

Streszczenie rozprawy doktorskiej

Spis treści:

1. Spis artykułów stanowiących rozprawę doktorską	2
2. Wprowadzenie	3
3. Cel pracy i hipoteza robocza.....	5
4. Badania	5
5. Wyniki i ich omówienie	8
6. Wnioski i podsumowanie.....	11

1. Spis artykułów stanowiących rozprawę doktorską

Artykuł przeglądowy:

- **Łukaszewicz S., Politycka B.** (2020). Selen w roślinach i jego wpływ na żerowanie i rozwój fitofagów. *Progress in Plant Protection* 60 (2): 119-127. Lista MEiN: 40 pkt. DOI:10.14199/ppp-2020-013

Oryginalne prace twórcze:

- **Łukaszewicz S., Politycka B., Smoleń S.** (2018). Effects of selenium on essential micronutrients and their translocation in garden pea. *Journal of Elementology* 23 (4): 1307-1317. Lista A MNiSW: 15 pkt. IF₂₀₁₈ 0,76. DOI: 10.5601/jelem.2017.22.4.1577
- **Łukaszewicz S., Politycka B., Smoleń S.** (2019). Accumulation of selected macronutrients and tolerance towards selenium of garden pea treated with selenite and selenate. *Journal of Elementology* 24(1): 245-256. Lista MEiN: 40 pkt. IF₂₀₁₉ 0,71. DOI: 10.5601/jelem.2018.23.1.1650
- **Łukaszewicz S., Borowiak-Sobkowiak B., Politycka B.** (2021 a). Effect of selenium on alleviating oxidative stress in pea leaves caused by pea aphid feeding. *Journal of Plant Protection Research* 61 (1): 41-46. Lista MEiN: 40 pkt. DOI: <https://doi.org/10.24425/jppr.2021.136272>
- **Łukaszewicz S., Borowiak-Sobkowiak B., Durak R., Dancewicz K., Politycka B.** (2021 b). Interaction between *Acyrtosiphon pisum* and selenium-treated *Pisum sativum*. *The European Zoological Journal* 88 (1): 58-76. Lista MEiN: 140 pkt. IF₂₀₁₈ 1,08. DOI: 10.1080/24750263.2020.1853831

2. Wprowadzenie

Rośliny w środowisku naturalnym narażone są na oddziaływanie wielu czynników stresowych, często działających w tym samym czasie, bądź bezpośrednio po sobie. Taki wpływ dwóch lub więcej czynników stresowych może modyfikować odpowiedź rośliny na ich działanie. Istotne znaczenie w dostosowywaniu się organizmów roślinnych do warunków stresowych ma zjawisko interakcji krzyżowych polegające na zwiększeniu wrażliwości lub odporności na czynnik stresowy w wyniku równoczesnego lub wcześniejszego działania innego czynnika (Łukaszewicz i Politycka 2020).

Jedną z uniwersalnych reakcji komórek, zarówno roślinnych jak i zwierzęcych, na działanie czynników stresowych jest indukcja stresu oksydacyjnego, wyrażająca się w gwałtownym generowaniu reaktywnych form tlenu (RFT), takich jak m. in. nadtlenek wodoru, anionorodnik ponadtlenkowy i rodnik hydroksylowy. Nadmierny wzrost poziomu RFT powoduje zachwianie równowagi między generowaniem a degradacją RFT i może prowadzić do uszkodzeń struktur wewnątrzkomórkowych. W celu minimalizowania, bądź niedopuszczania do powstawania uszkodzeń, rośliny wykorzystują system antyoksydacyjny składający się z małowcząsteczkowych antyoksydantów takich jak askorbinian, glutation, karotenoidy czy antocyjany oraz enzymów antyoksydacyjnych (m.in. dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy, peroksydaz), które usuwają nadmiar RFT.

