



УДК 595.768.23:576.88:58.073:58.085

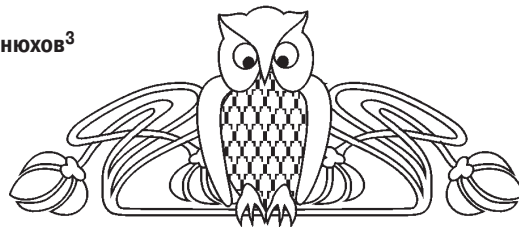
## ФОТОСИНТЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ У ПОВИЛИКИ *Cuscuta campestris* (CONVOLVULACEAE) ПРИ ЗАСЕЛЕНИИ РАСТЕНИЯ ГАЛЛООБРАЗОВАТЕЛЕМ-ДОЛГОНОСИКОМ *Smicronyx smreczynskii* (COLEOPTERA, CURCULIONIDAE)

В. В. Аникин<sup>1</sup>, М. И. Никельшпарг<sup>2</sup>, Э. И. Никельшпарг<sup>3</sup>, И. В. Конюхов<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского  
E-mail: anikinvasiliiv@mail.ru

<sup>2</sup>Гимназия № 3, Саратов. E-mail: matveynikel@yandex.ru

<sup>3</sup>Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова  
E-mail: evelinanick@gmail.com



В статье впервые определены характеристики фотосинтетического аппарата, зависимость эффективности и скорости фотосинтеза от уровня освещенности цветкового растения-паразита повилки полевой *Cuscuta campestris* в случае заселения растения насекомым-галлообразователем из семейства долгоносиков – *Smicronyx smreczynskii*. Сделано предположение, что галлогенез *Smicronyx smreczynskii* приводит к увеличению эффективности фотосинтеза за счет увеличения количества реакционных центров (РЦ) фотосистемы II (ФСII) у повилки полевой *Cuscuta campestris*.

**Ключевые слова:** галлогенез, фотосинтез, фотосинтетическая активность, повилка, *Cuscuta campestris*, галлообразователь, жук-долгоносик, *Smicronyx smreczynskii*, биологический контроль.

### Photosynthetic Activity of the Dodder *Cuscuta campestris* (Convolvulaceae) in Case of Plant Inhabitation by the Gallformed Weevil *Smicronyx smreczynskii* (Coleoptera, Curculionidae)

V. V. Anikin, M. I. Nikelshparg, E. I. Nikelshparg, I. V. Konyukhov

In the article parameters of photosynthetic apparatus and dependence of the efficiency and rate of photosynthesis on irradiance in flowering plant – parasitic dodder *Cuscuta campestris* colonized by gall-inducing insect from the family of weevils *Smicronyx smreczynskii* were determined for the first time. Gall formation by *Smicronyx smreczynskii* is supposed to lead to the increase in the photosynthesis efficiency by the increase in the number of reaction centers of photosystem II of the dodder *Cuscuta campestris*.

**Key words:** gall formation, photosynthesis, photosynthetic activity, dodder, *Cuscuta campestris*, gall-inducing insect, weevil, *Smicronyx smreczynskii*, biological control.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-1-42-47

#### Введение

Прошло пятнадцать лет с момента публикации первой большой работы по составу насекомых-галлообразователей [1], развивающихся на древесных и травянистых растениях в

районе исследований. За истекшее время авторам удалось расширить спектр представителей группы и углубиться в особенности экологии и биологии этих насекомых, проследить особенности взаимодействия насекомого и растения. В частности, проследить действие галлогенеза при развитии личинок жука-долгоносика *Smicronyx smreczynskii* на фотосинтетическую активность повилки полевой *Cuscuta campestris*.

