



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: XXXVII

Dottorando/PhD student: Michela Lupo

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. Valerio Cristofori

Affiliazione/Affiliation: Università degli Studi della Tuscia

Co-tutor: Prof.ssa Roberta Bernini, Dott. Cristian Silvestri

Affiliazione/Affiliation: Università degli Studi 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)

L'obiettivo del progetto di dottorato è quello di allestire colture *in vitro* di piante arboree per l'accumulo di metaboliti secondari e relativa caratterizzazione degli stessi. Le tecniche biotecnologiche maggiormente utilizzate a questo fine sono la coltura di germogli *in vitro*, di calli, di *hairy roots* e le sospensioni cellulari. Le attività sono state incentrate su diverse specie arboree suddivise in Task, come di seguito:

Task Nocciolo: Le attività si sono concentrate principalmente sulla caratterizzazione chimica di due cultivar di *Corylus avellana* L., Tonda Gentile Romana e Fructo rubro, con un focus sulla componente antocianica. Durante la stagione vegetativa del nocciolo, dal germogliamento delle gemme alla completa distensione delle lamine fogliari, sono stati eseguiti campionamenti settimanali di foglie di entrambe le cultivar, in collezione presso l'azienda Didattico-Sperimentale "Nello Lupori" dell'Università della Tuscia. I campioni sono stati sottoposti ad analisi HPLC-DAD e sono state individuate e quantificate tre antocianine presenti esclusivamente in Fructo rubro: delphinidina 3-O-glucoside, cianidina 3-O-rutinoside e cianidina 3-O-glucoside. In Tonda Gentile Romana questa classe di composti è risultata assente. In entrambe le cultivar invece sono state quantificate le molecole appartenenti alla famiglia delle quercitine. Contemporaneamente sono state eseguite misurazioni di alcuni



parametri ecofisiologici della foglia, come contenuto di clorofille e indice di bilancio azotato, con impiego di fogliarimetro digitale per valutare il complessivo comportamento ecofisiologico di queste due cultivar durante la stagione vegetativa, valutando anche le possibili correlazioni con l'andamento climatico della stagione stessa. È stato individuato un picco di contenuto antocianico in Fructo rubro e le foglie campionate al momento del picco sono state sottoposte ad analisi spettrofotometriche per valutarne l'attività antiossidante, il contenuto in polifenoli totali e in flavonoidi. Le stesse foglie sono poi state utilizzate per saggi biologici su cellule mammarie umane, tumorali e non, ponendole a confronto con foglie di Tonda Gentile Romana e usando come controllo positivo il Paclitaxel. I risultati preliminari ottenuti sono stati incoraggianti in quanto gli estratti di Fructo rubro si sono dimostrati citotossici per le linee tumorali a più basse concentrazioni rispetto agli estratti di Tonda Gentile Romana e allo stesso Paclitaxel, già in uso a livello terapeutico.

Considerati i risultati positivi ottenuti sulle foglie di Fructo rubro, è stata allestita una prova di elicitazione mediante l'utilizzo di varie sorgenti luminose a LED per indurre una maggiore produzione di antocianine anche negli espianti micropropagati di questa varietà. Il LED G2 si è dimostrato il più efficace nella stimolazione della pigmentazione rossa. Per la prova di elicitazione sono stati utilizzati come confronto gli espianti micropropagati di Tonda Gentile Romana posti nelle stesse condizioni di elicitazione. Gli espianti elicitati e micropropagati e le foglie delle due cultivar *in vivo* sono stati sottoposti ad analisi HPLC-MS, i cui risultati sono ancora in corso di analisi. Dalla cultivar Fructo rubro è stata indotta la formazione di callo e sono state isolate le linee maggiormente pigmentate. È attualmente in corso una prova di elicitazione di callo pigmentato mediante sorgenti luminose a LED e mediante sia l'utilizzo di caseina idrolizzata che di elevate concentrazioni di saccarosio.

Task Sorbo: al fine di conservare e valorizzare la biodiversità frutticola di fruttiferi minori è stato ottimizzato un protocollo di propagazione *in vitro* di sorbo domestico sfruttando l'utilizzo della tecnologia LED. È stata allestita una prova di propagazione con 3 sistemi luminosi a LED e una lampada a fluorescenza. Come effettuato per la task del nocciolo, è stata allestita una prova di propagazione con 3 sistemi luminosi a LED e una lampada a fluorescenza. Per comprendere la risposta sia a livello morfologico che metabolico agli stimoli luminosi, gli espianti sono stati analizzati mediante tecnica HPLC-MS e il principale componente è risultato essere l'acido clorogenico. L'analisi degli spettri ottenuti mediante HPLC-MS è attualmente in corso.

