

**Insegnamento: Fisiologia molecolare delle piante****Molecular Plant Physiology**

<b>Docente</b>	Dott.ssa Pasqualina Woodrow
<b>Anno</b>	2° anno
<b>Corso di studi</b>	Corso di laurea magistrale in Biologia
<b>Tipologia</b>	Attività caratterizzante
<b>Crediti</b>	7
<b>SSD</b>	BIO/04
<b>Anno Accademico</b>	2018/2019
<b>Periodo didattico</b>	Primo semestre
<b>Propedeuticità</b>	No
<b>Frequenza</b>	Non obbligatoria
<b>Modalità di esame</b>	Prova orale
<b>Sede</b>	Polo Scientifico, Via Vivaldi 43 – Caserta – DISTABIF Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli"
<b>Organizzazione della didattica</b>	Lezioni frontali, esercitazioni, attività pratiche in laboratorio

**Obiettivi formativi** Conoscenza dell'organizzazione dei genomi vegetali. Controllo genetico della riproduzione. Piante OGM. Utilizzo delle piante per la produzione di molecole di interesse farmaceutico ed industriale. Risposte molecolari delle piante agli stress biotici e abiotici.

The student will be able to identify the main techniques for improve the quality and quantity of production plants and the use of them to produce molecules of pharmaceutical and industrial interest. Plant genomes organization. Control of plant reproductive development. OGM Plant and biotechnological applications. Abiotic and biotic molecular responses

**Prerequisiti** Conoscenze di base della fisiologia vegetale, della biologia molecolare e della genetica  
Knowledge of plant physiology, molecular biology and molecular genetics

**Contenuti del corso** Le tecniche di coltura *in vitro* e trasferimento genico nelle piante. Organizzazione ed espressione dei genomi vegetali. Piccoli RNA, silenziamento trascrizionale e post-trascrizionale, proteine coinvolte nella biogenesi. Ingegneria genetica e piante OGM. Percezione e trasduzione del segnale. Sviluppo riproduttivo. Risposta delle piante agli stress biotici e abiotici

*In vitro* techniques and gene transfer in plants. Genetic information in plant cell: nuclear, Mitochondrial and plastid DNA. Small RNAs, transcriptional and post-transcriptional gene silencing, proteins involved in small RNA biogenesis. miRNAs: mechanisms of action, function of selected miRNAs, identification and analytical techniques, biotechnological applications. Plant responses to abiotic and biotic stresses, Homeotic genes and plant reproductive development. Signal perception and transduction responses.

**Programma dettagliato Colture *in vitro* e Biotecnologie Genetiche cellulari**

Micropropagazione. Colture di calli e sospensioni cellulari. Variazione somaclonale. Ibridazione somatica mediante fusione di protoplasti. Ottenimento di apolidi mediante androgenesi e ginogenesi. Eterosi nelle piante. Depressione da *inbreeding*. Relazione tra *inbreeding* ed eterosi. Basi genetiche dell'eterosi: teoria della dominanza e della sovrdominanza. Misura della dominanza. Seme sintetico. Confronto tra embriogenesi somatica e zigotica. Analisi molecolare e marcatori dell'embriogenesi. Fecondazione *in vitro*. Semi artificiali e sintetici.

---

### **Elementi di ingegneria genetica**

Tecnologia del DNA ricombinante. Vettori di clonaggio. Genoteche. Identificazione di geni nelle librerie genetiche. Piante geneticamente modificate: metodi di trasformazione genetica. Il trasferimento del T-DNA. Integrazione del T-DNA nel genoma. Agrobacterium e le biotecnologie vegetali. Strumenti molecolari dell'ingegneria genetica: vettori. Sistemi di selezione. Promotori per le biotecnologie vegetali. Geni reporter. Il silenziamento genico mediato da piccoli RNA: basi molecolari. IR-PTGS (Inverted Repeat- Post-transcriptional Gene-Silencing), S-PTGS (Sense- Post-transcriptional Gene Silencing). microRNA (miRNA). Transacting siRNA (ta-siRNA). Trascritti naturali antisenso. Applicazioni del silenziamento genico mediato da piccoli RNA per la manipolazione genetica. Hairpin RNAi. microRNA artificiali.

