

Б. С. ДРАБКИН

О ПРИРОДЕ ЛЕТУЧИХ ФРАКЦИЙ ФИТОНЦИДОВ ЧЕРЕМУХИ

(Представлено академиком А. И. Опариным 23 II 1951)

Установлено, что летучие фитонциды черемухи оказывают губительное действие на различные по своей сложности организмы (протистов, фитофтору, различных насекомых, гельминтов (⁴⁻⁶)). Это давало основание предполагать, что интересующие нас вещества вызывают какие-то нарушения обмена веществ, изменяя, возможно, активность ферментных систем, как это наблюдалось в опытах С. И. Винокурова и его сотр. с другими растениями (^{1,2}). Мы предполагали, что исследование характера изменения ферментного действия может дать некоторые материалы, характеризующие и химическую природу действующего начала.

В первой серии опытов* изучалось действие летучих фракций фитонцидов черемухи на каталазу и пероксидазу крови (металлсодержащие ферменты), амилазу слюны и ксантиндегидразу молока (повидимому, не содержащий металла). Методика опытов была следующей: субстрат, содержащий фермент (кровь при изучении действия на каталазу и пероксидазу, слюна при изучении действия на амилазу и молоко при изучении действия на ксантиндегидразу), наливался в тигелек, который помещался в стеклянный бюкс емкостью 75 см³. Пространство в бюксе вокруг тигелька заполнялось растертыми до кашицеобразного состояния листьями черемухи. Воздействие на субстрат летучими веществами, выделявшимися из растертых тканей черемухи, продолжалось в течение определенного времени, после чего производилось определение активности фермента, содержавшегося в субстрате. В контрольных вариантах субстрат выдерживался в таких же условиях, но в бюкс не вносились кашица из листьев черемухи.

Активность пероксидазы определялась хронометрическим методом Симакова, активность каталазы определялась титрометрическим методом по Баху и Зубковой, активность ксантиндегидразы — хронометрическим методом по скорости обесцвечивания метиленовой сини в присутствии формальдегида, активность амилазы — по Вольгемуту.

Об изменении активности каталазы и пероксидазы можно судить по результатам опытов, приведенным в табл. 1.

Из табл. 1 видно, что летучие вещества, выделяемые растертыми листьями черемухи, при воздействии в течение 1 часа резко снижают активность каталазы и пероксидазы крови.

Изменений активности амилазы слюны и ксантиндегидразы молока, даже при воздействии в течение 24 час., обнаружить не удалось.

В следующей серии опытов изучалось действие летучих фракций фитонцидов черемухи на каталазу и амилазу дождевых червей. В этих опытах сквозь взвесь из растертых тканей дождевых червей протягивался в течение часа воздух, содержащий летучие вещества, выде-

* В проведении опытов участвовал Я. И. Коц.

Действие летучих фракций фитонцидов черемухи на активность пероксидазы и каталазы крови (продолжительность воздействия 1 час)

№ опыта	Пероксидаза			Каталаза		
	Время обесцвечивания в сек.		Активность после воздействия в % к контролю	Активность в мл 0,1 N KMnO ₄		Активность после воздействия в % к контролю
	контроль	опыт		контроль	опыт	
1	180	510	35,3	2,9	1,9	65,5
2	340	610	55,7	2,8	2,0	71,4
3	390	720	54,2	3,0	2,0	66,6
Средн. .	303	613	49,4	2,9	2,0	69,0

лявшиеся 10 г кашицы листьев черемухи. Через контрольную взвесь с такой же интенсивностью протягивался воздух, не содержащий летучих фитонцидов черемухи. Активность каталазы определялась титрометрически. Для определения бралось 10 мл взвеси (см. табл. 2).

Таблица 2

Действие летучих фракций фитонцидов черемухи на каталазу дождевых червей (*Lumbricus* sp.)

№ опыта	Активность каталазы в мл 0,1 N KMnO ₄		Опыт в % к контролю
	контроль	опыт	
1	4,8	1,45	30,2
2	3,4	1,95	57,6
3	3,5	0,8	22,9
4	3,3	0,35	10,6
5	3,45	0,65	18,9
Средн.	3,7	1,0	28,2

Изменений активности амилазы, которая определялась по Вольгемуту, и в этой серии опытов обнаружить не удалось.

