.A. *Trudy KarNTS RAN*, 2014, no. 5, pp. 222–226. (in Russ.).
12. Patent 2540354 (RU). 18.12.2014 (in Russ.).
13. Chernobrovkina N.P., Robonen Ye.V., Unzhakov A.R., Tyutyunnik N.N. *Sibirskiy ekologicheskiy zhurnal*, 2016, no. 5, pp. 729–738. (in Russ.).
14. Chernobrovkina N.P., Robonen Ye.V., Makarova T.N., Repin A.V. *Lesovedeniye*, 2017, no. 5, pp. 39–46. (in Russ.).
15. Unzhakov A.R., Antonova Ye.P., Sergina S.N., Baishnikova I.V., Chernobrovkina N.P., Robonen Ye.V. *Krolikovodstvo i zverovodstvo*, 2017, no. 3, pp. 104–105. (in Russ.).
16. Dakhno Y.S. *Visnyk Poltav's'koho derzhavnoho sil's'koho spodars'koho instytutu*, 2000, no. 5, pp. 32–34. (in Russ.).
17. Markov Kh.M. *Kardiologiya*, 2005, no. 6, pp. 87–95. (in Russ.).
18. Cengiz Ö., Küçükersan S. *Revue Méd. Vét.*, 2010, vol. 161, no. 8-9, pp. 409–417.
19. Ul'yanov A.M., Obergan T.YU., Shubina T.A., Pastorova V.Ye., Lyapina L.A. *Izvestiya RAN. Ser. biol.*, 2010, no. 1, pp. 109–114. (in Russ.).
20. Wu G.Y., Morris S.M. *Biochem. J.*, 1998, vol. 336, pp. 1–17.
21. Morris S.M. *Annu. Rev. Nutr.*, 2002, vol. 22, pp. 87–105.
22. Chen H., McCaig B.C., Melotto M., He S.Y., Howell G.A. *J. Biol. Chem.*, 2004, vol. 279, no. 44, pp. 45998–46007, DOI: 10.1074/jbc.M407151200.
23. Yakushev V.I., Pokrovskiy M.V., Korokin M.V., Pokrovskaya T.G., Kulikovskaya V.D., Yershov I.N., Beskhmel'nitsyna Ye.A., Arustamova A.A., Kotel'nikova L.V. *Nauchnyye vedomosti BelGU. Seriya Med. Farmatsiya*, 2012, no. 22 (141), is. 20/3, pp. 36–40. (in Russ.).

* Corresponding author.

