

**1. Imię i nazwisko: Iwona Łukasik**

**2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe:**

- 2001 r. – stopień doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biologia, Akademia Podlaska w Siedlcach, Wydział Rolniczy; rozprawa doktorska pt. „Aktywność wybranych enzymów mszycy czeremchowo-zbożowej (*Rhopalosiphum padi* L.) podczas zmiany roślinnych żywicieli”, promotor: prof. dr hab. Bogumił Leszczyński
- 1995 r. – tytuł zawodowy magistra biologii, Wyższa Szkoła Rolniczo-Pedagogiczna w Siedlcach, Wydział Rolniczy; praca magisterska pt. „Występowanie peroksydazy i oksydazy *o*-difenolowej w przewodzie pokarmowym mszycy zbożowej”, promotor: prof. dr hab. Bogumił Leszczyński

**3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych:**

- od października 2013 do chwili obecnej – Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, Wydział Przyrodniczy, Katedra Biochemii i Biologii Molekularnej, starszy wykładowca
- od października 2006 do października 2013 – Akademia Podlaska w Siedlcach (w 2010 roku zmiana nazwy uczelni na Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny), Wydział Przyrodniczy, Katedra Biochemii i Biologii Molekularnej, adiunkt
- od maja 2001 do października 2006 – Akademia Podlaska w Siedlcach, Wydział Rolniczy, Katedra Biochemii, adiunkt
- od października 1995 do maja 2001 – Wyższa Szkoła Rolniczo-Pedagogiczna w Siedlcach (w 1999 roku zmiana nazwy uczelni na Akademię Podlaską), Wydział Rolniczy, Katedra Biochemii, asystent

**4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):**

**a) Tytuł osiągnięcia naukowego**

„Mechanizmy obronne mszyc zbożowych przed działaniem reaktywnych form tlenu”

**b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)**

Publikacje składające się na główne osiągnięcie naukowe:

1. **Łukasik I.**, Goławska S., Leszczyński B. 2009. Biochemical markers of oxidative stress within cereal aphid tissues. *Acta Biologica Hungarica* 60 (3): 263-272.
2. **Łukasik I.** 2007. Effect of *o*-dihydroxyphenols on the activity of superoxide dismutase and catalase within cereal aphids. *Journal of Applied Entomology* 131: 209-214.
3. **Łukasik I.**, Goławska S., Wójcicka A. 2009. Antioxidant defense mechanisms of cereal aphids based on ascorbate and ascorbate peroxidase. *Biologia* 64/5: 994-998.
4. **Łukasik I.** 2006. Effect of *o*-dihydroxyphenols on antioxidant defence mechanisms of cereal aphids associated with glutathione. *Pesticides* 3-4: 67-73.
5. **Łukasik I.**, Goławska S. 2007. Activity of Se-independent glutathione peroxidase and glutathione reductase within cereal aphid tissues. *Biological Letters* 44(1): 31-39.
6. **Łukasik I.**, Goławska S. 2013. Effect of host plant on levels of reactive oxygen species and antioxidants in the cereal aphids *Sitobion avenae* and *Rhopalosiphum padi*. *Biochemical Systematics and Ecology* 51: 232-239.

**b) Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.**

Wszystkie organizmy tlenowe wytworzyły mechanizmy obronne przed działaniem reaktywnych form tlenu (RFT), takich jak anionorodnik nadadtlenkowy ( $O_2^-$ ), nadtlenek wodoru ( $H_2O_2$ ) i rodnik hydroksylowy ( $\cdot OH$ ), które są stale produkowane w komórkach jako produkty uboczne przemian metabolicznych. Owady roślinożerne, w tym owady o kłująco-ssącym narządzie gębowym, są dodatkowo narażone na RFT, które stanowią część reakcji obronnych roślin w odpowiedzi na stres biotyczny. Owady żerujące we floemie powodują indukcję tych samych szlaków sygnałnych, które są aktywowane przez roślinne patogeny, takie jak bakterie, wirusy i grzyby (Walling 2000). Wśród cząsteczek sygnałowych istotną

## Załącznik 2 Autoreferat

rolę odgrywają RFT, a w szczególności  $H_2O_2$ , który jest dość stabilną cząsteczką i łatwo dyfunduje przez błony. Ślina mszyc i uszkodzenia wywołane ich żerowaniem powodują lokalną i systemową indukcję wytwarzania RFT we floemie (Moran i wsp. 2002, Zhu-Salizman i wsp. 2004, Divol i wsp. 2005).

Wiele gatunków roślin produkuje wtórne metabolity o właściwościach prooksydacyjnych, które po aktywacji mogą reagować z tlenem cząsteczkowym, generując reaktywne formy tlenu. Do prooksydantów roślinnych zalicza się m.in. furanokumaryny, alkaloidy  $\beta$ -karbolinowe, furanochromy, alkaloidy izocholinowe, lignany, poliacetyleny, flawonoidy, fenole i chinony. Większość z wymienionych prooksydantów jest aktywowana fotochemicznie, wytwarzając tlen singletowy ( $^1O_2$ ). Związki fenolowe, a w szczególności *o*-dihydroksyfenole, w wyniku utleniania wytwarzają wysoce reaktywny rodnik semichinonowy (SQ $^{\cdot}$ ), który w reakcji z tlenem generuje anionorodnik ponadtlenkowy, przekształcany do nadtlenu wodoru i rodnika hydroksyloвого (Ahmad i Pardini 1990, Ahmad 1992).

Reaktywne formy tlenu, a w szczególności najbardziej reaktywny rodnik hydroksyloвого, reagują z makrocząsteczkami takimi jak DNA, RNA i białka, powodując uszkodzenia w ich strukturze oraz wywołując peroksydację lipidów. U owadów peroksydacja lipidów jest szczególnie szkodliwa, ponieważ lipidy są nie tylko składnikami błon komórkowych, ale pełnią także ważne funkcje fizjologiczne. Lipidy kutikularne chronią owady przed wysychaniem, cholesterol jest prekursorem ekdysteroidów (hormonów linienia), a izoprenoidowe hormony juwenilne i feromony odgrywają ważną rolę w fizjologii rozwoju i rozmnażania (Downer 1995).

