

УДК 581.14

Эви ПАДУ, Хейго МИЙДЛА, Сирье ЛООСААР, Юлле ЯАКМА

СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ИУК-ОКСИДАЗЫ, ПЕРОКСИДАЗЫ И СОДЕРЖАНИЯ ИУК В ВЕГЕТАТИВНЫХ ПОБЕГАХ ЯБЛОНИ

В настоящее время все большее внимание уделяется изучению гормональной регуляции процессов роста и развития растений. Установлено, что недостаток 3-индолилуксусной кислоты (ИУК) препятствует нормальному росту растительных тканей, поскольку интенсивно растущие ткани обычно характеризуются высоким содержанием ИУК (Мооге, 1979). Содержание ИУК изменяется в течение онтогенеза, обуславливая регуляцию зависящих от нее ростовых процессов. Концентрация такого важного стимулятора роста, как ИУК, контролируется на различных уровнях метаболизма — на уровнях синтеза, конъюгации, транспорта и катаболизма. Во многих исследованиях подчеркивается ведущая роль ферментативной регуляции содержания ИУК на уровне катаболизма на том основании, что тканям с высоким содержанием ИУК свойственна низкая активность ИУК-оксидазы (Гамбург, 1976; Мооге, 1979). Часто многие исследователи делают выводы о содержании ИУК на основе активности ИУК-оксидазы, непосредственно не определив содержание ИУК. Особенно недостаточно метаболизм регуляторов роста изучен у древесных растений.

Цель настоящей работы — изучение ИУК-оксидазной системы и ее значения в регулировании количества ИУК в тканях яблони. Определяли сезонные изменения и градиент активности пероксидазы и ИУК-оксидазы вдоль побега, а также содержание ИУК в однолетних вегетативных побегах яблони.

Материал и методика

Объектом исследования служили 10-летние яблони *Malus domestica* Bogkh. сорта 'Антоновка'. Материал собирали с 12 деревьев в первую декаду каждого месяца. Для изучения градиента активности ферментов и содержания ИУК побеги разрезали напополам и отдельно анализировали верхнюю и нижнюю части побега и верхушечные почки. Анализы проводили начиная с 1980 года. В работе представлены данные 1982—1983 гг., которые в основном совпадают с результатами по ферментативной активности за 1981—1982 гг.

Определение ферментативной активности. 2 г листьев или 0,6 г коры (почек) гомогенизировали в охлажденных ступках в 5 мл 0,1 М фосфатного буфера Серенсена (рН 6,2), прибавляя полиамид Woelm Eschwege (ФРГ) в концентрации 0,25 г на 1 г сырой массы ткани. Гомогенат центрифугировали в рефрижераторной центрифуге при 10 000 об/мин в течение 10 мин. Супернатант дополнительно освобождали от фенольных соединений гельфильтрацией на сефадексе Г-25.

Активность ИУК-оксидазы определяли по методике, описанной К. З. Гамбургом (1966). Концентрации компонентов реакционной смеси: 0,4 мМ ИУК и по 0,1 мМ п-кумаровой кислоты и $MnCl_2$. Количество ИУК реакционной смеси определяли реактивом Сальковского. Активность фермента выражали в микромолях окисленной в течение 1 мин ИУК на 1 г сырого материала.

Активность пероксидазы определяли в реакционной смеси следующего состава: 0,32 мМ гваякола, 0,12 мМ H_2O_2 , 0,1 мл ферментного экстракта, приготовленной в 0,1 М фосфатном буфере с рН 6,2 (Bergmeier, 1970). Активность пероксидазы выражали в микромолях окисленного за 1 мин гваякола на 1 г сырого материала. Активность ферментов определяли по двум растительным навескам в трех повторностях.

До электрофореза ферментные экстракты сохраняли в замороженном виде по 1 мл с 40 мг сефадекса Г-100 и 100 мг сахарозы. Электрофорез проводили в пластинках полиакриламидного геля по методике Б. Дэвиса (Маурер, 1971) в анионной и катионной системах.

Гистохимическое выявление ферментов на гелях. Пероксидазу выявляли реакцией Нади в смеси следующего состава: 1 мМ *o*-дианизидиндигидрохлорид, 1 мМ пирокатехол, 0,07% H_2O_2 в 0,2 М ацетатном буфере с рН 4,0 (Яаска, 1972).

Для выявления ИУК-оксидазы после электрофореза гели выдерживали 30 мин в 0,2 М ацетатном буфере, а затем 2 ч в инкубационной смеси следующего состава: 0,5 мМ ИУК, 0,4 мМ $MnCl_2$, 0,7 мМ п-кумаровой кислоты и 0,09 мМ H_2O_2 в ацетатном буфере с рН 4,0. Зоны с ИУК-оксидазной активностью выявляли в 0,5%-ном диметилпарааминокоричном альдегиде, приготовленном на 2 н. HCl (Gove, Hoyle, 1975).