Successivamente è stata indotta la formazione di callo, che al momento è oggetto di una prova di elicitazione sotto le sorgenti luminose LED.

Pubblicazioni scientifiche/Scientific publications (Indicare tutte le informazioni bibliografiche dei lavori pubblicati e sottomessi/Indicate all references of published and submitted papers)	Lupo, M.; Bashir, M.A.; Silvestri, C.; Brunori, E.; Pica, A.L.; Cristofori, V. LED Lighting Effects on Plant Growth and Quality of <i>Pyrus communis</i> L. Propagated <i>In Vitro</i> . <i>Agronomy</i> 2022, 12, 2531. https://doi.org/10.3390/agronomy12102531 Ferrucci A.; Lupo M. ; Turco S.; Pavese V.; Torello Marinoni D.; Botta R.; Cristofori V.; Mazzaglia A.; Silvestri C. A roadmap of tissue culture and biotechnology in European hazelnut (<i>Corylus avellana</i> L.). <i>Plant Physiology and Biochemistry</i> 2023. Accepted, in press.
Comunicazioni a congressi/Conferences communications (Specificare se comunicazioni poster o comunicazioni orali/Specify if poster or oral communications)	Innovative Woody Plant Cloning. Santiago de Compostela, Spagna. 17-18 Aprile 2023.



	<p>Comunicazione poster. “Can led light systems be a new toolbox for alleviating rooting recalcitrance problems and simplifying the acclimatization phase?” Michela Lupo, Andrea Limitone, Valerio Cristofori, Cristian Silvestri</p> <p>Comunicazione poster. “Do we talk about <i>in vitro</i> tissue culture recalcitrance of olive?” Cristian Silvestri, Andrea Ferrucci, Michela Lupo, Giuseppe Vaia</p> <p>XIV Giornate Scientifiche SOI L’ortoflorofrutticoltura per la transizione ecologica. Torino, Italia. 21-23 Giugno 2023</p> <p>Comunicazione orale. “The Red-leaf hazelnut: identification of the anthocyanin component as a possible source of bioactive molecules.” Michela Lupo, Alberto Pacchiarelli, Elena Brunori, Gianmarco Alfieri, Silvia Filippi, Valerio Cristofori, Cristian Silvestri</p> <p>Comunicazione poster. “Recupero e valorizzazione della biodiversità: micropropagazione e conservazione di accessioni di sorbo domestico.” Michela Lupo, Cristian Silvestri, Valerio Cristofori</p> <p>IX Internation Olive Symposium. Davis, California. 10-14 Settembre</p> <p>Comunicazione poster. “Micropropagation of Italian varieties with the aim to preserve genetic diversity in olive” Michela Lupo, Giuseppe Vaia, Muhammad Ajmal Bashir, Samanta Zelasco, Amelia Salimonti, Kamel Atrouz, Valerio Cristofori, Cristian Silvestri.</p>
Brevetti/Patents (Specificare/Specify)	
Altre tipologie di pubblicazioni/Other publications (Specificare/Specify)	<p>Lupo M.; Silvestri C.; Lombardi A.; Cristofori V. Pere: nella coltivazione indoor buoni risultati con la luce led. <i>L’informatore Agrario</i>, 35 (2023): 73-76. ISSN: 0020-0689.</p>



	<p>M. Lupo, C. Silvestri, S. Ferri, L. Bacchetta, V. Cristofori. Micropropagation of red-leaf hazelnut: A possible source of phenolic-rich material. <i>Acta Horticulturae</i>. Accepted, in press.</p> <p>M. Lupo, C. Silvestri, V. Cristofori, V. Tagliavento, S. Ciarroni, G. M. Balestra, A. Mazzaglia. Influenza di microrganismi endofiti durante l'acclimatazione <i>ex vitro</i> di piante di kiwi micropropagate. <i>Acta Italus Hortus</i>. Accepted, in press.</p> <p>M. Lupo, V. Cristofori, C. Silvestri. Effetto del floroglucino sulla radicazione <i>in vitro</i> di Tonda Gentile Romana (<i>Corylus avellana</i> L.) e Dundee (<i>C. colurna</i> L. x <i>C. avellana</i> L.). <i>Acta Italus Hortus</i>. Accepted, in press.</p> <p>A. Limitone, I. Granata, M. Lupo, M. Micheli, M. A. Germanà, C. Silvestri. Miglioramento della micropropagazione e radicazione <i>ex vitro</i> di gelso nero (accessione "Fontanarossa nera"). <i>Acta Italus Hortus</i>. Accepted, in press.</p>
--	---