Równowaga pomiędzy generacją RFT a ich neutralizacją jest jednym z czynników warunkujących procesy życiowe roślinożernych owadów, które wykształciły mechanizmy obronne przed działaniem RFT. Wśród nich ważną rolę pełnią enzymy i niskocząsteczkowe antyoksydanty, takie jak kwas askorbinowy i glutation. Kwas askorbinowy posiada silne właściwości redukujące, co decyduje o jego reaktywności wobec anionorodnika ponadtlenkowego, nadtlenu wodoru i rodnika hydroksyloвого. Reaktywność glutationu uwarunkowana jest obecnością wolnej grupy tiolowej w cząsteczce. Glutation uczestniczy również w reakcjach enzymatycznych, które redukują toksyczne nadtlunki do alkoholi oraz powodują terminację peroksydacji lipidów. W tkankach owadów roślinożernych występuje dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), która katalizuje dysmutację anionorodnika ponadtlenkowego do nadtlenu wodoru i tlenu cząsteczkowego. Reakcja dysmutacji

## Załącznik 2 Autoreferat

katalizowana przez SOD powoduje powstanie nadtlenu wodoru, który bardzo łatwo przenika przez błony i w obecności jonów żelaza jest bardziej toksyczny niż anionorodnik ponadtlenny, umożliwia bowiem reakcję Fentona prowadzącą do powstania rodnika hydroksylowego. Katalaza (CAT), współdziałając ściśle z dysmutazą ponadtlenną, redukuje nadtlenek wodoru do cząsteczki wody. Owady roślinożerne wykazują bardzo niską aktywność peroksydazy glutationowej (GPX), co jest związane z niską zawartością selenu w roślinach (Ahmad i Pardini 1990). Brak Se-zależnej GPX jest rekompensowany występowaniem peroksydatywnej aktywności transferazy glutationowej ( $GST_{px}$ ), nazywanej często Se-niezależną peroksydazą glutationową, która katalizuje reakcję redukcji nadtlenu organicznych, nie działa natomiast na nadtlenek wodoru. W tkankach owadów roślinożernych istnieje dodatkowy mechanizm usuwania toksycznego nadtlenu wodoru, wykorzystujący peroksydazę askorbinianową (APX), reduktazę dehydroaskorbinianową (DHAR) i reduktazę glutationową (GR). W systemie tym nadtlenek wodoru jest redukowany przez kwas askorbinowy w reakcji katalizowanej przez APX. Powstały kwas dehydroaskorbinianowy jest następnie przekształcany do askorbinianu przy udziale glutationu, w reakcji katalizowanej przez DHAR. GR redukuje powstały disulfid glutationu przy udziale NADPH.

Dotychczas prowadzone badania nad antyoksydacyjnymi mechanizmami obronnymi owadów roślinożernych były skoncentrowane głównie na owadach o gryzącym narządzie gębowym. Niewiele jest badań dotyczących stresu oksydacyjnego i obrony antyoksydacyjnej w tkankach mszyc - owadów o kłująco-ssącym narządzie gębowym (Madhusudhan i Miles 1998, Figueroa i wsp. 1999, Ni i Quisenberry 2003, Urbańska 2007 i 2009). Wyniki tych badań wskazują na kluczową rolę difenoli i polifenoli w indukcji stresu oksydacyjnego w tkankach mszyc zbożowych. Głównym miejscem generowania  $O_2^-$  i  $H_2O_2$  są tkanki jelita środkowego, gdzie zachodzą procesy utleniania związków fenolowych przy udziale oksydazy polifenolowej i peroksydazy (Urbańska 2009).

Mszycza czeremchowo-zbożowa, *Rhopalosiphum padi* (L.) i mszyca zbożowa, *Sitobion avenae* (F.) to gatunki kosmopolityczne, stosunkowo licznie występujące na zbożach w Polsce. *S. avenae* jest gatunkiem monofagicznym, którego całkowity rozwój przebiega na jednym żywicielu (zboża), *R. padi* wykazuje natomiast cykliczną zmianę żywicieli – żywicielem pierwotnym jest czeremcha zwyczajna, *Prunus padus* (L.), zaś wtórnym rośliny z rodziny *Poaceae*.

Prezentowany cykl publikacji dotyczy porównania poziomu wskaźników stresu oksydacyjnego i mechanizmów antyoksydacyjnych w tkankach dwóch gatunków mszyc

zbożowych: monofagicznego *S. avenae* i oligofagicznego *R. padi*. Zbadano również wpływ roślinnych związków fenolowych na indukcję stresu oksydacyjnego oraz modyfikację systemu antyoksydacyjnego w tkankach badanych roślinożerców.

W pierwszej pracy cyklu (**Łukasik i wsp. 2009 – praca 1**) określono poziom biochemicznych wskaźników stresu oksydacyjnego w tkankach badanych mszyc oraz modulację ich zawartości przez roślinne *o*-dihydroksyfenole. Stwierdzono znaczne różnice w stężeniu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, produktów peroksydacji lipidów (TBARS) i tioli ogólnych pomiędzy badanymi morfami mszyc: bezskrzydłymi samicami (*apterae*), uskrzydłonymi samicami (migrantki; *alatae*) i larwami (*larvae*). Najwyższy poziom H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zanotowano w tkankach *alatae*, najniższy zaś w tkankach form larwalnych. W tkankach bezskrzydłych samic i larw mszycy zbożowej stwierdzono podobne stężenie produktów peroksydacji lipidów, natomiast formy uskrzydłone wykazywały kilkukrotnie wyższy poziom tego wskaźnika w porównaniu z pozostałymi morfami. Odmienną tendencję zaobserwowano dla osobników oligofagicznego gatunku mszycy czeremchowo-zbożowej, gdzie w tkankach bezskrzydłych i uskrzydłonych samic występował podobny poziom produktów peroksydacji lipidów. Najwyższe stężenie tioli ogólnych zanotowano w tkankach *alatae*, najniższe zaś w tkankach *apterae*. Gatunek oligofagiczny *R. padi* charakteryzował się wyższym poziomem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> niż gatunek monofagiczny *S. avenae*. W tkankach bezskrzydłych samic i larw obu gatunków mszyc zanotowano podobne stężenie produktów peroksydacji lipidów, natomiast migrantki *S. avenae* charakteryzowały się wyższą zawartością TBARS niż migrantki *R. padi*. Odmiennie wyniki otrzymano dla tioli ogólnych, których zawartość była wyższa u gatunku monofagicznego. Wysoka zawartość H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i produktów peroksydacji lipidów w tkankach form uskrzydłonych może być związana ze zwiększonym tempem pobierania tlenu podczas lotu, co skutkuje zwiększoną produkcją RFT (Sohal i Allen 1986).