Определение количества ауксинов

Для выделения свободных ауксинов использовали методику В. И. Кефели и др. (1973), дополненную А. И. Меркисом и Л. П. Скуодене (1974).

Навеску (15—20 г) ткани фиксировали жидким азотом, гомогенизировали и экстрагировали 80%-ным метанолом 14 ч при 4°C в темноте. Полученный экстракт пропускали через асбестовый фильтр, осадок хранили в холодильнике для определения связанных ауксинов при 4°C. Из фильтра выпаривали в эвапораторе метанол, кислые индольные соединения из окисленного до рН 2—3 водяного остатка экстрагировали этиловым эфиром (4×10 мл). Оставшийся водяной раствор хранили при 4°C для определения конъюгированных ауксинов.

Для дальнейшей очистки экстракта эфирную фракцию обрабатывали насыщенным раствором $NaHCO_3$ (10+8+4 мл) и выбрасывали. Бикарбонатную фракцию, содержащую кислые индольные соединения, нейтрализовали, а затем подкисляли 25%-ной винной кислотой до рН 2—3. Этиловым эфиром (3×10 мл) ауксины переводили в эфирную фракцию, эфир выпаривали, а осадок сохраняли в холодильнике для определения свободных ауксинов.

Для выделения конъюгированных и связанных ауксинов использовали методику Меркиса (Меркис и др., 1973; Merkys, 1973, 1974). В оставшуюся после выделения свободных ауксинов водяную фракцию добавляли равный объем 10 н. NaOH. Гидролиз проводили в автоклаве при давлении 1 атм в течение 1 ч. Затем раствор охлаждали, нейтрализовали и подкисляли до рН 2—3 с 5 н. H_2SO_4 . Освободившиеся при гидролизе ауксины переводили в этиловый эфир (4×15 мл). Дальнейшее фракционирование проводили таким же способом, как при выделении свободных ауксинов. Получили осадок конъюгированных ауксинов.

Для выделения связанной ИУК сухой растительный остаток дважды экстрагировали дистиллированной водой (40°C) и затем трижды 0,2%-ным NaOH. Из водяного и щелочного экстракта осаждали белки уксуснокислым свинцом. Полученный осадок объединяли и центрифугировали 10 мин при 2000 g. Супернатант выливали, осадок промывали дистиллированной водой, этанолом, смесью этанола и этилового эфира (3:1), эфиром и высушивали. Щелочной гидролиз белкового препарата проводили с 5 н. NaOH при давлении 1 атм в течение часа. Гидролизат нейтрализовали, затем доводили до pH 2—3 с 5 н. H₂SO₄, экстрагировали эфиром и дальнейшее фракционирование проводили, как и в случае свободных ауксинов.

Двумерное хроматографирование ауксинов проводили на бумаге марки Filtrak FN 14 (ГДР). В первом направлении использовали систему изопропанол—аммиак—вода (10:1:1), во втором — Н—бутанол—метанол—вода (16:1:3). Для идентификации ИУК в двух системах растворителей хроматографировали химически чистую ИУК («Sigma», США). Спектр поглощения ИУК определяли при помощи калибровочной кривой, построенной на основе показателей оптической плотности при 280 нм для разных концентраций химически чистой ИУК.

Спектр поглощения ИУК снимали в области волн 235—320 нм. Определения проводили однократно. По данным контрольных анализов удалось установить около 55% содержащегося в растительных тканях ауксина.

Результаты

Содержание ИУК анализировали в почках перед их распусканием и в листьях в течение вегетационного периода (табл. 1). Свободная ИУК содержалась только в апрельских и майских почках, причем ее наиболь-

Таблица 1

Содержание ИУК (мкг · г⁻¹ сырой массы) в разных органах вегетативных побегов яблони

Месяц	Органы	Связанная ИУК	Конъюгированная ИУК	Свободная ИУК
Апрель	Почки:			
	верхушечные	0,8	8,5	4,3
	I	1,0	17,4	5,6
	II	0,7	5,0	4,2
Май	Почки:			
	верхушечные	0,6	5,1	0
	I	1,2	6,2	4,0
	II	0,6	0,6	1,1
Сентябрь	Почки	2,5	8,4	0
Июнь	Листья			
	I	1,0	5,1	0
	II	0,8	2,7	0
Июль	Листья			
	I	0,8	14,8	1,5
	II	0,5	12,4	0
Август	Листья			
	I	1,4	7,2	0
	II	1,0	1,5	0

I — верхняя часть побега, II — нижняя часть побега.

