



## Becas colaboración curso 2018/2019

Fecha: 28 Junio 2018

### Vicerrectorado de Investigación, Innovación y Transferencia

Subcomisión de I+D+i

Propuesta del departamento *BIOTECNOLOGIA*

**Núm Proyecto: 2018/02/00008**

#### Responsable

Seguí Simarro, José María

#### E-mail

seguisim@btc.upv.es

#### Ext.

79047

#### Título proyecto

Estudio de la osmolalidad interna y del medio en cultivos in vitro de microsporas

#### Valoración proyecto

4

#### Descripción proyecto

La embriogénesis de microsporas es un proceso de inducción in vitro de embriones dobles haploides a partir de microsporas, no programadas inicialmente para ser embriones. Normalmente, una microspora se desarrolla hasta convertirse en polen. Sin embargo, en condiciones concretas de laboratorio es posible desviar el desarrollo de la microspora (haploide) para que se convierta en un embrión haploide y después, tras duplicación de su genoma, en doble haploide. Este proceso tiene un gran interés práctico, pues es una forma rápida y barata de obtener líneas puras homocigotas, esenciales para la producción de semilla híbrida. Por ello, se pretende estudiar este fenómeno en berenjena, una solanácea de gran interés agronómico en España. En berenjena también pueden conseguirse dobles haploides, pero no a través de embriogénesis. Únicamente es posible conseguirlos mediante organogénesis. Conforme avanza el desarrollo de los embriones inicialmente derivados de las microsporas, estos se transforman en callos, y posteriormente de estos callos se pueden regenerar los individuos dobles haploides. Este proceso no es tan eficiente como el derivado de la ruta embriogénica, y no se consigue el mismo rendimiento, por lo que resultaría muy interesante descubrir en qué condiciones sería posible inducir la embriogénesis de microsporas en berenjena. En nuestro grupo se han realizado diferentes estudios variando las condiciones in vitro supuestamente necesarias para que se de la reprogramación de la microspora, pero ninguna de ellas ha dado resultado. Una de las condiciones que, sorprendentemente, no se han estudiado ni por nosotros ni por nadie en el mundo, es el efecto de la osmolalidad en la inducción de embriones. Por este motivo, resulta interesante investigar si la clave de esta cuestión se encuentra en las diferencias de osmolalidad entre el interior de las microsporas y el medio de cultivo que las rodea.

Para ello, en este trabajo se pretende medir la osmolalidad que presenta el medio de cultivo y el interior de la microspora de berenjena en función del tiempo que transcurre desde su cultivo (a días 0, 7, 14, 21, 28, y 35). En paralelo utilizaremos el mismo abordaje en microsporas de colza, sistema modelo que utilizamos como referencia. Disponemos de un microosmómetro capaz de medir mOsm/kg en 20 µL de muestra. Con él, se medirá la osmolalidad de las microsporas cultivadas. Una vez determinadas las diferencias en osmolalidad, si las hay, entre medio y microsporas, el objetivo sería, en primer lugar, observar cómo se desarrollaría la microspora en medios isotónicos, y posteriormente observar su desarrollo en condiciones de hipertonidad e hipotonidad. Y en segundo lugar, en caso de que no se llegasen a conseguir embriones, se podría estudiar qué condiciones favorecen el rendimiento de la organogénesis.

#### Actividades a realizar por el alumno

- Mantenimiento de las plantas donantes de microsporas.
- Preparación de cultivos de microsporas de berenjena y colza.



## Becas colaboración curso 2018/2019

*Fecha: 28 Junio 2018*

- Medición por microosmometría de la osmolalidad endógena y del medio de cultivo
- Análisis microscópico de los cultivos.

### **Horario**

Mañanas o tardes, según disponibilidad.