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)

	Titolo/Title	Località/Location	Data/Date
Frequenza di corsi/Partecipation in courses	Corso di formazione BLSD/PBLSD per i cittadini	Viterbo	14 Marzo 2023
	Corso di Formazione per Lavoratori Rischio Alto	Viterbo	20 Marzo 2023
	Europrogettazione	Viterbo	17,24 e 31 Marzo 2023
	Approccio metabolomico per la caratterizzazione e la valorizzazione dei prodotti agroalimentari	Viterbo	12,14,19 e 21 Giugno 2023
	Tecniche molecolari innovative per lo studio del microbioma del latte e del formaggio	Viterbo	13,15,20 e 22 Giugno 2023
	Caratterizzazione Della Sequenza Amminoacidica Con Tecnica Di Spettrometria Di Massa	Viterbo	14,15,21 e 22 Giugno 2023
	Tecniche di ingegneria genetica e proteica abbinate alle produzioni animali e vegetali	Viterbo	14,16,20 e 23 Giugno 2023



Partecipazione a seminari/ Partecipazione in seminari	European green deal and farm to fork strategy. what short-term impacts for italian farms, and what strategies in the medium-long term?	Telematico	14/04/2023
	The role of endogenous enzymes in the evolution of sensorial characteristics of plant-based foods	Telematico	17/04/2023
	Modelling pest and diseases: an overview from theoretical to practical aspects	Telematico	19/04/2023
	Point-of-care tools for plant pathogens detection	Telematico	21/04/2023
	Protoplast technology for dna-free genome editing	Telematico	27/04/2023
	Enhancing the nutritional quality of major food crops through classical and new breeding techniques	Telematico	28/04/2023
	Microbiome-based approaches for a sustainable agriculture	Telematico	08/05/2023
	Plant cell cultures: back to the future	Telematico	10/05/2023
	The two-faced plant viruses: from plant pathogen to smart nanoparticles	Telematico	15/05/2023
	High performance molecular dynamics simulations to assess the impact of the environment on human health and for the designing of new therapeutic approaches	Telematico	17/05/2023
	Plant-based production of veterinary vaccines and diagnostics	Telematico	22/05/2023
	Preclinical research models and their applications in drug discovery	Telematico	24/05/2023
Partecipazione a convegni, workshop, scuole/Partecipazione in workshop, schools	Serbian Entomofauna: what we find and what we eat?	Viterbo	27 Febbraio 2023
	Innovative Woody Plant Cloning	Santiago de Compostela, Spagna	17-18 Aprile 2023
	XIV Giornate Scientifiche SOI L'ortoflorofrutticoltura per la transizione ecologica.	Torino, Italia.	21-23 Giugno 2023
Stage in Italia e/o all'estero/Internship in Italy and/or	Breve visita (1 settimana) presso il dipartimento di farmacognosia dell'università di Semmelweis	Budapest, Semmelweis Univeristy	5-10 Giugno 2023



abroad (Indicare la località e descrivere brevemente il tipo di attività svolta/Indicate the location and describe briefly the activity carried out)	(Budapest, Ungheria). Durante questa visita sono state effettuate analisi HPLC-MS di estratti di piante <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> concernenti la sperimentazione del presente dottorato. La visita è stata un punto di partenza per una collaborazione attualmente in corso.		
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)			
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)			
	Titolo/Title	Località/Location	Data/Date
Attività di tutoraggio e didattico-integrative/Tutorship activities	esercitazione in laboratorio, dalle ore 9.00 alle ore 13.00 per l'insegnamento curricolare di "Scienza e Tecnica delle Colture <i>in Vitro</i> " del Corso di Laurea in Scienze Agrarie e Ambientali (L-25), profilo Biotecnologie.	Viterbo	23/10/2023
Seminari in corsi di laurea/Seminars in master degrees (Indicare il titolo, la località, la data/Specify the title, the location and the date)			



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DELLA
TUSCIA

DIPARTIMENTO
DI SCIENZE AGRARIE
E FORESTALI

Data/Date	24/10/2023		
Firma Dottorando/Signature PhD student	<i>Michele Lys</i>		
Firma Tutor/Signature Supervisor	<i>Valerio Cristofari</i>		