



Конкурс для школьников «Гениальные мысли» Автореферат проекта призера III степени

Название работы – Фотосинтетическая активность у облигатного растения повилики при заселении ее галлообразователем-долгоносиком (Жуки – повелители фотосинтеза).

Автор – Никельшпарг Матвей Ильич (7 класс, МАОУ "Гимназия № 3", г. Саратов).

Основная идея работы, цели, задачи

Первоначально идея работы возникла на прошлой конференции (2016г) в рамках Наноолимпиады, в которой я представлял работу, где доказывал симбиотическую связь между растением и насекомым-галлообразователем. До этого такая связь рассматривалась в литературе исключительно как паразитическая. Но единственным доказательством симбиотической связи тогда у меня были только морфологические признаки этого сообщества. Растение отлично росло, а насекомые, живя внутри этого растения, прекрасно себя чувствовали. И мне задали вопрос: а есть какие-то более существенные показатели симбиоза, кроме внешних, морфологических?

Задавшись эти вопросом, я долго думал, спрашивал других, что можно еще использовать для доказательства. Но ответ никак не приходил. Тогда я обратился к самой сути растений. Что для растения самое главное? Конечно, фотосинтез! И тут судьба преподнесла мне подарок: я заметил, что на облигатном растении повилика есть галлы. И эти галлы – зеленого цвета! Хотя само растение считается почти утратившим способность к фотосинтезу, оно желто-оранжевого цвета, питается исключительно за счет других растений, а галлы-то – зеленые. Повилика с галлами имела прекрасные морфологические показатели, имела большую площадь распространения, из чего я сделал вывод о симбиотической связи повилики и ее галлообразователя – жука-долгоносика. Конечно, я сразу же обратился к куратору, и мы сформировали цель работы:

Исследование воздействия долгоносика рода *Smicronyx* на кормовое растение повилику полевую *Cuscuta campestris*: на фотосинтез тканей растения, цветение, плодоношение и распространение.

Новизна работы

В ходе работы были впервые получены характеристики фотосинтеза тканей галла долгоносика рода *Smicronyx* на повилике полевой и сопоставлены с характеристиками стеблей того же растения.

Основные результаты

Повилика (*Cuscuta sp.*) – род паразитических растений семейства Вьюнковые, все виды которого отнесены к категории карантинных сорняков. Как правило, у представителей рода *Cuscuta* редуцирован фотосинтетический аппарат, поэтому они имеют желто-оранжевую окраску. Повилику чаще всего относят к строго облигатным паразитам, однако в некоторых работах показано, что небольшое количество хлорофилла может присутствовать в цветках и молодых побегах [1]. Некоторые насекомые используют повилику в качестве кормового растения [2]. Долгоносики рода *Smicronyx* формируют галлы на стеблях повилики и

развиваются в них. В ряде работ эти долгоносики указываются как естественные враги повилики и предложены в качестве агентов для биологического контроля за численностью растения, например [3] и [4]. Однако ни одна из попыток использования их для снижения численности повилики не увенчалась успехом.

В Волжском районе города Саратова мной была обнаружена повилика полевая (*Cuscuta campestris* Junk). Развитие *C. campestris* наблюдалось мною с июня по октябрь в течение 2 лет (2015-2016). За 2 года численность повилики увеличилась практически в 2 раза. Очаг сплошного заражения *C. campestris* в 2016 году составлял площадь не менее 2000 кв.м. Отличительная особенность наблюдаемой *C. campestris* – наличие на ней множества галлов, вызванных долгоносиком *Smicronyx Smreczynskii*.

В этом году я обнаружил, что галл на повилике имеет зеленый цвет. Это может свидетельствовать о наличии хлорофилла, а значит, о возможности появления фотосинтеза в тканях галла, образованных в результате заселения личинками долгоносика. Естественно, я сразу же обратился за помощью к куратору. И мы вместе провели несколько экспериментов, связанных с нашим открытием. Нами было собрано не менее 100 галлов за сезон долгоносика *S. Smreczynskii* на повилике полевой *C. campestris* с июня по октябрь. Каждый галл помещали в чашку Петри и наблюдали в течение не менее 1 месяца. Некоторые галлы вскрывались для изучения внутреннего строения.