Oddziaływanie selenu na żywe organizmy zależne jest od jego koncentracji. Selen w niewielkiej koncentracji może wpływać korzystnie na utrzymanie homeostazy, jednakże w większej może być toksyczny. Rośliny różnią się zdolnością do pobierania selenu z roztworu glebowego, jak również stopniem akumulacji tego pierwiastka w tkankach. W prezentowanych badaniach zastosowano dwie formy chemiczne selenu, różniące się szlakami transportu oraz stopniem akumulacji w roślinach. Selen w formie seleninu metabolizowany jest głównie w korzeniu i w mniejszej części transportowany jest do części nadziemnej, w odróżnieniu od selenianu, który nie ulegając przemianom metabolicznym transportowany jest z korzenia do części nadziemnej, gdzie odbywa się jego asymilacja. Selen nie jest pierwiastkiem niezbędnym dla roślin wyższych, jednakże wykazano, iż w niewielkich stężeniach wykazuje korzystne działanie w roślinach narażonych na działanie czynników stresowych. W licznych pracach udowodniono, iż selen może przeciwdziałać negatywnym skutkom działania czynników stresowych na rośliny, poprzez wpływ na zwiększanie aktywności systemu antyoksydacyjnego, proces generowania oraz usuwania reaktywnych form tlenu. Traktowanie roślin związkami selenu zwiększa aktywność enzymów usuwających nadtlenek wodoru takich jak dysmutaza

ponadtlenkowa czy peroksydazy. Obserwuje się również pod wpływem traktowania roślin selenem wzrost zawartości nieenzymatycznych antyoksydantów m. in. glutationu, karotenoidów, antocyjanów i askorbinianu. O ile jednak funkcja antyoksydacyjna selenu została dobrze udokumentowana dla stresów wywołanych przez czynniki abiotyczne, niewiele jest prac dotyczących czynników biotycznych, a zwłaszcza żerowania fitofagicznych owadów.

Wykazano, że akumulowanie przez niektóre gatunki roślin pierwiastków śladowych takich jak As, Cd, Ni, Zn oraz Se do poziomów o kilka rzędów wielkości wyższych niż u innych gatunków rosnących na tym samym stanowisku, bez wykazania objawów toksyczności, chroni te rośliny przed fitofagami. Pogląd popularyzujący ten specyficzny rodzaj obrony nazwano *Elemental Defense Hypothesis*. Zjawisko to zaobserwowano głównie u hiperakumulatorów, do których zalicza się około 450 gatunków roślin okrytozalążkowych. Ponadto stwierdzono, iż rośliny będące hiperakumulatorami selenu posiadają większą ekspresję genów zaangażowanych w procesy antyoksydacyjne oraz zwiększanie odporności na stres biotyczny. Akumulowanie selenu przez rośliny może działać deterentnie, zniechęcając fitofagi do żerowania, jak również wpływać toksycznie na ich bionomię. Wykazano, iż pobrany z roślin selen może powodować ograniczenie reprodukcji i przeżywalności larw, utrudniać przepoczwarzanie, a nawet prowadzić do śmierci fitofaga (Łukaszewicz i Politycka 2020).

Spośród różnych owadów żerujących na roślinach strączkowych mszyce wykazują szczególnie dużą szkodliwość. Niekorzystny wpływ tych fitofagów na roślinę żywicielską jest wielokierunkowy. Owady te posiadają kłująco-ssący narząd gębowy, dzięki któremu mogą wkłuwać się w tkanki roślin i żywić sokiem floemowym, tym samym pozbawiając rośliny asymilatów. Żerowanie mszyc prowadzi do deformacji zaatakowanych organów, powstawania nekroz, a nawet zahamowanie wzrostu roślin, co może skutkować obniżeniem plonu. Specjalna budowa układu pokarmowego mszyc i wprowadzanie do tkanek roślinnych śliny zawierającej enzymy rozkładające białka, pozwala pozyskać aminokwasy z soku floemowego. Natomiast pobrane węglowodany są wydalane w postaci rosy miodowej, która osadza się na organach roślin. Wydzielina ta stanowi pożywkę dla grzybów sadzakowych, które zasiedlając liście ograniczają dostęp światła do powierzchni asymilacyjnej roślin. Poza szkodliwością bezpośrednią, mszyce mogą być również wektorami wielu groźnych dla roślin wirusów. Mszyce rozmnażają się głównie partenogenetycznie i charakteryzują się wysoką rozrodczością, dzięki czemu bardzo szybko zwiększa się ich liczebność. Daje im to możliwość przystosowywania się do zmieniających się warunków środowiska. W przypadku nadmiernego zagęszczenia osobników w kolonii powstają formy uskrzydłone, które zasiedlają kolejne rośliny. Mszyca grochowa (*Acyrtosiphon pisum* Harris) jest jednodomnym, oligofagicznym

gatunkiem atakującym rośliny z rodziny bobowatych. Gatunek ten zaliczany jest do najbardziej niebezpiecznych fitofagów występujących w uprawach tej grupy roślin.