Само растение относится к облигатным паразитам цветковых растений и имеет желто-оранжевую окраску из-за редукции фотосинтетического аппарата. Однако из известных 170 видов некоторые виды способны частично обеспечивать себя энергией с помощью фотосинтеза [2, 3]. Так, у *Cuscuta campestris* [4] и *Cuscuta europaea* [5] установлено, что количество хлорофилла меняется со временем, как в молодых побегах до прикрепления к растению-хозяину, так и в соцветиях. Можно предположить, что при цветении у вида включается механизм фотосинтеза в качестве дополнительного источника энергии для образования семян. Такой же эффект прослеживается и в случае заселения растения его естественным врагом жуком-долгоносиком. Галл на повилке имеет зеленый цвет и отличается по цвету от стебля, что можно было бы объяснить появлением фотосинтетической активности в тканях галла.

Исследования различными авторами структуры галлов жуков из рода *Smicronyx*, содержания в них хлорофилла, каротиноидов, ультраструктуры хлоропластов и способности выделенных из галла хлоропластов к выделению кислорода и фиксации CO<sub>2</sub> [2, 4, 6, 7] продемонстрировали противоречивые данные, но с одинаковым выводом: у хлоропластов галлов более высокая фотосинтетическая активность по сравнению со стеблями. В то же время параметры фотосинтетического аппарата в галле и стеблях одного и того



же растения у повилики полевой никогда ранее не были изучены *in vivo*. Два этих положения и послужили основой для выбора целей проведенного исследования.

Целью данной работы являлось исследование воздействия долгоносика *Smicronyx smreczynskii* на кормовое растение – повилку полевую *Cuscuta campestris*: на состояние фотосинтетического аппарата тканей растения, цветение, плодоношение и распространение. В ходе работы впервые была получена кривая индукции флуоресценции галла долгоносика на повилке полевой, определены характеристики фотосинтетического аппарата тканей галла и сопоставлены с характеристиками стеблей того же растения. Показано влияние долгоносика на цветение и плодоношение повилики, представлены новые данные о биологии долгоносика, в том числе о новом естественном паразите *Bracon murgabensis*. Полученные нами данные позволяют говорить о возможном пересмотре концепции взаимоотношений долгоносика *Smicronyx smreczynskii* и повилики *Cuscuta campestris*, от концепции прямого паразитирования галлообразователя на растении к концепции обоюдывыгодного взаимодействия видов.

#### Материалы и методы

Наблюдения за развитием повилики полевой и ее галлообразователем проводились в поселке Юбилейный г. Саратова с июня по октябрь в 2015–2016 гг. Очаг сплошного заражения *C. campestris* составлял площадь не менее 2000 м<sup>2</sup>, где она произрастала (паразитировала) на следующих сорных растениях: дурнишнике (*Xanthium sp.*), лебеде (*Atriplex sp.*), спорыше обыкновенном (*Polygonum aviculare*), тысячелистнике обыкновенном (*Achillea millefolium*), льнянке обыкновенной (*Linaria vulgaris*), вьюнке полевом (*Convolvulus arvensis* L.), полыни (*Artemisia*) и на бордюрных декоративных растениях: календуле (*Calendula sp.*), астре (*Aster sp.*). На всей площади произрастания паразита все растения были с галлами жука долгоносика *Smicronyx smreczynskii*.

Для наблюдения за личинками жука-долгоносика его галлы собирались в чашки Петри (выход имаго составлял >100 экз. каждый год). Развитие личинки протекает 10–14 дней, потом происходит окукливание. Внутри галла куколка очень подвижная, совершает резкие движения, через 6–7 дней выходит имаго. Если личинка жука долгоносика не заражена паразитами или подвергалась нападению «хищников», то выход имаго составлял 100% независимо от того, где находилась личинка (куколка) – на ярком солнеч-

ном свету, в темноте, в земле или на дне чашки в лабораторных условиях.

Для установления фотосинтетической активности измерялись *параметры флуоресценции хлорофилла фотосистемы II* в галлах и на приборе «МЕГА-25», разработанном на кафедре биофизики биофака МГУ им. М. В. Ломоносова [8]. Флуориметр имеет мощный светоизлучающий диод (455 нм, 7500 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>), формирователь импульсов тока светодиода, фотодиод с граничным светофильтром ( $\lambda > 670$  нм), усилитель сигнала и аналого-цифровой преобразователь (АЦП). Угол падения пучка возбуждающего света – 60°, угол измерения флуоресценции – 30° относительно поверхности галла (стебля).

