
Resum

L'embriogènesi derivada de microspores és la ruta androgènica més utilitzada per a l'obtenció d'individus dobles haploides (DHs), 100% homozigots, que poden ser utilitzats com a línies pures. Aquest procés és una alternativa biotecnològica als programes clàssics de millora, que permet reduir el temps i els recursos necessaris per a l'obtenció d'híbrids comercials. Gràcies als avanços realitzats en els últims 30 anys, hi ha determinades espècies que poden ser considerades models, per l'elevada eficiència que presenten en l'obtenció d'individus DHs. No obstant això, encara hi ha moltes espècies, interessants des d'un punt de vista agrícola i comercial, que són recalcitrants a l'embriogènesi de microsporas. A causa de l'elevat potencial biotecnològic d'aquesta tècnica, és fonamental millorar el procés en aquest tipus d'espècies en les quals la androgènesi no està posada a punt. Per a això és essencial realitzar estudis en els quals es combine una aproximació més aplicada, tractant d'aconseguir les condicions experimentals més adequades, i en paral·lel, una aproximació més bàsica, orientada a investigar les bases de la reprogramació de les microspores i d'aquesta manera, tindre una major possibilitat d'influir en el procés. En aquesta Tesi s'han utilitzat aquestes dos aproximacions, emprant la colza com a espècie model i el pimentó com a espècie recalcitrant a la androgènesi. En pimentó, l'estudi de factors clau per a la inducció de la androgènesi ens ha permès optimitzar un protocol de cultiu d'anteres aplicable a diferents genotips. Proposem l'ús combinat de la relació sèpal/rovell (80-90% del rovell cobert pels sèpals) juntament amb la pigmentació de les anteres (extrem apical morat) com a marcador morfològic fiable i fàcil de mesurar per determinar quins rovells i anteres contenen les microspores al seu estadi idoni per a la inducció. També s'ha demostrat que la presència de calls d'origen somàtic és més dependent de les condicions de cultiu que del genotip, la qual cosa ens ha

permès obtenir un protocol que reduïska la presència d'aquests calls i incremente el nombre d'embrions obtinguts.

En els estudis d'investigació bàsica realitzats amb colza, l'ús de la fixació per alta pressió combinada amb la criosubstitució ha permès observar canvis ultraestructurals, mai abans descrits, en les microspores induïdes. S'ha estudiat l'arquitectura i composició de les parets cel·lulars que es formen *de novo* en les microspores embriogèniques i s'han observat parets cel·lulars incompletes i deformes que podrien estar afavorint fenòmens de fusió nuclear, que a la seua volta originen la duplicació cromosòmica típica dels DHs. S'ha comprovat que aquestes parets presenten elevats nivells de cal·losa i absència de cel·lulosa. També s'ha estudiat l'arquitectura de diferents orgànuls presents a les microspores recentment induïdes i s'ha demostrat que els plastidis presents en les microspores embriogèniques actuen com plastisomes. Aquests estudis ultraestructurals han servit per extraure dos nous marcadors de embriogènesi: la presència de cal·losa a les noves parets i les plaques cel·lulars en formació, i la presència de plastisomes que possiblement actuen com a part d'un mecanisme més general de neteja del citoplasma, en paral·lel a la reprogramació.