3. Cel pracy i hipoteza robocza

Głównym celem podjętych badań była ocena udziału selenu w reagowaniu grochu siewnego na żerowanie mszycy grochowej. Stres oksydacyjny spowodowany traktowaniem siewek grochu związkami selenu w niskim stężeniu (wcześniej działający czynnik stresowy) może stanowić przyczynę ograniczenia żerowania mszycy (później działający czynnik stresowy) oraz populacji tego fitofaga.

Hipoteza robocza niniejszej pracy zakładała, że selen pobrany przez rośliny będzie indukował system antyoksydacyjny grochu i łagodził stres wywołany żerowaniem mszyc. Ponadto przyjęto założenie, że selen może działać deterentnie lub toksycznie względem mszyc.

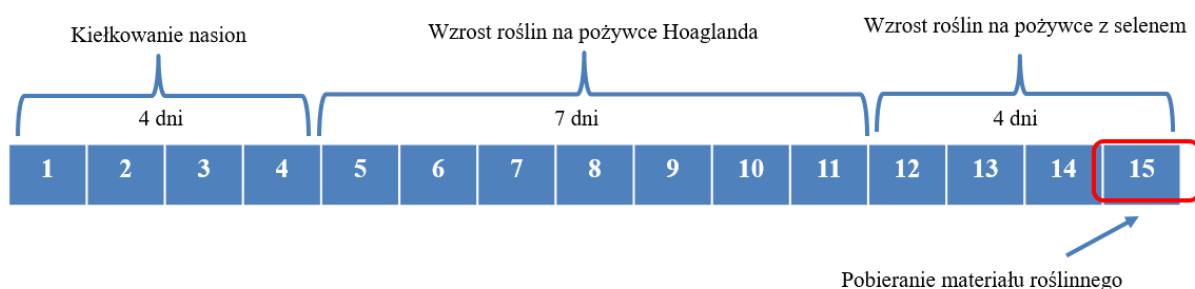
4. Badania

Postępowanie metodyczne wspólne dla wszystkich etapów badań:

Badania prowadzono w warunkach laboratoryjnych na siewkach grochu siewnego (*Pisum sativum* L.) odmiany Akord. Podkiełkowane nasiona przenoszono do pojemników z pożywką Hoaglanda, które umieszczano w komorach wzrostowych w temperaturze 23-25°C, wilgotności 65%, świetle o gęstości strumienia fotonów 130-150 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ i fotoperiodzie 14 h /10 h (dzień/noc). Po 7 dniach wzrostu, siewki przenoszono na pożywkę z dodatkiem seleninu sodu lub selenianu sodu w wybranych stężeniach. Kontrolę stanowiły siewki rosnące na pożywce bez dodatku selenu.

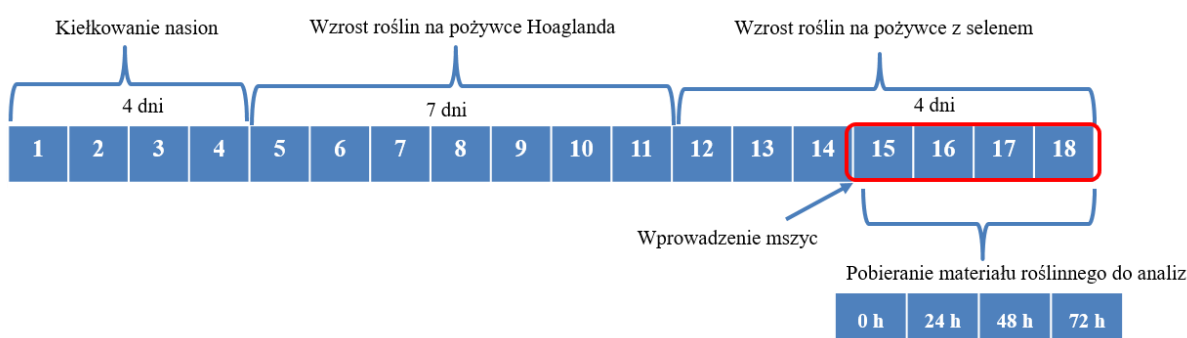
Wyznaczony cel realizowano w kolejnych etapach badań.

