



Dottorato di Ricerca in Scienze delle Produzioni Vegetali e Animali
PhD Programme in Plant and Animal Science
Codice del Corso di Dottorato/PhD code: DOT1335834
Coordinatore/Coordinator: Prof. Roberta BERNINI

Scheda delle attività svolte/Form activities carried out

Informazioni generali/General information

Ciclo/Cycle XXXVIII°

Dottorando/PhD student GIULIANA BRUNO

Posizione/Position

Con borsa di studio/With scholarship

Senza borsa di studio/Without scholarship

Riservata a dipendenti di enti di ricerca/Reserved for research center employees

Dottorato industriale/Industrial PhD

Altra tipologia/Other typology

Tutor/Supervisor

Prof. Francesco Sestili

Affiliazione/Affiliation

DAFNE, Università della Tuscia

Co-tutor

Dott.ssa Samuela Palombieri

Affiliazione/Affiliation

DAFNE, Università della Tuscia

Attività di ricerca/Research activity

Sede prevalente dell'attività di ricerca/Main place of research Università degli Studi della Tuscia

Breve descrizione dell'attività di ricerca/Short description of the research activity
(Max 5000 caratteri, inclusi gli spazi/Max 5000 characters, included spaces)

Nel primo anno è stato realizzato il piano sperimentale, previa lo studio della letteratura relativa all'argomento del mio progetto di dottorato: "I meccanismi molecolari coinvolti nell'assorbimento e nell'accumulo di nano in *Triticum durum*".

Dopo una ricerca bibliografica, sono state scelte nano-plastiche di polistirene dal diametro di 50 nm (NPs) marcate e non marcate da somministrare alle piante.

Il materiale vegetale scelto in questo lavoro di ricerca è rappresentato da due genotipi di frumento duro (mutanti TILLING LCYe e MRP3) che possiedono un differente apparato radicale confrontati con il controllo (Kronos).

È stato condotto un esperimento pilota per valutare le dosi di NP da utilizzare. Le piante sono state allevate in idroponica con differenti concentrazioni di NP: 1 mg/L, 10mg/L, 20mg/L.

L'analisi fenotipica preliminare condotta sulle piante ha previsto la raccolta di dati relativi a:

- Lunghezza e morfologia della radice
- Lunghezza e morfologia delle foglie
- Rapporto tra lo sviluppo dell'apparato radicale e della parte aerea



- Contenuto in clorofilla (Ca,Cb)

Le radici sono state inoltre valutate mediante l'utilizzo del software WinRHIZO, ottenendo dati ulteriori relativi a valori quali:

- Lunghezza
- Superficie
- Volume
- Diametro medio
- Apici radicali

Il confronto tra i campioni è stato effettuato tra il wt ed i mutanti, e i campioni non trattati e quelli trattati.

Saranno condotte altre analisi fenotipiche quali:

- Peso fresco delle radici e degli apici
- Distribuzione/quantificazione di ROS
- Analisi cellulari dello stato redox
- Conduttanza stomatica
- Efficienza fotosintetica

Le analisi molecolari (RNA-seq) verranno effettuate in radice e in plantula al fine di investigare l'espressione genica tra piante non trattate e trattate col fine ultimo di identificare i geni chiave coinvolti nell'accumulo e nel trasporto delle NP.

Le analisi preliminari hanno consentito di identificare il genotipo MRP3 più adatto allo studio oggetto della Tesi e la concentrazione di trattamento 10 mg/L.

Le piante cresciute in idroponica in presenza o assenza di NP sono state trasferite in vaso dove saranno trattate con NP a vari stati fenologici. Le piante verranno analizzate con una piattaforma di fenotipizzazione per indagare se e come le NP influiscano sulla crescita. Un sub-set di piante verrà trattato con NP marcate e sottoposto ad analisi microscopica confocale e a trasmissione elettronica per valutare la traslocazione e l'eventuale accumulo delle NP in cariossidi.

Una seconda attività della Tesi riguarda l'associazione tra il trasporto di NP e metalli pesanti. In letteratura è riportato che nella specie modello riso alcuni trasportatori di microelementi (in particolare del fosfato e del silicio) sono coinvolti per affinità di carica nel trasporto dell'arsenico; altri studi hanno evidenziato che l'assorbimento e il trasporto di NP siano associati a quello dell'arsenico.

L'obiettivo è di indagare il ruolo di alcuni trasportatori (PT1;6, Lsi1, Lsi2) nel trasporto delle NP e As e di realizzare nuovi genotipi di frumento duro con un ridotto assorbimento di entrambi gli inquinanti.

Al fine di selezionare mutanti con perdita di funzione per i trasportatori del fosfato e del silicio è stata effettuato un lavoro di ricerca bioinformatico sfruttando la piattaforma TILLING Dubkovsky, in cui sono state identificate *in silico* le linee di Kronos con mutazioni knockout per i geni di interesse e rispettivi omoalleli.

È stata messa a punto una strategia di selezione che prevede l'utilizzo dei KASP per monitorare le piante durante un programma di incrocio che sarà intrapreso per l'ottenimento dei mutanti doppi nulli in entrambi gli omoalleli per i trasportatori. I marcatori KASP disegnati saranno validati sulle linee parentali prima di essere utilizzati per la progenie F2.

In seguito, sarà condotta una caratterizzazione dei doppi mutanti (radice e plantula) per valutare l'assorbimento dell'As, l'assorbimento dell'As + NP e l'assorbimento delle NP in idroponica, così da stabilire quanto tali mutanti sono in grado di assorbire l'arsenico, l'interazione tra arsenico e nps e quanto sono in grado di assorbire o meno le plastiche.

