

Chloroplasty to charakterystyczne dla roślin organelle z grupy plastydów otoczone podwójną błoną białkowo-lipidową. Wewnętrzna błona tworzy liczne woreczki (tylakoidy), które, ułożone jeden na drugim, budują struktury zwane granami. W granach znajduje się chlorofil, aktywny barwnik, biorący udział w procesie fotosyntezy, czyli przekształcaniu wody i dwutlenku węgla z udziałem energii światła słonecznego do związków organicznych. Chloroplasty zawierają barwnik o intensywnie zielonym kolorze, który najlepiej widoczny jest w liściach roślin od wczesnej wiosny do jesieni. Zdumiewający jest fakt, że nasiona roślin wytwarzane w nieprzepuszczalnych dla światła okrywkach nasiennych dodatkowo ciemniejących w trakcie dojrzewania mogą być zielone, jak choćby wszystkim znany groch czy bób. Nasiona stanowią najważniejszą formę reprodukcji roślin i odgrywają ważną rolę w ich rozprzestrzenianiu. Dlatego znajomość biologii nasion daje możliwość właściwego postępowania zapewniającego żywotność nasionom podczas ich przechowywania, w szczególności dla gatunków roślin takich jak drzewa czy krzewy, które wytwarzają nasiona po kilku, kilkunastu lub kilkudziesięciu latach wzrostu i w dodatku nieregularnie.

Nasiona długo zachowujące żywotność to nasiona odporne na ekstremalne odwodnienie (desykcję), które zaliczane są do kategorii orthodox (np. sosna, świerk, klon zwyczajny). W przeciwieństwie do nich, nasiona wrażliwe na desykcję (kategoria recalcitrant, np. klon jawor, dąb bezszypułkowy) bardzo szybko tracą żywotność i nie można ich przechowywać długoterminowo. Nasiona kategorii pośredniej (intermediate, np. buk zwyczajny, trzmielina), pomimo że nabywają odporności na desykcję, tracą żywotność podczas długoterminowego przechowywania. Nasiona niektórych z wymienionych gatunków roślin drzewiastych są zielone, ale nie wiadomo czy posiadają aktywne chloroplasty. Badania nasion rośliny modelowej *Arabidopsis thaliana*, zaklasyfikowanych jako orthodox wykazały, że podczas dojrzewania nasion chloroplasty są najpierw tworzone a potem degenerowane lub przekształcane do pierwotnych plastydów, z których powstały w drodze różnicowania. Inne badania wykazały, że nasiona orthodox, w których są zachowywane aktywne chloroplasty, wykazują obniżoną żywotność. Nic nie wiadomo na temat losów chloroplastów w nasionach kategorii recalcitrant i intermediate. Szczególnie interesujące będzie zbadanie tego zjawiska w zielonych nasionach roślin drzewiastych i powiązanie występowania chlorofilu i funkcjonalnych chloroplastów z żywotnością nasion podczas przechowywania i związanego z nim starzenia. Proponowane badania będą odpowiedzią na pytanie czy strategia zachowania lub odróżnicowania chloroplastów ma związek z odpornością lub wrażliwością nasion na desykcję. Wyróżnia się trzy strategie odróżnicowywania chloroplastów: 1) całe chloroplasty mogą zostać wchłonięte do wakuoli przez mechanizm typu fagocytarnego (chlorofagia); 2) składniki stromy chloroplastów upakowywane są w ciałach zawierających Rubisco (RCB), czyli pęcherzyki o średnicy 1  $\mu\text{m}$  transportowane również do wakuoli; 3) białka stromy lub części chloroplastu mogą być transportowane do wakuoli związanej ze starzeniem (SAV) i znajdującej się na terenie cytoplazmy. Planowane badania pozwolą rozróżnić, która strategia jest stosowana w zielonych nasionach reprezentujących odmienne kategorie w kontekście żywotności nasion.

Chloroplasty są miejscem procesów metabolicznych generujących NADPH – fosforan dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NAD) w formie zredukowanej. Są też miejscem, gdzie znajdują się główne białkowe układy regenerujące dla białek o charakterze reduktaz zależnych od NADPH. Dlatego zachowanie przynajmniej białkowych elementów stromy w nasionach jest korzystne dla zachowania homeostazy w reakcjach redukcji i utleniania (redoks). NADPH występuje też w formie utlenionej ( $\text{NADP}^+$ ) i powstaje z  $\text{NAD}^+$ , który jest generowany w wyniku syntezy *de novo* oraz w drodze regeneracji w szlaku odzysku. NADH i NADPH są podstawowymi nośnikami protonów i elektronów do niemal wszystkich reakcji redoks. Wcześniejsze nasze badania wykazały, że stężenia tych nukleotydów i ich status redoks różnicują nasiona orthodox i recalcitrant, stąd są pierwotną przyczyną ich odmiennie funkcjonującego metabolizmu i systemu antyoksydacyjnego. Dlatego zostanie zbadane czy różne stężenia NAD wynikają z odmiennej regulacji funkcjonowania dwóch dróg syntezy tego związku lub aktywności enzymów zużywających i rozkładających NAD. Jest to niezmiernie ważne, gdyż prekursor  $\text{NAD}^+$  w szlaku odzysku reguluje długość życia komórek, co sugeruje, że brak lub niska aktywność szlaku odzysku  $\text{NAD}^+$  ma związek z żywotnością nasion. NAD i NADP to koenzymy w reakcjach odpowiednio katabolicznych i anabolicznych kształtując przez to cały metabolizm. Interesujące będzie zbadanie zmian metabolitów celem rozpoznania związków będących potencjalnymi nowymi wskaźnikami obniżonej żywotności nasion.

Projekt ma na celu wyjaśnienie, w jaki sposób zielone nasiona różnią się w swoich reakcjach na starzenie i jakie mechanizmy działają w celu utrzymania ich żywotności. Charakterystyka wszystkich możliwych ścieżek syntezy / recyklingu / wykorzystania NAD określi przyczynę niskiej zawartości NAD(P) w nasionach słabej jakości. Oczekuje się odkrycia kluczowej roli NADPH w długowieczności nasion. Identyfikacja metabolitów i przez to stopniowo zaburzonych szlaków biochemicznych pokaże sekwencję zdarzeń przyczynowo-skutkowych prowadzących do śmierci komórek w starzejących się nasionach. Oczekiwane wyniki przyczynią się do postępu w nauce, głównie w nasiennictwie i leśnictwie, gdyż dostarczą wiedzy przydatnej do optymalizacji protokołów przechowywania w bankach nasion.