

DIFFERENZIAMENTO

In un organismo pluricellulare, il processo che conduce alla formazione di differenti tipi di cellule si definisce differenziamento cellulare. Il destino di ciascuna cellula è la combinazione di modelli coordinati di divisione, crescita e differenziamento cellulare, inclusa la morte cellulare programmata. Il processo di differenziamento è preceduto da una fase di determinazione cellulare, cioè l'indirizzamento di cellule ancora meristematiche (staminali, non differenziate) verso uno specifico programma differenziativo, che le porta a formare i diversi tessuti di un organo.

DIFFERENZIAMENTO

- Al livello biochimico il differenziamento è il risultato di una attivazione genica differenziale, ed è spesso regolato dalla trascrizione di alcuni geni codificanti fattori di trascrizione. Singoli fattori di trascrizione controllano molti dei geni che specificano particolari comportamenti cellulari, agendo come regolatori principali del destino cellulare.
- Durante il differenziamento le cellule acquisiscono caratteristiche morfologiche, strutturali e funzionali differenti, anche influenzate da fattori esterni come la luce, la temperatura, la gravità e i nutrienti.

Le cellule staminali e meristematiche sono cellule progenitrici di cellule differenziate.

Presentano la capacità di autoduplicarsi producendo cellule figlie identiche a se stesse.

Le cellule figlie possono anche andare incontro al differenziamento.

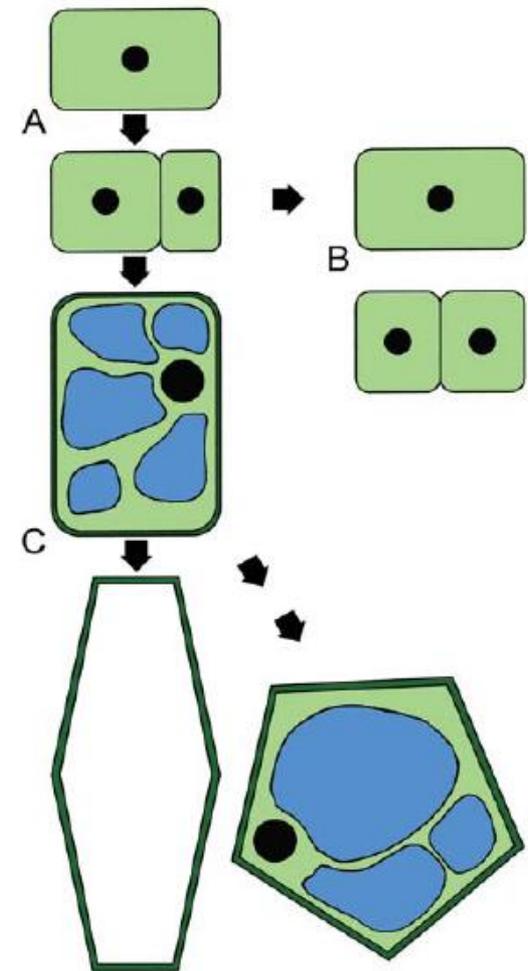


Figura 8.2

Da una cellula madre (A), per divisione mitotica, possono formarsi due cellule ineguali con un diverso destino: la più piccola (B) rimane meristematica e dopo l'accrescimento può ulteriormente dividersi, l'altra (C), più grande, dopo l'accrescimento per distensione e differenziamento, diventa una cellula adulta. Il differenziamento può portare alla morte della cellula che mantiene solo la parete, come avviene nelle cellule xilematiche e sclerenchimatiche, oppure, le cellule rimangono vive a maturità, come nel caso delle cellule parenchimatiche.

- Nonostante la grande distanza evolutiva tra i regni vegetale e animale, le cellule staminali in entrambi i regni risiedono in contesti cellulari specializzati chiamati **nicchie staminali**.
- La presenza di nicchie staminali nelle piante e negli animali probabilmente deriva dall'evoluzione convergente che ha portato a condividere la necessità di mantenere una riserva di **cellule staminali** capaci di autoreplicarsi.

La nicchia staminale è formata dalle cellule staminali stesse e dalle cellule differenziate che le circondano.

Il mantenimento dello stato staminale o l'induzione al differenziamento sono regolati da una combinazione di segnali intrinseci alla nicchia staminale e provenienti dal microambiente circostante.

Non solo la divisione asimmetrica segna destini diversi alle 2 cellule derivate ma anche la posizione che occupano in un tessuto

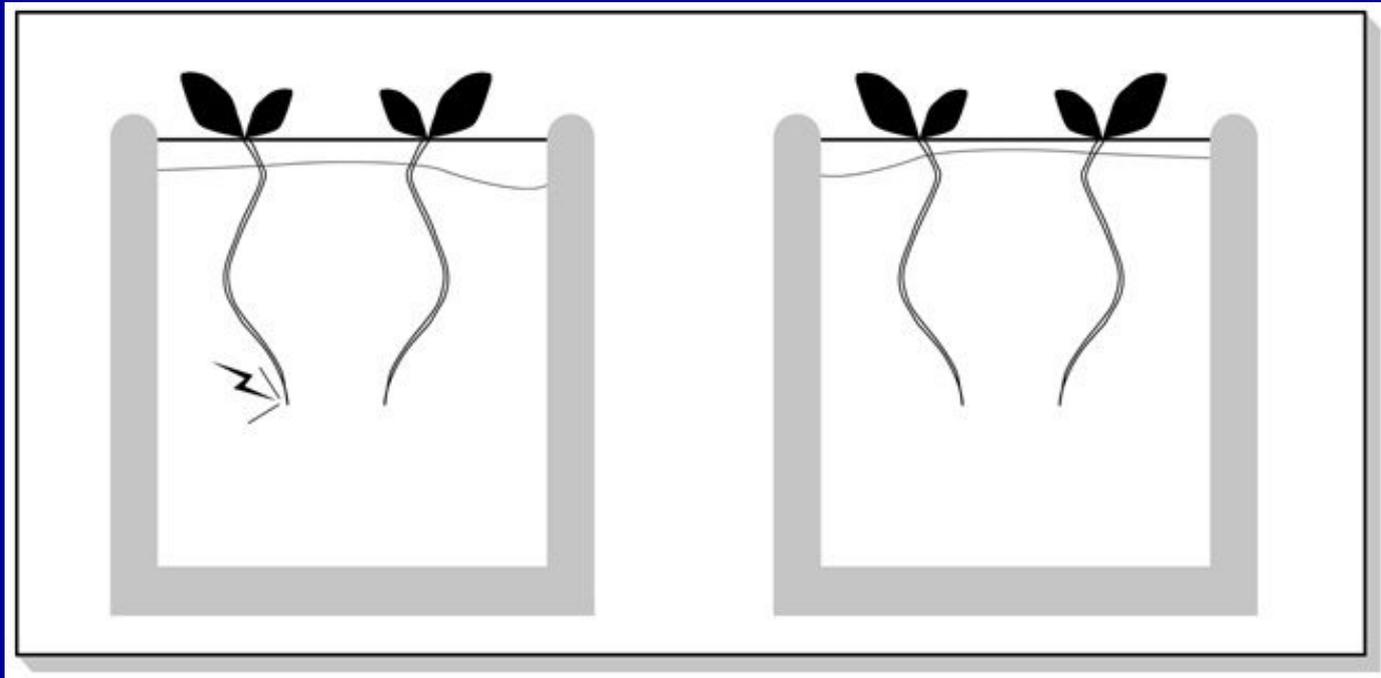
Quindi il processo di differenziamento dipende dalla POSIZIONE in cui le cellule si trovano nell'organo in via di sviluppo e non da un destino prestabilito.

EFFETTO POSIZIONE è legato alla presenza della parete che impedisce la migrazione di gruppi di cellule, cosa che avviene durante lo sviluppo dell'embrione animale.

Se una cellula indifferenziata viene trasferita in un sito diverso, si differenzierà nel tipo cellulare appropriato alla nuova posizione. Le cellule vegetali sono quindi molto più plastiche che le cellule animali.

L'informazione posizionale prevede segnalazioni a breve distanza, cellula-cellula, attraverso i plasmodesmi, ed a lunga distanza spesso dovute a gradienti di morfogeni come per esempio l'auxina.

Con il microscopio confocale è possibile convogliare un raggio laser in modo così preciso da distruggere una singola cellula appartenente anche a tessuti sottostanti l'epidermide.



Studi di **ablazione laser** hanno mostrato che il **Centro Quiescente della Radice (nicchia staminale)** mantiene lo stato di cellule staminali delle cellule circostanti inibendo il loro differenziamento.