Pierwszym etapem badań było określenie tolerancji grochu na zróżnicowane dawki selenu oraz wykazanie różnic w poziomie akumulacji tego pierwiastka w części nadziemnej, hypokotyli i korzeniu siewek w zależności od formy chemicznej pierwiastka (Łukaszewicz i in. 2018, 2019). W tym celu zastosowano selen w formie seleninu oraz selenianu. Schemat doświadczeń przedstawiono na ryc. 1. Testowano wpływ selenu w formie seleninu i selenianu sodu w stężeniach 10, 20, 50 i 100 μM na wzrost roślin oraz poziom akumulacji selenu w poszczególnych częściach siewek. Przeanalizowano również wpływ selenu na pobieranie przez korzeń makroskładników (K, P, Ca, S, Mg) oraz na pobieranie i transport z korzeni do pędów kofaktorów enzymów antyoksydacyjnych takich jak Cu, Fe, Mo, Mn i Zn. Na podstawie uzyskanych wyników w kolejnych etapach badań zastosowano selenin i selenian sodu w stężeniu 10 i 20 μM .



Ryc. 1. Schemat doświadczeń pierwszego etapu badań

W **drugim etapie** badań po 4 dniach od potraktowania siewek grochu 10 i 20 μM seleninem lub selenianem sodu, na każdą roślinę наносzono 20 bezskrzydłych samic mszycy grochowej. Dla celów porównawczych połowę siewek grochu nie zasiedlano mszycami. Materiał roślinny do analiz pobierano w dniu nałożenia mszyc (czas 0) oraz po 24, 48 i 72 h od zasiedlenia siewek przez mszyce (ryc. 2). Celem tego etapu badań było określenie w liściach siewek grochu wpływu selenu oraz żerowania mszycy na generowanie reaktywnych form tlenu: anionorodnika nadadtlenkowego, nadadtlenku wodoru i rodnika hydroksylowego. Badano również wpływ selenu i żerowania mszycy na aktywność enzymów antyoksydacyjnych – dysmutazy nadadtlenkowej i peroksydazy askorbinianowej oraz oznaczono poziom nieenzymatycznych antyoksydantów, tj. flawonoli i karotenoidów. Ponadto analizowano w liściach grochu całkowitą zdolność antyoksydacyjną zależną od szybkich antyoksydantów.



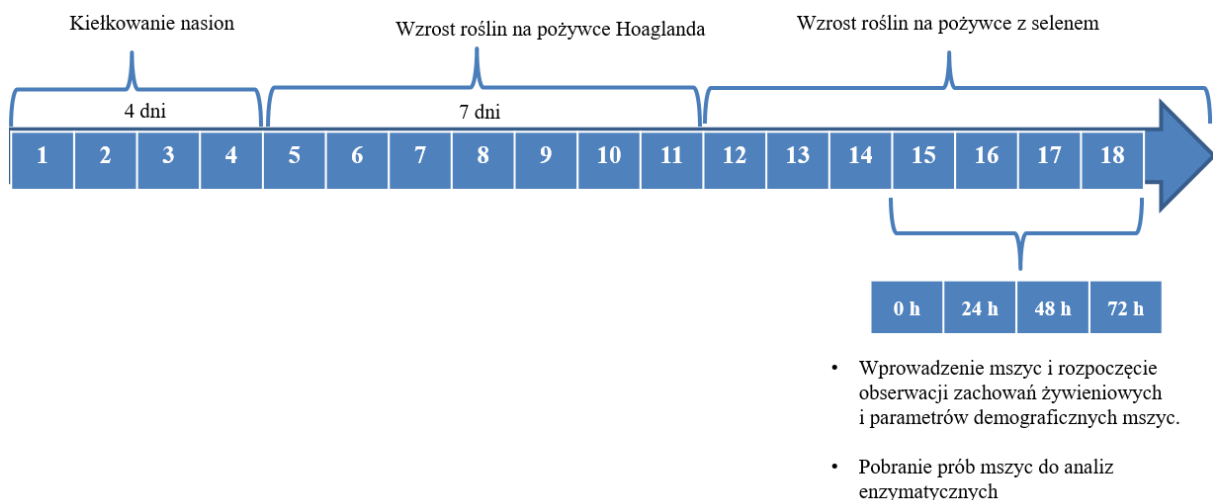
Ryc. 2. Schemat doświadczeń drugiego etapu badań