24. Pham T.N., Bordage S., Pudlo M., Demougeot C., Thai K.M., Girard-Thernier C. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, vol. 17(10), E1656.
25. Girard-Thernier C., Pham T.N., Demougeot C. *Mini Rev Med Chem.*, 2015, vol. 15, no. 10, pp. 798–808.
26. Satriano J. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2003, vol. 1009, pp. 34–43.
27. Balaban R.S., Nemoto S., Finkel T. *Cell.*, 2005, vol. 120, pp. 483–495.
28. Crawford N.M. *J. Exp. Botany.*, 2006, vol. 57, no. 3, pp. 471–478.
29. D'Antonio E.L., Christianson D.W. *Acta Cryst.*, 2012, vol. F68, pp. 889–893.
30. Ball R.O., Urschel K.L., Pencharz P.B. *J. Nutr.*, 2007, vol. 137, no. 6, pp. 1626S–1641S.
31. Eisert R.L. *J. Comp. Physiol. B.*, 2011, vol. 181, no. 1, pp. 1–17. DOI: 10.1007/s00360-010-0528-0.
32. Visek W.J. *A reevaluation. J. Nutr.*, 1986, vol. 116, pp. 36–46.
33. Bode-Boger S.M., Boger R.H., Galland A., Tsikas D., Frolich J.C. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1998, vol. 46, no. 5, pp. 489–497.
34. Popovic P.J., Zeh H.J.III, Ochoa J.B. *J. Nutrition.*, 2007, vol. 137, pp. 1681S–1686S.
35. Bloomer R.J., Farney T.M., Trepanowski J.F., McCarthy C.G., Canale R.E., Schilling B.K. *J. Int. Soc. Sports Nutr.*, 2010, no. 7, pp. 1–15. DOI: 10.1186/1550-2783-7-16.
36. Kurz S., Harrison D.G. *J. Clin. Invest.*, 1997, vol. 99, no. 3, pp. 369–370.
37. Filimonova M.V. *Farmakologicheskiye svoystva i radiobiologicheskiye efekty lineynykh i tsiklicheskiykh proizvodnykh izotomocheviny - konkurentnykh inhibitorov sintaz oksida azota: diss. ... dokt. biol. nauk.* [Pharmacological properties and radiobiological effects of linear and cyclic isothiourea derivatives - competitive inhibitors of nitric oxide synthase: Diss. ... Dr. biol. sciences]. Obninsk, 2015, 239 p. (in Russ.).
38. Granik V.G., Grigor'yev N.B. *Oksid azota (NO). Novyy put' k poisku lekarstv.* [Nitric oxide (NO). New way to search for drugs]. Moscow, 2004, 360 p. (in Russ.).
39. Kosenkova Yu.S., Polovinka M.P., Salakhutdinov N.F. *Khimiya v interesakh ustoychivogo razvitiya*, 2010, no. 18, pp. 669–690. (in Russ.).
40. Durzan D.J. *J. Ethnobiology & Ethnomedicine*, 2009, no. 5, p. 5. DOI:10.1186/1746-4269-5-5.
41. Schnorr O., Brossette T., Momma T.Y., Kleinbongard P., Keen L., Schroeter H., Sies H. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2008, vol. 476, no. 2, pp. 211–215.
42. Shin W., Cuong T.D., Lee J.H., Min B., Jeon B.H., Lim H.K., Ryoo S. *Korean J. Physiol. Pharmacol.*, 2011, vol. 15, no. 3, pp. 123–128.
43. Woo A., Min B., Ryoo S. *Exp. Mol. Med.*, 2010, vol. 42, no. 7, pp. 524–532.
44. Lim C.J., Cuong T.D., Ryoo S., Lee J.H., Kim E.-H., Woo M.H., Choi J.S., Min B.S. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 2012, vol. 33, no. 9, pp. 3079–3082.
45. Yoon J., Park M., Lee J.-H., Min B.S., Ryoo S. *Vasc. Pharmacol. M.*, 2014, vol. 60, no. 3, pp. 102–109.
46. Iwalokun B.A., Hodonu S.A., Nwoke S., Ojo O., Agomo P.U. *Biochem. Res. Int.*, 2011, 159439, DOI: 10.1155/2011/159439.
47. Kim S.W., Cuong T.D., Hung T.M., Ryoo S., Lee J.H., Min B.S. *Arch. Pharm Res.*, 2013, vol. 36, no. 8, pp. 922–926.
48. VanEtten C.H., Wolff I.A., Jones Q., Miller R.W. *J. Agric. Food Chem.*, 1963, vol. 11, pp. 399–410.
49. King J.E., Gifford D.J. *Plant Physiol.*, 1997, vol. 113, pp. 1125–1135.
50. Micallef B.J., Shelp B.J. *Plant Physiol.*, 1989, vol. 90, pp. 624–630.
51. de Ruiter H., Kolluffel C. *Plant Physiol.*, 1983, vol. 73, pp. 525–528.
52. Bausenwein U., Millard P., Thornton B., Raven J.A. *Funct. Ecol.*, 2001, vol. 15, pp. 370–377, DOI: 10.1046/j.1365-2435.2001.00524.x.
53. Rennenberg H., Wildhagen H., Ehrling B. *Plant Biol.*, 2010, vol. 12, pp. 275–291, DOI: 10.1111/j.1438-8677.2009.00309.x.
54. Slocum R.D. *Plant Physiol. Biochem.*, 2005, vol. 43, pp. 729–745.
55. Winter G., Todd C.D., Trovato M., Forlani G., Funck D. *Front. Plant Sci.*, 2015, vol. 6, pp. 534, DOI: 10.3389/fpls.2015.00534.
56. Winter G. *Molecular and Physiological Characterization of Arginine and Proline Catabolism in Arabidopsis. Ph.D. thesis*, Konstanz, 2013, 77 p.
57. Tegeder M. *J. Exp. Bot.*, 2014, vol. 65, pp. 1865–1878.
58. Shargool P.D., Jain J.C., McKay G. *Phytochemistry*, 1988, vol. 27, pp. 1571–1574, DOI: 10.1016/0031-9422(88)80404-7.
59. Mur L.A.J., Mandon J., Persijn S., Cristescu S.M., Moshkov I.E., Novikova G.V., Hall M.A., Harren F.J.M., Hebelstrup K.H., Gupta K.J. *AoB Plants*, 2013, vol. 5, pls052, DOI: 10.1093/aobpla/pls052.
60. Durzan D.J. *J. For. Sci.*, 2002, vol. 48, no. 7, pp. 281–291.
61. Gas E., Flores-Pérez U., Sauret-Güeto S., Rodríguez-Concepción M. *Plant Cell.*, 2009, vol. 21, no. 1, pp. 18–23.
62. Mamayeva A.S., Fomenkov A.A., Nosov A.V., Moshkov I.Ye., Dzh. Mur L.A., Khol M.A., Novikova G.V. *Fiziologiya rasteniy*, 2015, vol. 62, no. 4, pp. 459–474. (in Russ.).
63. Zhang J.-J., Li X.-Q., Sun J.-W., Jin S.-H. *Int. J. Mol. Sci.*, 2014, vol. 15, pp. 4733–4746.
64. Domingos P., Prado A.M., Wong A., Gehring C., Feijo J.A. *Mol. Plant.*, 2015, no. 8, pp. 506–520. DOI: 10.1016/j.molp.2014.12.010.
65. Cueto M., Hernandez-Perera O., Martin R., Bentura M.L., Rodrigo J., Lamas S. *FEBS Lett.*, 1996, vol. 398, pp. 159–164.