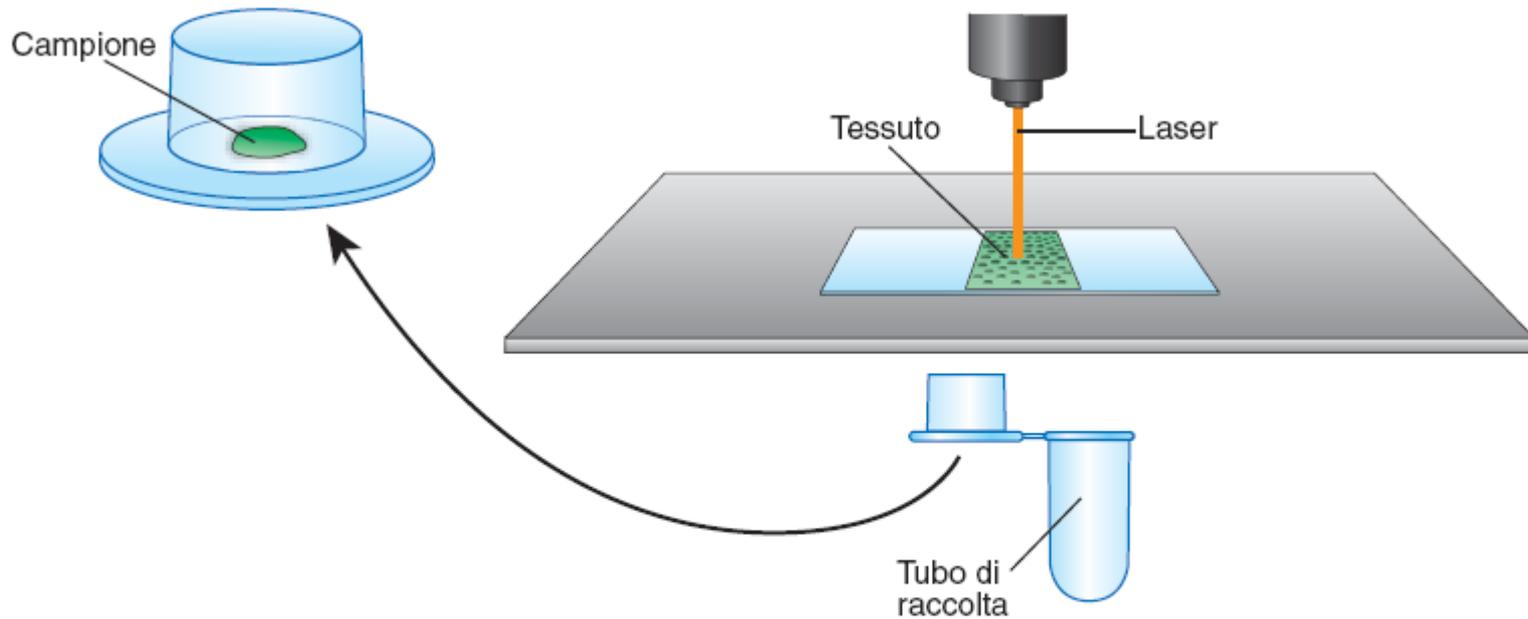
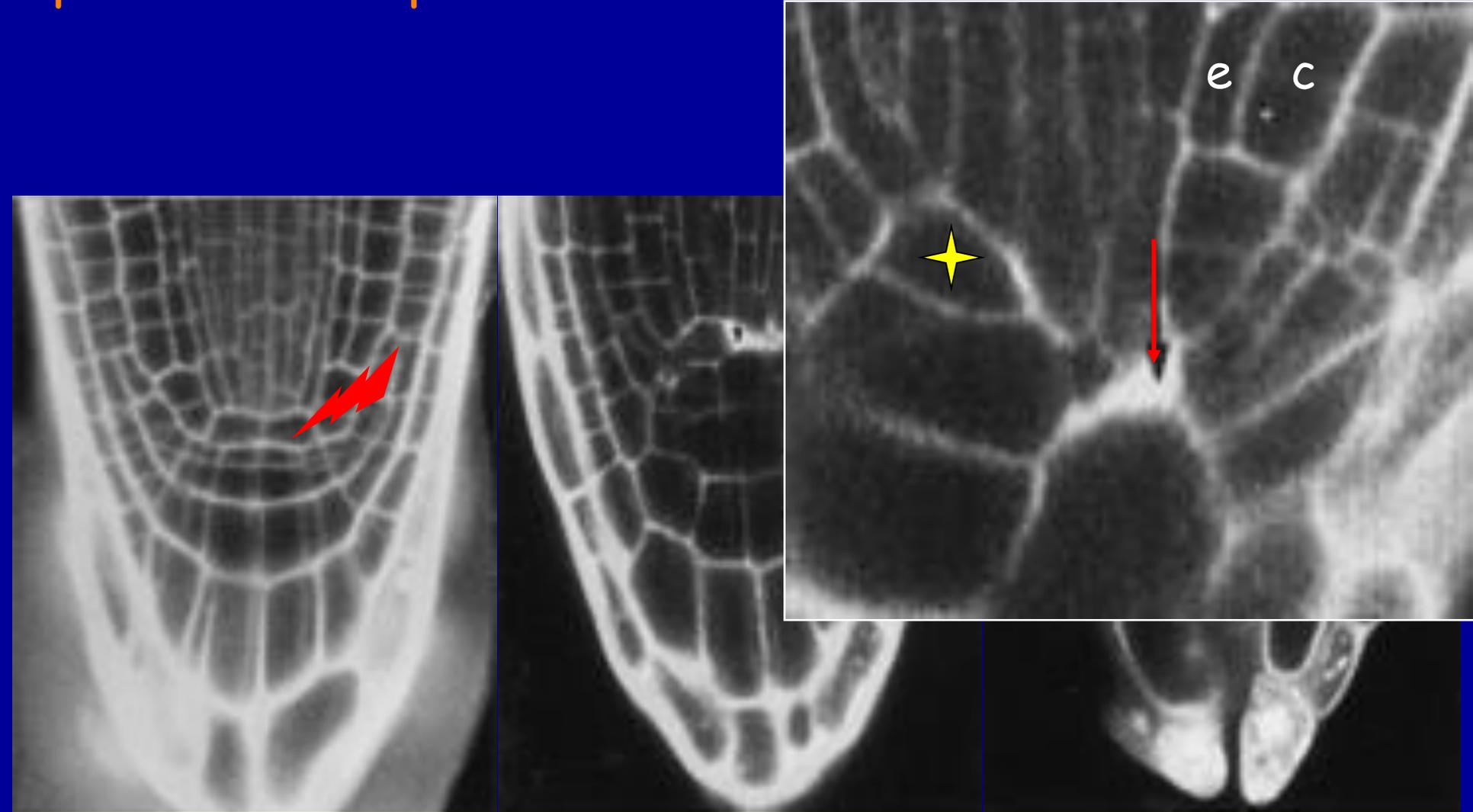


Figura 10.4

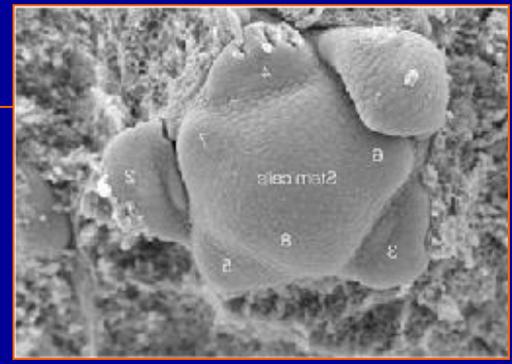
Microdissezione laser per isolare un frammento di tessuto. Il frammento di tessuto viene raccolto in un tubo e poi trattato per essere osservato al microscopio o per isolare DNA, RNA o proteine senza l'interferenza delle cellule vicine.

In seguito all'ablazione di una cellula del centro quiescente una cellula del tessuto provascolare prende il suo posto cambiando il suo destino.

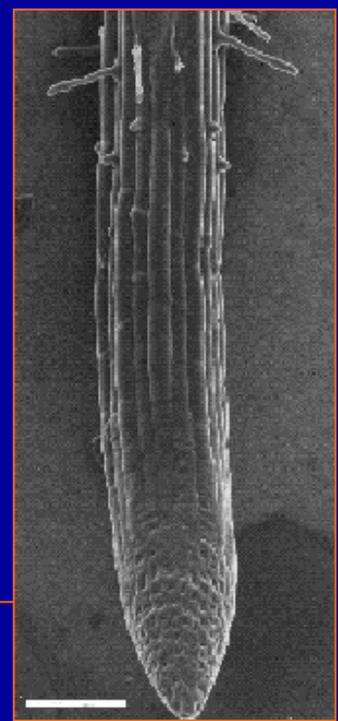


Le nicchie staminali si trovano nei meristemi apicale e radicale.
Nelle piante grazie ai **meristemi** la formazione degli organi non avviene esclusivamente nell'embrione ma continua post-embriionalmente. Dai meristemi apicali si origina tutta la struttura adulta della pianta, foglie, fusto, e radici.