Trzecim etapem (ryc. 3) było określenie wpływu selenu na zachowania żywieniowe, przeżywalność larw oraz na parametry demograficzne populacji mszycy grochowej, takie jak płodność, długość poszczególnych faz rozwojowych, czy całkowitą długość życia. Po 7 dniach

wzrostu na pożywce Hoaglanda i następnie po 4 dniach wzrostu roślin na pożywce z dodatkiem związków selenu prowadzono pomiary elektronicznego zapisu żerowania mszyc (EPG). Na pojedyncze rośliny umieszczone w probówkach z pożywką nanoszono jedną bezskrzydłą samicę mszycy. Przed rozpoczęciem doświadczenia mszycy pozbawione były pokarmu przez 1 godzinę. Analizowano 8-godzinny zapis żerowania 16 mszyc.

Parametry demograficzne obliczono dla bezskrzydłych samic *A. pisum* naniesionych pojedynczo na odizolowane od siebie rośliny. Każdego dnia liczono i usuwano nowo narodzone larwy. Obserwacje prowadzono do naturalnej śmierci mszyc. Przez cały czas trwania doświadczenia rośliny rosły na pożywkach zawierających selen.

Ponadto badano wpływ traktowania siewek grochu selenem na aktywność enzymów antyoksydacyjnych (dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy), detoksykacyjnych (S-transferazy glutationowej i β -glukozydazy) oraz oksydoredukcyjnych (peroksydazy i oksydazy polifenolowej) w tkankach mszycy.



Ryc. 3. Schemat doświadczeń trzeciego etapu badań

Zestawienie wykonanych oznaczeń

Wskaźnik	Metoda
<i>Pisum sativum</i>	
koncentracja selenu oraz makro- i mikrośladników	spektrometria emisyjna ze wzbudzeniem plazmowym (ICP-OES)
aktywność dysmutazy nadtlenkowej i peroksydazy askorbinianowej	spektrofotometryczna
poziom nieenzymatycznych antyoksydantów: flawonoli i karotenoidów	spektrofotometryczna
poziom anionorodnika nadtlenkowego, nadtlenku wodoru i rodnika hydroksylowego	spektrofotometryczna
całkowita zdolność antyoksydacyjna	spektrofotometryczna
<i>Acyrtosiphon pisum</i>	
proces żerowania mszycy	elektroniczny zapis żerowania (EPG)
parametry demograficzne populacji mszyc	wg metody Bircha i formuły Watt'a i White'a
aktywność dysmutazy nadtlenkowej, katalazy, S-transferazy glutationowej, β -glukozydazy, peroksydazy i oksydazy polifenolowej w tkankach mszycy	spektrofotometryczna

5. Wyniki i ich omówienie

W pierwszym etapie badań zastosowano selenian i selenian sodu w stężeniach 10, 20, 50, i 100 μM , aby wybrać stężenia, w których selen będzie powodował w siewkach grochu stres o słabym nasileniu (Łukaszewicz i in. 2019). Rośliny rosnące na pożywkach z dodatkiem selenianu gromadziły znacząco wyższe ilości selenu, niż w przypadku zastosowania seleninu. Większą akumulację selenu obserwowano w korzeniach niż w pędach. Selenin już w stężeniu 20 μM istotnie ograniczał wzrost korzeni, natomiast w przypadku działania selenianu efekt ten obserwowano dopiero w stężeniu 100 μM . Pomiar długości korzeni wykorzystano do wyznaczenia współczynnika tolerancji względem selenu. Na tej podstawie wykazano wyższą tolerancję grochu na selen w formie selenianu, która była dodatnio skorelowana z zawartością potasu i wapnia w korzeniach i pędach. Późniejsze badania prowadzone z zastosowaniem wybranych stężeń selenu (10 μM i 20 μM) wykazały, że dodatek selenu w obydwu formach powodował dehydratację korzeni, a ponadto w stężeniu 20 μM dodany do pożywki powodował ograniczenie wzrostu suchej masy pędów (Łukaszewicz i in. 2018). Wykazano również, iż