Данные, полученные в обеих сериях опытов, давали основание предполагать, что фитонцидное действие листьев черемухи связано с какими-то веществами, оказывающими тормозящее действие на металлсодержащие каталазу и пероксидазу.

Из литературы известно, что у растений, принадлежащих к подсемейству Prunoidea семейства Rosaceae, нередко содержатся

глюкозиды (амигдалин, пруназин), при гидролизе которых выделяется синильная кислота. Возник вопрос, не связано ли фитонцидное действие листьев черемухи с образованием синильной кислоты, которая, как известно, подавляет металлсодержащие ферменты и, в частности, каталазу и пероксидазу.

Для того чтобы установить, выделяется ли синильная кислота из растертых тканей листьев черемухи, были поставлены следующие опыты. 5 г листьев измельчались ножницами и тщательно растирались в фарфоровой ступке. Полученная кашица переносилась в эрленмейеровскую колбочку емкостью в 100 мл. Выделение синильной кислоты обнаруживалось при помощи пикратных бумажек по Гиньяру (?).

В течение мая, июня и июля было поставлено 8 опытов. Во всех опытах наблюдалось быстрое изменение окраски пикратных бумажек. Через 1 час окраска из светложелтой превращалась в коричневую и даже красно-коричневую, что явно свидетельствовало о выделении растертыми листьями черемухи синильной кислоты. Результаты опытов позволили предположить, что губительное действие летучих веществ

листьев черемухи определяется в какой-то степени синильной кислотой.

В связи с этим нам казалось интересным выяснить, существует ли корреляция между силой фитонцидного действия листьев черемухи и интенсивностью выделения ими синильной кислоты.

Б. П. Токин неоднократно подчеркивал, что интенсивность фитонцидообразования зависит от физиологического состояния растения. З. А. Борзова установила, что действие летучих фракций фитонцидов черемухи на фитофтору (*Phytophthora infestans*) резко падает в осенний период. Нами (Драбкин и Баловнев) было установлено, что гельминтоцидное действие летучих веществ черемухи также резко падает осенью. Мы попытались выяснить, в какой степени коррелируют эти изменения фитонцидного действия с выделением синильной кислоты.

С этой целью ежемесячно в течение вегетационного периода изучалось действие летучих веществ, выделяемых растертыми листьями черемухи, на парамеций (*Paramecium caudatum*), дождевых червей (*Lumbricus* sp.) и нематод (*Cosmoserca* sp.). Параллельно определялось и количество выделяющейся синильной кислоты.

При изучении действия на парамеций 5 г листьев черемухи тщательно растирались в фарфоровой ступке и переносились в чашку Петри, выложенную изнутри влажной фильтровальной бумагой. Над кашицей на расстоянии 0,5 см на пробковых подставках устанавливалось предметное стекло с углублением, обращенным к кашице. В углубление предметного стекла предварительно наносилась капля молочной среды с 15—20 парамециями. Наблюдение велось под микроскопом через крышку чашки Петри.

Действие на нематод изучалось аналогичным путем, с той лишь разницей, что в углубление предметного стекла вносилась капля физиологического раствора (0,6% NaCl) с 2 нематодами (*Cosmoserca* sp.) из прямой кишки жаб.

Для изучения действия летучих фракций фитонцидов черемухи на дождевых червей кашица из 5 г растертых листьев черемухи переносилась в бокс емкостью в 75 см³. Над кашицей на пробковых подставках устанавливалась картонная решетка со щелями, свободно пропускавшими летучие вещества, выделявшиеся растертыми листьями. На решетку укладывались 2 дождевых червя.

В контрольных вариантах парамеции, нематоды и дождевые черви находились в таких же условиях, что и в опытных, но без кашицы из листьев.