шее количество (4,2—5,6 мгк · г⁻¹ сырой массы) приходилось на апрель, а в мае, когда почки начинали вытягиваться (10/V), значительно падало (0—4,0 мгк · г⁻¹). В листьях свободная ИУК не была обнаружена (за исключением молодых листьев в июле). Основное количество ИУК как в почках, так и в листьях представлено в конъюгированном виде с аминокислотами и сахарами, некоторая часть ИУК связана с белками. Связанные и конъюгированные формы ИУК обнаружены во всех проанализированных тканях, но их количество зависело от фазы развития побегов. Наибольшее количество конъюгированной ИУК содержалось в почках верхней части побега в апреле (17,4 мгк · г⁻¹), а в листьях — в июле (14,8 мгк · г⁻¹). Количество связанной с белками ИУК оставалось на сравнительно низком уровне в течение всего года (0,5—1,4 мгк · г⁻¹). Максимальное количество связанной ИУК наблюдалось в почках в сентябре (2,5 мгк · г⁻¹). Вдоль побега обнаружен градиент содержания ИУК — количество всех форм ИУК в более молодой части побега выше, чем в нижней.

Сезонная динамика активности ИУК-оксидазы. Активность ИУК-оксидазы свойственна всем проанализированным органам и тканям яблони (листьям, почкам, коре), но для отдельных органов характерна специфическая сезонная динамика активности фермента (рис. 1, табл. 2).

Листьям характерна относительно низкая активность ИУК-оксидазы (0,05—0,13 мкМ ИУК мин⁻¹ · г⁻¹), которая постепенно увеличивается в течение вегетационного периода и достигает максимума к концу лета.

В почках активность ИУК-оксидазы имеет два максимума. Перед распусканием почек она достигает 0,25 мкМ ИУК мин⁻¹ · г⁻¹, начиная с июля падает и затем снова резко увеличивается в августе, когда начинается активный радиальный прирост побегов.

В коре активность ИУК-оксидазы имеет также два максимума. Наибольшая активность фермента характерна для начала июня (0,3 мкМ ИУК мин⁻¹ · г⁻¹), когда происходит интенсивный прирост побегов в длину и активность ИУК-оксидазы в почках низкая. Второй подъем активности — в августе — выражен слабее. Активность фермента как в коре, так и в почках низкая в ноябре.

Динамика активности ИУК-оксидазы одинакова как для верхней, так и для нижней части побега во всех изученных тканях. Общая активность фермента в листьях нижней части побега была несколько выше, чем в более молодых листьях верхней части, а в нижних почках, наоборот, несколько ниже, чем в верхних.

Сезонная динамика активности пероксидазы. Во всех тканях активность пероксидазы значительно превышает активность ИУК-оксидазы по количеству разложенного субстрата, а сезонная динамика пероксидазной активности в основном совпадает с установленной для ИУК-оксидазы, но далеко не полностью. Так, в почках яблони максимальная активность пероксидазы приходится на май, а максимум ИУК-оксидазы — на март—апрель. В коре осенний максимум активности перокси-

Таблица 2

Активность ИУК-оксидазы и пероксидазы в верхушечных почках вегетативных побегов яблони, мкМ мин⁻¹ · г⁻¹

Фермент	Февраль	Март	Апрель	Май
ИУК-оксидаза	0,12±0,01	0,20±0,02	0,24±0,01	—
Пероксидаза	4,77±0,10	5,85±0,10	8,28±0,30	5,10±0,20