### **Eredità ed ereditabilità dei caratteri quantitativi**

Tappe fondamentali della genetica quantitativa. Influenza dei fattori ambientali sui caratteri quantitativi: Esperimenti di Johannsen. Effetti della componente genetica sulla variabilità dei caratteri quantitativi: Esperimenti di Emerson e East. Eredità dei caratteri quantitativi: Esperimenti di Nilsson Ehle sul colore della cariosside in frumento. Determinazione del numero di poligeni per un carattere quantitativo: Esperimenti di East sulla lunghezza della corolla fiorale in tabacco. Effetto della dominanza sull'eredità dei caratteri quantitativi. Ereditabilità dei caratteri quantitativi: componenti della varianza fenotipica e della varianza genetica. Ereditabilità in senso largo e in senso stretto. Geni modificatori, penetranza ed espressività.

### **Controllo genetico della riproduzione**

Lo sviluppo riproduttivo. Analisi genetica e molecolare dello sviluppo del fiore. Sistemi riproduttivi nelle piante: sporogenesi, gametogenesi e fecondazione. Monoicismo e dioicismo: Determinazione genica e cromosomica del sesso. Morfologie fiorali e meccanismi fisiologici condizionanti il sistema riproduttivo. Mutazioni che influenzano lo sviluppo del gametofito. Incompatibilità. Maschiosterilità e femminosterilità. Impiego della maschiosterilità per la produzione di seme ibrido. Gameti non ridotti: meccanismi citologici e conseguenze genetiche. Poliploidizzazione sessuale, eredità sbilanciata dell'endosperma e sterilità dell'embrione. Apomissia. Determinazione del tipo di riproduzione.

### **Cellule vegetali come bio-fabbriche di prodotti chimici e farmaceutici**

Metaboliti secondari e loro ruolo nelle piante. Uso dei metaboliti secondari in campo farmaceutico, cosmetico ed agroalimentare. Strategie per incrementare la produzione di metaboliti secondari in sistemi in vitro. Ottimizzazione delle condizioni colturali per aumentare la resa. Selezione delle linee cellulari, trasformazioni geniche ed ingegneria metabolica per aumentare la produttività di metaboliti secondari. Permeabilizzazione di membrane per il recupero dei metaboliti. Immobilizzazione cellulare. Elicitazione. Produzione di metaboliti in bioreattore. Biotrasformazione di substrati per produrre molecole di interesse biologico. Estrazione ed analisi chimica dei metaboliti secondari.

### **Organizzazione ed espressione del genoma**

Geni e Cromosomi. Genoma nucleare:composizione, paradosso C, dimensioni, poliploidia. Elementi trasponibili e sequenze ripetute. Retrotrasposoni. Meccanismi di trasposizione. Utilizzo dei trasposoni come marcatori molecolari per l'identificazione varietale. SSAP. IRAP. Espressione genica. Il ruolo della cromatina nell'organizzazione dei cromosomi e nell'espressione genica. Meccanismi epigenetici di regolazione genica. Gameti non ridotti, ridondanza genica. Sintenia e collinearità. DNA mitocondriale: ricombinazione ed eteroplasmia. Sterilità maschile citoplasmatica e nucleare DNA Plastidiale. Trasferimento del DNA dagli organelli al nucleo. Espressione genica negli organelli.

### **Percezione e trasduzione del segnale**

Panoramica sulla trasduzione del segnale. I recettori. Esempi specifici di recettori nelle piante. Trasmissione del segnale tramite le proteine G e i fosfolipidi. I nucleotidi ciclici. Il calcio. le proteine chinasi:elementi primari della trasduzione del segnale. Vie di segnale associate ai regolatori della crescita.

### **Risposta delle piante agli stress biotici**

Le vie attraverso cui i patogeni delle piante causano malattie. I sistemi di difesa delle piante. La base genetica dell'interazione pianta-patogeno. I geni R e la resistenza alle malattie. La biochimica delle reazioni di difesa delle piante. Le risposte sistemiche di difesa delle piante. Controllo dei fitopatogeni mediante l'ingegneria genetica.

### **Risposta delle piante agli stress abiotici**

---

Stress dovuti a carenza idrica. Adattamento osmotico e il suo ruolo nella tolleranza alla siccità e alla salinità. L'influenza della carenza idrica e della salinità sul trasporto attraverso le membrane. Geni coinvolti nello stress idrico. Stress da congelamento. Allagamento e carenza di ossigeno. Stress ossidativo. Stress da calore.