Meristema apicale



Meristema radicale



Cellule staminali nella pianta

Cellule staminali in sistemi *in vitro*

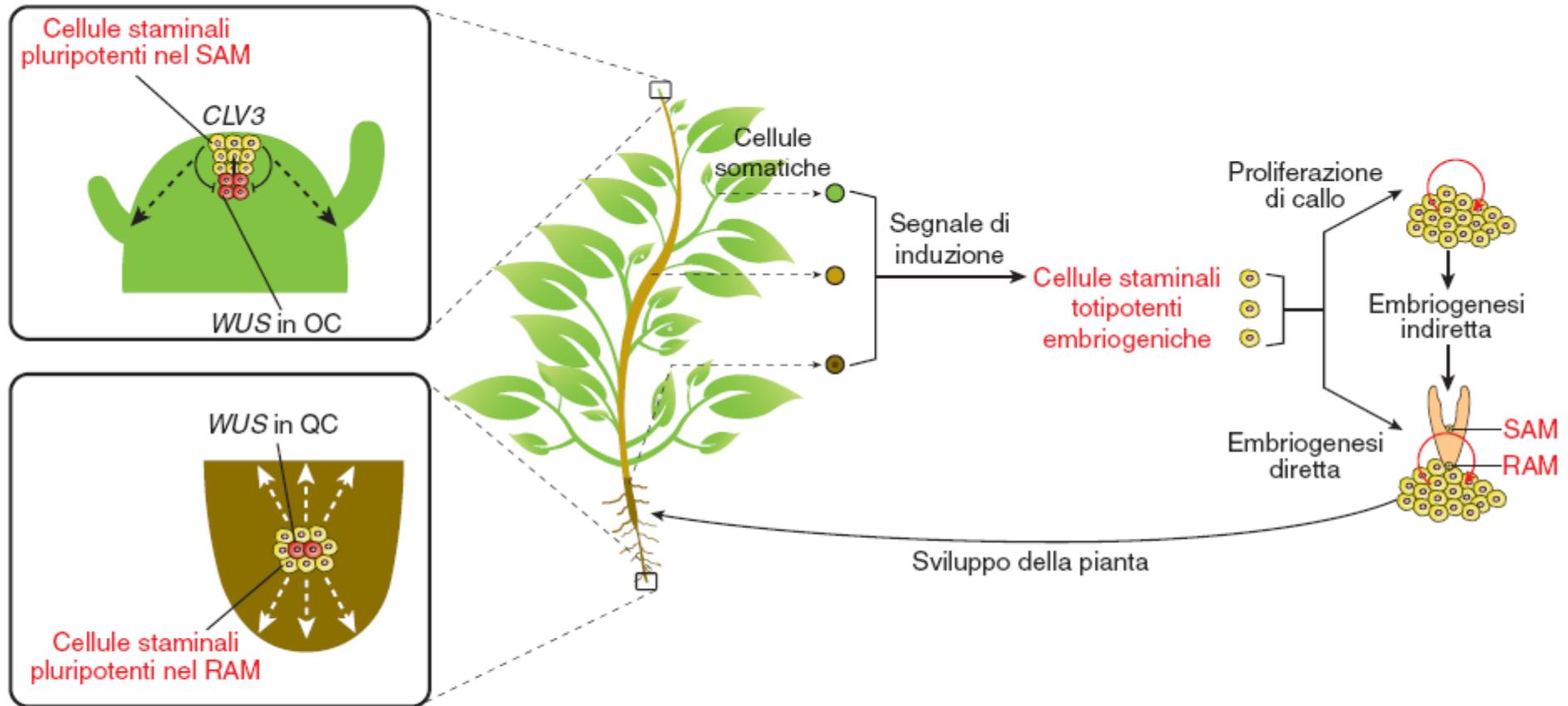


Figura 10.1

Il corpo della pianta è formato da cellule localizzate nei meristemi apicali, apice vegetativo (SAM) ed apice radiale (RAM) che per tutta la vita della pianta provvedono al rifornimento di nuove cellule per l'organogenesi, sono quindi pluripotenti. Cellule somatiche di differenti organi possono essere indotte da vari segnali a formare embrioni somatici, come trattamenti di stress o da espressione ectopica di alcuni geni che codificano per fattori di trascrizione. Cellule embriogeniche sono quindi totipotenti.

Il concetto di totipotenza nelle cellule vegetali è stato introdotto nel 1902 dal Botanico austriaco Gottlieb Haberlandt per descrivere l'abilità di una cellula vegetale a differenziarsi in un differente tipo cellulare. Questo concetto portava a ritenere che ogni singola cellula mantenesse la capacità di rigenerare una pianta completa.

Ma questo è possibile per tutte le cellule vegetali?

Ed a quali condizioni?.

Totipotenza. Autosufficienza nel formare un organismo intero, caratteristica dello zigote e di una cellula somatica o meristemica nelle piante che può dare luogo ad embriogenesi somatica o caulogenesi ma stimolata da ormoni e condizioni *in vitro*. Non dimostrata in altri tipi cellulari dei vertebrati.

Pluripotenza. Abilità di una singola cellula staminale a dar luogo a molti ma non a tutti i tipi cellulari che formano un organismo, ad esempio nelle piante i meristemi apicali

Multipotenza. Linee cellulari in grado di specializzarsi unicamente in alcuni tipi di cellule. Nelle piante sono un esempio i meristemi secondari (cambio subero-fellodermico e cambio cribro-vascolare). Negli animali cellule ematopoietiche presenti nel midollo osseo che danno luogo a tutte le cellule del sangue.

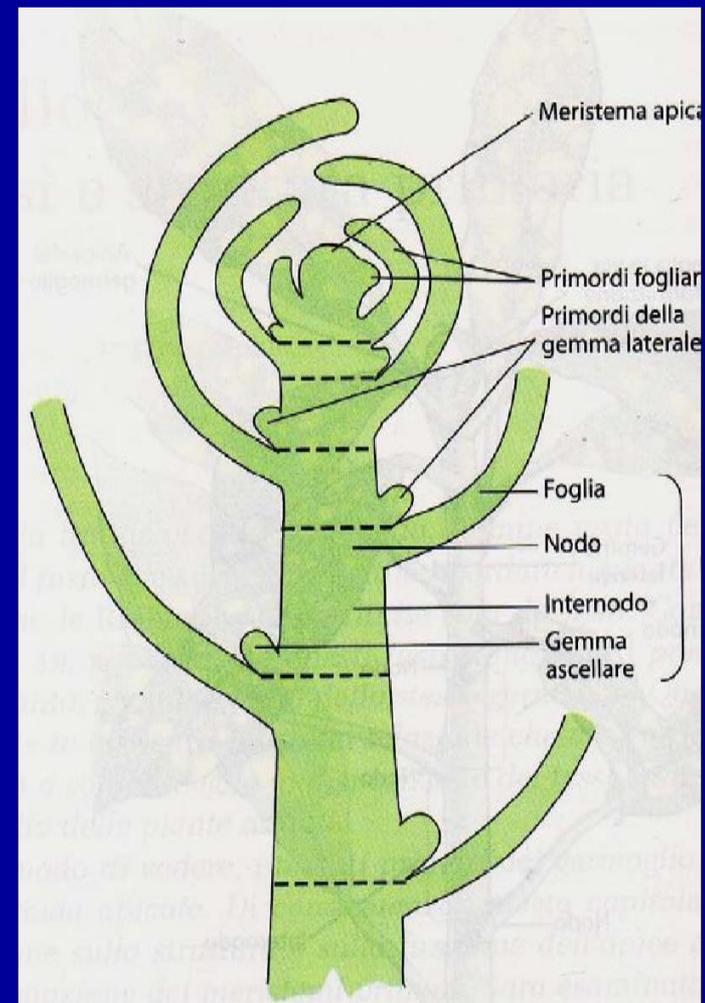
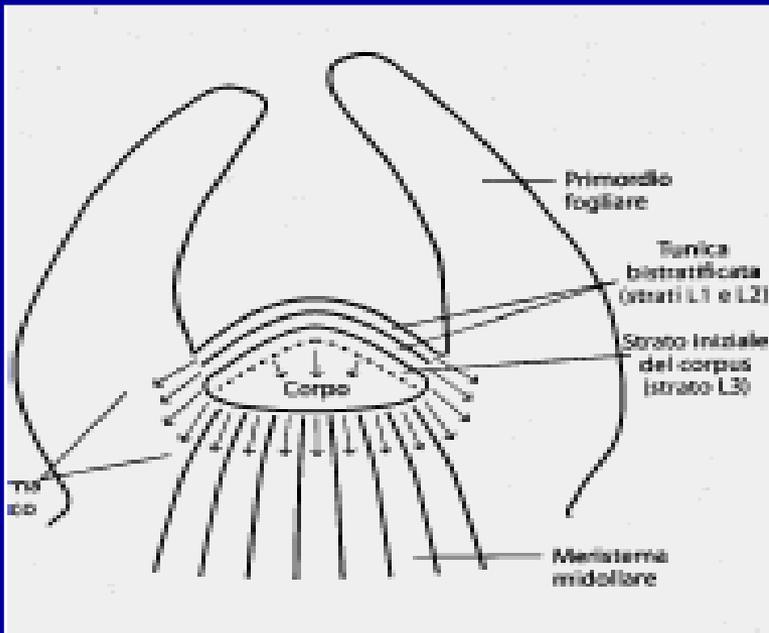
Unipotenza capacità di generare solamente un tipo di cellula specializzata. Nelle piante cellule madri degli stomi, cellule dei peli radicali (effetto posizione). *In vitro* citodifferenziazione in cellule xilematiche.