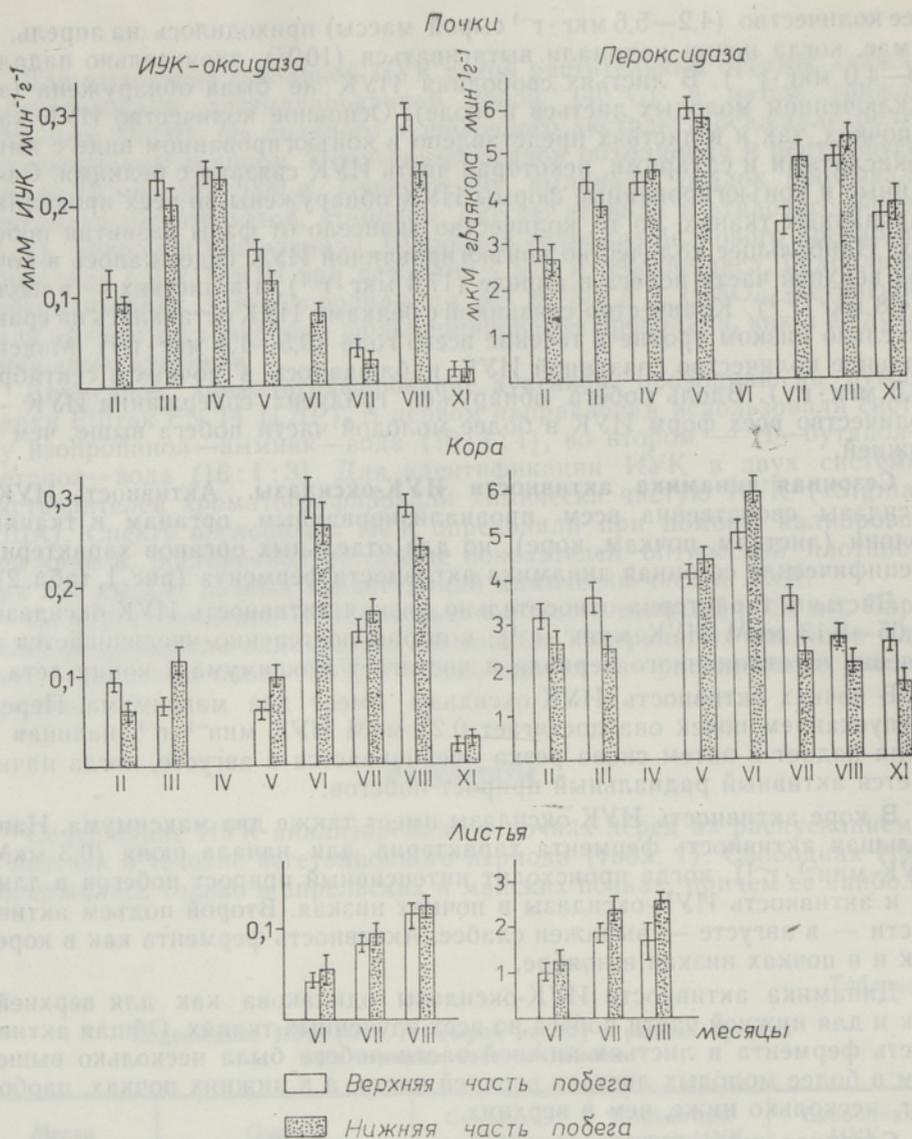
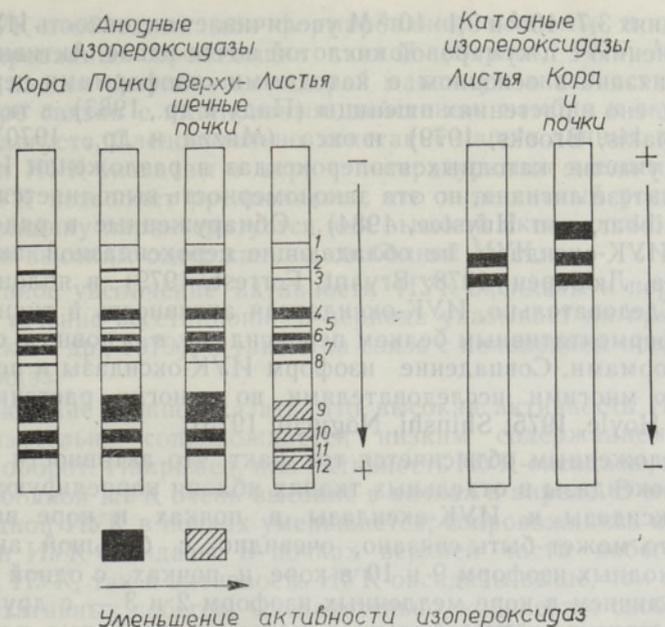


Рис. 1. Сезонная динамика активности ИУК-оксидазы и пероксидазы в вегетативных побегах яблони.

дазы отсутствует в конце августа. Весной, во время фазы вынужденного покоя, активность пероксидазы в верхушечных почках заметно выше, чем в почках вдоль побега (табл. 2, рис. 1). В случае ИУК-оксидазной активности такой градиент отсутствует.

Молекулярные формы пероксидазы и ИУК-оксидазы. В изученных тканях яблони нашли 12 анодных молекулярных форм пероксидазы, среди них изоформы 1—3 мигрируют относительно аноде медленно, 4—8 быстрее и 9—12 с наибольшей скоростью (рис. 2). В изоферментном составе отдельных органов и тканей наблюдаются некоторые количественные и качественные изменения между отдельными органами и тканями. Изоформы 9 и 10 намного интенсивнее в почках и коре, чем в листьях, 2 и 3 более интенсивны в коре, чем в почках (исключая верхушечные), и очень слабые в листьях. В листьях имеется слабая изопероксидаза 12, отсутствующая в других тканях.



