

## Resumen

El  $\text{Ca}^{2+}$  es un catión esencial que juega un papel fundamental en todos los organismos vivos. Desde el punto de vista funcional, el  $\text{Ca}^{2+}$  actúa como un segundo mensajero que regula distintos procesos celulares. Trabajos anteriores indican que la señalización mediante  $\text{Ca}^{2+}$  podría estar implicada en las primeras etapas de la inducción de la embriogénesis *in vitro* de las plantas, pero el verdadero papel del  $\text{Ca}^{2+}$  en este proceso es aún desconocido. Por eso, el principal objetivo de la presente Tesis es el estudio del papel del  $\text{Ca}^{2+}$  en la embriogénesis *in vitro* mediante dos sistemas *in vitro*: la embriogénesis somática y la embriogénesis de microsporas. Para determinar la importancia de la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$  en la inducción de la embriogénesis y las dinámicas de los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  durante la inducción y el establecimiento de embriones somáticos y derivados de microsporas, se utilizaron tratamientos químicos y se detectaron los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  mediante sondas fluorescentes y sensores *cameleon* codificados genéticamente, visualizados con microscopía fluorescente y confocal. Observamos que el aumento de  $\text{Ca}^{2+}$  es un marcador temprano en la inducción de la embriogénesis *in vitro* y que los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  durante la embriogénesis *in vitro* son dinámicos en todos los sistemas estudiados. Además, las oscilaciones en los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  podrían estar relacionadas con los procesos de diferenciación que ocurren en las células inducidas una vez que el  $\text{Ca}^{2+}$  se une a la calmodulina. Mostramos que un aumento de  $\text{Ca}^{2+}$  dentro de un rango definido de concentración tiene un efecto positivo, dependiendo del sistema, en la producción de embriones, siendo más sensibles aquellos sistemas basados en suspensiones de células aisladas que aquellos que usan tejidos como explantes. Finalmente, estudiamos el papel de la calosa durante la embriogénesis somática, observando que la inhibición de la deposición de calosa impide el desarrollo embrionario, lo que sugiere una relación entre la formación de una barrera de calosa y el establecimiento de la identidad embrionaria en las células somáticas.