

Marchew jest cenionym i uprawianym na całym świecie warzywem, znanym z właściwości prozdrowotnych jego korzenia spichrzowego zawierającego duże ilości β -karotenu (prowitaminy A). Wszystkie mechanizmy odpowiedzialne za biosyntezę i gromadzenia karotenoidów w korzeniu spichrzowym marchwi nie zostały jeszcze poznane. Podstawowymi przyczynami limitującymi badania genetyczne u tej rośliny są m.in. jej dwuletni cykl rozwojowy oraz modyfikujący wpływ czynników środowiskowych na zawartość karotenoidów. Dlatego w tym projekcie planujemy wykorzystać modelowy układ tkanki kalusowej złożonej z nieodróżnicowanych komórek utrzymywanych w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych. We wcześniejszych badaniach wstępnych wykazano, że zmieniona zawartość soli mineralnych dostarczających azot wpływa hamująco na akumulację karotenoidów w komórkach marchwi. Stąd też celem projektu jest zbadanie jak na proces biosyntezy i akumulacji karotenoidów wpływa różna dostępność mineralnych form azotu (jonów amonowych i azotanowych).

W tym projekcie zostaną uzyskane dwie linie tkanki kalusowej. Pierwsza będzie gromadzić duże ilości karotenoidów, porównywalne z ilością w korzeniu marchwi. Druga pod wpływem zmienionej dostępności źródeł azotu w pożywce mineralne będzie mieć zahamowaną akumulację karotenoidów. Aby porównać zmiany w zawartości karotenoidów zostanie zmierzona ich zawartość w obu tkankach korzystając z metody wysoko sprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Z obu tkanek zostanie wyizolowane całkowite mRNA i poddane sekwencjonowaniu. Na podstawie wyników sekwencjonowania wskazane zostaną geny o zmienionym profilu ekspresji. Wykorzystując analizę histologiczną oraz ultrastrukturalną chcemy dokładniej poznać zmiany jakie zachodzą w strukturze komórek. W szczególności interesujące będzie poznanie zmian w rozwoju chromoplastów, od czego zależy również akumulacja karotenoidów w komórkach.

Połączenie wyników z wszystkich analiz pozwoli na poznanie wpływu dostępności różnych form azotu na procesy metaboliczne w komórkach marchwi, w szczególności związanych z produkcją karotenoidów i procesem powstawania i rozwoju chromoplastów, w których są gromadzone.