Il meristema apicale è protetto dagli abbozzi fogliari

Organizzazione tunica-corpus del meristema apicale

Tunica: 2 strati periferici di cellule (L1 e L2) a divisione perpendicolare rispetto al superficie del meristema (divisioni anticlinali) responsabili dell'accrescimento superficiale senza aumento degli strati cellulari

Strato interno della tunica (L3): divisione su più piani



Corpus: massa di cellule racchiusa dalla tunica a divisione parallela rispetto al superficie del meristema (divisioni periclinali)

Responsabile dell'accrescimento del germoglio

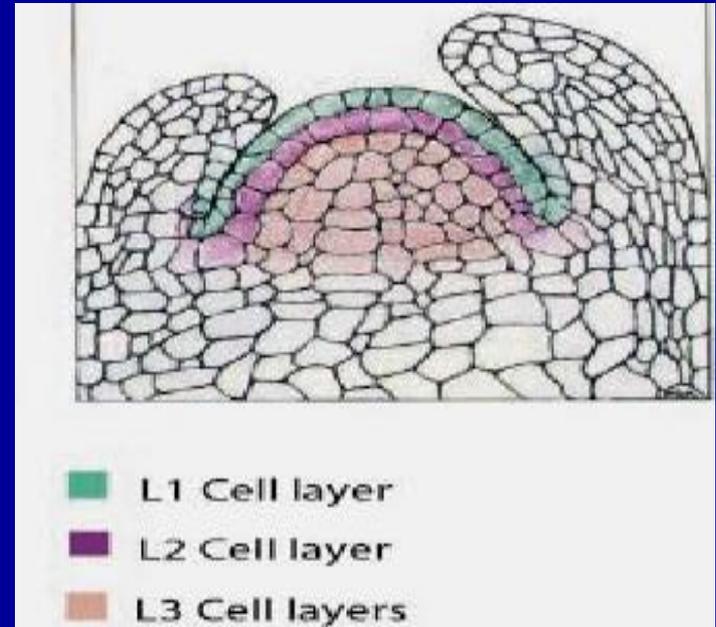
ORGANIZZAZIONE DEL SAM

Tre distinti strati di cellule

L1: porta alla formazione di strato epidermico

L2: Subepidermico

L3: lo strato più interno

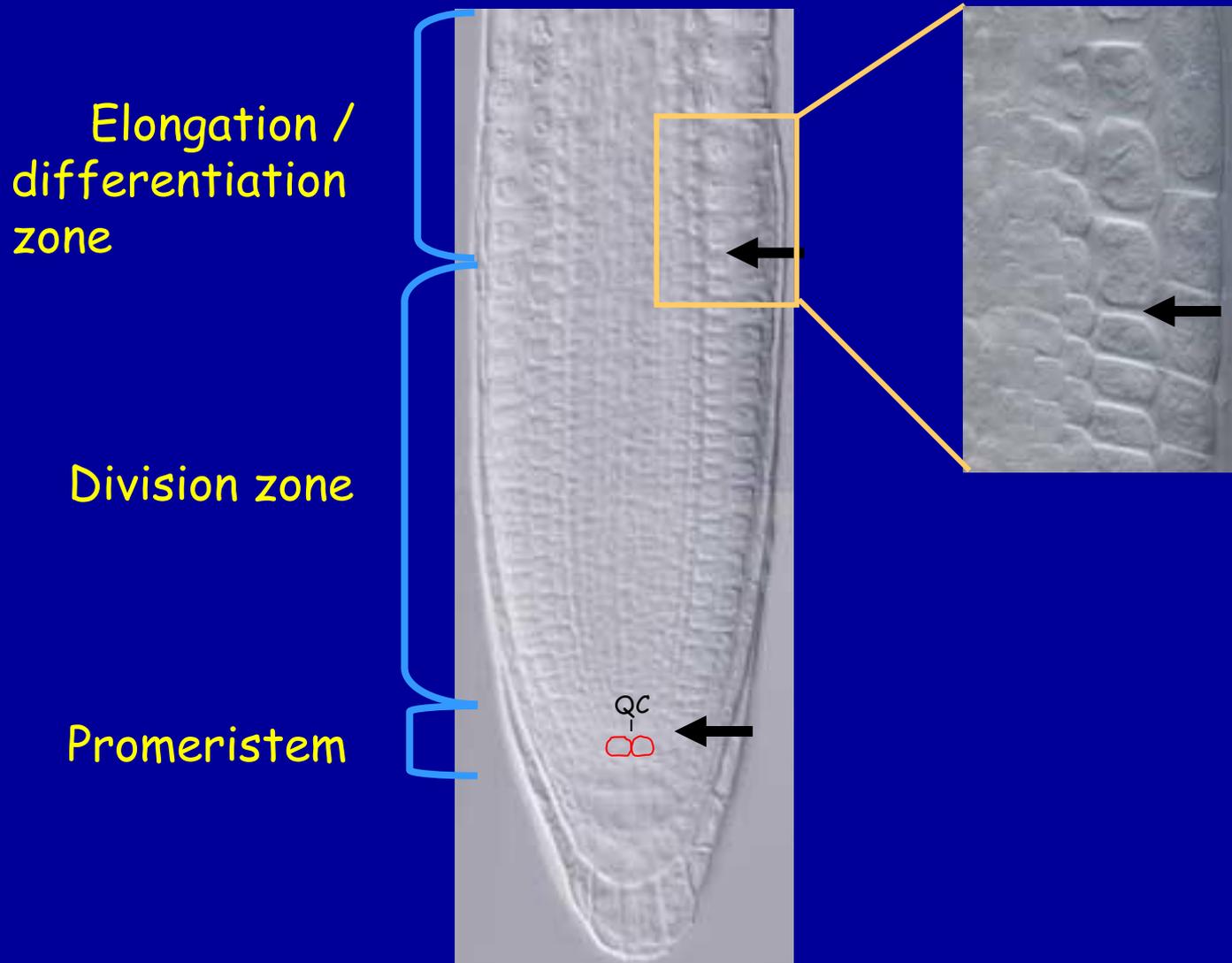


Necessità di comunicazioni
fra regioni del SAM



Per coordinare il
differenziamento

Il confine tra cellule meristematiche e cellule in differenziamento è facilmente identificabile.



Le cellule staminali che formano i tessuti della radice si trovano nella zona meristemica dell'apice radicale. Il segnale che le mantiene allo stato staminale si origina da un piccolo gruppo di cellule che risiede nel **centro quiescente (QC)**. In **Arabidopsis** la nicchia staminale comprende le cellule del QC (mitoticamente poco attive) e le cellule iniziali che lo circondano.

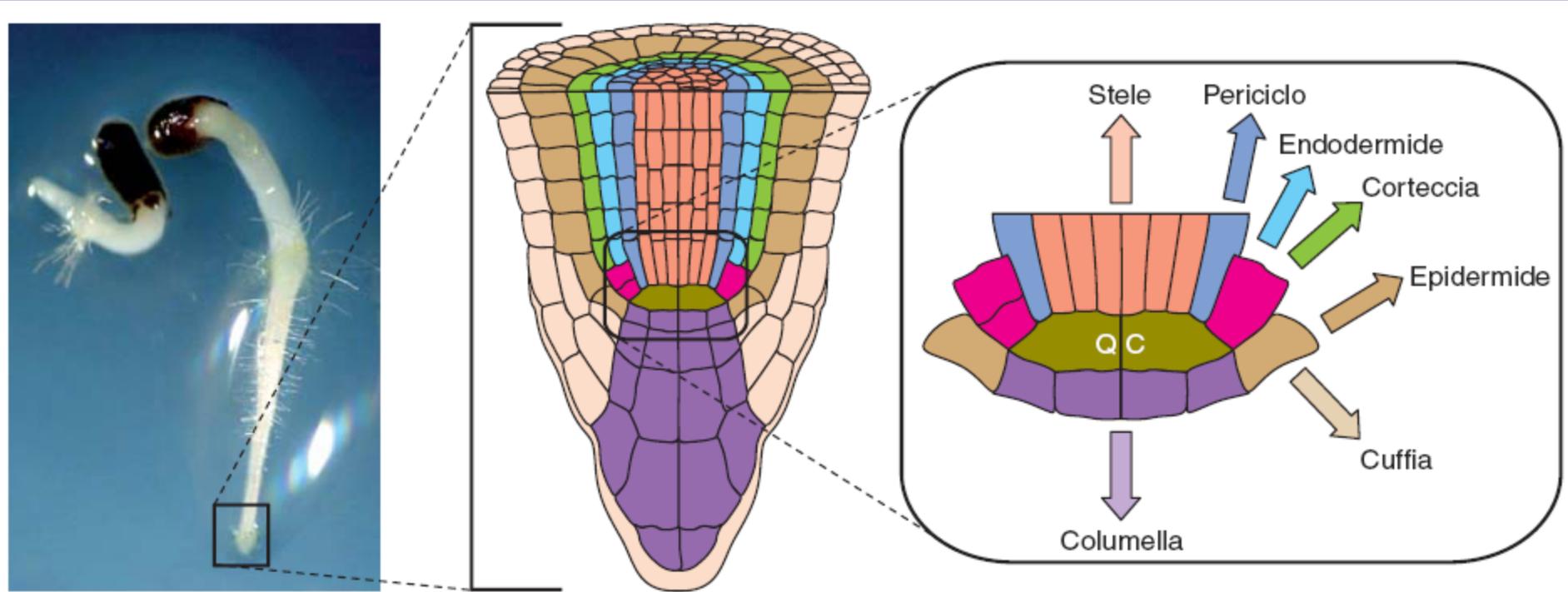


Figura 10.3

Rappresentazione schematica dell'apice radicale in sezione longitudinale. A sinistra, semi in germinazione da cui emerge la radice primaria. Al centro, schema dell'apice radicale. A destra, particolare dell'apice, in cui sono evidenti due cellule del centro quiescente (QC). Le cellule staminali adiacenti a QC producono file longitudinali di cellule che formeranno i tessuti della corteccia e dell'endoderme. Le cellule prodotte verso il basso formeranno la cuffia radicale, mentre quelle che si trovano sopra a QC daranno luogo a cilindri concentrici di cellule che formeranno i tessuti vascolari, circondate da un anello di cellule iniziali del periciclo.

