

RESUMEN

La regeneración de plantas a partir de explantes es la base de partida para poder aplicar tecnologías tales como la obtención de plantas haploides o la transformación genética. Este carácter presenta una amplia variabilidad inter e intraespecífica. Así, incluso dentro de la misma especie, podemos encontrarnos genotipos recalcitrantes cuya falta o escasa regeneración limita la aplicación de estas técnicas. Además del componente genético, otros factores que condicionan el éxito de la regeneración son: las condiciones fisiológicas del material de partida, los componentes del medio de cultivo, los reguladores de crecimiento, la temperatura, la luz, etc... La falta de información acerca de qué factores determinan que este proceso se produzca por una u otra vía morfogénica (la vía organogénica o la embriogénica) y la incertidumbre de cuantos genes están implicados, indica la necesidad de investigación básica de este proceso.

El objetivo principal de este trabajo se centra en incrementar el conocimiento de la base genética así como la localización de QTLs implicados en la regeneración por la vía organogénica que es la predominante en tomate. Para ello, se han utilizado dos poblaciones de mapeo (F_2 , BC_1) obtenidas por la Dra. Gisbert. La población F_2 se obtuvo a partir de la autofecundación de una planta F_1 , resultante del cruce de una planta de tomate (*S. lycopersicum* L.) seleccionada por su escasa capacidad regenerativa (Anl27) y la accesión PE-47 de *S. pennellii* Correll. con alta capacidad de regeneración. Por su parte, la población BC_1 se obtuvo a partir del cruce (Anl27 x F_1). Con estos materiales se ha realizado una caracterización fenotípica y genotípica en clones de cada genotipo, que se han mantenido en cultivo in vitro. Utilizando el programa informático MapQTL® se han identificado seis QTL implicados en la regeneración localizados en los cromosomas 1, 3, 4, 7 y 8. Cinco de los QTLs (*SpRg-1*, *Rg-3*, *SpRg-4a*, *SpRg-4b*, *SpRg-7*) proceden del tomate silvestre *S. pennellii* y uno (*SlRg-8*) procede de *S. lycopersicum*. El porcentaje de varianza explicada por cada QTL va desde el 7,4% al 27%, dentro del rango común (6-26%) registrado en el mapeo genético de QTLs relacionados con la regeneración in vitro en otros cultivos. *SpRg-1* es el mayor responsable de la respuesta morfogénica mientras que *SpRg-7* promueve el desarrollo del brote hacia una planta completa. Por otra parte los QTLs detectados en los cromosomas 8 (*SlRg-8*) y 4 (*SpRg-4a*, *SpRg-4b*) podrían contener genes que influyen en la formación de yemas y su desarrollo, respectivamente. Finalmente *Rg-3*, situado en la mitad del cromosoma 3 y ligado al gen de la invertasa ácida, se presenta como un alelo putativo del gen *Rg* detectado en *S. peruvianum* (*Rg-1*) y *S. chilense* (Dunal) Reiche. (*Rg-2*).

Además del genotipo, el tipo y combinación de reguladores de crecimiento son importantes para el éxito de los protocolos de regeneración. En tomate, los reguladores de crecimiento más utilizados son las citoquininas, o la combinación de estas con auxinas. Otros reguladores como el etileno se han estudiado poco y los trabajos publicados muestran

conclusiones dispares. Con el fin de estudiar la influencia del etileno en la regeneración se han realizado ensayos con dos compuestos liberadores de etileno (Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico “ACC” y ácido 2-Cloroetil fosfónico “Ethephon”) y dos inhibidores de etileno: AgNO_3 , que inhibe la acción del etileno; y CoCl_2 , que inhibe la producción de etileno. Los resultados obtenidos muestran que la concentración y el momento de la aplicación son dos factores fundamentales a tener en cuenta para el éxito de la respuesta organogénica. En concreto, la aplicación de inhibidores de etileno y su consecuente disminución tiene un efecto negativo sobre la regeneración en tomate ya que se disminuye y se retrasa la respuesta. Así mismo, las plantas regenerantes obtenidas presentan tamaño reducido, pudiendo aparecer vitrificación y malformaciones. Por otra parte, la suplementación de etileno puede mejorar la regeneración. Así, el número de plantas regeneradas a partir de explantes de *S. pennellii* se duplicó en los medios con ACC respecto al medio control. Si la aplicación de ACC se realiza tras la inducción de las yemas, pasados 10 días, el rendimiento total será mayor. Este resultado indica que éste compuesto podría ser utilizado para mejorar la regeneración en aquellos genotipos donde una vez formadas las yemas, el desarrollo de estas hacia plantas es el paso limitante. Por otra parte, las plantas regenerantes obtenidas muestran buen desarrollo, por lo que la suplementación de etileno no afecta al posterior crecimiento de las plantas regeneradas.

Finalmente se ha estudiado la capacidad organogénica de las especies silvestres de tomate derivadas del complejo *S. peruvianum* L. sensu lato (s.l.): *Solanum arcanum* Peralta., *Solanum huaylasense* Peralta., *Solanum corneliomulleri* J. F. Macbr. y *Solanum peruvianum* L. sensu stricto (s.s.). Estas especies pueden tener un papel fundamental en la mejora, sobre todo de resistencias a factores bióticos. Sin embargo, debido a las barreras de hibridación que existen entre éstas y el tomate cultivado, no se han explotado en su totalidad en la mejora del cultivo. Para realizar cruces se ha recurrido a la fusión de protoplastos y el rescate de embriones. Sin embargo, no se ha estudiado la capacidad organogénica de las especies derivadas del complejo Peruvianum, lo que limita la aplicación de estas técnicas. En este trabajo se ha encontrado variabilidad intra e interespecífica en la capacidad organogénica de las especies silvestres derivadas de este complejo. En general, todas las accesiones ensayadas de *S. corneliomulleri* y *S. huaylasense* mostraron una elevada capacidad regenerativa y se han identificado accesiones recalcitrantes en *S. arcanum* (LA-2185) y *S. peruvianum* s.s (ECU-106 y CH-20). En este trabajo, también se ha realizado un análisis morfológico de las hojas que ha determinado que el número de foliolos y el nivel de dentición de los mismo pueden ser utilizados en la identificación in vitro de las especies del complejo. Sin embargo, el área de foliolo solo permite distinguir a *S. arcanum* del resto de especies del complejo. Finalmente se ha observado que las accesiones cuyas hojas tienen mayor número de foliolos y mayor nivel de dentición tienen una mayor regeneración.