Уменьшение активности изопероксидаз

Рис. 2. Молекулярные формы пероксидазы в разных органах и тканях вегетативных побегов яблони.

При катионной системе электрофореза растворимого белка яблони были обнаружены две катодные изопероксидазы в листьях и три в коре и почках. Значительной активностью ИУК-оксидазы обладают только щелочные изопероксидазы. Слабая активность ИУК-оксидазы установлена для анодных изоформ пероксидазы (2, 3, 4, 6, 7, 9).

Изоферментный состав пероксидазы отдельных тканей яблони сравнительно постоянный в течение всего года. В изоферментном составе коры и почек качественных изменений не происходит, в листьях же в начале вегетационного периода отсутствуют анодные изоформы 2 и 3, которые появились соответственно в июле и августе.

Обсуждение результатов

Молекулярные формы ИУК-оксидазы и пероксидазы в яблоне. Полученные данные показывают, что ИУК-оксидаза и пероксидаза в тканях яблони присутствуют в виде множественных молекулярных форм, что ранее установлено и другими авторами (Rychter, Lewak, 1971). Изоформы пероксидазы имеют различную субстратную специфичность. Анодные изоформы пероксидазы не обладают, а если обладают, то незначительной, ИУК-оксидазной активностью (рис. 2, изоформы 2, 3, 4, 6, 7 и 9). Все катодные изоформы пероксидазы, наоборот, имеют высокую активность ИУК-оксидазы во всех изученных тканях яблони. ИУК-оксидазная активность проявляется только при наличии в реакционной среде фенольных кофакторов. Кофактором может быть *p*-кумаровая кислота (концентрация в реакционной среде 0,1 мМ), которая является нативным кофактором ИУК-оксидазы у сливы (Rudnicki и др., 1973) и пшеницы (Macháčková и др., 1975). Установлено, что в эмбриональной ткани яблони нативным кофактором ИУК-оксидазы может быть флоридин (Dziewanowska, Lewak, 1975), который, по нашим данным, в

концентрациях $3,7 \cdot 10^{-5}$ и $9,1 \cdot 10^{-5}$ М увеличивает активность ИУК-оксидазы по сравнению с п-кумаровой кислотой почти вдвое. Активность ИУК-оксидазы связана в основном с катодными изоформами пероксидазы, что установлено в растениях пшеницы (Паду и др., 1983), в тканях томатов (Kokkinakis, Brooks, 1979) и овса (Mazza и др., 1970). Это подтверждает участие катодных изопероксидаз в разложении ИУК, анодных — в синтезе лигнина, но эта закономерность выполняется далеко не всегда (Chibbar, van Huystee, 1984). Обнаруженные в ряде растений изоформы ИУК-оксидазы, не обладающие пероксидазной активностью (Белозерова, Любарец, 1978; Bryant, Forrest, 1979), в яблоне не были найдены. Следовательно, ИУК-оксидазная активность в тканях яблони связана с ферментативным белком пероксидазы, в основном, с ее щелочными изоформами. Совпадение изоформ ИУК-оксидазы и пероксидазы установлено многими исследователями во многих растениях (Endo, 1968; Gove, Hoyle, 1975; Shinshi, Noguchi, 1975).

Вышеизложенным объясняется тот факт, что активности ИУК-оксидазы и пероксидазы в отдельных тканях яблони коррелируются. Активность пероксидазы и ИУК-оксидазы в почках и коре выше, чем в листьях. Это может быть связано, очевидно, с большой активностью быстрых анодных изоформ 9 и 10 в коре и почках, с одной стороны, а также с наличием в коре медленных изоформ 2 и 3 — с другой. Кроме того, здесь присутствует добавочная катодная изоформа пероксидазы, обладающая заметной активностью ИУК-оксидазы и отсутствующая в листьях яблони.

Сезонная динамика активности ИУК-оксидазы и пероксидазы и содержание ИУК в тканях яблони. Активность ИУК-оксидазы и пероксидазы зависит не только от типа органов и тканей, но и от фазы роста и развития яблони. Весенний максимум активности ИУК-оксидазы, наблюдаемый нами в почках яблони в апреле, установлен и в других древесных растениях (Балмаева, 1978). По литературным данным, наивысшее содержание свободной ИУК в почках сосны также установлено перед их распусканием в марте и апреле, с мая отмечается снижение количества свободного ауксина (Ивонис и др., 1984). По нашим данным, количество как свободной, так и конъюгированной ИУК уменьшается в почках в мае. Одновременно уменьшается и активность ИУК-оксидазы. Следовательно, можно предполагать, что снижение содержания ИУК происходит за счет уменьшения ее синтеза непосредственно перед распусканием почек. Высокая активность ИУК-оксидазы на фоне высокого содержания свободного ауксина, наблюдаемая в почках яблони в апреле, характерна и для прорастания семян (Dziewanowska, Lewak, 1975; Moore, 1979; Fillberg, 1984), т. е. для процесса, имеющего много общего с процессом выхода почек из состояния покоя. Известно, что субстратом ИУК-оксидазы может служить только свободная форма ИУК, связанные же формы защищены от действия фермента (Cohen, Vandurski, 1978).