Mszyce nakłuwające żele agarozowo-sacharozowe, zawierające badane związki fenolowe, wykazywały wyższą zawartość H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i produktów peroksydacji lipidów niż owady kontrolne. Spośród badanych związków fenolowych, najsilniejszy wpływ na generację H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> wywierał kwas kawowy. Wzrost poziomu produktów peroksydacji lipidów był istotnie zależny od stosowanego stężenia tylko w przypadku kwasu chlorogenowego, który powodował najwyższą indukcję TBARS spośród testowanych związków. Kwas chlorogenowy najsilniej redukował również stężenie tioli ogólnych w tkankach obu gatunków mszyc, przy czym intensywniejszy spadek tioli obserwowano w przypadku gatunku monofagicznego *S. avenae*.

## Załącznik 2 Autoreferat

Pierwszą linię obrony przed niekorzystnym wpływem RFT stanowi dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalizująca dysmutację anionorodnika ponadtlenkowego do nadtlenu wodoru. Z enzymem tym ściśle współdziała katalaza (CAT), która redukuje nadtlenek wodoru do wody i tlenu. W kolejnej pracy cyklu przedstawiono (**Łukasik 2007 – praca 2**) różnice w aktywności tych enzymów w tkankach badanych gatunków mszyc. Najwyższą aktywność CAT i SOD wykazano w tkankach samic uskrzydłych, najniższą zaś w tkankach samic bezskrzydłych. Wyższy poziom aktywności obu enzymów występował w tkankach gatunku oligofagicznego *R. padi*; jedynie w przypadku *apterae* obu gatunków zanotowano podobną aktywność CAT. Testowane *o*-dihydroksyfenole powodowały wyraźną indukcję aktywności SOD w tkankach badanych owadów. Kwas kawowy najsilniej indukował SOD, powodując 2-krotny wzrost aktywności enzymu w tkankach owadów eksponowanych na jego działanie. Odmiennie wyniki uzyskano w przypadku CAT, której aktywność ulegała obniżeniu pod wpływem testowanych *o*-dihydroksyfenoli. Najsilniejszą inhibicję CAT zanotowano w tkankach mszyc nakłuwających żele zawierające kwas kawowy. Inhibicja CAT może być związana z cyklem redoks *o*-dihydroksyfenoli, generującym anionorodnik ponadtlenkowy, który hamuje aktywność CAT (Kono i Fridovich 1982).

Nadtlenek wodoru jest jednak neutralizowany nie tylko przy udziale katalazy, ale również przy udziale cyklu askorbinianowo-glutationowego, wykorzystującego kwas askorbinowy (ASA), peroksydazę askorbinianową (APX) i reduktazę dehydroaskorbinianową (DHAR). Cykl ten był dotychczas opisany dla owadów o gryzącym narządzie gębowym (larwy *Lepidoptera*). Badania, których wyniki opisuje kolejna praca cyklu, po raz pierwszy udowodniły jego występowanie również w tkankach mszyc (**Łukasik i wsp. 2009 – praca 3**). W przypadku mszyc zbożowych, obecność alternatywnego systemu neutralizującego H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> jest szczególnie ważna ze względu na niską, w porównaniu z owadami o gryzącym narządzie gębowym, aktywność katalazy. Najwyższe stężenie askorbinianu oraz najwyższą aktywność peroksydazy askorbinianowej zanotowano w tkankach larw, najniższe zaś w tkankach bezskrzydłych samic. Wskazuje to na istotną rolę tych antyoksydantów w mechanizmach obronnych larw, we wczesnych etapach rozwoju ontogenetycznego mszyc. Gatunek monofagiczny charakteryzował się wyższą zawartością askorbinianu jedynie w przypadku larw, z kolei gatunek oligofagiczny *R. padi* wykazywał wyższą aktywność APX. Roślinne *o*-dihydroksyfenole *in vitro* powodowały istotny spadek stężenia askorbinianu w tkankach owadów, przy czym testowane związki najsilniej redukowały poziom ASA przy stężeniu 0.1%. Najwyższy spadek zawartości ASA w tkankach bezskrzydłych samic powodował kwas

## Załącznik 2 Autoreferat

kawowy, który przy stężeniu 0.1% redukował jego zawartość 5-krotnie w porównaniu z owadami kontrolnymi. Spadek stężenia ASA może być związany z indukcją APX, która wykorzystuje ASA do redukcji H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Wzrost aktywności APX, podobnie jak spadek zawartości ASA, był uzależniony od zastosowanego stężenia *o*-dihydroksyfenoli. Najsilniejsze właściwości indukcyjne względem APX wykazywał kwas kawowy, powodując prawie 2-krotny wzrost aktywności tego enzymu. Wzrost aktywności APX pod wpływem badanych związków kompensuje inhibicję CAT, która wykazuje aktywność katalazową przy wyższych stężeniach H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

W reakcjach obronnych owadów roślinożernych na czynniki stresu oksydacyjnego istotną rolę ogrywa glutation i enzymy związane z metabolizmem glutationu. Badania nad mechanizmami antoksydacyjnymi, przebiegającymi z udziałem glutationu były prowadzone głównie u owadów o gryzącym narządzie gębowym (*Lepidoptera*), natomiast brak jest badań dotyczących roli tych mechanizmów u owadów o kłująco-ssącym narządzie gębowym. Wyniki badań przedstawione w kolejnej pracy z cyklu wykazały, że formy uskrzydłone obu gatunków mszyc charakteryzują się najwyższym poziomem glutationu spośród badanych morf (4 - Łukasik 2006). Wyższą zawartość glutationu stwierdzono w tkankach gatunku monofagicznego *S. avenae*. Mszyce nakłuwające żełe agarozowo-sacharozowe, zawierające związki fenolowe, charakteryzowały się niższym poziomem glutationu niż owady kontrolne. Spadek zawartości glutationu nie był uzależniony od stężenia badanych fenoli. Obniżenie poziomu glutationu pod wpływem testowanych związków wskazuje na indukcję stresu oksydacyjnego w tkankach *S. avenae* i *R. padi*. Brak wystarczającej ilości glutationu może prowadzić bowiem do uszkodzeń białek i utleniania kwasu askorbinowego do kwasu dehydroaskorbinowego. W przypadku transferazy glutationowej, enzymu katalizującego powstawanie koniugatów glutationu z ksenobiotykami, migrantki i larwy charakteryzowały się podobną aktywnością enzymu. Nie zanotowano różnic międzygatunkowych w poziomie aktywności GST w tkankach bezskrzydłych samic, natomiast samice uskrzydłone i larwy *R. padi* posiadały wyższą aktywność GST niż te same morfy *S. avenae*. Ekspozycja na działanie *o*-dihydroksyfenoli powodowała spadek aktywności GST w tkankach bezskrzydłych samic. Kwas chlorogenowy przy stężeniu 0.1% powodował prawie dwukrotny spadek aktywności GST w tkankach obu gatunków mszyc. Różnice międzygatunkowe zanotowano w przypadku kwasu kawowego, który silniej hamował aktywność GST gatunku oligofagicznego niż gatunku monofagicznego.

