

Resumen

La citricultura es una fuente importante de ingresos tanto para los citricultores como para los países productores. La mejora de la calidad y especialmente la ausencia de semillas en los frutos, es una característica esencial para el mercado de consumo en fresco ya que los consumidores no aceptan la presencia de semillas en los frutos. La obtención de híbridos triploides mediante la manipulación del nivel de ploidía es una metodología eficaz para la obtención de nuevas variedades de cítricos sin semillas.

En cítricos se pueden obtener híbridos triploides mediante cruzamientos $2x \times 2x$ como consecuencia de la formación de gametos no reducidos ($2n$) y mediante hibridaciones sexuales entre parentales diploides y tetraploides ($2x \times 4x$ y $4x \times 2x$). La identificación de los mecanismos implicados en la formación de gametos no reducidos y las estructuras genéticas de los gametos diploides originados por los parentales tetraploides es crucial para optimizar las estrategias de mejora a nivel poliploide. En angiospermas se han descrito principalmente dos mecanismos de formación de gametos no reducidos, Restitución de la Primera División meiótica (FDR) y Restitución de la Segunda División meiótica (SDR). Por otro lado, se ha observado que los portainjertos tetraploides de cítricos presentan un comportamiento agronómico muy interesante, pero existe un gran desconocimiento sobre las meiosis y modelos de segregación de este tipo de plantas. Los modelos disómico y tetrasómico son modelos extremos para la segregación de genotipos tetraploides, aunque se han descrito modelos de segregación intermedios para diferentes cultivos.

En este contexto, esta tesis doctoral está dirigida hacia el estudio de tres aspectos principales: (i) identificar los mecanismos responsables de la formación de gametos no reducidos de polen originados por un híbrido diploide entre clementina y naranja (tangor 'CSO') que se ha utilizado como parental masculino en hibridaciones sexuales $4x \times 2x$, (ii) estudiar las frecuencias y los mecanismos implicados en la producción de gametos no reducidos femeninos en dos genotipos de limón, 'Eureka Frost' y 'Fino', y (iii) el análisis de la recombinación interespecífica y las estructuras de los gametos diploides originados por la lima 'Mejicana' doble diploide con el objetivo de evaluar la posibilidad de que las variedades triploides de lima *C. latifolia* (lima tipo 'Tahiti') y *C. aurantifolia* (lima tipo 'Tanepao') se hayan originado a partir de un cruzamiento natural a nivel interploide.

La obtención de 54 híbridos tetraploides a partir de hibridaciones sexuales $4x \times 2x$ permitió analizar los mecanismos responsables de la formación de gametos no reducidos de polen. El análisis de estas plantas con marcadores moleculares SSRs y SNPs reveló que la mayoría de estas plantas se obtuvieron a partir de gametos no reducido de polen del parental masculino diploide tangor 'CSO'. A continuación, el análisis mediante la utilización del método de máxima verosimilitud basado en la restitución de la heterocigosidad parental (PHR) en los loci centroméricos indicó que FDR y SDR son los mecanismos implicados con una mayor dominancia de FDR respecto SDR. Estos resultados se confirmaron posteriormente mediante el análisis de la restitución de la heterocigosidad en el grupo de ligamiento (LG) 2. Con los datos publicados hasta la fecha, es la primera vez que se han obtenido progenies tetraploides de cítricos mediante gametos no reducidos de polen y es la primera descripción en cítricos de la coexistencia de dos mecanismos de restitución meiótica, SDR y FDR, implicados en la formación de gametos $2n$ de polen.

Con el fin de estudiar las frecuencias y los mecanismos implicados en la producción de gametos no reducidos en dos genotipos diferentes de limón, se obtuvieron 43 híbridos triploides y tetraploides a partir de hibridaciones sexuales $2x \times 2x$ y $2x \times 4x$ utilizando los limones diploides 'Eureka Frost' y 'Fino' como parentales femeninos. Las frecuencias de producción de gametos $2n$ fueron respectivamente 4,9% y 8,3%. El análisis de máxima verosimilitud y el patrón de PHR a lo largo del LG1 reveló que SDR es el mecanismo principal implicado en la formación de gametos no reducidos femeninos (88%), seguido por FDR o duplicación del genoma pre-meiosis (PRD) (7%) y se identificó un nuevo mecanismo originado a partir de la duplicación del genoma post-meiosis (PMD) (5%). En este trabajo se describe por primera vez en cítricos la producción de un elevado número de híbridos de limón a partir de gametos $2n$ y es la primera vez que se identifica un nuevo mecanismo PMD que nunca se ha observado en cítricos y rara vez se ha descrito en otras especies herbáceas o leñosas. En ambos estudios se demostró a nivel metodológico la efectividad del uso de dos métodos complementarios, el análisis del patrón de PHR a lo largo de un LG y el método de máxima verosimilitud basado en la utilización de loci centroméricos para distinguir entre los diferentes mecanismos implicados en la formación de gametos no reducidos en limón.

También se ha analizado el modelo de segregación cromosómica de la lima 'Mejicana' doble diploide así como la recombinación interespecífica y las estructuras de los gametos diploides resultantes. Este trabajo se ha realizado mediante el análisis de la viabilidad del polen junto con un análisis citogenético y con marcadores SSRs y SNPs. Estos trabajos nos han permitido concluir que la lima 'Mejicana' DD presenta una segregación predominantemente disómica para tres LGs, herencia intermedia con tendencia disómica para cinco LGs y un tipo de segregación intermedia para un LG. Las estructuras de los gametos diploides interespecíficos resultantes mostraron una alta heterocigosis *C. medica/C. micrantha*, parentales de la lima 'Mejicana'.

Las estructuras genéticas observadas por los gametos diploides de la lima 'Mejicana' doble diploide son compatibles con la hipótesis de que las variedades triploides de lima 'Tahiti' y 'Tanepao' se obtuvieran a partir de una hibridación interploide en la cual uno de los parentales fuese la lima 'Mejicana' doble diploide. El tipo de segregación disómico conlleva una limitación de la recombinación y la diversidad genética de la población de gametos diploides. Sin embargo la viabilidad del polen de la lima 'Mejicana' DD en comparación con la lima 'Mejicana' diploide permite la utilización de este genotipo como parental para la obtención de nuevas variedades de lima en programas de mejora genética.

Finalmente, se discuten las implicaciones para los programas de mejora genética de obtención de híbridos triploides el comportamiento meiótico que origina la formación de gametos no reducidos de polen en el tangor 'CSO', la formación de gametos no reducidos de óvulo en los limones y los gametos diploides producidos por la lima 'Mejicana' doble diploide.