Динамика активности ИУК-оксидазы в коре яблони в основном совпадает с изменением активности ИУК-оксидазы во флоэме сосны (Балмаева, 1978), за исключением, что в наших опытах интенсивный рост побегов в длину в июне происходил на фоне высокой активности ИУК-оксидазы. Содержание ИУК в коре яблони в наших опытах не определялось, но в побегах сосны установлено, что содержание ИУК является максимальным в период их интенсивного удлинения в июне (Ивонис и др., 1984). Следующее повышение содержания свободной ИУК связано с утолщением побегов в конце июля и в августе. По данным Бородкиной (Ивонис и др., 1984), у семян сосны также происходит интенсивное накопление ауксинов в период интенсивного радиального роста побегов и при формировании новых почек в августе. Извест-

но, что ИУК необходима для формирования ксилемы и образования лигнифицированных проводящих тканей (Bryant, 1976; Meyer и др., 1984). По нашим результатам, второй максимум активности ИУК-оксидазы в коре связан с интенсивным действием камбия и с утолщением побегов в августе. Следовательно, сочетание наших данных по динамике активности ИУК-оксидазы в коре с литературными данными по содержанию ИУК позволяет предполагать, что интенсивный рост побегов в длину и толщину характеризуется как высокой активностью ИУК-оксидазы, так и высоким содержанием свободной ИУК.

Постоянное увеличение активности ИУК-оксидазы и пероксидазы в листьях в течение вегетационного периода указывает на процесс старения (Bigecka и др., 1979), а также на связь с появлением новых анодных изопероксидаз.

В заключение можно сказать, что высокая активность ИУК-оксидазы не обязательно сопровождается низким содержанием свободной ИУК, и наоборот. Например, как активность ИУК-оксидазы, так и содержание свободной ИУК очень высокие в почках в апреле. В мае содержание свободной ИУК в почках уменьшается, сопровождаясь и снижением активности ИУК-оксидазы. В почках верхней части побегов как концентрация ИУК, так и активность ИУК-оксидазы выше, чем в базальной части вегетативных побегов. Следовательно, количество свободной ИУК в тканях яблони не всегда контролируется ИУК-оксидазой на уровне катаболизма.

В связи с полученными результатами возникает вопрос, может ли количество ИУК как субстрата в тканях яблони *in vivo* быть фактором, регулирующим активность ИУК-оксидазы? Имеющиеся литературные данные для ИУК-оксидазы разных растений достаточно однородные: так в пшенице $K_m = 2,3 \cdot 10^{-4}$ М (Macháčková и др., 1975) и в сливе $1,3 \cdot 10^{-4}$ М (Vioque и др., 1978). Указано, что при $2,1 \cdot 10^{-4}$ М реакция окисления ИУК ИУК-оксидазой была насыщена субстратом (Waldrum, Davies, 1981). Хотя наши данные о содержании ИУК в побегах яблони несколько выше по сравнению с данными, полученными И. В. Плотниковой с соавторами (1978) — 50 мкг ИУК на 1 кг сырой массы в июле —, содержание свободной ИУК намного ниже K_m для ИУК-оксидазы. Известно, что содержание свободной ИУК в тканях большинства растений очень низкое (Moore, 1979) и следовательно, именно количество субстрата во многих случаях может лимитировать активность ИУК-оксидазы.

ЛИТЕРАТУРА

- Балмаева Л. И. Сезонные изменения активности ИУК-оксидазы в тканях сосны обыкновенной. — В кн.: Физиолого-биохимические процессы хвойных растений. Красноярск, 1978, 63—67.
- Белозерова О. Л., Любарец Н. В. Изучение ферментативного окисления ИУК в растениях сои. — В кн.: Поглощение и передвижение веществ у растений. Киев, 1978, 73—78.
- Гамбург К. З. Биохимия ауксина и его действие на клетки растений. Новосибирск, 1976, 86—88.
- Гамбург К. З. Определение активности оксидазы индолуксусной кислоты и ее ингибиторов. — В кн.: Методы определения регуляторов роста и гербицидов. М., 1966, 57—63.
- Ивонис И. Ю., Шуляковская Т. А., Анисимовене Н. А. Ауксины и гиббереллины хвойных (на примере сосны). Л., 1984, 5—50.
- Кефели В. И., Турецкая Р. Х., Коф Э. М., Власов П. В. Определение биологической активности свободных ауксинов и ингибиторов роста в растительном материале. — В кн.: Методы определения фитогормонов, ингибиторов роста, дефолиантов и гербицидов. М., 1973, 7—21.
- Маурер Т. Диск-электрофорез. М., 1971.