## Załącznik 2 Autoreferat

Spśród enzymów związanych z metabolizmem glutationu, w tkankach mszyc nie stwierdzono aktywności peroksydazy glutationowej. Jednak wyniki badań przedstawione w kolejnej pracy (**5 – Łukasik i Goławska 2007**) wykazały aktywność Se-niezależnej peroksydazy glutationowej ( $\text{GST}_{\text{px}}$ ), która była najwyższa w tkankach form uskrzydłych, a najniższa – w tkankach bezskrzydłych samic obu gatunków mszyc zbożowych. Podobną tendencję zanotowano w przypadku reduktazy glutationowej (GR), enzymu współdziałającego z  $\text{GST}_{\text{px}}$ . Wszystkie badane morfy gatunku oligofagicznego *R. padi* charakteryzowały się wyższą aktywnością  $\text{GST}_{\text{px}}$  niż *S. avenae*. Odmienne wyniki uzyskano dla GR, której aktywność w tkankach *alatae* i *larvae* obu gatunków mszyc była na podobnym poziomie. Wysoka zawartość glutationu i wysoka aktywność enzymów związanych z metabolizmem glutationu w tkankach form uskrzydłych wydaje się być szczególnie ważna, ponieważ uskrzydłone migrantki zasiedlają nowe rośliny żywicielskie, dlatego są narażone na kontakt z szerokim spektrum roślinnych allelozwiązków. Ekspozycja na działanie *o*-dihydroksyfenoli powodowała spadek aktywności enzymów związanych z jego metabolizmem ( $\text{GST}_{\text{px}}$  i GR) w tkankach bezskrzydłych samic. Kwas kawowy powodował najwyższy spadek aktywności  $\text{GST}_{\text{px}}$  i GR w tkankach mszyc zbożowych. W tym kontekście mechanizm inhibicji enzymów związanych z metabolizmem glutationu wydaje się być złożony. Związki fenolowe są znanymi inhibitorami wielu enzymów, dlatego ich inaktywacja może być związana z tworzeniem kompleksów z białkami za pomocą wiązań wodorowych lub kowalencyjnych. Allelozwiązki te mogą również produkować reaktywne rodniki semichinonowe, zdolne do tworzenia wiązań krzyżowych z białkami i enzymami (Ahmad i Pardini 1990).

Roślina żywicielska może wpływać na system antyoksydacyjny owadów roślinożernych, zarówno poprzez generację RFT w odpowiedzi na atak szkodnika, jak i poprzez syntezę oraz przemiany metaboliczne allelozwiązków o właściwościach pro-oksydacyjnych. Ostatnia praca w prezentowanym cyklu (**Łukasik i Goławska 2013 – praca 6**) przedstawia wyniki badań, dotyczące wpływu roślin żywicielskich (pszenica ozima, pszenżyto ozime) na poziom RFT ( $\text{O}_2^-$  i  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) oraz aktywność enzymów antyoksydacyjnych w tkankach mszyc zbożowych. Stwierdzono, że zasiedlenie przez mszyce nowych roślin żywicielskich (pszenżyto ozime) powodowało wzrost poziomu RFT w ich tkankach. Indukcja RFT była uzależniona od czasu żerowania na nowozasiedlonych siewkach. Wzrost poziomu  $\text{O}_2^-$  był wyższy w tkankach mszyc żerujących na siewkach mniej podatnej odmiany Witon niż bardziej podatnej odmiany Tornado. Gatunek monofagiczny *S. avenae* charakteryzował



## Załącznik 2 Autoreferat

się silniejszą generacją H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> po zasiedleniu siewek pszenżyta ozimego. Aktywność badanych enzymów neutralizujących RFT, takich jak SOD, CAT i APX, ulegała wyraźnej indukcji w tkankach mszyc po zmianie rośliny żywicielskiej. Różnice międzygatunkowe zanotowano jedynie dla katalazy, której wzrost aktywności był silniejszy w tkankach gatunku oligofagicznego *R. padi*. Zawartość askorbinianu w tkankach mszyc ulegała wyraźnemu obniżeniu po przeniesieniu z siewek pszenicy na siewki mniej podatnego pszenżyta, natomiast żerowanie owadów na bardziej podatnej odmianie Tornado nie powodowało zmian w poziomie tego antyoksydanta w porównaniu z owadami kontrolnymi. Otrzymane wyniki sugerują, że zmiana rośliny żywicielskiej może generować stres oksydacyjny w tkankach mszyc. Wyższym potencjałem prooksydacyjnym w stosunku do mszyc zbożowych charakteryzowała się mniej podatna odmiana Witon, ponieważ owady żerujące na siewkach tej odmiany wykazywały wyższy poziom RFT przy jednocześnie niższym stężeniu askorbinianu.

Na podstawie przeprowadzonych badań można sformułować następujące wnioski:

- 1) Gatunek oligofagiczny *R. padi* charakteryzuje się wyższym poziomem wskaźników stresu oksydacyjnego w porównaniu z gatunkiem monofagicznym *S. avenae*.
- 2) Gatunek monofagiczny *S. avenae* posiada wyższą zawartość antyoksydantów nieenzymatycznych (ASA i GSH), natomiast gatunek oligofagiczny *R. padi* wykazuje wyższą aktywność badanych enzymów antyoksydacyjnych (SOD, CAT, APX, GST<sub>px</sub>, GR).
- 3) Wysoki poziom enzymów antyoksydacyjnych w tkankach morf uskrzydłych jest wynikiem adaptacji do zasiedlania nowych roślin żywicielskich oraz intensyfikacji metabolizmu podczas lotu.
- 4) Niski poziom markerów stresu oksydacyjnego w tkankach larw, przy jednocześnie wysokim stężeniu antyoksydantów nieenzymatycznych oraz wysokiej aktywności enzymów antyoksydacyjnych, wskazuje na znaczną odporność tych morf na negatywne oddziaływanie RFT.
- 5) Niska aktywność katalazy w tkankach mszyc zbożowych jest kompensowana przez występowanie aktywności peroksydazy askorbinianowej (APX).
- 6) Mszyce zbożowe nie posiadają aktywności Se-zależnej GPX, natomiast wykazują aktywność peroksydatywną transferazy glutationowej (GST<sub>px</sub>), co chroni je przed negatywnymi konsekwencjami peroksydacji lipidów.