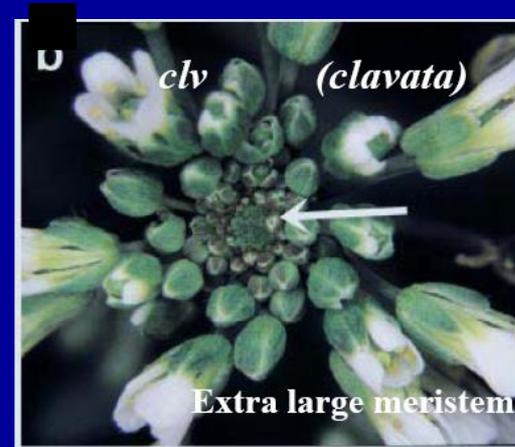
Le cellule che circondano le nicchie staminali vegetali inviano segnali per mantenere le cellule staminali in uno stato indifferenziato.

Lo sviluppo post-embrionale delle piante è dipendente dal mantenimento dell'apice vegetativo (SAM) e radicale (RAM) e dai meristemi vascolari contenenti cellule staminali tessuto-specifiche. Cellule staminali nel SAM producono cellule per il continuo sviluppo di nuovi organi, foglie, fusto fiori e frutti e le cellule staminali nel RAM provvedono alla formazione delle cellule per il continuo sviluppo del sistema radicale. In *Arabidopsis* il SAM è costituito da circa 100 cellule. In *Arabidopsis* le cellule staminali sono mantenute da segnali tra le cellule staminali ed il centro organizzatore della nicchia (OC), formato da un gruppo di cellule poste subito sotto le staminali. Le cellule OC esprimono il gene *WUSCHEL*. (*WUS*) che codifica un fattore di trascrizione che deve essere essenziale per il mantenimento dello stato staminale, dal momento che nessuna cellula staminale è formata e mantenuta nei mutanti deficienti di *WUS*. *Gli apici di mutanti WUS arrestano prematuramente il loro sviluppo, si formano altri apici in modo disordinato ed il fenotipo della pianta diventa basso e cespuglioso.*

STUDI DI MUTANTI

WUS è il gene responsabile per il funzionamento dell'apice del germoglio e del suo mantenimento, genera poche cellule del sam. I mutanti *wus* mostrano un fenotipo di pianta basso e cespuglioso.

I geni *CLAVATA* 1,2,3 sono necessari per limitare le dimensioni della zona centrale del doma. Una mutazione in uno dei 3 geni porta ad un graduale accumulo di cellule indifferenziate nel sam e mancato differenziamento delle cellule periferiche.



Questi geni interagiscono per regolare il destino e il mantenimento delle cellule staminali

MERISTEMI

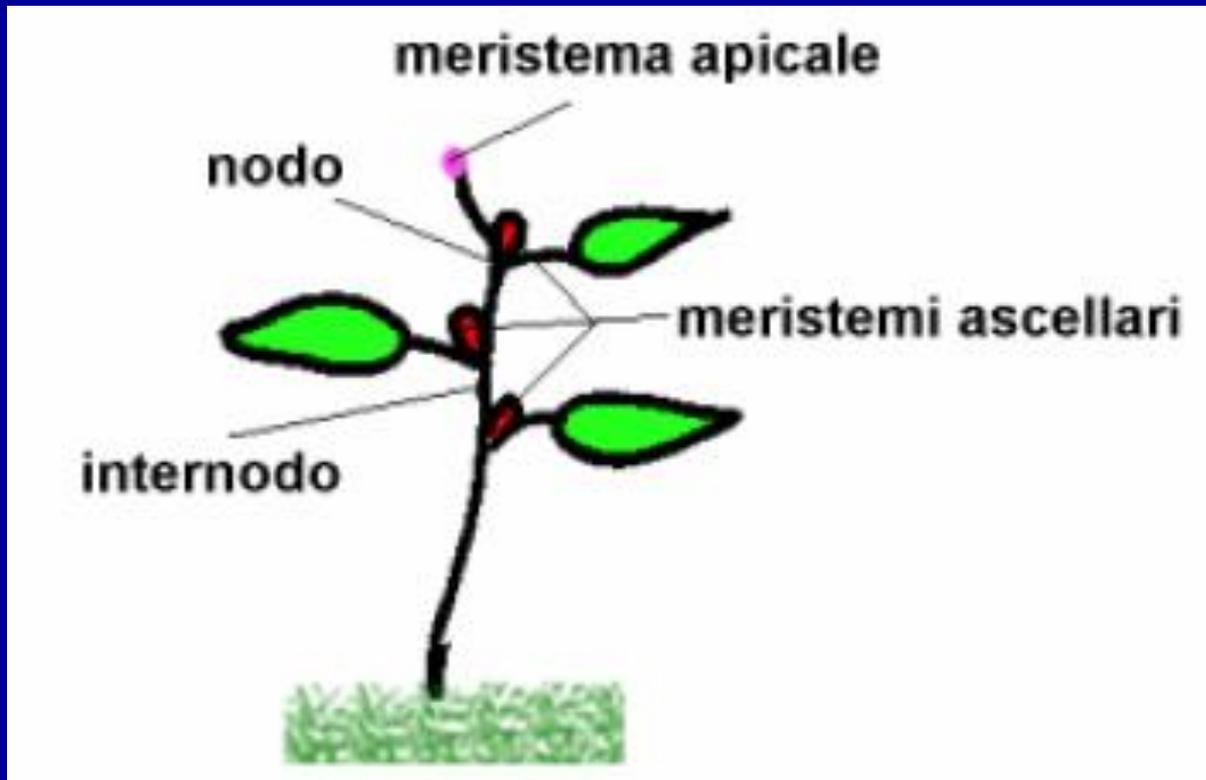


- I due meristemi apicali (inizialmente a contatto nelle prime fasi embrionali) si allontanano sempre più l'uno dall'altro in due direzioni opposte
- I meristemi non si espandono nè si differenziano e rimangono totipotenti per tutta la vita della pianta
- Ogni volta che una cellula meristemica si divide, una manterrà la Totipotenza rimanendo meristemica, mentre l'altra si differenzierà e perderà la totipotenza

La permanenza di meristemi fa della pianta un organismo ad *accrescimento aperto* (o *indefinito*) e un ottimo modello per lo studio delle cellule staminali

CRESCITA MODULARE

La maggior parte delle strutture che costituiscono una pianta adulta vengono formate dopo l'embriogenesi grazie all'attività di diversi meristemi anche ascellari

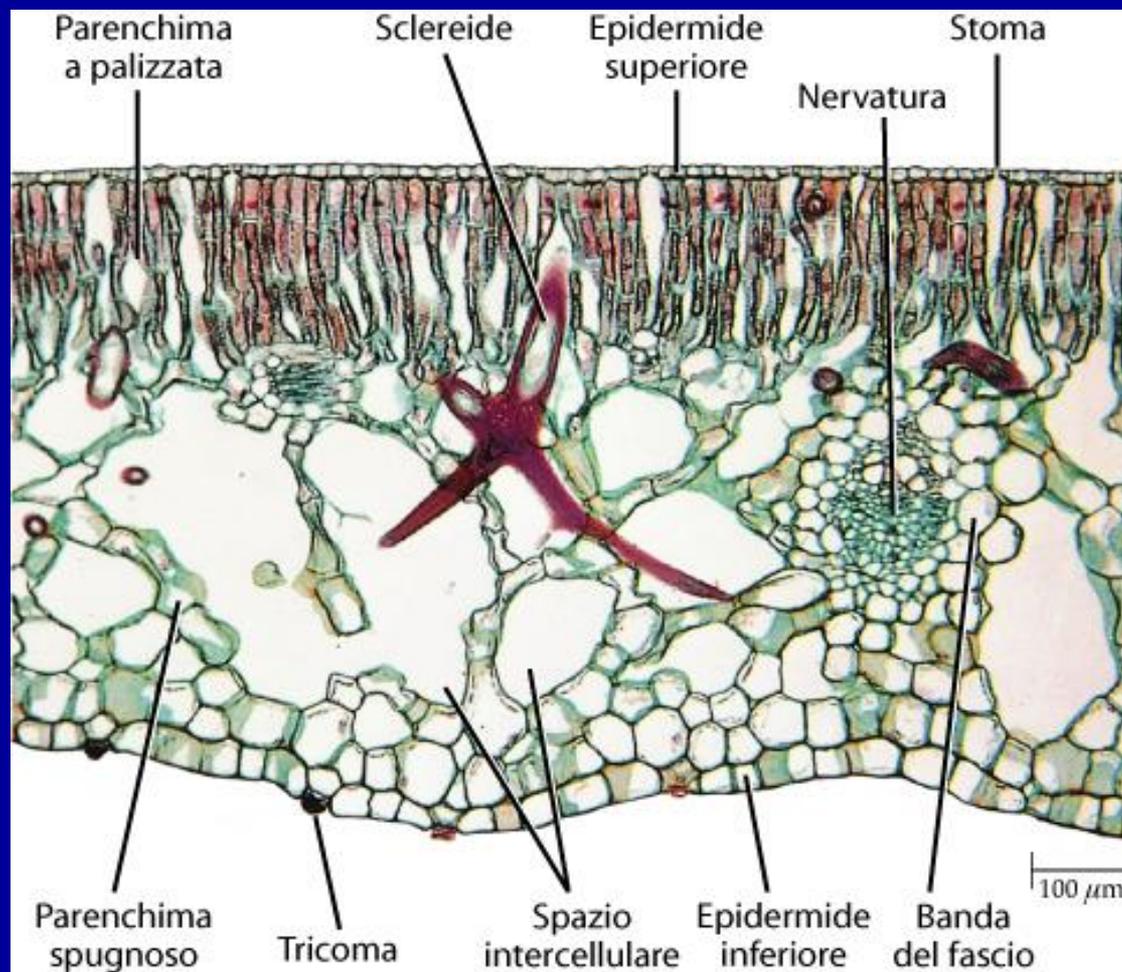


Il differenziamento della cellula inizia con uno stadio precoce di *DETERMINAZIONE*, a cui segue la crescita per *DISTENSIONE* in cui il *vacuolo* si espande divenendo il compartimento cellulare più voluminoso.