В конце июля 2016 г. участок, на котором произрастал спорыш обыкновенный (*Polygonum aviculare*), зараженный повилкой, выкапывали и инкубировали в темноте при комнатной температуре не менее 4 часов. Непосредственно перед измерением целые неповрежденные галлы веретенообразной формы длиной 1–1,5 см отрезали от стеблей и помещали в флуориметр, где регистрировали параметры флуоресценции с поверхности галла. В каждом исследованном галле личинка долгоносика была живой, что отмечалось по двигательной активности при вскрытии галла после измерения. Все исследованные галлы были однокамерные.

Непосредственно перед измерением стебли повилики отрезали и помещали в прибор для измерения параметров флуоресценции. Для каждого измерения использовали по 5 участков стеблей. Всего было проведено по 4 измерения параметров флуоресценции галла и стеблей.

В ходе эксперимента регистрировали кривую индукции флуоресценции – зависимость интенсивности флуоресценции хлорофилла от времени под действием интенсивного светового облучения. Данная кривая имеет вид нарастающей функции и отражает кинетику процесса перехода реакционных центров (РЦ) фотосистем II (ФСII) из открытого в закрытое состояние, т.е. из состояния, при котором хинонные акцепторы окислены и способны принять электрон от ФСII, в состояние с восстановленными хинонными акцепторами [9]. По кривой индукции флуоресценции рассчитывали следующие параметры [10]:  $F_0$  – интенсивность флуоресценции хлорофилла  $a$  в образцах после темновой адаптации, когда РЦ ФСII открыты;  $F_m$  – интенсивность флуоресценции хлорофилла  $a$  при закрытых РЦ ФСII;  $F_v$  – переменная флуоресценция, представляющая собой разность  $F_m$  и  $F_0$ ;  $F_v / F_m$  – относительная переменная флуоресценция, или



фотохимический квантовый выход ФСП в образцах, адаптированных к темноте, который дает информацию о максимально возможной активности первичных процессов фотосинтеза;  $F_v/F_m$  – квантовый выход ФСП при продолжительном облучении (3 мин) светом разной интенсивности (в диапазоне  $0.5\text{--}500\text{ мкмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ );  $ETR = I \cdot F_v/F_m$  – относительная скорость фотосинтеза (т.н. линейного электронного транспорта, связанного стехиометрически с процессом выделения кислорода);  $NPQ$  – параметр, рассчитанный по формуле  $F_m/F_m' - 1$ , который служит для оценки интенсивности нефотохимического тушения возбужденных состояний хлорофилла – защитного механизма регуляции фотосинтеза от избыточного облучения.

С помощью теста Стьюдента в программе *Graph Pad Software* было получено р-значение.

### Результаты и их обсуждение

#### Строение галла *Smicronyx smreczynskii*

Галл долгоносика данного вида на повилыке полевой имеет веретенообразный вид. Галлы, в которых находятся личинки старшего возраста, имеют размер 7–45 мм. Размер галла зависит от количества личинок в нем. Большинство галлов однокамерные, но нам встречались и многокамерные галлы (до 3 личинок), где личинки располагаются с небольшой стенкой (до 5 мм) друг от друга и не взаимодействуют друг с другом. Внутри галла со здоровой личинкой долгоносика отмечались сочные зеленые ткани. После выхода здоровой личинки из галла галл сморщивается и окрашивается в желто-коричневый цвет. Галл с личинкой имеет зеленый цвет и снаружи, и внутри (рис. 1).



Рис. 1. Вскрытый галл жука-долгоносика (фото М. Никельшпарга)

Авторами впервые было сделано наблюдение, что при заражении личинки паразитом из наездников браконид – *Bracon murgabensis* происходит парализация личинки долгоносика. Находясь внутри галла, личинка долгоносика перестает питаться и испражняться. Ткани галла при этом тускнеют, наружная поверхность галла становится желтой или оранжевой. Внутренняя поверхность уплотняется, цвет теряет яркость, а зеленый цвет становится более темным, что свидетельствует о прекращении фотосинтетической активности в тканях галла и нарушении «взаимодействий» между паразитом и растением.

