

Resumen

La androgénesis es un proceso que permite la obtención de líneas puras doble haploides a través de embriogénesis o callogénesis inducida partiendo, en la mayoría de los casos, del gametófito masculino (polen bicelular joven) o de su precursor, la microspora. Desde una perspectiva biotecnológica, esta posibilidad adquiere gran relevancia, pues las líneas puras son la base del proceso de obtención de semilla híbrida, y este proceso permite reducir a una sola generación, las 8 o 9 generalmente necesarias en el caso de utilizar métodos de mejora genética clásica para obtener las líneas puras.

En la presente Tesis Doctoral se ha abordado el estudio de la inducción de androgénesis aplicando en paralelo dos abordajes: uno básico, mediante el estudio de factores que influyen y cambios que tienen lugar en la microspora al ser inducida, y uno aplicado, orientado a mejorar la eficiencia de inducción en especies recalcitrantes. El estudio se ha llevado a cabo en tres especies: la colza (*Brassica napus*), utilizada como sistema modelo para el estudio básico, y dos recalcitrantes, tomate (*Solanum Lycopersicum*), y berenjena (*Solanum melongena*).

Hemos utilizado la fijación por alta presión (HPS) y la criosustitución (FS) para procesar cultivos de microsporas de colza y estudiar los cambios ultraestructurales que tienen lugar en la microspora como consecuencia del cambio en el programa de desarrollo. Hemos optimizado también un sistema para la transformación genética de microsporas de colza, como paso previo a la inducción androgénica y obtención de embriones secundarios, con el objetivo de ampliar su uso como herramienta para estudios básicos más allá de lo que se utilizaba actualmente.

En tomate hemos caracterizado el proceso de la inducción a partir del cultivo de anteras. Uno de nuestros resultados fue que el estadio óptimo de inducción no es el de microsporas, sino de una etapa muy anterior, los meiocitos. También se analizaron los callos obtenidos en el cultivo y se vio que la mayoría eran de origen somático o procedían de fenómenos de fusión. Estos

procesos podrían explicar la dificultad para inducir doble haploides a partir del cultivo de anteras de tomate.

En berenjena hemos puesto a punto un sistema eficiente para la obtención de plantas doble haploides a partir del cultivo de microsporas aisladas. En este caso, las plantas doble haploides se obtienen mediante callogénesis y posterior organogénesis del callo. Por último, hemos analizado el potencial efecto inductor de una serie de factores, previamente utilizados en otras especies, en el proceso de inducción del cultivo de microsporas de berenjena. La mayoría de los factores ensayados mostraron un efecto positivo en la respuesta androgénica, en el crecimiento o en la calidad del material obtenido.

En resumen, mediante los estudios realizados en este trabajo, se ha conseguido conocer mejor algunos de los procesos de la androgénesis mediante su estudio en especies modelo como la colza. También se ha mejorado notablemente la eficiencia de la obtención de doble haploides a partir de microsporas aisladas de berenjena, y se han determinado algunas de las limitaciones del proceso en una especie recalcitrante como es el tomate.