

# L'approccio biotecnologico per il miglioramento dei vegetali

Isolamento di un gene



Preparazione costrutto



Trasformazione



Rigenerazione



Linee transgeniche



Caratterizzazione della sua funzione

Analisi dei prodotti di espressione

Introggressione del transgene in linee di interesse commerciale

# Cronologia della tecnica

1983	tabacco
1984	carota, <i>Lotus</i>
1985	colza, petunia
1986	erba medica, <i>Arabidopsis</i> , pomodoro
1987	asparago, cotone, pioppo, patata, girasole
1988	cavolfiore, mais, riso, soia
1989	melo
1990	betulla, crisantemo, <i>Citrus</i> , vite, fragola
1991	garofano, cece, kiwi, melone, pruno
1992	barbabietola da zucchero, frumento
1993	pisello, orzo

# Requisiti minimi per la produzione di piante transgeniche

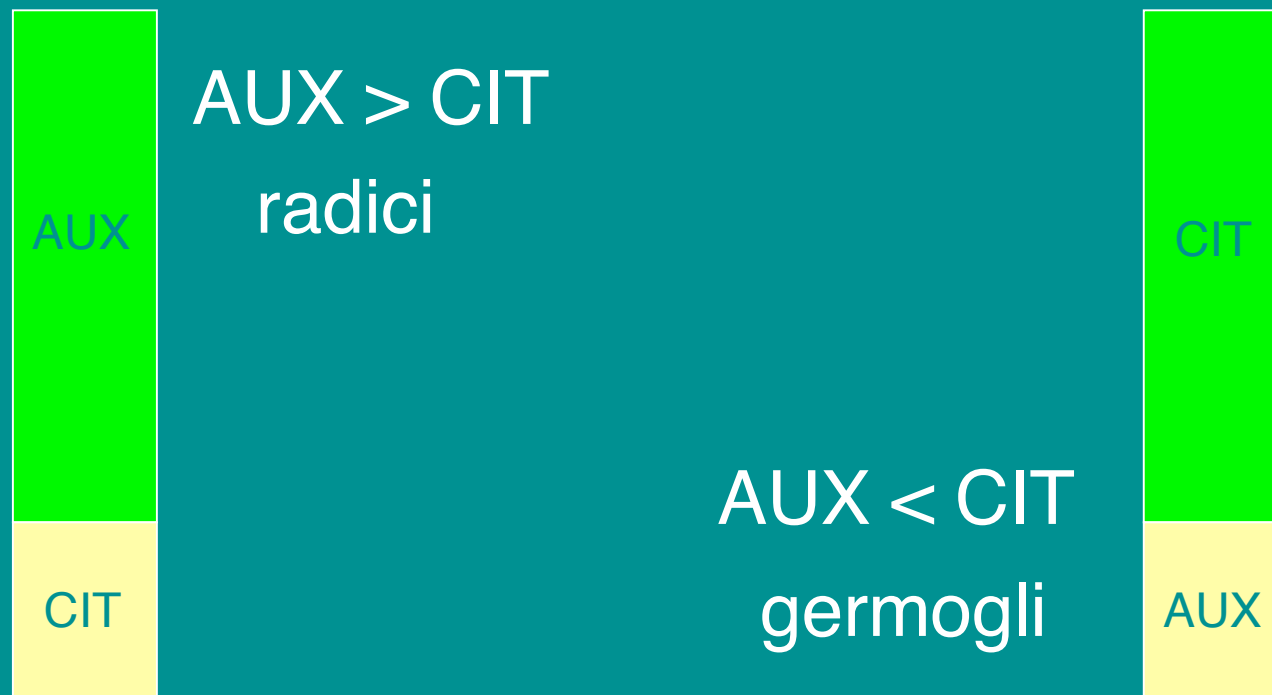
- Disponibilità di un tessuto vegetale che contenga cellule competenti per la rigenerazione di una pianta intera (cellule bersaglio)
- Un sistema per introdurre DNA nelle cellule bersaglio
- Una procedura per selezionare e rigenerare le piante trasformate

# MORFOGENESI

- **ORGANOGENESI**: differenziazione, all'interno del callo, di meristemi apicali e radicali che sviluppano germogli e radici in maniera indipendente. Con la formazione di fasci vascolari che uniscono le due porzioni si ha una pianta chimerica.
- **EMBRIOGENESI SOMATICA**: una cellula embriogenica nella popolazione di partenza si divide e segue uno schema di differenziamento simile all'embriogenesi zigotica. La pianta ottenuta non è chimerica perchè deriva da un'unica cellula iniziale