#### Фотосинтетическая активность галлов и стеблей *S. campestris*

Известно, что в галлах на повилыке, индуцированных долгоносиком *Smicronyx sp.*, как правило, содержится большее количество хлорофилла, чем в стеблях [6, 11]. Однако количество хлорофилла не является показателем эффективности функционирования фотосинтетического аппарата. Для исследования фотосинтетической активности мы регистрировали индукционные кривые флуоресценции хлорофилла для стебля и галла (рис. 2).

Кривые были нормированы по уровню  $F_m$ . Такая нормировка необходима, поскольку амплитуда сигнала флуоресценции хлорофилла сильно варьирует от образца к образцу из-за разной площади поверхности побегов. По кривой индукции флуоресценции были измерены показатели  $F_0$ ,  $F_m$  и рассчитано соотношение  $F_v/F_m$  – максимальный квантовый выход ФСП, характеризующие эффективность использования энергии света, для стеблей и галлов повилыки (таблица).

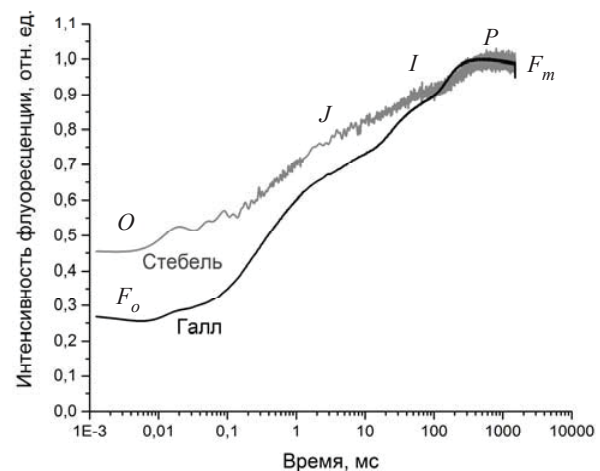


Рис. 2. Кривая индукции флуоресценции галла (показана черным цветом) и стебля (показана серым цветом). Показано общепринятое обозначение характерных фаз кривой (O-J-I-P), начальный уровень флуоресценции ( $F_0$ ) и уровень максимальной флуоресценции ( $F_m$ )



**Параметры флуоресценции хлорофилла в тканях стеблей повилыки *C. campestris* и в галлах долгоносика *S. smreczynskii***

Параметры флуоресценции	Стебель	Галл
$F_0$	19,9±2,3	74,6±7,3**
$F_m$	43,6±5,7	257,9±36,7**
$F_v / F_m$	0,54±0,02	0,71±0,01*

Примечание. \* $p < 0,01$ , \*\* $p < 0,005$ .

Из полученных результатов хорошо видно, что и стебли, и галлы повилыки *C. campestris* обладают фотосинтетической активностью. Значение  $F_v / F_m$  в стеблях составляет 0,54±0,02, что хорошо коррелирует с данными других авторов [2, 12]. Значение  $F_v / F_m$  в галлах измерено впервые и составляет 0,71±0,01, что достоверно превышает значение в стеблях. Более высокое значение  $F_v / F_m$  в галлах согласуется с более низким начальным уровнем флуоресценции (см.  $F_0$ , плато *O* на рис. 2). Характерные времена переноса электрона внутри ФСII, которые были определены по участкам *J-I* и *I-P* индукционных кривых, достоверно не отличались в галлах и стеблях.

В ходе обработки полученных данных были рассчитаны световые кривые для параметра  $F_v / F_m$ , представляющего собой «коэффициент полезного действия» фотосинтеза, который показан на рис. 3.