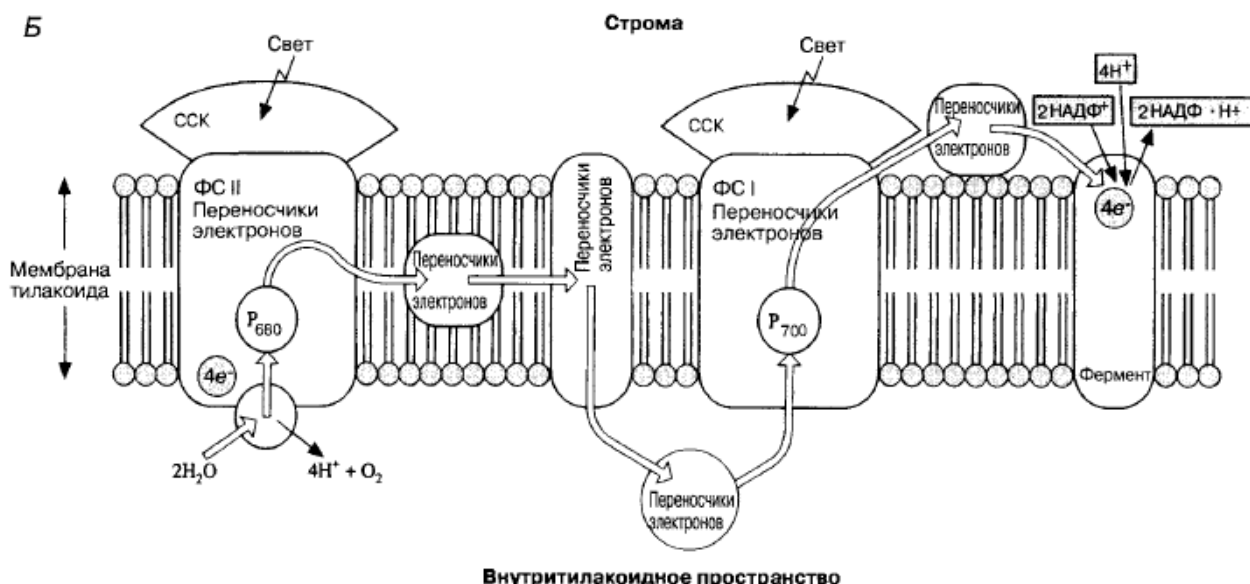
Рис.2. Вскрытие галла



Рис.3. Галлы выделяются зеленой окраской на фоне стеблей

Механизм взаимодействия и формирования галлов долгоносика рода *Smicronyx* на повилыке до сих пор не изучен. Нами установлено, что личинка питается тканями галла, выделяет экскременты. Интересно, что галл с личинкой имеет зеленый цвет не только снаружи, но и внутри. Мы измерили *параметры флуоресценции хлорофилла* в галлах и стеблях повилыки на приборе «МЕГА-25», разработанном на кафедре биофизики биофака МГУ им. М. В. Ломоносова [5]. Это очень удобный прибор, на котором смог поработать и я тоже.

Мы отрезали галл от стебля и помещали в держатель прибора, изолированный от внешнего света. Затем мы освещали галл вспышкой синего света, который хорошо поглощает хлорофилл, и регистрировали флуоресценцию хлорофилла. Хлорофилл находится в реакционных центрах фотосистем I и II (ФС) электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) хлоропластов и в свето-собирающих комплексах (ССК), которые «ловят» свет и передают энергию хлорофиллу в ФС (рис. 4). Когда хлорофилл поглощает свет, то он переходит в возбужденное состояние. В возбужденном состоянии хлорофилл неустойчив. У него есть 2 варианта действий. Он может отдать электрон на следующий переносчик электрона (акцептор электрона) в ЭТЦ, и в этом случае происходит фотосинтез. Или хлорофилл может испустить квант света, т.е. флуоресцировать [6].