Il differenziamento di norma prosegue anche dopo che la cellula ha raggiunto la sua forma definitiva sino a quando non abbia acquisito le caratteristiche specifiche per svolgere le sue funzioni peculiari. L'accrescimento per distensione può portare la cellula ad aumentare il suo volume di centinaia, talvolta migliaia di volte. L'accrescimento, talora molto elevato, della cellula vegetale, è reso possibile dall'aumento in volume del sistema vacuolare, mentre l'aumento di volume del citoplasma è relativamente contenuto. L'accrescimento può non avvenire uniformemente in tutte le direzioni e questo comporta che le cellule si scollino e si distanzino in alcuni punti formando *spazi intercellulari pieni di aria*; questo fenomeno è fondamentale, ad esempio, nella formazione del parenchima spugnoso della foglia.

Il differenziamento cellulare porta quindi alla formazione di tipi cellulari differenti, con caratteristiche citologiche e funzionali ben distinte.

La direzione della distensione cellulare dipende principalmente dall'orientamento delle fibrille di cellulosa che dipende da quello dei microtubuli corticali.



Cellule in origine tutte uguali differenziano in cellule con caratteristiche citologiche e funzionali molto diverse. Come avviene questo processo?

Il differenziamento cellulare è il risultato di programmi specifici di espressione genica (attivazione e/o repressione trascrizionale).

Come è operata questa regolazione genica?

Differenti tipi cellulari sintetizzano diverse proteine perché essi trascrivono solo alcuni dei geni presenti nel loro genoma, mentre altri vengono trascritti in altri tipi cellulari.

Sclerenchima e collenchima sono entrambi tessuti di sostegno, ma mentre le fibre durante il differenziamento esprimono geni codificanti per enzimi della via biosintetica della lignina, le cellule del collenchima esprimono geni codificanti per enzimi della biosintesi delle pectine.

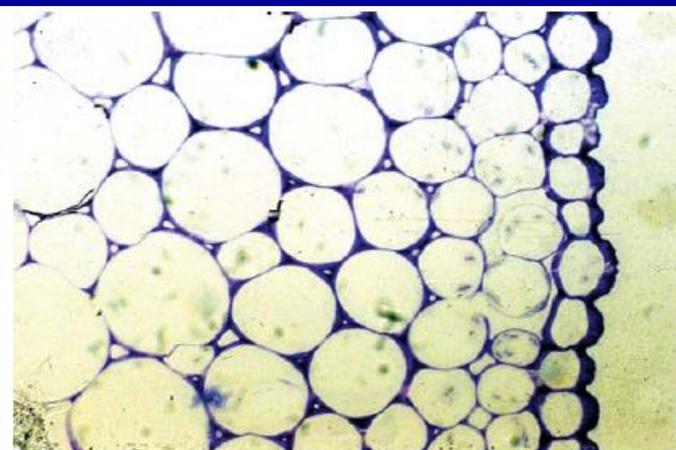
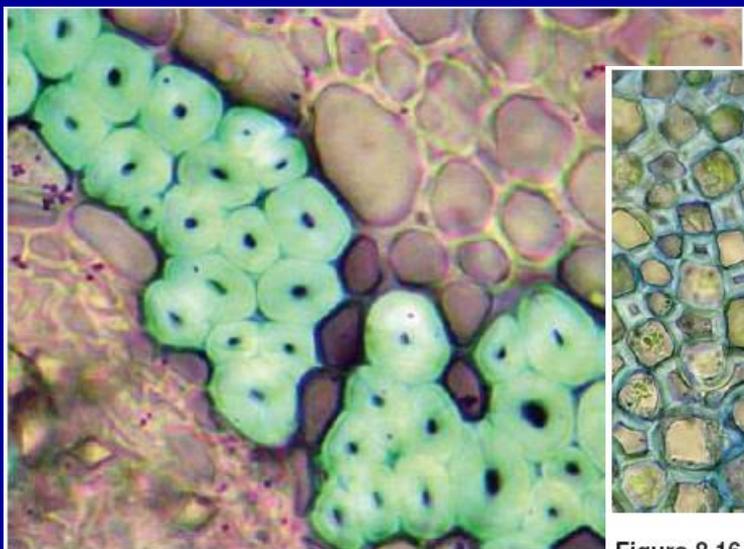


Figura 8.16

Collenchima angolare (a sinistra) (osservazione di G. Pasqua) e lacunare (a destra) (da Pasqua et al. 2002).

Figura 8.20

Fibre in sezione trasversale (il colore delle fibre è dovuto al trattamento con verde iodio) (osservazione di B. Mona-

Il differenziamento però non dipende solo dall'espressione genica, ma è un processo più complesso che coinvolge interazioni tra le cellule, trasporto intercellulare di segnali, riorganizzazione delle pareti e talvolta anche interazione con fattori ambientali.

RIASSUMENDO

Lo sviluppo di un organismo pluricellulare coinvolge la divisione cellulare coordinata, la crescita ed il differenziamento per generare diversi tipi di cellule che contribuiscono alla formazione di tessuti organizzati, organi distinti ed infine al corpo della pianta. Le regioni di regolazione dei geni sono in grado di rilevare segnali, connessi con lo sviluppo e l'ambiente, e rispondere dando inizio o bloccando l'espressione dei geni. Questo processo coordinato richiede una stretta regolazione dell'espressione genica, mediata da meccanismi di controllo della trascrizione, post-trascrizione, traduzione e post-traduzione

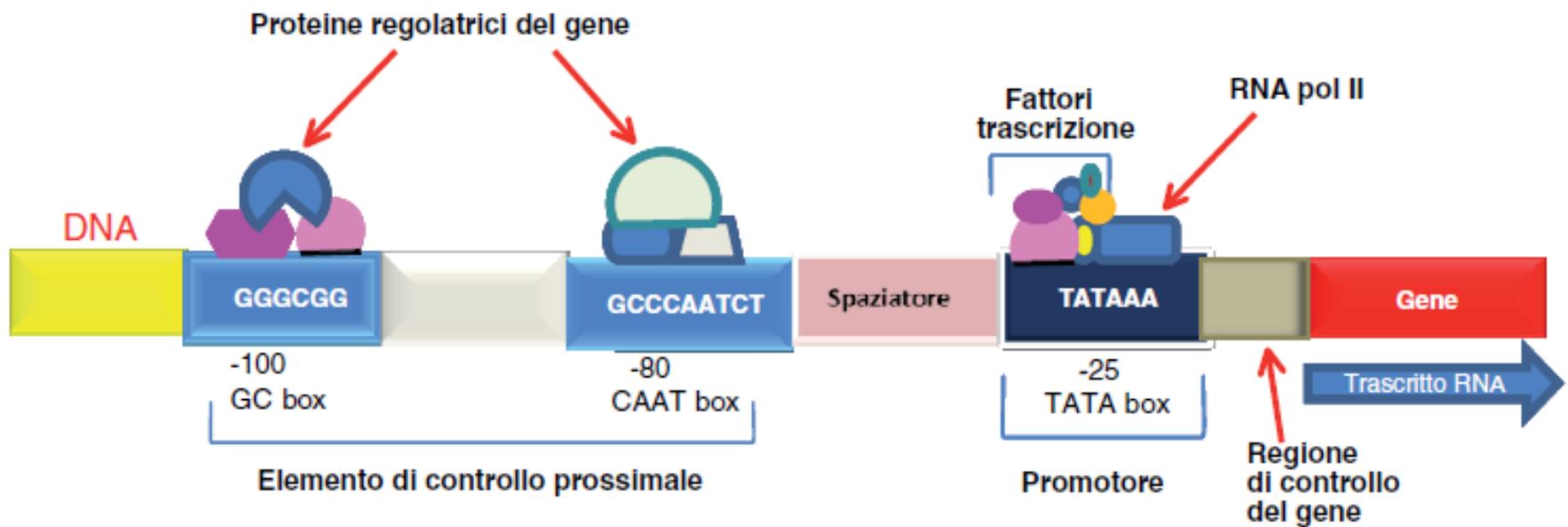


Figura 10.7

Organizzazione e regolazione di un gene eucariota.

La regolazione dei geni è generalmente localizzata nella regione a monte del sito di trascrizione, estremità 5', indicata come promotore del gene, contenente elementi di sequenza che agiscono nel reclutamento dei fattori proteici facilitanti la trascrizione della regione del gene codificante per la proteina. Gli elementi regolatori situati sulla stesso filamento della regione del gene codificante sono indicati come elementi *cis*. Un esempio di questi elementi è dato dal TATA box, caratteristico della maggior parte dei geni eucariotici, localizzato nella posizione a monte del sito di inizio della trascrizione. TATA box è responsabile del corretto posizionamento della RNA polimerasi II per dare inizio alla trascrizione degli RNA messaggeri. I geni inducibili hanno quasi sempre un TATA box e almeno altri due elementi *cis importanti* per la trasduzione finale di un segnale esterno. Oltre a TATA box il promotore contiene almeno altre 2 sequenze regolatrici il CAAT box ed il GC box. Queste sequenze sono i siti di legame dei fattori di trascrizione.