selen wpływa na pobieranie kofaktorów niektórych enzymów antyoksydacyjnych takich jak Cu, Fe, Mo, Mn i Zn. Pod wpływem Se stwierdzono zmniejszenie akumulacji i translokacji do pędów Fe, Zn, Mn, B i Cu w siewkach grochu. Nie zaobserwowano tego jednak w przypadku Mo.

Wyniki drugiego etapu badań przedstawiono w publikacji Łukaszewicz i in. (2021 a) oraz Łukaszewicz i in. (2021 b). Stwierdzono w nich, że selen wpływał na generowanie reaktywnych form tlenu, mogących brać udział w przekazywaniu sygnału w odpowiedzi obronnej roślin na żerowanie mszyc, jak i oddziaływać negatywnie na fitofagi.

Zasiedlenie przez mszyce powodowało stres oksydacyjny w liściach grochu, który objawiał się zwiększonym generowaniem nadtlenu wodoru w 24 h i anionorodnika ponadtlenkowego w 48 h. Na ogół wstępne traktowanie Se było skuteczne w łagodzeniu stresu oksydacyjnego poprzez zmniejszenie poziomu tych reaktywnych form tlenu, zwiększenie aktywności enzymów przeciwutleniających – dysmutazy ponadtlenkowej i peroksydazy askorbinianowej oraz zwiększenie całkowitej zdolności antyoksydacyjnej zależnej od szybko działających antyoksydantów. Efekt zależał od formy selenu, jego stężenia oraz czasu, jaki upłynął od zasiedlenia siewek przez mszyce. Nie stwierdzono wpływu zasiedlenia przez mszyce ani wpływu selenu na zmiany poziomu rodnika hydroksylowego. Efekt Se nie zawsze był korzystny. Traktowanie seleninem wpływało prooksydacyjnie, powodując zwiększone generowanie anionorodnika ponadtlenkowego, zarówno u roślin zasiedlonych przez mszyce, jak i niezasiedlonych. Niższą aktywność dysmutazy ponadtlenkowej wykazano w roślinach traktowanych seleninem w porównaniu do kontrolnych nietraktowanych.

Zbadano również wpływ żerowania mszyc na poziom metabolitów wtórnych związanych z reagowaniem roślin na stres biotyczny, które mogą pełnić funkcję antyoksydantów, a dodatkowo mogą wpływać toksycznie, bądź deterentnie zniechęcając owady do żerowania (Łukaszewicz i in. 2021 b). Zaobserwowano, iż traktowanie siewek grochu seleninem zwiększało zawartość flawonoli w porównaniu do kontroli. Żerowanie mszyc na roślinach traktowanych 20 μ M seleninem powodowało wyższą akumulację flawonoli w porównaniu do roślin niezasiedlonych przez mszyce. Natomiast selenian powodował zmniejszenie zawartości flawonoli. Może to sugerować, iż selenin jako czynnik stresowy spowodował mobilizację systemów antyoksydacyjnych roślin. Selen powodował również wzrost zawartości karotenoidów, których produkty utleniania mogą pełnić funkcję cząsteczek sygnałowych

w warunkach stresu oksydacyjnego. Podwyższoną zawartość karotenoidów obserwowano niezależnie od zasiedlenia roślin przez mszyce.