- Меркис А. И., Скуодене Л. П. Содержание ИУК в побегах ели обыкновенной в зависимости от фаз роста и класса развития деревьев. — Физиол. растений, 1974, 21, № 2, 336—342.
- Меркис А. И., Новицкене Л. Л., Пугримас А. Д., Марчюкайтис А. С. Определение связанной β -индолилуксусной кислоты в растительном материале. — Тр. АН ЛитССР, 1973, серия В, № 2, 67—78.
- Паду Э. Х., Мийдла Х. И., Кивил Л. Ф., Райк Х. Г. Образование ферментной системы окисления ИУК при прорастании пшеницы. — В кн.: Регуляция роста и метаболизма растений. Таллин, 1983, 35—50.
- Плотникова И. В., Верзилов В. Ф., Александрова В. С. О содержании ИУК в связи с дифференциацией цветочных почек у яблони сорта 'Пепин шафранный'. — В кн.: Фитогормоны и рост растений. М., 1978, 18—22.
- Яска В. Действие некоторых ростовых веществ на изоферменты пероксидазы при прорастании пшеницы. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1972, 21, № 2, 130—140.
- Bergmeyer, H. U. Methoden der enzymatischen Analyse, 1. Berlin, 1970, 648—653.
- Birecka, H., Chaskes, M. J., Goldstein, J. Peroxidase and senescence. — J. Exp. Bot., 1979, 30, N 116, 565—573.
- Bryant, J. A. Molecular aspects of differentiation. — In: Molecular Aspects of Gene Expression in Plants. New York—San Francisco, 1976, 217—248.
- Bryant, S. D., Forrest, E. L. Indole-3-acetic acid oxidase from peas. I. Occurrence and distribution of peroxidative and nonperoxidative forms. — Plant Physiol., 1979, 63, N 4, 696—699.
- Chibbar, R. N., van Huystee, R. B. Characterization of peroxidase in plant cells. — Plant Physiol., 1984, 75, 956—958.
- Cohen, I. D., Bandurski, R. S. The bound auxin: protection of indole-3-acetic acid from peroxidase-catalyzed oxidation. — Planta, 1978, 139, 203—208.
- Dziewanowska, K., Lewak, St. Indoleacetic acid oxidase in dormant apple embryos. — Biologia Plantarum (Praha), 1975, 17, N 3, 207—213.
- Endo, T. Indoleacetic oxidase activity of horseradish and other plant peroxidase isoenzymes. — Plant and Cell Physiology, 1968, 9, N 2, 333—341.
- Gove, P., Hoyle, M. C. The isozymic similarity of indoleacetic acid oxidase to peroxidase in birch and horseradish. — Plant Physiol., 1975, 56, 684—687.
- Kokkinakis, D. M., Brooks, J. L. Hydrogen peroxide-mediated oxidation of indole-3-acetic acid by tomato peroxidase and molecular oxygen. — Plant Physiol., 1979, 64, N 2, 220—223.
- Macháčková, J., Gančeva, K., Zmrhal, Z. The role of peroxidase in the metabolism of indole-3-acetic acid and phenols in wheat. — Phytochem., 1975, 14, N 5—6, 1251—1254.
- Mazza, G., Ricard, J., Bouchet, M. Potentials de demi-réduction et activité auxine-oxydasique de peroxydases de Navet. — C. R. Acad. Sci. Paris., 1970, 270, 2492—2494.
- Merkys, A. Association of IAA with DNA and RNA in plant tissues. — Z. Pflanzenphysiol., 1973, 72, N 4, 716—718.
- Merkys, A., Anisimoviene, N., Putrimas, A. A comparative study of the IAA content in systematically different plants. — Biochem. Physiol. Pflanzen, 1974, 165, N 1, 67—81.
- Meyer, Y., Aspart, L., Chartier, Y. Auxin-induced regulation of protein synthesis in tobacco mesophyll protoplasts cultivated *in vitro*. I. Characteristics of auxin-sensitive proteins. — Plant Physiol., 1984, 75, 1027—1033.
- Moore, Th. C. Biochemistry and Physiology of Plant Hormones. New York—Heidelberg—Berlin, 1979, 55—58.
- Rudnicki, R., Hammond, R. K., Bokovac, M. I. Endogenous plant growth substances in developing fruit of *Prunus cerasus* L. II. Levels of extractable para-coumaric acid in the pericarps. — J. Amer. Soc. Hort. Sci., 1973, 98, N 3, 225—229.
- Rychter, A., Lewak, S. Apple embryo peroxidases. — Phytochemistry, 1971, 10, 2609—2613.
- Shinshi, H., Noguchi, M. Relationship between peroxidase, IAA oxidase and polyphenol oxidase. — Phytochemistry, 1975, 14, N 8, 1255—1258.
- Tillberg, E. Levels of endogenous indole-3-acetic acid in achenes of *Rosa rugosa* during dormancy release and germination. — Plant Physiol., 1984, 76, 84—87.
- Vioque, A., Albi, M. A., Vioque, B. Abscisión de la aceituna. III. Algunas propiedades sistemas enzimático ácido indoleacético-oxidase del olivo. — Grasas y aceites (Esp.), 1978, 29, N 6, 397—406.
- Waldrum, I. D., Davies, E. Subcellular localization of IAA oxidase in peas. — Plant Physiol., 1981, 68, 1303—1307.