Внутритилакоидное пространство
 Рис.4. Схематическое устройство фотосинтетической ЭТЦ. ССК - свето-собирающие комплексы, ФС – фотосистемы, P680 и P700 – это хлорофиллы в ФС. Рис. из [6].

Для нас важно, что всегда происходит только один из двух процессов. Таким образом, уменьшение эффективности фотосинтеза приводит к увеличению интенсивности флуоресценции хлорофилла. Если фотосинтезирующее растение долго находилось без света, то все переносчики электронов в ЭТЦ готовы принимать электроны от хлорофилла в ФС. И как только хлорофилл в ФС будет возбужден светом, то он сразу передаст электроны следующему переносчику электронов (акцептору). Но если растение находится на ярком свете, то хлорофилл в ФС будет возбуждаться и передавать электроны на акцепторы ЭТЦ, пока все акцепторы ЭТЦ не будут восстановлены и не смогут больше принимать электроны. Тогда у хлорофилла будет только 1 выход – флуоресцировать. Согласно биофизическим терминам, описанным в статье Рубина «Методы экологического мониторинга» [7], первое состояние ФС, когда растение находилось в тени, называется F_0 , а второе состояние, после длительного освещения, - это F_m . В первом случае хлорофилл почти не будет флуоресцировать, так как вся энергия возбуждения пойдет на фотосинтез, а во втором – его флуоресценция будет максимальна. Именно эти 2 параметра мы и измеряли на приборе «МЕГА-25». Мы давали короткую вспышку синего света после долгого нахождения галла в тени и регистрировали интенсивность флуоресценции в состоянии F_0 , после чего мы долго светили на галл светом и регистрировали флуоресценцию в состоянии F_m . После этого мы рассчитывали параметр – относительную переменную флуоресценции: $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$. Чем больше этот параметр, тем эффективнее растение фотосинтезирует. Поэтому F_v/F_m часто называют коэффициентом полезного действия (КПД) фотосистем.

Наши исследования показали, что и галлы, и прилегающие к ним стебли обладают фотосинтетической активностью, но в галлах данная активность гораздо выше (табл. 1).

Таблица 1. Параметр F_v/F_m – КПД фотосистем растения

Стебель	Галл со здоровой личинкой	Галл с парализованной личинкой
0,54±0,02	0,71±0,01	0,58

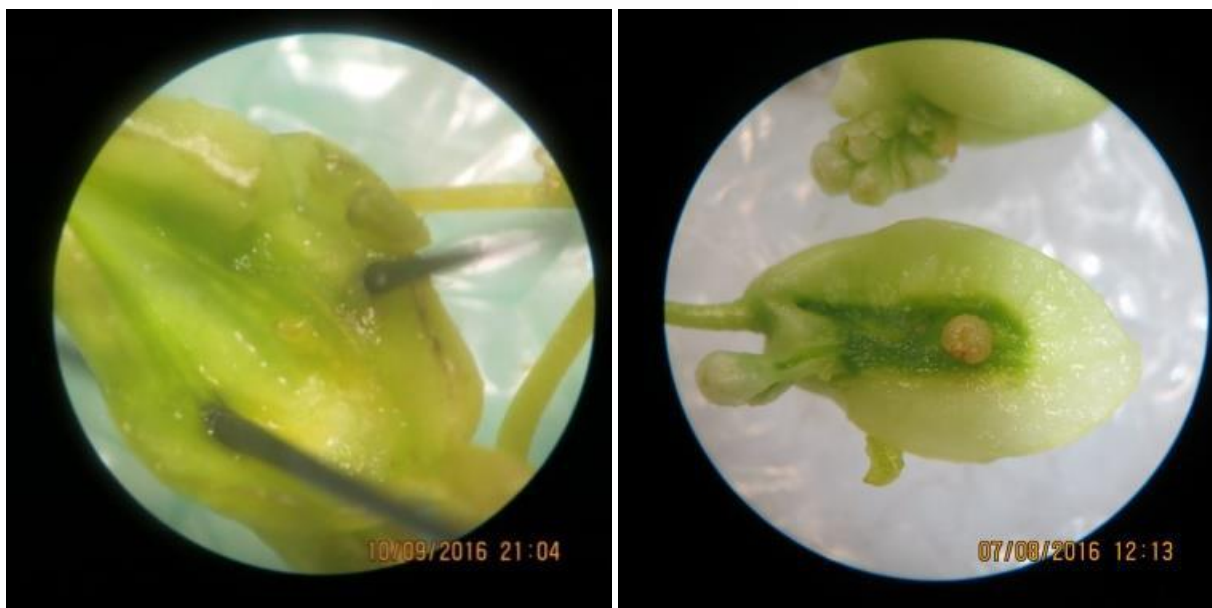
После проведенных экспериментов, я высказал куратору идею, что данное насекомое-галлообразователь является катализатором, а возможно даже **инициатором** фотосинтеза у