Количество выделявшейся синильной кислоты учитывалось следующим методом. 10 г листьев черемухи быстро и тщательно растирались и переносились в склянку Дрекселя. Выделявшиеся летучие вещества протягивались через вторую склянку Дрекселя, которая служила поглотителем и содержала 30 мл 1 *N* раствора КОН и 4 мл 0,1 *N* раствора КJ. Так как воздух лаборатории, протягивавшийся через растертые листья черемухи, мог содержать синильную кислоту, его предварительно пропускали через склянку Тищенко с 1 *N* раствором КОН, установленную перед первой склянкой Дрекселя. Воздух через всю систему протягивался при помощи аспиратора в течение 2 час. с одинаковой скоростью — 10 л в час.

Количество выделившейся HCN определялось титрованием 0,05 *N* AgNO₃ щелочной среды, через которую протягивались выделявшиеся растертыми листьями черемухи летучие вещества (см. табл. 3).

Из приведенных в табл. 3 данных явствует, что фитонцидное действие летучих веществ, выделяемых растертыми листьями черемухи, к осени резко падает. Это явление закономерно обнаруживается по отношению к различным испытанным нами тест-объектам. Параллельно

Таблица 3

Изменение фитонцидного действия и выделения HCN листьями черемухи (*Rudus racemosa*) в течение вегетационного периода

Дата опыта	Срок гибели			Выделилось HCN в мг за 2 часа
	парамеций	нематод	дождевых червей	
19 V	10 мин.	25 мин.	25 мин.	1,485
19 VI	30 мин.	20 мин.	35 мин.	0,763
15 VII	30 мин.	30 мин.	35 мин.	1,215
31 VIII	15 мин.	—	10 мин.	0,945
18 IX	1 ч. 54 мин.	3 ч. 34 мин.	1 ч. 40 мин.	0,238
4 X ₁	2 ч. 56 мин.	3 ч. 45 мин.	3 ч. 07 мин.	0,119

с падением фитонцидного действия наблюдается и резкое снижение выделения синильной кислоты.

З. А. Борзова, исследуя действие фитонцидов черемухи на фитотору, обнаружила, что в то время как осенние листья черемухи не оказывают воздействия на зооспоры изучавшегося ею грибка, летучие фракции почек и коры оказывают мощное фитонцидное действие.

Мы попытались сравнить степень фитонцидного действия и интенсивность выделения HCN осенними листьями и почками черемухи. Результаты этих опытов, проведенных одновременно 15 X, приведены в табл. 4.

Таблица 4

Сравнительное действие летучих фракций фитонцидов осенних листьев и почек черемухи и выделение ими HCN

Часть растения, использованная для опыта	Эффект воздействия на			Выделилось HCN в мг за 1,5 часа
	парамеций	нематод	дождевых червей	
Листья	Живы через 5 час.	Живы через 5 час.	Погибли через 4 ч. 30 мин.	Следы
Почки	Погибли через 20 мин.	Погибли через 20 мин.	Погибли через 35 мин.	0,476 *

* При определении выделения HCN из-за недостатка материала было взято 5 г почек вместо обычной навески в 10 г.

Из табл. 4 явствует, что и в данном случае наблюдается определенная корреляция между силой фитонцидного действия и выделением HCN.

Обнаруженная взаимосвязь подтверждает, как нам кажется, высказанное выше предположение о том, что фитонцидное действие листьев черемухи связано с содержанием в их тканях цианосодержащих глюкозидов и что одним из компонентов летучих фракций фитонцидов черемухи является, повидимому, синильная кислота, отщепляющаяся при гидролизе этих глюкозидов.

Чкаловский государственный
медицинский институт

Поступило
9 XI 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ С. И. Винокуров, Л. М. Бронз и С. Э. Корсак, Бюлл. эксп. биол. и мед., 23, в. 4, 296 (1947). ² С. И. Винокуров и Г. С. Гольдфайн, там же, 25, в. 2, 140 (1948). ³ И. Торопцев и И. Камнев, ДАН, 51, № 5 (1946). ⁴ Б. П. Токин, Фитонциды, М., 1948. ⁵ З. А. Борзова, Сборн. Биологические антисептики, Томск, 1946, стр. 152. ⁶ С. Ф. Киселева, ДАН, 49, № 9 (1945). ⁷ Н. Н. Иванов, Методы физиологии и биохимии растений, 1946.