Najważniejsze wyniki trzeciego etapu badań przedstawiono w publikacji Łukaszewicz i in. (2021 b). Analiza ośmiogodzinnych zapisów modeli żerowania mszyc zarejestrowanych przy użyciu metody elektronicznego zapisu żerowania (EPG) wykazała, iż traktowanie siewek grochu związkami selenu wpływało na czas sondowania i zachowania żywieniowe mszycy grochowej. Akumulacja selenu w siewkach grochu powodowała zmniejszenie aktywności mszyc związanych z fazą floemową oraz powodowała wydłużenie czasu braku sondowania i skrócenie czasu trwania penetracji. Mszyce żerujące na roślinach traktowanych 20 μM seleninem oraz 10 μM i 20 μM selenianem dwukrotnie dłużej penetrowały tkanki obwodowe (epidermę i mezofil) oraz krócej penetrowały tkanki floemu niż mszyce na roślinach nietraktowanych selenem. Zaobserwowano również skrócenie całkowitego czasu pobierania soku floemowego.

Ponadto wykazano, że akumulacja selenu w siewkach grochu wpływała na rozwój mszycy grochowej, czas trwania poszczególnych faz rozwojowych oraz płodność owadów. Reakcja zależna była zarówno od formy selenu jak i od zastosowanego stężenia. Selenian w stężeniu 20 μM powodował całkowitą śmiertelność larw już po 11 dniach trwania eksperymentu. Wykazano również, iż 20 μM selenin i 10 μM selenian powodował wydłużenie okresu prereprodukcyjnego oraz skrócenie okresu reprodukcyjnego u mszyc. Selen w obydwu formach w stężeniu 20 μM powodował zmniejszenie wrodzonego tempa wzrostu populacji (r_m), tempa reprodukcji netto (R_o), tempa zwielokrotnienia liczebności populacji w czasie (λ) oraz skracał średni czas rozwoju pokolenia (T). Ponadto wykazano niższe wartości R_o w wariantach z 20 μM seleninem i 10 μM selenianem, co wskazuje na redukcję potencjału biotycznego mszyc przez selen.

Wyniki analiz spektrofotometrycznych wykazały wzrost aktywności dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy w tkankach mszyc żerujących na siewkach grochu traktowanych związkami selenu w porównaniu do kontroli nietraktowanej. Stopień zwiększenia aktywności enzymów zależał od formy i stężenia selenu oraz czasu żerowania. Najwyższą aktywność dysmutazy ponadtlenkowej zaobserwowano u mszyc żerujących na roślinach traktowanych 10 μM selenianem sodu w 24 i 48 godzinie żerowania, natomiast silny wzrost aktywności katalazy obserwowano w tej kombinacji w 24 h. Wykazano również zmiany aktywności peroksydazy i oksydazy polifenolowej w tkankach mszyc. Po rozpoczęciu żerowania aktywność

peroksydazy wzrosła istotnie we wszystkich kombinacjach. Wykazano również, iż selen stymulował aktywność S-transferazy glutationowej i β -glukozydazy w tkankach mszyc.

6. Wnioski i podsumowanie

- Akumulacja selenu w siewkach grochu była zależna od zastosowanej dawki i formy chemicznej tego pierwiastka. Większą akumulację selenu obserwowano w korzeniach niż w części nadziemnej oraz gdy selen był aplikowany w formie selenianu.
- Traktowanie selenem oraz żerowanie mszycy wpływało na wzrost poziomu anionorodnika ponadtlenkowego i nadtlenku wodoru w liściach grochu.
- Selen oraz żerowanie mszycy zwiększały w liściach grochu aktywność enzymów antyoksydacyjnych – dysmutazy ponadtlenkowej i peroksydazy askorbinianowej oraz poziom nieenzymatycznych antyoksydantów, tj. flawonoli i karotenoidów.
- Selen zwiększał całkowitą zdolność antyoksydacyjną w liściach grochu zależną od szybko działających antyoksydantów.
- Akumulacja selenu w siewkach grochu zmieniała zachowania żywieniowe żerujących mszyc – skrócenie fazy floemowej, natomiast wydłużenie fazy ścieżki od momentu wkłucia do przejścia w fazę ksylemową. Negatywny wpływ selenianu na profil żerowania i parametry demograficzne mszyc był silniejszy niż seleninu.
- U mszyc żerujących na siewkach traktowanych selenem stwierdzono obniżenie parametrów demograficznych, zwiększenie śmiertelności larw, ograniczenie płodności samic, skrócenie okresu reprodukcyjnego oraz całkowitej długości życia.
- Żerowanie na roślinach grochu traktowanych selenem powodowało w tkankach mszyc zwiększenie aktywności enzymów antyoksydacyjnych (dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy), detoksykujących (β -glukozydazy i S-transferazy glutationowej) oraz oksydoredukcyjnych (peroksydazy i oksydazy polifenolowej).