облигатного растения. Так как такое предположение было слишком смелым, куратор поставила передо мной вопрос. Как узнать, что «виновата» в этом именно жизнедеятельность личинки долгоносика? Как это проверить? И тут мне посчастливилось найти паразита долгоносика – редкую бракониду: *Bracon murgabensis*, о биологии которой, по словам специалиста энтомолога К. Самарцева (ЗИН РАН), почти ничего не известно. Мы впервые наблюдали, что при заражении личинки долгоносика этим паразитом, личинка долгоносика становится парализованной (рис. 5).

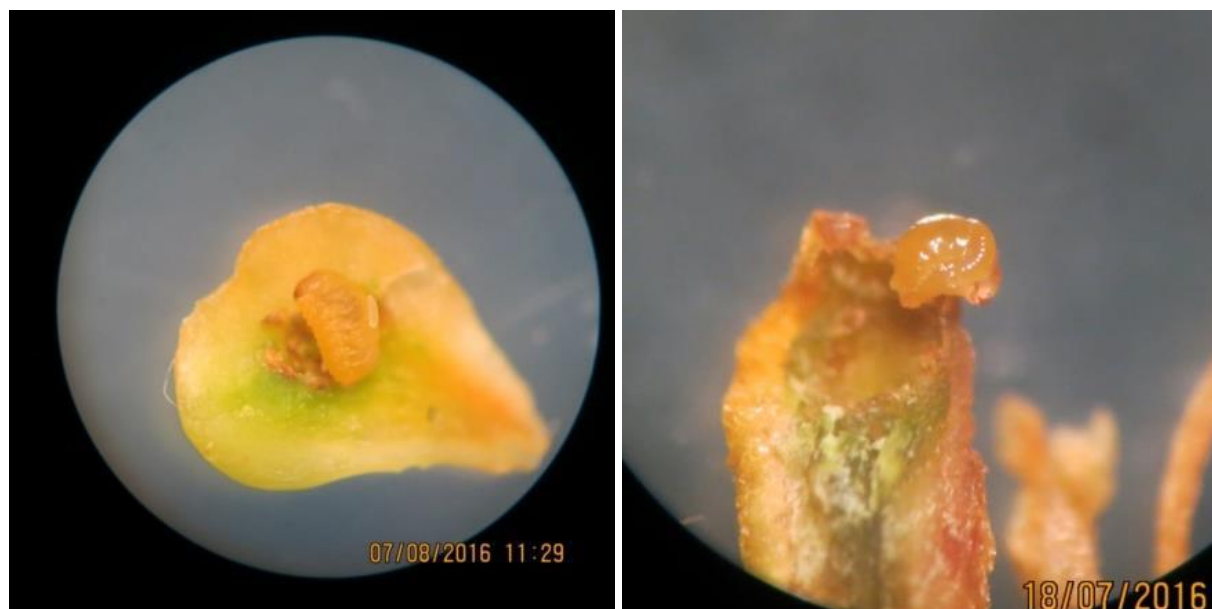


*Рис.5. С помощью длинного яйцеклада браконίδα парализует личинку долгоносика внутри галла, затем откладывает на нее яйцо.
Фото М.Никельшпарг под биноклем.*