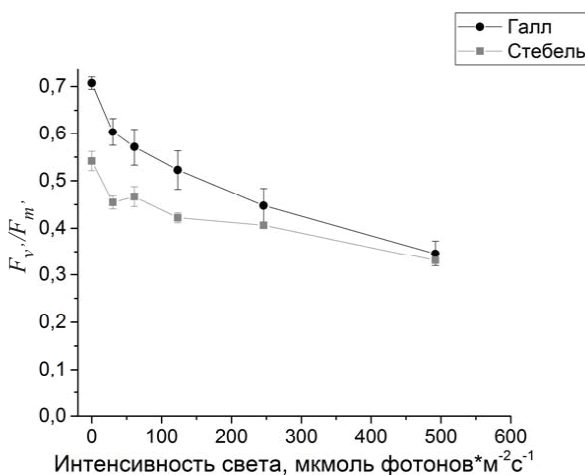


Рис. 3. Зависимость относительной переменной флуоресценции  $F_v / F_m$  от интенсивности предварительного облучения

В области низкой интенсивности света (0,5–60 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>) фотосинтез в галлах протекает с достоверно большей эффективностью, чем в стебле. При большой интенсивности света

(120–500 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>, см. рис. 3) эти различия пропадают. То же самое можно сказать и о световых кривых скорости фотосинтеза, которые четко выделяются на рис. 4.

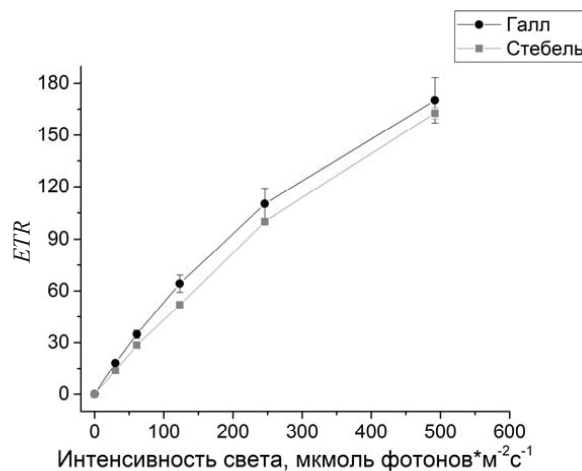


Рис. 4. Зависимость скорости линейного электронного транспорта в цепи переноса электрона в хлоропластах (ETR) от интенсивности предварительного облучения

Достоверных отличий по функционированию защитного механизма нефотохимического тушения (*NPQ*, рис. 5) обнаружено не было.

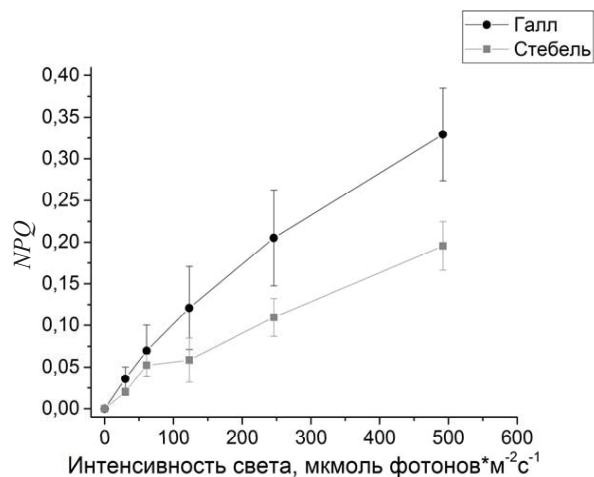


Рис. 5. Зависимость нефотохимического тушения (*NPQ*) от интенсивности предварительного облучения

*Цветение и плодоношение C. campestris*

В литературе неоднократно указывалось на возможность применения жуков-долгоносиков рода *Smicronyx* в качестве потенциальных агентов для биологического контроля повилыки полевой [13–17]. Исследователи считали, что жуки-галлообразователи не допускают цветения и плодоношения повилыки, а также способствуют ослаблению развития побегов растения. Однако



вышеуказанные выводы основывались лишь на факте образования галлов на стеблях повилыки. В ходе наших наблюдений не было обнаружено ослабления цветения или плодоношения *C. campestris*, даже в месте образования галлов (рис. 6).