- 7) Wzrost stężenia H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i TBARS i spadek poziomu antyoksydantów w tkankach mszyc poddanych działaniu *o*-dihydroksyfenoli świadczy o pro-oksydacyjnych właściwościach tych allelozwiązków względem mszyc.
- 8) Indukcja SOD i APX pod wpływem testowanych związków wskazuje na istotną rolę tych enzymów w obronie mszyc przed działaniem egzogennych źródeł RFT.
- 9) Zasiedlanie nowych roślin żywicielskich powoduje indukcję stresu oksydacyjnego w tkankach mszyc zbożowych, o czym świadczy wzrost poziomu RFT, spadek stężenia askorbinianu i zmiany w aktywności enzymów antyoksydacyjnych.

Literatura:

- Ahmad S. 1992. Biochemical defense of pro-oxidant plant allelochemicals by herbivorous insects. *Biochem System Ecol* 20: 269-296
- Ahmad S., Pardini R.S. 1990. Mechanisms for regulating oxygen toxicity in phytophagous insects. *Free Rad. Biol. Med.* 8: 401-413.
- Divol F., Vilaine F., Thibivilliers S., Amselem J., Palauqui J.C., Kusiak C., Dinant S. 2005. Systemic response to aphid infestation by *Myzus persicae* in the phloem of *Apium graveolens*. *Plant Mol. Biol.* 57: 517-540.
- Downer R.G.H. 1986. Lipid metabolism. In: Kerkut GA, Gilbert LI, editors. *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology*. Pergamon Press, Oxford, UK. p. 77-113.
- Figueroa C.C., Koenig C., Araya C., Santos M.J., Niemeyer H.M. 1999. Effect of DIMBOA, a hydroxamic acid from cereals, on peroxisomal and mitochondrial enzymes from aphids: evidence for the presence of peroxisomes in aphids. *J. Chem. Ecol.* 25: 2465-2475.
- Kono Y., Fridovich I. 1982. Superoxide radical inhibits catalase. *J. Biol. Chem.* 257: 5751-5754.
- Lukasik I. 2007. Effect of *o*-dihydroxyphenols on the activity of superoxide dismutase and catalase within cereal aphids. *J. Appl. Entomol.* 131: 209-214.
- Łukasik I. 2006. Effect of *o*-dihydroxyphenols on antioxidant defence mechanisms of cereal aphids associated with glutathione. *Pestycydy* 3-4: 67-73.
- Łukasik I., Goławska S. 2007. Activity of Se-independent glutathione peroxidase and glutathione reductase within cereal aphid tissues. *Biol. Lett.* 4(1): 31-39.
- Łukasik I., Goławska S., Leszczyński B. 2009. Biochemical markers of oxidative stress within cereal aphid tissues. *Acta Biol. Hungar.* 60 (3): 263-272.
- Łukasik I., Goławska S., Wójcicka A. 2009. Antioxidant defense mechanisms of cereal aphids based on ascorbate and ascorbate peroxidase. *Biologia* 64/5: 994-998.
- Łukasik I., Goławska S. 2013. Effect of host plant on levels of reactive oxygen species and antioxidants in the cereal aphids *Sitobion avenae* and *Rhopalosiphum padi*. *Biochem. System Ecol.* 51: 232-239.
- Madhusudhan V.V., Miles P.W. 1998. Mobility of salivary components as a possible reason for differences in the responses of alfalfa to the spotted alfalfa and pea aphid. *Entomol. Exp. Appl.* 86: 25-39.
- Moran P.J., Thompson G.A. 2001. Molecular responses to aphid feeding in *Arabidopsis* in relation to plant defense pathways. *Plant Physiol.* 125, 1074-1084.

- Ni X.Z., Quisenberry S.S. 2003. Possible role of esterase, glutathione S-transferase, and superoxide dismutase activities in understanding aphid-cereal interactions. *Ent. Exp. Appl.* 108: 187–195.
- Sohal R.S., Allen R.G. (1986) Relationship between oxygen metabolism, aging and development. *Adv. Free Radic. Biol. Med.* 2 (1): 117-160.
- Urbańska A. 2007. Location and variability of catalase activity within aphids. *E.J.P.A.U., ser. Biol.*, 10(4), art. 38.
- Urbańska A. 2009. Occurrence and source of hydrogen peroxide in aphids. *E.J.P.A.U., ser. Biol.*, 12(4), art. 27.
- Walling L.L. 2000. Myriad responses to herbivores. *J. Plant Growth Regul.* 19: 195-216.
- Zhu-Salzman K., Salzman R.A., Ahn J.E., Koiwa H. 2004. Transcriptional regulation of sorghum defense determinants against a phloem-feeding aphid. *Plant Physiol.* 134: 420-431.

### **5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych (artystycznych)**

Ukończyłam studia magisterskie na kierunku Biologia na Wydziale Rolniczym Wyższej Szkoły Rolniczo-Pedagogicznej w Siedlcach (obecnie Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny). Pracę magisterską wykonałam pod opieką naukową prof. dr hab. Bogumiła Leszczyńskiego (jej tytuł brzmiał „Występowanie peroksydazy i oksydazy *o*-difenolowej w przewodzie pokarmowym mszycy zbożowej”). Podczas wykonywania pracy magisterskiej zainteresowały mnie biochemiczne oddziaływania między owadami roślinożernymi a ich roślinami żywicielskimi, a w szczególności mechanizmy detoksykacyjne fitofagów. W 1990 r. rozpoczęłam pracę w zespole prof. dr hab. Bogumiła Leszczyńskiego, kontynuując problematykę badań podjętych w pracy magisterskiej. Głównym obiektem badań w tym okresie stały się dwa gatunki mszyc zbożowych: mszyca zbożowa *Sitobion avenae* (F.) mszyca czeremchowo-zbożowa *Rhopalosiphum padi* (L.). Mszyce, podobnie jak inne owady roślinożerne wykształciły mechanizmy umożliwiające detoksyfikację szerokiego spektrum roślinnych allelozwiązków. Mechanizmy te oparte są na aktywności specyficznego systemu enzymów, wśród których najważniejszą rolę pełnią enzymy detoksykacyjne i egzoenzymy przewodu pokarmowego. Przeprowadzone w tym czasie badania wykazały obecność enzymów II fazy detoksykacji – transferazy S-glutationowej (GST) i UDP-glukozylotransferazy (UDPGT) w homogenatach mszyc zbożowych. Najwyższa aktywność GST występowała we frakcji cytozolowej, zaś UDPGT we frakcji mikrosomalnej. Badania dotyczące aktywności enzymów katalizujących utlenianie i polimeryzację związków fenolowych – oksydazy polifenolowej (PPO) i peroksydazy (PX), wykazały obecność tych enzymów w wydzielinach ślinowych mszyc zbożowych (frakcja żelująca i wodnista) oraz przewodzie pokarmowym. Oksydaza polifenolowa przewodu pokarmowego *S. avenae*