При парализации личинка долгоносика перестает питаться и испражняться. Затем происходит следующее: при полном сохранении формы галла наружная поверхность галла постепенно становится желтой или оранжевой, внутренняя поверхность галла уплотняется, темнеет, а ткани приобретают более желтую окраску (рис.7 по сравнению с рис. 6), что может свидетельствовать о разрушении хлорофилла и приводить к снижению фотосинтеза. Измерения параметров флуоресценции хлорофилла в таком галле показало уменьшение эффективности фотосинтеза на 18%, т.е. практически до уровня стеблей без галла (табл.1). Полученные данные могут означать, что необходимым условием для формирования и поддержания зеленой и сочной структуры галла и проявления фотосинтетической активности является именно жизнедеятельность личинки долгоносика.



*Рис.6. Галлы со здоровой личинкой долгоносика зеленого цвета.
Фото М.Никельшпарг под биноклем*



*Рис.7. Галлы с парализованными личинками. Слева на спинке личинки видно яйцо бракониды. Справа личинка бракониды на личинке долгоносика. Хорошо заметно изменение цвета и структуры тканей галла.
Фото М.Никельшпарг под биноклем.*

Выводы, заключение, перспективы

Анализ полученных результатов позволяет нам говорить о новом взгляде на взаимоотношения долгоносика и повилики. Эти виды по отношению к друг к другу являются «не врагами, а союзниками» с очень сложными на биохимическом уровне симбиотическими связями, и авторы постараются продолжить исследования в данном направлении.

Но главное в этом исследовании, я думаю, это то, что открытие поможет ученым по-новому взглянуть на сам процесс фотосинтеза, так как здесь задействовано уже два царства (растение + животное). Население Земли достигло огромных значений, поэтому проблема обеспечения людей продуктами питания стоит остро, как никогда. Многие лаборатории

мира работают над созданием растений, способных эффективнее использовать энергию света для накопления биомассы, однако для этого чаще всего используют методы генной инженерии, зачастую не уделяя должного внимания методам культивирования самих растений. Возможно, наши исследования влияния насекомых на фотосинтез растений позволят разработать более эффективные методы выращивания растений с использованием насекомых.

Список цитированных источников

1. Tănase M., Sand C. Aspects regarding the physiology of cuscuta (Cuscuta L. Convolvulaceae). 2012. Vol. 16, № 1. P. 212–215.
2. Аникин В.В., Степанов С.А. Насекомые-галлообразователи Нижнего Поволжья и галлогенез растений // Самарская Лука. – Самара: Изд-во СГУ, 2001, № 11. С. 262–271.
3. Тюребаев С.С. Использование повиликового галлового долгоносика в биологической борьбе с повиликой полевой // Вестник с.-х. науки Казахстана. 1977. № 3. С. 116–117.
4. 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.
5. Погосян С.И. и др. Применение флуориметра «МЕГА-25» для определения количества фитопланктона и оценки состояния его фотосинтетического аппарата // Вода химия и экология. 2009. № 6. С. 34–40.
6. Тейлор Д., Грин Н., Стаут У. Биология. В 3-х томах. // М.: Бином. Лаборатория знаний.- 2015.- Т.1., раздел 7.
7. Рубин А. Б. Биофизика фотосинтеза и методы экологического мониторинга // Технологии живых систем.- 2005.- Т. 2.- № 1-2.- С. 47-67.