La regolazione dell'espressione genica durante lo sviluppo viene raggiunta mediante il controllo della regolazione trascrizionale e post-trascrizionale degli RNA.

La trascrizione è il punto chiave della regolazione dello sviluppo della pianta non soltanto per il differenziamento e la crescita primaria, ma risulta fondamentale anche nella crescita secondaria

RIPROGRAMMAZIONE EPIGENETICA

Che cosa è l' EPIGENETICA?

- Col termine di 'EPIGENETICA' si indicano modificazioni del DNA e della cromatina che influenzano il genoma e l'espressione genica senza alterare il DNA stesso
- L'epigenoma decide che gene deve essere "ACCESO" oppure "SPENTO" in una singola cellula, determinando un segnale di espressione genica.
- L'epigenoma puo' essere ereditato da generazioni di cellule, o puo' cambiare (plasticità dell'epigenoma)
- La riprogrammazione epigenetica svolge un ruolo importante nell'*imprinting*, per l'acquisizione della totipotenza e pluripotenza, e dell'ereditarietà epigenetica attraverso le generazioni.
- Nelle cellule della linea germinale e negli embrioni nei primi stadi di sviluppo si verifica una riprogrammazione epigenetica, che include la demetilazione del DNA e il rimodellamento e modificazione degli istoni.
- La metilazione del DNA è associata al silenziamento genico negli eventi epigenetici.

**Thomas Jenuwein (Max-Planck-Institut
für Immunbiologie, Freiburg, Germania)**

"La differenza fra genetica ed epigenetica può essere paragonata alla differenza che passa fra leggere e scrivere un libro. Una volta scritto il libro, il testo (i geni o le informazioni memorizzate nel DNA) sarà identico in tutte le copie distribuite al pubblico. Ogni lettore potrà tuttavia interpretare la trama in modo leggermente diverso, provare emozioni diverse e attendersi sviluppi diversi man mano che affronta i vari capitoli. Analogamente, l'epigenetica permette interpretazioni diverse di un modello fisso (il libro o il codice genetico) e può dare luogo a diverse letture, a seconda delle condizioni variabili con cui il modello viene interrogato".

EPIGENOMA

Espressione cellula/tessuto specifica:

Stimoli esterni

Ambiente

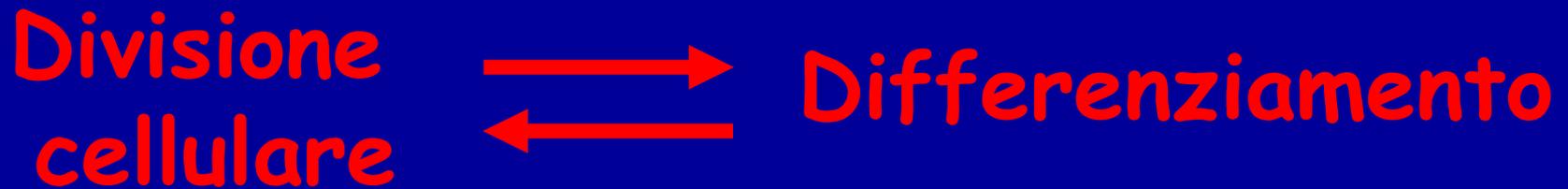
Fattori di trascrizione

Alcuni tipi di cellule vegetali non sono differenziate in modo definitivo, ma rimangono totipotenti, con la capacità di dare origine a nuovi tessuti, nuovi organi ed una nuova pianta a partire da una singola cellula somatica. Le piante utilizzano molti degli stessi meccanismi epigenetici degli animali, come il rimodellamento della cromatina, ma è stato ipotizzato che queste non abbiano "memoria", azzerando i loro modelli di espressione genica a ogni divisione cellulare e utilizzando le informazioni provenienti dall'ambiente e dalle cellule circostanti per determinare il loro destino

L'imprinting genomico: «espressione differenziata di materiale genetico a seconda dell'origine parentale» è stato descritto esclusivamente nei mammiferi e nelle piante a fiore. Durante la gametogenesi si verifica una differente tipologia di imprinting: nella spermatogenesi si verifica un imprinting di tipo paterno, invece nell'oogenesi un imprinting di tipo materno. La differente metilazione di un determinato locus genico costituisce una sorta di "impronta", che impone l'espressione di uno solo dei due alleli di quel determinato locus genico, o quello materno o quello paterno. La teoria maggiormente accettata è che tale meccanismo di regolazione si sia evoluto indipendentemente in questi due gruppi di organismi, entrambi accomunati dall'esistenza di un "conflitto parentale" riguardante l'acquisizione dei nutrienti. Infatti, nelle piante a fiore e nei mammiferi lo sviluppo dell'embrione dipende esclusivamente dalla madre. I geni sottoposti a *imprinting* sono coinvolti nello sviluppo degli annessi embrionali che consentono il trasferimento dei nutrienti dalla madre all'embrione: la placenta nei mammiferi, l'endosperma nelle piante.

L'interesse del genitore di sesso maschile è favorire l'accrescimento di ciascun embrione attraverso l'acquisizione della maggiore quantità possibile di nutrienti; al contrario, l'interesse del genitore di sesso femminile è quello di preservare parte dei nutrienti in modo da poterli distribuire in modo omogeneo a tutta la progenie. Il controllo di questo fenomeno è correlato alla metilazione dei geni sottoposti ad *imprinting* che, nei mammiferi, avviene durante la formazione dei gameti. Nei gameti maschili sono generalmente metilati i geni con espressione femminile e, viceversa, nei gameti femminili sono metilati quelli con espressione maschile. Nelle piante, il silenziamento dei geni sottoposti ad *imprinting* è conseguenza di due fenomeni epigenetici: la metilazione del DNA e la metilazione della lisina 27 dell'istone H3

Ambedue i meristemi caulinare e radicale, e le cellule cambiali, contengono un gruppo di "cellule staminali" che si dividono in modo simmetrico o asimmetrico generando una cellula figlia che andrà incontro a differenziamento e una cellula che rimane staminale. L'instaurarsi di un equilibrio dinamico tra divisione cellulare e differenziamento è alla base del mantenimento della attività di un meristema.



Le principali “nicchie” staminali di un vegetale

Meristema della gemma apicale

Meristema dell'apice radicale

Meristema del fusto, o cambio

Meristema ascellare

Le cellule parenchimatiche, se opportunamente stimolate, (regolatori di crescita e nutrienti) sono in grado di sdifferenziarsi e riprendere l'attività mitotica (totipotenza).

Colture cellulari

Le cellule vegetali possono essere allevate *in vitro*, ossia in un ambiente asettico, in cui le condizioni chimico-fisiche sono sotto controllo del ricercatore



Cellule vegetali allevate in mezzo liquido

Le colture cellulari possono essere impiegate:

- per **scopi applicativi** (produzione di metaboliti)
- nella **ricerca di base** (studio della biologia cellulare)

Colture cellulari

Principali parametri chimico-fisici dell'ambiente colturale:



Cellule vegetali allevate
in mezzo liquido

- **Luce** (composizione spettrale, intensità e fotoperiodo)
- **Temperatura**
- **Composizione chimica del mezzo** (nutrienti minerali, carboidrati, vitamine, regolatori di crescita)
- **Densità della popolazione cellulare** (numero di cellule per unità di volume)

Components	Murashige-Skoog (1962)	White (1963)	Gamborg (1968)	Nitsch (1951)
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	-	-	134	-
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370	720	500	250
Na_2SO_4	-	200	-	-
KCl	-	65	-	1,500
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440	-	150	25
KNO_3	1,900	80	3,000	2,000
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	-	300	-	-
NH_4NO_3	1,650	-	-	-
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	-	16.5	150	250
KH_2PO_4	170	-	-	-
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8	-	27.8	-
Na_2EDTA	37.3	-	37.3	-
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.3	7	10 (1 H_2O)	3
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.6	3	2	0.5
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025	-	0.025	0.025
H_2SO_4	-	-	-	0.5
$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	-	2.5	-	-
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025	-	0.025	-
$\text{FeC}_6\text{O}_5\text{H}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	-	-	-	10
KI	0.83	0.75	0.75	0.5
H_3BO_3	6.2	1.5	3	0.5
$\text{Na}_2\text{M}_0\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25	-	0.25	0.25