## Załącznik 2 Autoreferat

katalizowała utlenianie szerokiego spektrum *o*-difenoli, nie katalizowała natomiast hydroksylacji monofenoli i utleniania metoksyfenoli. Specyficzność substratowa peroksydazy była nieco szersza, ponieważ enzym ten działał dodatkowo na metoksyfenole, takie jak kwas syringowy, kwas wanilinowy, kwas ferulowy czy kwas synapinowy. Przetestowano również wpływ roślin żywicielskich, różniących się podatnością na mszyce, na aktywność badanych enzymów. Przeprowadzone badania wykazały, że owady żerujące na odpornej odmianie pszenicy ozimej Saga o wyższym poziomie roślinnych allelozwiązków, wykazywały niższą aktywność UDPGT, PPO i PX niż owady żerujące na odmianie podatnej Liwilla, charakteryzującej się niższą zawartością ksenobiotyków. Prowadzono również badania dotyczące dynamiki populacji mszyc na zbożach w środkowo-wschodniej Polsce. Długoterminowe obserwacje wykazały, że mszyca zbożowa *S. avenae* liczniej występowała na pszenicy ozimej w tym regionie niż mszyca czeremchowo-zbożowa *R. padi*. odporne odmiany pszenicy ozimej (Grana i Saga) były w mniejszym stopniu zasiedlone przez *S. avenae* niż odmiany podatne (Emika i Liwilla). Mszyce żerujące na odmianach odpornych charakteryzowały się niższą płodnością, przeżywalnością i niższym wrodzonym tempem wzrostu populacji. Badania przeprowadzone przy pomocy techniki EPG (ang. electrical penetration graphs) wykazały, że odmiany odporne pszenicy również redukowały czas penetracji tkanek mezofilu i pobierania soku floemowego przez owady.

W 1996 roku rozpoczęłam badania dotyczące biochemicznych uwarunkowań zjawiska zmiany roślinnych żywicieli przez mszycę czeremchowo-zbożową *R. padi*. Zjawisko zmiany roślinnych żywicieli w cyklu rozwojowym owadów jest kosztowne metabolicznie i niezwykle rzadkie. Wśród mszyc tylko około 10% gatunków posiada cykl życiowy przebiegający na więcej niż jednej roślinie żywicielskiej. Gatunki takie zimują w postaci jaj, złożonych na roślinach drzewiastych, z których wiosną wylęgają się założycielki rodu (*fundatrices*), wydające na żywicielu pierwotnym kilka żyworodnych pokoleń (*fundatrigeniae*). W ostatnim pokoleniu pierwotnym są wytwarzane morfy uskrzydłone (*migrantes*) migrujące na żywicieli wtórnych, gdzie wydają one kilka pokoleń letnich (*exules*). Jesienią pojawiają się osobniki pokolenia płciowego, które po powrocie na żywiciela pierwotnego składają jaja zimowe. Jednym z gatunków, który dokonuje zmiany roślin żywicielskich jest mszyca czeremchowo-zbożowa, *Rhopalosiphum padi* (L.). Fenologia tego zjawiska jest dobrze poznana, natomiast wcześniej nie prowadzono badań nad mechanizmami biochemicznych adaptacji *R. padi* do jej roślinnych żywicieli. W związku z tym celem moich badań było określenie zmian w aktywności enzymów mszycy czeremchowo-zbożowej, odgrywających

## Załącznik 2 Autoreferat

istotną rolę w procesie biochemicznych adaptacji tego owada do roślin żywicielskich. Badaniami objęto wybrane enzymy z trzech grup: 1) enzymy II fazy detoksykacji (GST, UDPGT); 2) enzymy antyoksydacyjne (SOD, CAT, GR); 3) egzoenzymy wydzielane ze śliną mszyc do tkanek roślinnych żywicieli (PPO, PX,  $\alpha$ - i  $\beta$ -glukozydaza oraz  $\beta$ -fruktofuranazydaza). Najniższą aktywność badanych enzymów zanotowano w tkankach założycielek rodu, najwyższą zaś w tkankach uskrzydłych migrantek. W trakcie występowania mszyc na żywicielu pierwotnym, obserwowano wyraźne zmiany w aktywności GST i UDPGT w tkankach *fundatrigeniae*. Stosunkowo niską aktywnością enzymów charakteryzowało się pierwsze pokolenie *fundatrigeniae*, żerujące na młodych pędach czeremchy. W kolejnych pokoleniach obserwowano stopniową indukcję aktywności tych enzymów. Najwyższy wzrost aktywności badanych transferaz zanotowano w okresie bezpośrednio poprzedzającym wiosenne migracje mszycy czeremchowo-zbożowej i w ich trakcie. Po zasiedleniu wtórnego żywiciela (pszenżyto jare), obserwowano wzrost aktywności GST i UDPGT w tkankach *R. padi* w stosunku do osobników kontrolnych, żerujących na czeremsze.

W trakcie występowania owada na żywicielu pierwotnym obserwowano zmiany w aktywności badanych enzymów antyoksydacyjnych w tkankach mszyc. Najniższym poziomem aktywności charakteryzowało się pierwsze pokolenie *fundatrigeniae*. Wraz z rozwojem populacji mszycy czeremchowo-zbożowej na żywicielu pierwotnym, obserwowano stopniowy wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych w tkankach bezskrzydłych morf *R. padi*. W okresie migracji z pierwotnego na wtórnego żywiciela, wystąpił gwałtowny wzrost aktywności dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy w tkankach *fundatrigeniae*. W przypadku reduktazy glutationowej, najwyższą aktywność enzymu zanotowano w okresie załamania się populacji. Zasiedlenie żywiciela wtórnego powodowało 1,5-3-krotny wzrost aktywności SOD. W przypadku CAT początkowo obserwowano spadek aktywności enzymu, natomiast kontynuowanie żerowania na żywicielu wtórnym powodowało stopniową indukcję aktywności tego enzymu. Zasiedlenie pszenżyta przyniosło spadek aktywności GR w tkankach *R. padi*.