# EFFETTO DEGLI ORMONI SULLA MORFOGENESI

- Assenza di ormoni: nessuna crescita
- Presenza di ormoni: crescita (callo)



# Produzione di calli da materiale *in vitro*

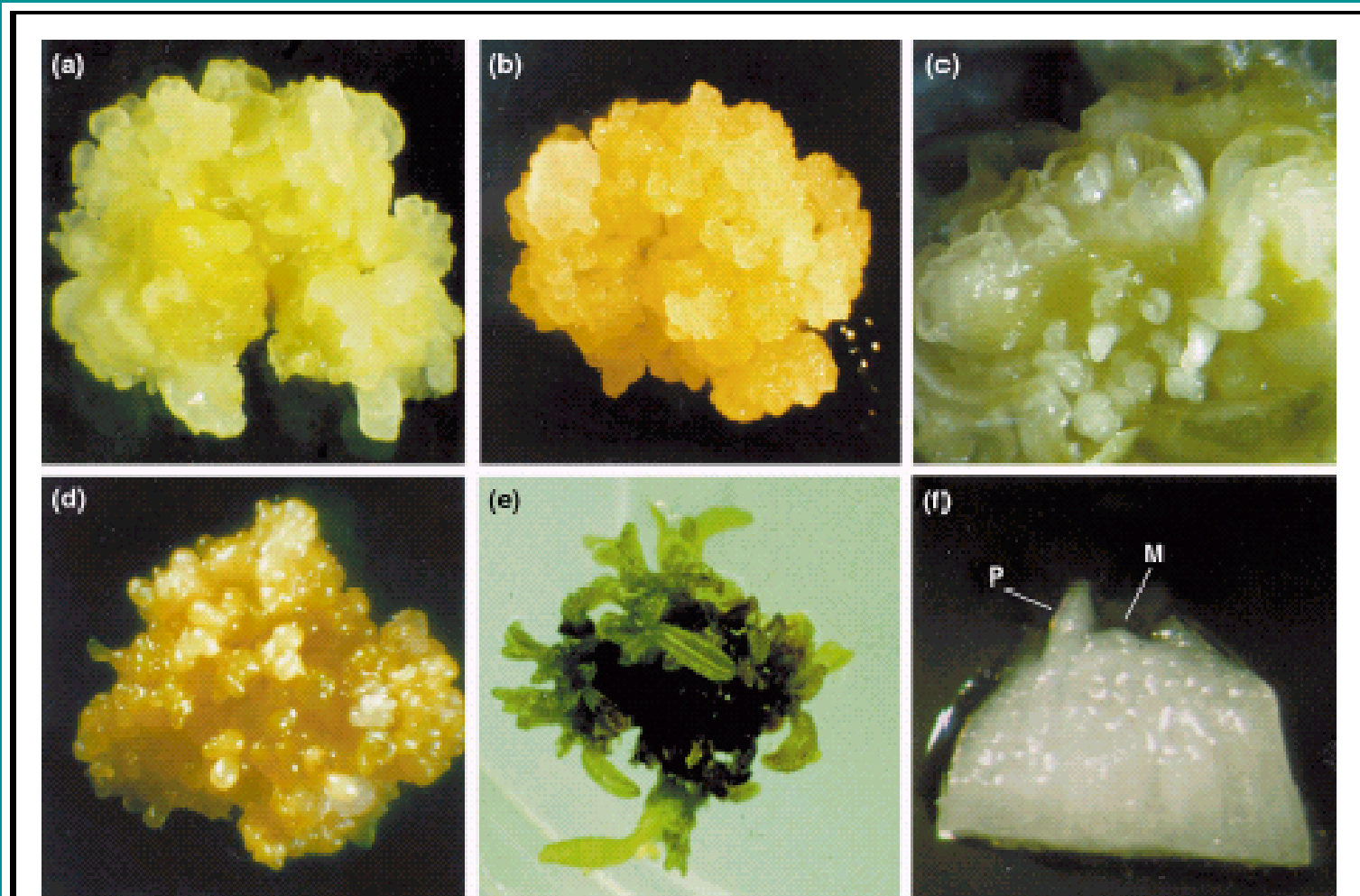
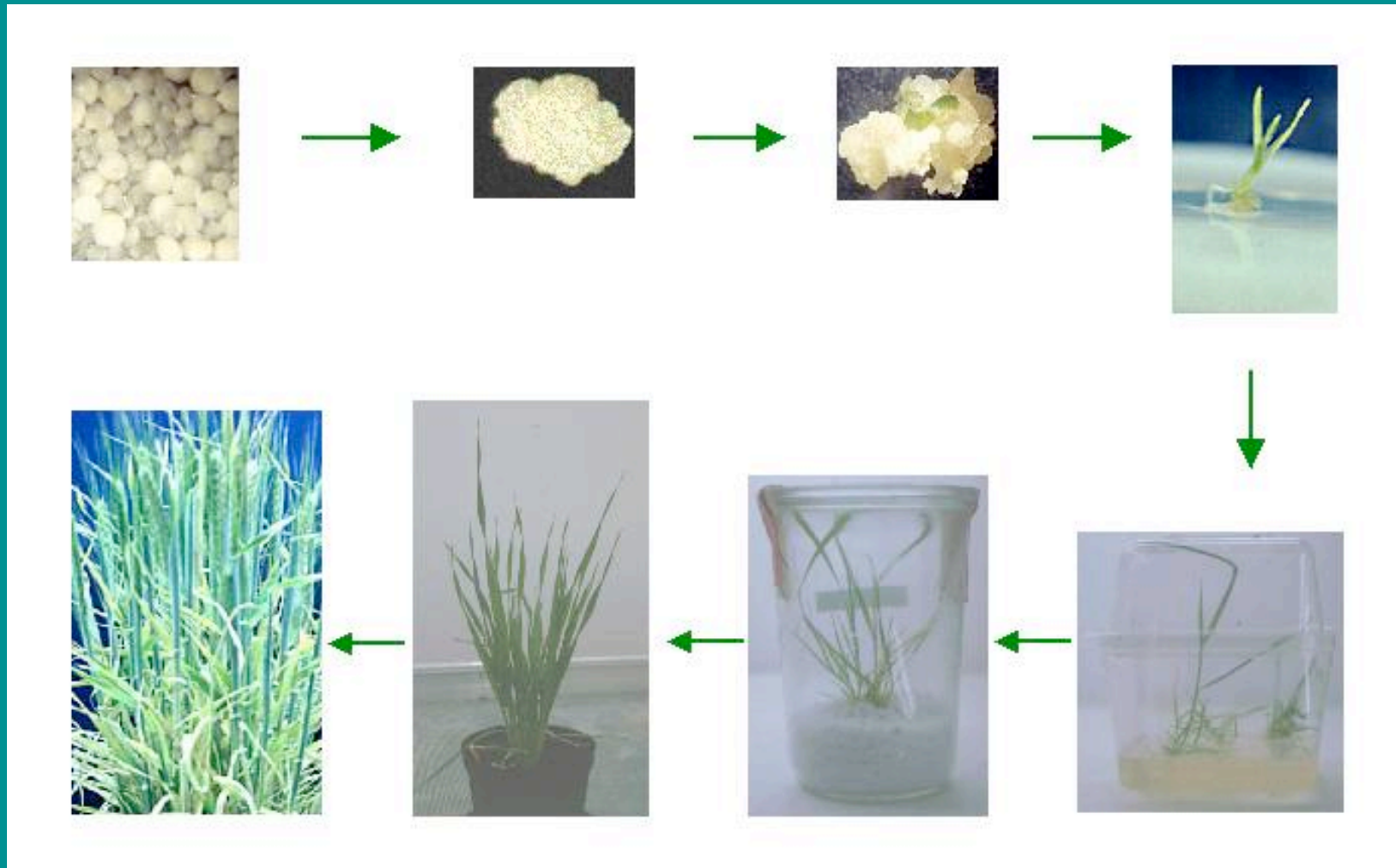


Fig. 1. Examples of cultured tissues for transformation experiments. (a) Type I and (b) type II callus from maize, (c) primordial shoots from maize. (d) and (e) Callus and shoots from soybean. (f) Cotton shoot apex from four-day-old seedling. M indicates the apical meristem and P the primordial leaf. Magnification: (a), (b), (d) and (e) 13 $\times$ ; (c) 40 $\times$ ; (f) 8 $\times$ .

# Processo di rigenerazione da callo



# Metodi di trasformazione

Trasformazione di cellule intatte o tessuti

- Infezione con *Agrobacterium tumefaciens*
- **Biolistica**: bombardamento di cellule vegetali con microproiettili d'oro o tungsteno rivestiti di DNA (*particle gun, gene gun*)

Trasformazione di protoplasti:

- **Elettroporazione** o trattamento con PEG (usata soprattutto per saggi transienti)