66. Delledonne M., Xia Y., Dixon R.A., Lamb C. *Nature*, 1998, vol. 394, pp. 585–588.
67. Durner J., Wendehenne D., Klessig D.F. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 1998, vol. 95, pp. 10328–10333.
68. Ribeiro E.A. Jr., Cunha F.Q., Tamashiro W.M., Martins I.S. *FEBS Lett.*, 1999, vol. 445, pp. 283–286.
69. Modolo L.V., Augusto O., Almeida I.M.G., Magalhaes J.R., Salgado I. *FEBS Letters*, 2005, vol. 579, pp. 3814–3820.
70. Foresi N., Correa-Aragunde N., Parisi G., Caly G., Salerno G., Lamattina L. *Plant Cell.*, 2010, vol. 22, pp. 3816–3830, DOI: 10.1105/tpc.109.073510.
71. Chandok M.R., Ytterberg A.J., van Wijk K.J., Klessig D.F. *Cell.*, 2003, vol. 113, pp. 469–482.
72. Borek S., Morkunas I., Ratajczak W., Ratajczak L. *Acta Physiol. Plant.*, 2001, vol. 23, pp. 141–148. DOI: 10.1007/s11738-001-0001-5.
73. Bethk P.C., Gubler F., Jacobsen J.V., Jones R.L. *Planta. Sep.*, 2004, vol. 219 (5), pp. 847–855.
74. Flores T., Todd, C.D. Tovar-Mendez A., Dhanoa P.K., Correa-Aragunde N., Hoyos M.E., et al. *Plant Physiol.*, 2008, vol. 147, pp. 1936–1946.
75. Magalhaes J.R., Pedrosa M.C., Durzan D.J. *Physiol. Mol. Biol. Plants.*, 1999, vol. 5, pp. 115–125.
76. Pedrosa M.C., Magalhaes J.R., Durzan D.J. *Plant Science*, 2000, vol. 157, pp. 173–181.
77. Ivanov A.I., Statsenko A.P. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*, 2010, no. 1, pp. 42–45. (in Russ.).
78. Gezelius K., Nasholm T. *Tree Physiology*, 1993, vol. 13, no. 1, pp. 71–86.
79. Huhn B.G., Schulz H. *New Phytol.*, 1996, vol. 134, pp. 95–101.
80. Ellsworth D.S., Crous K.Y., Lambers H., Cooke J. *Plant Cell Environ.*, 2015, vol. 38, pp. 1142–1156, DOI: 10.1111/pce.12468.
81. Tarvainen L., Lutz M., Rantfors M., Nasholm T., Wallin G. *Frontiers in Plant Science*, 2016, vol. 7, pp. 1–17, DOI: 10.3389/fpls.2016.01051.
82. Nasholm T., Ericsson A. *Tree Physiol.*, 1990, vol. 6, pp. 267–281, DOI: 10.1093/treephys/6.3.267
83. Chernobrovkina N.P., Robonen Ye.V. *Trudy Karel'skogo nauchnogo tsentra RAN*, 2015, no. 12, pp. 35–44. (in Russ.).
84. Nasholm T., Kielland K., Ganeteg U. *New Phytol.*, 2009, vol. 182, pp. 31–48.
85. Gruffman L., Jämtgård S., Näsholm T. *Tree Physiology*, 2014, vol. 34, no. 2, pp. 205–213.
86. Rennenberg H., Dannenmann M., Gessler A., Kreuzwieser J., Simon J., Papen H. *Plant Biol (Stuttg)*, 2009, vol. 11, pp. 4–23.
87. Ohlund J., Nasholm T. *Tree Physiol.*, 2004, vol. 24, pp. 1397–1402.
88. Patent 2515015 (RU). 06.07.2012. (in Russ.).
89. Patent 2540354 (RU). 18.12.2014. (in Russ.).

Received June 26, 2018

Revised August 31, 2018

Accepted August 31, 2018

For citing: Robonen E.V., Chernobrovkina N.P., Chernyshenko O.V., Zaytseva M.I., Unzhakov A.R., Egorova A.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2019, no. 1, pp. 23–37. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2019014243.