Podczas występowania *R. padi* na żywicielu pierwotnym, wykazano zmiany w aktywności badanych egzoenzymów w tkankach *fundatrigeniae*. W przypadku peroksydazy oraz  $\alpha$ - i  $\beta$ -glukozydazy obserwowano stopniową indukcję aktywności enzymów w okresie wyraźnego wzrostu liczebności populacji *R. padi*. Dla oksydazy polifenolowej i  $\beta$ -fruktofuranazydazy najwyższą aktywność zanotowano w tkankach ostatniego pokolenia *fundatrigeniae*, w

## Załącznik 2 Autoreferat

momencie gdy liczebność *R. padi* na czeremsze występowała już na bardzo niskim poziomie. Zmiana żywicieli powodowała spadek aktywności PPO i PX oraz  $\beta$ -glukozydazy, natomiast dla  $\alpha$ -glukozydazy i  $\beta$ -fruktofuranozydazy, wystąpił wzrost aktywności po przeniesieniu mszyc na żywiciela wtórnego. Poziom inhibicji lub indukcji badanych egzoenzymów był uzależniony od czasu żerowania mszycy czeremchowo-zbożowej na żywicielu wtórnym. Uzyskane wyniki, dotyczące biochemicznych uwarunkowań zmiany roślinnych żywicieli przez *R. padi*, stanowiły podstawę mojej pracy doktorskiej „Aktywność wybranych enzymów mszycy czeremchowo-zbożowej (*Rhopalosiphum padi* L.) podczas zmiany roślinnych żywicieli”, której promotorem był prof. dr hab. Bogumił Leszczyński.

We współpracy z dr Sylwią Goławską prowadziłam również badania nad biochemicznymi, fizjologicznymi i behawioralnymi adaptacjami mszycy grochowiarki *Acyrtosiphon pisum* (Harris) do roślinnych ksenobiotyków. Celem tych badań była jakościowa i ilościowa analiza substancji naturalnie występujących w tkankach roślin, zmiany zawartości tych związków wywołane żerowaniem mszycy grochowej oraz wpływ badanych ksenobiotyków na biologię owada. Przeprowadzono także ocenę wpływu wybranych związków na zachowanie się mszycy grochowej w warunkach *in vitro*. Materiał do badań stanowiły powszechnie użytkowane trzy europejskie odmiany lucerny siewnej (*Medicago sativa* L.) (Radius, Sapko, Sitel) i jedna linia niskosaponinowa odmiany Radius. W badaniach skupiono się na dwóch klasach metabolitów wtórnych lucerny: saponinach i flawonoidach. Metodą wysokosprawnej chromatografii ciekowej (HPLC) sprzężonej ze spektrometrią mas zidentyfikowano i porównano zawartość flawonoidów w badanych odmianach lucerny. Dla lucerny odmiany Radius w trzech stadiach wegetatywnych (6-, 9- i 12 miesięczne rośliny), które były zasiedlone przez mszycę grochową, przeprowadzono także analizę glikozydów apigeniny, luteoliny, trycyny i chryzoeriolu oraz ich wpływu na mszycę grochową, zwłaszcza liczebność populacji i zachowanie podczas żerowania. Prześledzono wpływ jakościowych i ilościowych zmian w zawartości saponin w materiale roślinnym pochodzącym z lucerny na liczebność mszycy grochowiarki, jak i wpływ *A. pisum* na zawartość saponin w tkankach lucerny. Badano także wpływ wybranych flawonoidów (luteolina, genisteina, naringenina, kwercytyna) na zachowanie się mszycy grochowej *A. pisum*. Flawonoidy badanych odmian lucerny to glikozydy czterech flawonów: apigeniny, luteoliny, trycyny i chryzoeriolu. W łańcuchu cukrowym wszystkich glikozydów występował kwas glukuronowy, a niektóre z nich były acylowane kwasem ferulowym, kumarowym bądź synapinowym. Wykazano, że dominującymi związkami były pochodne trycyny i apigeniny.

## Załącznik 2 Autoreferat

Łączna zawartość glikozydów apigeniny i trycyny wahała się w granicach 65 do 72% sumy flawonów badanych lucern. Zawartość glikozydów luteoliny i chrysoeriolu nie przekraczała 30% sumy flawonów. Profil flawonoidów roślin zasiedlonych i niezasiedlonych był podobny. Spośród wszystkich glikozydów pięć związków nie było arylowanych, a pozostałe były acylowane kwasem ferulowym, kwasem kumarowym, synapinowym bądź glukuronowym. Całkowita zawartość flawonów wahała się w granicach od 10,32 do 12,34 mg/ g suchej masy. Wykazano wpływ zidentyfikowanych flawonoidów na zachowanie mszycy grochowiarki, w formie ujemnych korelacji między liczebnością tego owada a całkowitą zawartością związków acylowanych, glikozydów apigeniny, glikozydów luteoliny i chrysoeriolu. Analiza statystyczna wykazała wpływ glikozydów apigeniny na pobieranie soku floemowego oraz chrysoeriolu na pobieranie soku ksylemowego przez *A. pisum*. Glikozydy luteoliny, trycyny i chrysoeriolu redukowały płodność dzienną, a glikozydy chrysoeriolu hamowały pobieranie soku ksylemowego przez mszycę.

W tkankach lucerny odmian Radius, Sapko i Sitel stwierdzono występowanie wszystkich trzech saponin. W tkankach niskosaponinowej linii odmiany Radius nie wykryto tridesmozydu kwasu zanowego i glikozydu kwasu medikagenowego. Zawartość saponin była znacznie wyższa w tkankach lucerny Radius, a niższa w tkankach linii niskosaponinowej odmiany Radius. Zawartość saponin na roślinach zaatakowanych przez mszycę była wyższa w porównaniu z roślinami nie zaatakowanymi. Największą liczbę mszyc stwierdzono na roślinach niskosaponinowej linii odmiany Radius, a najmniejszą na roślinach odmiany Radius. Z przeprowadzonych badań wynikało, że liczba mszyc była odwrotnie proporcjonalna do zawartości saponin w tkankach badanych lucern.

Badania w warunkach *in vitro* przy pomocy metody EPG wykazały, że badane flawonoidy modyfikowały żerowanie mszycy grochowej. Wyższe stężenia testowanych związków wywoływały redukcję aktywności owada w tkankach floemu i ksylemu (pobieranie soku floemowego i ksylemowego).