Тартуский государственный
университет

Поступила в редакцию
15/IV 1986

IAA-OKSÜDAASI JA PEROKSIDAASI NING IAA SISALDUSE SESOONSED MUUTUSED ÕUNAPUU VEGETATIIVSETES VÕRSETES

IAA-oksüdaasi aktiivsus õunapuu *Malus domestica* Borkh. sordi 'Antoonovka' üheaastaste võrsete pungades oli maksimaalne enne pungade puhkemist (märtsis, aprillis) ja koores intensiivse pikkuskasvu ajal juunis. IAA-oksüdaasi aktiivsus pungades ja koores tõusis ka võrsete radiaalse kasvu perioodil augustis. IAA-oksüdaasne aktiivsus õunapuus on seotud peroksüdaasi aluseliste isovormidega.

Vaba IAA (indool-3-äädikhape) sisaldus pungades oli kõrge aprillis ($4,2-5,6 \mu\text{g/g}^{-1}$) ja vähenes enne pungade puhkemist. Lehtedes vaba IAA-d ei leitud. Põhikogus IAA-st esines aminohapete ja sahhariididega konjugeerunud vormis, maksimaalne sisaldus pungades oli aprillis ($17,4 \mu\text{g}$) ja lehtedes juulis ($14,8 \mu\text{g}$). Valkudega seotud IAA sisaldus oli madal niihästi pungades kui ka lehtedes ($0,5-2,5 \mu\text{g}$). Kõikide IAA vormide kogus võrse ülemises osas oli suurem kui võrse alumises osas.

Pungade puhkemisel ei täheldatud pöördvõrdelist sõltuvust IAA-oksüdaasi aktiivsuse ja vaba IAA sisalduse vahel.

Evi PADU, Heigo MIIDLA, Sirje LOOSAAR, Ülle JAAKMA

DIE JAHRESZEITLICHEN VERÄNDERUNGEN DER AKTIVITÄT DER IES-OXYDASE UND PEROXYDASE UND DES IES-GEHALTES IN DEN VEGETATIVEN SPROSSEN DES APFELBAUMES

Die Aktivität der IES-Oxydase in den Knospen der einjährigen Sprossen des Apfelbaumes *Malus domestica* Borkh. 'Antonovka' war maximal vor der Entfaltung der Knospen (im März, April), und in der Rinde während des intensiven Längenwachstums (im Juni). Die Aktivität der IES-Oxydase in den Knospen und in der Rinde steigt auch während der radialen Wachstumsperiode im August. Die Aktivität der IES-Oxydase im Apfelbaum ist mit den katalytischen Isoenzymen der Peroxydase verbunden.

Der Gehalt der freien IES in den Knospen war hoch ($4,2-5,6 \mu\text{g g}^{-1}$) im April, und verminderte sich vor der Entfaltung der Knospen. Die größte Menge von IES ist mit Aminosäuren und Sacchariden konjugiert. Der maximale Gehalt der konjugierten IES in den Knospen zeigte sich im April ($17,4 \mu\text{g}$) und in den Blättern im Juli ($14,8 \mu\text{g}$). Der Gehalt der mit den Proteinen verbundenen IES war niedrig sowohl in Knospen als auch in Blättern ($0,5-2,5 \mu\text{g}$). Die Gesamtmenge aller Formen von IES war im oberen Teil der Sprossen größer als in dem unteren.

Bei der Entfaltung der Knospen wurde keine widerproportionale Abhängigkeit zwischen der Aktivität der IES-Oxydase und dem Gehalt der freien IES festgestellt.