---

**Testi di riferimento** Biochimica e Biologia Molecolare delle Piante. Bob. B. Buchanan, W. Gruissem, Russell L. Jones. Zanichelli  
Gianni Barcaccia e Mario Falcinelli – Genetica e Genomica II e III Volume – Liguori Editore  
Gabriella Pasqua- Biologia Cellulare e Biotecnologie Vegetali. Piccin  
Appunti delle lezioni

---

### **Curriculum docente: Dott.ssa Pasqualina Woodrow**

#### **Attuale posizione ricoperta**

La Dott.ssa Pasqualina Woodrow attualmente ricopre il ruolo di Ricercatore di *Fisiologia Vegetale* (BIO/04) presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche - DiSTABiF dell' Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli".

#### **Carriera accademica**

2006: Laurea Magistrale in Scienze Biologiche (V.O.), Seconda Università degli Studi di Napoli.

2007: Cultore della materia in Genetica, e membro delle commissioni d'esame di Genetica, Genetica Molecolare ed Ingegneria Genetica.

2009: Dottore di ricerca in Processi Biologici e Biomolecole, Seconda Università degli Studi di Napoli.

2009-2011: Borsista presso la Facoltà di Biologia, Seconda Università degli Studi di Napoli.

2011-oggi: Ricercatore universitario di Fisiologia Vegetale (BIO-04) presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche - DiSTABiF dell' Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli".

#### **Attività didattica**

La Dott.ssa Pasqualina Woodrow, fin dall'immissione nel ruolo di Ricercatore Confermato ha ricoperto vari insegnamenti dei S.S.D. BIO/18 e BIO/04:

2018 Titolare del corso di Fisiologia Molecolare delle Piante.

2014-ad oggi Titolare del corso di Biotecnologie vegetali. Corso di laurea in Biologia.

2012-2014 Titolare del corso di Biotecnologie vegetali. Corso di laurea in Scienze Biologiche.

2012-2013 Titolare del corso di Colture vegetali e applicazioni biotecnologiche. Corso di Laurea in Biotecnologie.

2009-2011 Titolare del corso di Genetica Molecolare e Ingegneria Genetica. Corso di Laurea in Biologia.

2009 Titolare del corso di recupero in Genetica. Corso di Laurea in Scienze Biologiche.

2009 Tutor del corso di Genetica. Corso di Laurea in Biotecnologie.

2008 Tutor del corso di Genetica. Corso di Laurea in Scienze Ambientali.

2004 Tutor del corso di Genetica generale e laboratorio. Corso di Laurea in Scienze Biologiche.

Tutor di tesi sperimentali, metodologiche, bibliografiche per gli studenti del Corso di Laurea Magistrale in Biologia, Laurea in Scienze Biologiche, Laurea Magistrale in Scienze degli Alimenti e della Nutrizione Umana, Laurea in Biotecnologie

#### **Attività di ricerca**

Utilizzo di marcatori molecolari (SNPs, RFLP, RAPD, microsatelliti, geni mitocondriali e retrotrasposoni) per la valorizzazione, conservazione e caratterizzazione di specie vegetali.

-Studio degli eventi di metilazione e demetilazione del DNA e loro significato funzionale.

-Studio della correlazione funzionale di famiglie retrotrasposoniche finalizzato alla comprensione della struttura, organizzazione, modulazione dell'espressione genica ed evoluzione del genoma delle piante.

-Studio delle boxes regolatorie di origine trasposonica, implicati nella risposta delle piante agli stress biotici e abiotici.

-Applicazione della tecnologia del DNA ricombinante al fine di individuare i geni codificanti le proteine di resistenza coinvolte nelle risposte agli stress abiotici e biotici

#### **Esperienze pratiche di laboratorio**

-Estrazione di RNA e DNA da tessuti animali e vegetali e metodi di marcatura.

-Allestimento di PCR, DGGE, SSAP, RT-PCR, ARMS-PCR, Inverse-PCR e Real Time PCR.

-Studio di marcatori molecolari: RAPD, SSR, SNP, Retrotrasposoni, DNA barcoding.

- Tecniche di ibridazione: Southern blot, Dot blot, Northern blot, FISH, Western blot.
- Strategie di clonaggio.
- BAND-SHIFT.
- Studi di espressione genica mediante l'applicazione dell'RT-PCR semiquantitativa, qRT-PCR, cDNA-AFLP e impiego di specifici software di bio-informatica.
- Cromatografia su colonna e HPLC