We współpracy z dr Agnieszką Wójcicką prowadziłam badania dotyczące wpływu wosków epikutycznych występujących na powierzchni pszenżyta ozimego na liczebność mszyc i ich zachowanie podczas żerowania. Jednym z ważnych dowodów na wpływ wosków epikutycznych roślin na żerowanie owadów są różnice w akceptacji genotypów różniących się stopniem pokrycia woskiem. Rośliny o powierzchniach gładkich są silniej atakowane przez owady niż te o powierzchniach pokrytych woskiem. Przeprowadzone obserwacje, w trakcie sezonów wegetacyjnych 2007/2008 oraz 2008/2009, wykazały, że rośliny genotypu

## Załącznik 2 Autoreferat

pszenżyta ozimego RAH 116–3/90, pokryte silnym nalotem woskowym, były w mniejszym stopniu akceptowane przez mszycę zbożową i czeremchowo-zbożową. Obserwowano na nich znacznie mniej mszyc niż na roślinach genotypu RAH 325/95, w niewielkim stopniu pokrytych woskiem. Przeprowadzono również analizy dotyczące wpływu substancji występujących na powierzchni pszenżyta ozimego na zachowanie mszycy różano-trawowej *Metopolophium dirhodum* (Walker). Badania w warunkach *in vitro* wykonano na żelach agarozowo-sacharozowych, z wykorzystaniem metody EPG. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, podczas nakłuwania przez mszycę różano-trawową żeli kontrolnych, nie zawierających żadnych komponentów woskowych, wystąpiły wszystkie najważniejsze aktywności rejestrowane przez EPG. Po dodaniu do żeli ekstraktów woskowych, pochodzących z roślin genotypu RAH 132 o słabym nalocie woskowym, zanotowano także występowanie modeli C, E1, E2 i G, natomiast ekstrakty woskowe pochodzące z roślin pokrytych grubą warstwą wosku znacznie modyfikowały zachowanie bezskrzydłych samic *M. dirhodum*. Objawiało się to wydłużeniem okresu badania podłoża przez mszycę oraz znaczną redukcją aktywności związanych z pobieraniem pokarmu.

Oprócz badań dotyczących biochemicznych aspektów stresu oksydacyjnego w tkankach mszyc zbożowych, zajmowałam się również rolą tego zjawiska w interakcjach mszyca grochowiec – rośliny żywicielskie. W przeprowadzonych badaniach porównano poziom biochemicznych markerów stresu oksydacyjnego w tkankach różnych morf mszycy grochowiec *A. pisum* podczas żerowania na wybranych roślinach motylkowych. Wykonane analizy chemiczne wykazały, że owady żerujące na bobiku charakteryzowały się najwyższym poziomem reaktywnych form tlenu (anionorodnika ponadtlenkowego i nadtlenu wodoru) oraz produktów peroksydacji lipidów. Jednocześnie morfy żerujące na tym żywicielu posiadały najniższe stężenie tioli ogólnych i najwyższy poziom GSH, natomiast owady występujące na grochu charakteryzowały się najwyższą zawartością ASA. Najwyższy poziom aktywności badanych enzymów antyoksydacyjnych (CAT, APX, DHAR) zanotowano w tkankach morf żerujących na bobiku. Badane morfy *A. pisum* wykazywały niższą aktywność CAT i APX niż morfy mszycy zbożowej i mszycy czeremchowo-zbożowej. Porównując aktywność enzymów w obrębie badanych morf *A. pisum*, zanotowano wyższą aktywność CAT i DHAR w tkankach larw. Odmienną tendencję zaobserwowano w przypadku APX, której aktywność w tkankach bezskrzydłych samic i larw utrzymywała się na podobnym poziomie.



## Załącznik 2 Autoreferat

Badając zjawisko stresu oksydacyjnego w tkankach mszyc, zainteresowałam się rolą RFT w odpowiedzi roślin żywicielskich na stres biotyczny, wywołany żerowaniem owadów o kłująco-ssącym narządzie gębowym. Większość badań dotyczących akumulacji RFT i aktywności enzymów antyoksydacyjnych koncentruje się na patogenach, natomiast mniej jest badań dotyczących roli stresu oksydacyjnego w interakcjach owad-roślina żywicielska. Dlatego celem badań zapoczątkowanych przeze mnie w ostatnim czasie jest zbadanie wpływu żerowania mszyc na stężenie nadtlenu i poziom antyoksydantów w tkankach ich roślin żywicielskich. Z przeprowadzonych dotychczas badań wynika, że szlak askorbinianowo-glutationowy odgrywa ważną rolę w mechanizmach obronnych pszenżyta przed atakiem mszyc zbożowych. Krótki okres żerowania *S. avenae* i *R. padi* nie powodował znaczących zmian w poziomie ASA w siewkach pszenżyta ozimego, natomiast dłuższe żerowanie (48 i 72 godz.) wywoływało spadek stężenia tego antyoksydanta w tkankach roślin żywicielskich. Rośliny porażone przez mszyce zbożowe charakteryzowały się wyższą aktywnością APX niż rośliny kontrolne, niezasiedlone przez mszyce. Żerowanie owadów powodowało silniejszą indukcję APX w tkankach mniej wrażliwej odmiany pszenżyta Witon niż w tkankach bardziej wrażliwej odmiany Tornado. Silniejszy spadek poziomu ASA przy jednocześnie wyższej indukcji APX zanotowano w tkankach pszenżyta zasiedlonego przez bezskrzydłe samice *R. padi*.

Wstępne wyniki badań dotyczące mechanizmów antyoksydacyjnych w tkankach roślin zasiedlonych przez *A. pisum* wykazały, że w początkowym okresie żerowania występuje wzrost stężenia  $H_2O_2$  w porównaniu z roślinami kontrolnymi. Najsilniejszą indukcję  $H_2O_2$  zanotowano po 4 i 6 godz. od momentu zasiedlenia roślin przez mszyce. Spośród badanych roślin żywicielskich (groch, wyka, bobik), najwyższym poziomem indukcji  $H_2O_2$  charakteryzował się groch. Wydłużenie czasu żerowania powodowało stopniowy spadek stężenia  $H_2O_2$  w tkankach roślin zasiedlonych i po 72 godz. żerowania było ono porównywalne z roślinami kontrolnymi. Początkowe godziny żerowania mszyc na siewkach badanych roślin żywicielskich przyniosły wyraźny spadek aktywności CAT w odniesieniu do roślin niezasiedlonych. W przypadku grochu inhibicja ta utrzymywała się do 48 godz. trwania eksperymentu, podczas gdy w tym samym czasie w tkankach wyki i bobiku zanotowano indukcję enzymu. Odmienne wyniki uzyskano dla APX, która w początkowych godzinach eksperymentu nie wykazywała znaczących różnic w aktywności w porównaniu do roślin kontrolnych. Wyjątek stanowiły rośliny bobiku, dla których zanotowano prawie 2-krotny spadek aktywności APX po dwóch godzinach żerowania mszyc. Wyniki tych wstępnych

Załącznik 2  
Autoreferat

badania były prezentowane w formie referatu na XXIII Ogólnopolskiej Konferencji Hemipterologicznej „Mszyce i inne pluskwiaki”, która odbyła się w 2013 roku we Wrocławiu.

Siedlce, dn. 10.03.2014

*Jwona Łusank*