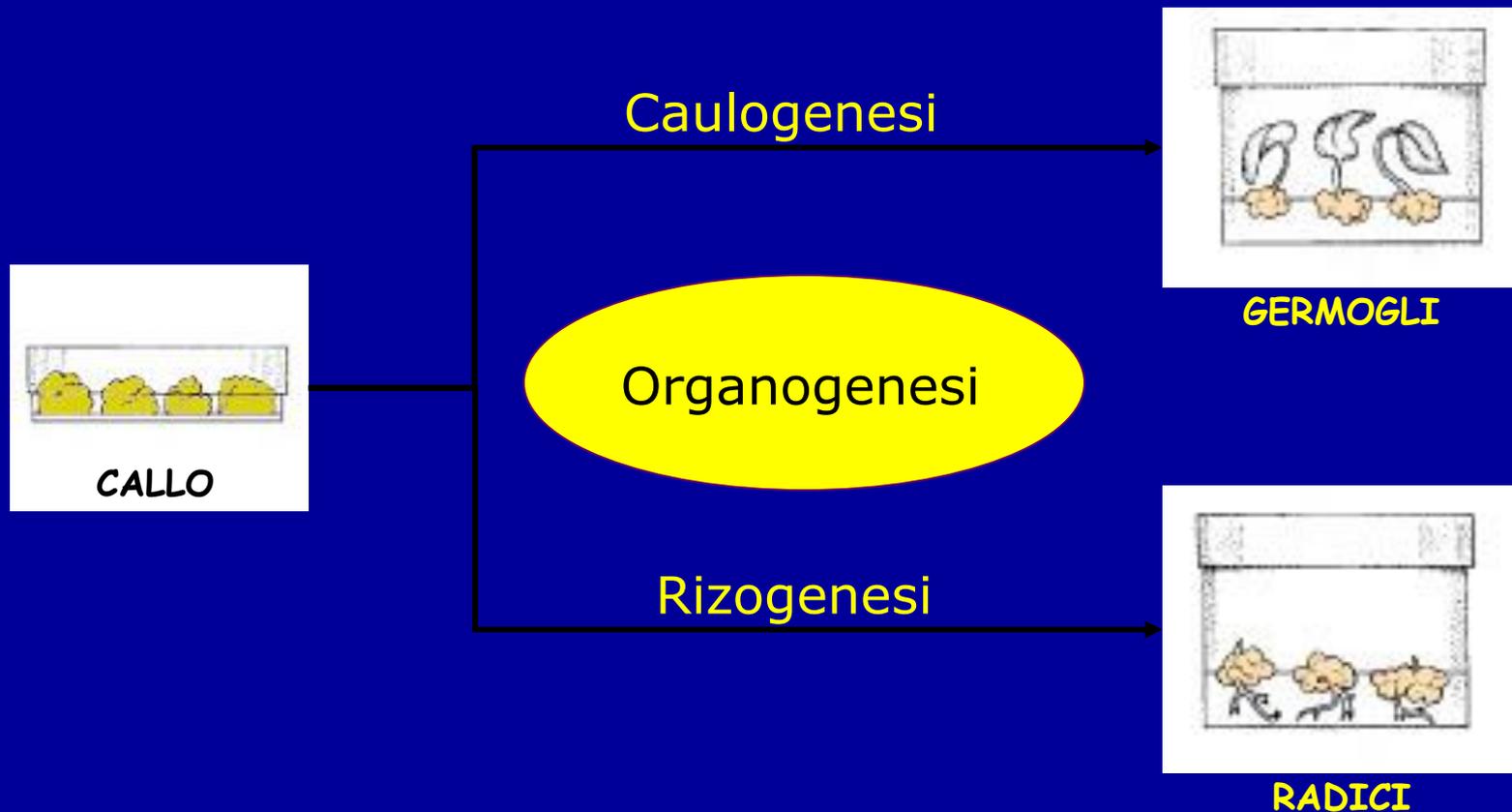
Components	Murashige-Skoog (1962)	White (1963)	Gamborg (1968)	Nitsch (1951)
Sucrose	30,000	20,000	20,000	50,000
Glucose	-	-	-	or 36,000
Myo-Inositol	100	-	100	-
Nicotinic Acid	0.5	0.5	1.0	-
Pyridoxine HCl	0.5	0.1	1.0	-
Thiamine HCl	0.1-1	0.1	10	1
Ca-Pantothenate	-	1	-	-
Biotin	-	-	-	-
Glycine	2	3	-	-
Cysteine HCl	-	1	-	10

- *in vitro* variando il rapporto di auxina e citochinina, due ormoni vegetali che regolano proliferazione e differenziamento, si ottengono



Organogenesi

I metaboliti non prodotti da cellule indifferenziate possono essere prodotti da organi rigenerati *in vitro*



Organogenesi

Il rapporto tra concentrazione di auxine e citochinine è il principale fattore che guida il programma morfogenetico

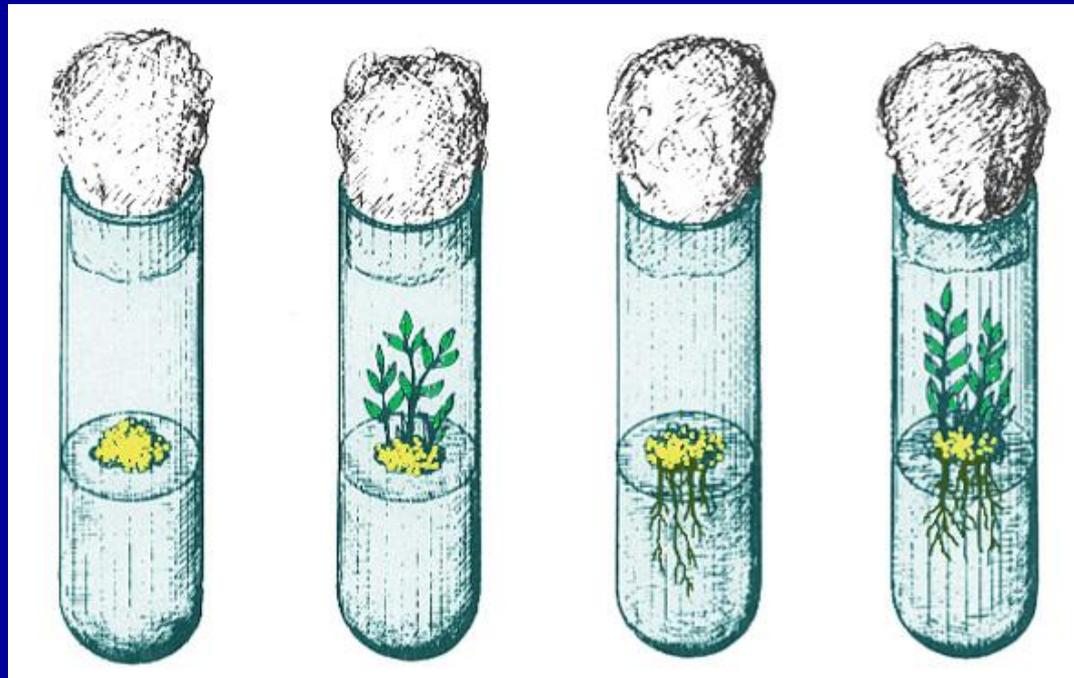
Callo

Germogli

Radici

Plantule

Organogenesi
in *Nicotiana
tabacum*



Rizogenesi diretta e indiretta

Rizogenesi diretta: le radici avventizie si formano direttamente dai tessuti dell'espianto (soprattutto cellule parenchimatiche)



Sezione trasversale di un espianto caulinare di *Angelica arcangelica*: radici avventizie, formatesi a carico del cambio cribro-vascolare

Rizogenesi indiretta: le radici si formano da cellule indifferenziate (callo)

Rizogenesi



Espianti

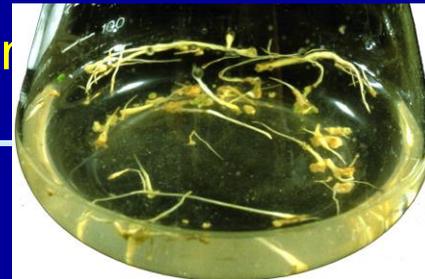
Rizogenesi



Radici neoformate

Inoculo in
mezzo
liquido

Trasferimento in
bioreattore



Radici in mezzo liquido



Bioreattore

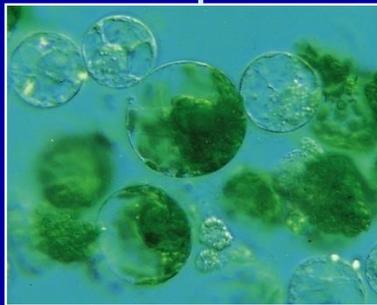
Propagazione clonale:

rigenerazione da callo o da protoplasti

Callo



Protoplasti



Plantula



Caulogenesi (*Citochinine*)



Germogli

Rizogenesi
(*Auxine*)

La plantula rigenerata può essere messa a dimora se il sistema vascolare delle radici è connesso con quello del germoglio

Propagazione clonale:

moltiplicazione di germogli



Germoglio

Trattamento
con
citochine



G.multiplo

- Separazione dei germogli
- Radicazione



Pianta

Messa a
dimora



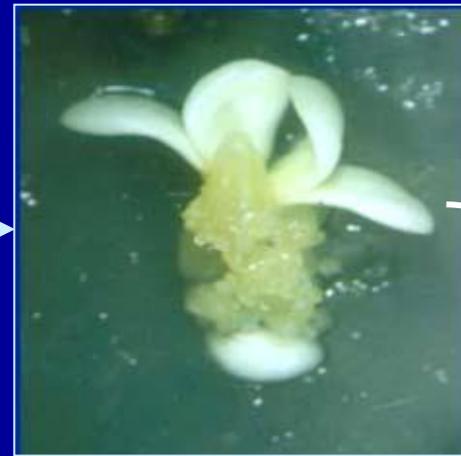
Plantula

Propagazione clonale:

Embriogenesi somatica



Callo



Embione somatico



Pianta



Plantula