Рис. 6. Соцветия *C. campestris* на галле (фото М. Никельшпарга)

Увеличение интенсивности освещения закономерно приводит к уменьшению величины  $F_v/F_m$  и увеличению  $NPQ$  для обоих типов тканей, что характерно для автотрофных высших растений и для повилыки *Cuscuta reflexa*, которая способна к фотосинтезу [18]. Увеличение количества хлорофилла в галлах и рост  $F_v/F_m$  может свидетельствовать о том, что в тканях галла образуется больше активных РЦ ФСII. При этом обеспечивается более интенсивное фотохимическое тушение хлорофилла – процесс, полезный для растения, из-за которого наблюдается более низкий уровень «темновой» флуоресценции  $F_o$ , нормированный на  $F_m$  (см. рис. 2). Полученные данные коррелируют с анализом морфологии хлоропластов повилыки [6, 7] и их активностью [4]. Однако механизм взаимодействия и формирования галлов долгоносика рода *Smicronyx* на повилыке до сих пор не изучен. Например, в одной из работ [19] среди гипотетических механизмов указаны продукты метаболизма личинки долгоносика, физиологически активные вещества, продуцируемые растением, или внешние факторы, такие как вирусы и микроорганизмы, которые могут быть занесены при заражении.

Проведенные исследования показали, что ткани галла долгоносика *Smicronyx smreczynskii* на повилыке *Cuscuta campestris* обладают более высоким уровнем фотосинтетической активности, тогда как заражение личинки долгоносика паразитом *Bracon murgabensis*, приводящее к

прекращению жизнедеятельности личинки, приводит к пожелтению галла, что может свидетельствовать о разрушении хлорофилла и снижении фотосинтетической активности. В свою очередь, это означает, что необходимым условием для формирования и поддержания структуры галла является жизнедеятельность самой личинки долгоносика.

### Заключение

Таким образом, анализ полученных результатов позволяет говорить о новом взгляде на взаимоотношения долгоносика *Smicronyx smreczynskii* и повилыки *Cuscuta campestris*. Концепция прямого паразитирования галлообразователя на растении меняется на концепцию обоюдывыгодного взаимодействия видов. Теперь становится понятным, почему попытки использовать долгоносиков этого рода, ранее считавшихся естественными врагами повилыки, в качестве агентов для биологического контроля над численностью растения-паразита не увенчались успехом. Эти виды по отношению друг к другу являются «не врагами, а союзниками» с очень сложными на биохимическом уровне симбиотическими связями, и мы постараемся продолжить исследования в данном направлении.

### Благодарности

Авторы выражают глубокую признательность коллегам энтомологам и ботаникам за помощь при проверке определения материала К. Г. Самарцеву (Зоологический институт РАН, г. С.-Петербург), И. А. Забалуеву (Саратовский аграрный университет), М. В. Лаврентьеву (Саратовский государственный университет).

### Список литературы

1. Аникин В. В., Степанов С. А. Насекомые-галлообразователи Нижнего Поволжья и галлогенез растений // Самарская Лука. 2001. № 11. С. 262–271.
2. Kooij T. A. W. van der, Krause K., Dorr I., Krupinska K. Molecular, functional and ultrastructural characterisation of plastids from six species of the parasitic flowering plant genus *Cuscuta* // Planta. 2000. Vol. 210, № 5. P. 701–707.
3. Mishra J. S. Biology and Management of *Cuscuta* species // Indian J. Weed Sci. 2009. Vol. 41, № 1–2. P. 1–11.
4. Dinelli G., Bonetti A., Tibiletti E. Photosynthetic and Accessory Pigments in *Cuscuta-Campestris*-Yuncker and Some Host Species // Weed Res. 1993. Vol. 33. P. 253–260.
5. Švubová R., Ovečka M., Pavlovič A., Slovákova L., Blehová A. *Cuscuta europaea* plastid apparatus in vari-