Przedstawione badania wykazały, iż selen wpływa na reagowanie grochu na żerowanie mszycy, jak również zaobserwowano jego wpływ na żerowanie i rozwój tego fitofaga. Wpływ selenu zależny był zarówno od zastosowanej formy jak i od stężenia. Traktowanie roślin związkami selenu w niskim stężeniu powodowało stres oksydacyjny wyrażający się wzmożonym generowaniem reaktywnych form tlenu (RFT). Ponadto selen w obu formach stymulował aktywność systemów antyoksydacyjnych zależnych od nieenzymatycznych antyoksydantów zwiększając koncentrację karotenoidów i flawonoli oraz zwiększał całkowitą zdolność antyoksydacyjną zależną od szybkich antyoksydantów. Karotenoidy i flawonole

mogą być syntetyzowane przez rośliny w odpowiedzi na działanie czynników stresowych. Również u roślin traktowanych selenem i zasiedlonych przez mszyce zaobserwowano wzrost poziomu tych metabolitów. Produkowane w odpowiedzi na żerowanie owadów flawonole mogą również oddziaływać deterentnie i toksycznie na fitofagi. Obniżenie poziomu nadtlenku wodoru pod wpływem selenu u roślin zasiedlonych przez mszyce może wskazywać na wpływ tego pierwiastka na łagodzenie skutków stresu wywołanego żerowaniem mszycy grochowej. Ponadto wykazano również wyższą aktywność enzymów antyoksydacyjnych, dysmutazy ponadtlenkowej, peroksydazy askorbinianowej, u roślin nietraktowanych w porównaniu do roślin traktowanych związkami selenu.

Odpowiedzią obronną rośliny na uszkodzenie spowodowane żerowaniem mszyc jest generowanie RFT, które są dla owadów toksyczne. Owady roślinożerne posiadają układ enzymatyczny składający się z enzymów obniżających poziom RFT, tym samym ograniczających niekorzystne oddziaływanie na ich organizmy. Generowanie u roślinożerców RFT jest powodowane przez wytwarzane w roślinach metabolity wtórne o charakterze obronnym. W tkankach mszyc żerujących na siewkach grochu traktowanych związkami selenu, w porównaniu do żerujących na siewkach nietraktowanych, wykazano wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych (dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy), detoksykujących (β -glukozydazy i S-transferazy glutationowej) oraz oksydoredukcyjnych (peroksydazy i oksydazy polifenolowej).

Wykazano, że żerowanie mszycy grochowej na siewkach grochu traktowanych selenem wpływało na rozwój tego fitofaga zmieniając czas trwania poszczególnych faz rozwojowych oraz redukując płodność owadów. Najbardziej toksyczny efekt wywierał selenian w stężeniu 20 μ M, który powodował całkowitą śmiertelność larw po 11 dniach od zasiedlenia siewek grochu przez mszyce. Wyższe stężenia selenu powodowały zmniejszenie potencjału rozrodczego owada, co może wskazywać na antybiozę lub antyksenozę skutkującą ograniczeniem przeżywalności oraz reprodukcji mszyc. U mszyc żerujących na roślinach traktowanych selenem obserwowano również wyższą śmiertelność larw. Stwierdzono również, że selen wpływał na zachowania żywieniowe mszycy wyraźnie ograniczając czas trwania fazy floemowej i wydłużając czas penetracji tkanek obwodowych (epidermy i mezofilu). Skrócenie czasu pobierania pokarmu przez mszyce wskazuje na deterentny wpływ selenu na tego fitofaga. Uzyskane wyniki wskazują, że selen obecny w tkankach grochu oddziaływał na żerujące mszyce zarówno toksycznie jak i deterentnie.