Publicazioni scientifiche/Scientific publications

(Indicare tutte le informazioni bibliografiche dei lavori pubblicati e sottomessi/Indicate all references of published and submitted papers)

Comunicazioni a congressi/Conferences communications
(Specificare se comunicazioni poster o comunicazioni orali/Specify if poster or oral communications)

Poster dal titolo "Absorption, translocation and accumulation of nanoplastics in durum wheat grains" presentato alla 1° Conferenza Internazionale sulle micro- e nano-plastiche



| | | | |
|---|---|-------------------|-----------|
| | nella catena alimentare internazionale Agrifoodplast 2023. | | |
| Brevetti/Patents (Specificare/Specify) | | | |
| Altre tipologie di pubblicazioni/Other publications (Specificare/Specify) | | | |
| Attività formative/Training activities (Elencare tutte le principali attività svolte e, per ciascuna di esse, indicare i dati richiesti/List the main activities and for each specify of them the data) | | | |
| Frequenza di corsi/Partecipation in courses | Titolo/Title | Località/Location | Data/Date |
| Partecipazione a seminari/ Partecipation in seminars | Seminar " <i>Serbian entomofauna: What we find and what we eat?</i> " Dr. Milos Petrovic | Viterbo | 27/02/23 |
| | EUROPEAN GREEN DEAL AND FARM TO FORK STRATEGY. WHAT SHORT-TERM IMPACTS FOR ITALIAN FARMS, AND WHAT STRATEGIES IN THE MEDIUM-LONG TERM? Prof. Raffaele CORTIGNANI | Viterbo | 14/04/23 |
| | THE ROLE OF ENDOGENOUS ENZYMES IN THE EVOLUTION OF SENSORIAL CHARACTERISTICS OF PLANT-BASED FOODS Prof.ssa Katia LIBURDI | Viterbo | 17/04/23 |
| | MODELLING PEST AND DISEASES: AN OVERVIEW FROM THEORETICAL TO PRACTICAL ASPECTS Dott. Luca ROSSINI | Viterbo | 19/04/23 |
| | Point-of-care tools for plant pathogens detection Dott.ssa Sara FRANCESCONI | Viterbo | 21/04/23 |



| | | | |
|--|---|---|-------------|
| | PROTOPLAST TECHNOLOGY FOR DNA-FREE GENOME EDITING Dott. Cristian SILVESTRI | Viterbo | 27/04/23 |
| | ENHANCING THE NUTRITIONAL QUALITY OF MAJOR FOOD CROPS THROUGH CLASSICAL AND NEW BREEDING TECHNIQUES Dott.ssa Samuela PALOMBIERI | Viterbo | 28/04/23 |
| | MICROBIOME-BASED APPROACHES FOR A SUSTAINABLE AGRICULTURE Dott.ssa Annamaria BEVIVINO | Università degli Studi della Tuscia (modalità telematica) | 08/05/23 |
| | PLANT CELL CULTURES: BACK TO THE FUTURE Dott.ssa Silvia MASSA | Università degli Studi della Tuscia (modalità telematica) | 10/05/23 |
| | THE TWO-FACED PLANT VIRUSES: FROM PLANT PATHOGEN TO SMART NANOPARTICLES Dott.ssa Chiara LICO | Università degli Studi della Tuscia (modalità telematica) | 15/05/23 |
| | HIGH PERFORMANCE MOLECULAR DYNAMICS SIMULATIONS TO ASSESS THE IMPACT OF THE ENVIRONMENT ON HUMAN HEALTH AND FOR THE DESIGNING OF NEW THERAPEUTIC APPROACHES Dott.ssa Caterina ARCANGELI | Università degli Studi della Tuscia (modalità telematica) | 17/05/23 |
| | Corso "Genetics and physiology of field of | Università degli Studi della Tuscia | Giugno 2023 |



| | | | |
|---|---|--|-------------------|
| | relevant crop species and climate changes” Prof. Liljana Kuzmanovich | | |
| | Corso “Principi attivi delle piante” Prof. Roberta Bernini | Università degli Studi della Tuscia | Giugno 2023 |
| Partecipazione a convegni, workshop, scuole/Participation in workshop, schools | <i>Workshop "A one-health approach for risk assessment of micro and nano-plastics"</i> | Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza (PC), Italy | 12/09/23 |
| Stage in Italia e/o all'estero/Internship in Italy and/or abroad (Indicare la località e descrivere brevemente il tipo di attività svolta/Indicate the location and describe briefly the activity carried out) | | | |
| Altre attività formative/Further educational activities (Indicare la località e descrivere brevemente il tipo di attività svolta/Indicate the location and describe briefly the activity carried out) | Caratterizzazione nutrizionale e digestione <i>in vitro</i> di foods. | Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza (PC), Italy | 24/04/23-25/05/23 |
| Attività di didattica integrativa/Teaching activity (Elencare tutte le attività svolte e, per ognuna, indicare i dati richiesti/List all activities and specify for each of them the data) | | | |
| Attività di tutoraggio e didattico-integrative/Tutorship activities | Titolo/Title | Località/Location | Data/Date |
| Seminari in corsi di laurea/Seminars in master degrees (Indicare il titolo, la località, la data/Specify the title, the location and the date) | Conduzione di esercitazioni di laboratorio “Saggio biochimico per la determinazione del contenuto di arabinoxilani” per il corso di laurea L-25 in Scienze Agrarie ed Ambientali. | Università degli Studi della Tuscia | |
| Data/Date 19/10/23 | | | |
| Firma Dottorando/Signature PhD student <i>Giuliano Bruno</i> | | | |



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DELLA
TUSCIA

DIPARTIMENTO
DI SCIENZE AGRARIE
E FORESTALI

Firma Tutor/Signature Supervisor