- ous developmental stages // Plant Signal. Behav. 2013. Vol. 8, № 5. P. e24037.
6. *Laudi G.* Ultrastructural Researches on the Plastids of Parasitic Plants. IV. Galls of *Cuscuta australis* // G. Bot. Ital. 1968. Vol. 102, № 1. P. 1–19.
  7. *Gailhofer M., Thaler I.* Piastidenstrukturen einer Smicronyx-Galle auf *Cuscuta campestris* // Python (Austria). 1974. Vol. 16. P. 57–64.
  8. *Погосян С. И., Гальчук С. В., Казимирко Ю. В., Конюхов И. В., Рубин А. Б.* Применение флуориметра «МЕГА-25» для определения количества фитопланктона и оценки состояния его фотосинтетического аппарата // Вода : химия и экология. 2009. № 6. С. 34–40.
  9. *Strasser R. J., Govindjee.* The Fo and the O-J-I-P Fluorescence Rise in Higher Plants and Algae // Regul. Chloroplast Biog. Boston, MA : Springer US, 1992. P. 423–426.
  10. *Roháček K., Barták M.* Technique of the Modulated Chlorophyll Fluorescence: Basic Concepts, Useful Parameters, and Some Applications // Photosynthetica. 1999. Vol. 37, № 3. P. 339–363.
  11. *Tănase M., Sand C.* Aspects regarding the physiology of cuscuta (*Cuscuta* L., Convolvulaceae) // J. of Horticulture, Forestry and Biotechnology. 2012. Vol. 16, № 1. P. 212–215.
  12. *Revell M. J. W., Stanley S., Hibberd J. M.* Plastid genome structure and loss of photosynthetic ability in the parasitic genus *Cuscuta* // J. Exp. Bot. 2005. Vol. 56, № 419. P. 2477–2486.
  13. *Baloch G. M.* Possibilities for Biological Control of some Species of *Cuscuta* (Convolvulaceae) // Intern. J. Pest Manag. Part C. 1968. Vol. 14, № 1. P. 27–33.
  14. *Zhekova E., Petkova D., Ivanova I.* *Smicronyx smreczynskii* F. Solari, 1952 (Insecta : Curculionidae) : Possibilities for biological control of two *Cuscuta* species (Cuscutaceae) in district of Ruse // Acta Zool. Bulg. 2014. Vol. 66, № 3. P. 431–432.
  15. *Aly R., Dubey N. K.* Weed Management for Parasitic Weeds // Recent Adv. Weed Manag. N.Y. : Springer New York, 2014. P. 315–345.
  16. *Торбаев С. С.* Использование повиликового галлового долгоносика в биологической борьбе с повиликой полевой // Вестн. с.-х. науки Казахстана. 1977. № 3. С. 116–117.
  17. *Shimi P., Bayat A. H., Rezapana M. R., Koliaii R.* A study of *Smicronyx robustus* Faust (Curculionidae) as a biological control agent of eastern dodder (*Cuscuta monogyna* Vahl.) in Iran // J. Agric. Sci. Islam. Azad Univ. 1995. Vol. 1, № 2. P. 43–52.
  18. *Hibberd J. M., Bungard R. A., Press M. C., Jeschke W. D., Scholes J. D., Quick W. P.* Localization of photosynthetic metabolism in the parasitic angiosperm *Cuscuta reflexa* // Planta. 1998. Vol. 205, № 4. P. 506–513.
  19. *Бондур О. А., Сливак В. А.* Влияние микроорганизмов, выделенных из галл *Cuscuta campestris* Yunck. и личинок рода *Smicronyx* Schonh., на растительные тест-объекты // Бюл. Бот. сада Сарат. гос. ун-та. 2012. № 10. С. 208–213.

#### Образец для цитирования:

Аникин В. В., Никельшпарг М. И., Никельшпарг Э. И., Конюхов И. В. Фотосинтетическая активность у повилки *Cuscuta campestris* (Convolvulaceae) при заселении растения галлообразователем-долгоносиком *Smicronyx smreczynskii* (Coleoptera, Curculionidae) // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 1. С. 42–47. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-1-42-47.

#### Cite this article as:

Anikin V. V., Nikelshparg M. I., Nikelshparg E. I., Konyukhov I. V. Photosynthetic Activity of the Dodder *Cuscuta Campestris* (Convolvulaceae) in Case of Plant Inhabitation by the Gallformed Weevil *Smicronyx Smreczynskii* (Coleoptera, Curculionidae). *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 1, pp. 42–47 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-1-42-47.