

## RESUMEN DE LA TESIS DOCTORAL

La inducción de androgénesis es un procedimiento experimental en el cual las microsporas se desvían de su vía gametofítica original hacia embriogénesis, mediante la aplicación de estreses específicos *in vitro*. Este fenómeno permite la producción de líneas puras dobles haploides (DH) mediante cultivo de anteras o cultivo de microsporas aisladas seguidos de duplicación cromosómica. La tecnología DH es interesante tanto para la investigación básica como para su aplicación a la mejora genética vegetal. En esta Tesis se estudia la embriogénesis de microsporas y la obtención de DHs con dos enfoques paralelos: (I) un estudio aplicado dirigido al desarrollo de la primera línea de berenjena (*Solanum melongena*) con alta respuesta androgénica y a la mejora de la eficiencia de los cultivos de microsporas de berenjena; y (II) un estudio de investigación básica centrado en la relación entre la habilidad para la embriogénesis de microsporas, los niveles intracelulares de  $\text{Ca}^{2+}$  y la dinámica de la deposición de calosa y celulosa para la formación de paredes celulares en estructuras derivadas de microsporas, utilizando como especie modelo la colza (*Brassica napus*).

Como investigación aplicada, se desarrolló y evaluó una población DH de berenjena a partir de un híbrido comercial, y se identificó y caracterizó la primera línea DH altamente androgénica de berenjena (DH36), que puede usarse para facilitar el estudio de la androgénesis en berenjena y para otros estudios aplicados o básicos. Además, se evaluaron diferentes factores implicados en la eficiencia de la inducción de embriogénesis de microsporas en berenjena, y se optimizó el protocolo de regeneración para la producción de DH mediante cultivo de microsporas. En conjunto, la investigación aplicada sobre la embriogénesis de microsporas realizada en esta Tesis proporciona el protocolo más eficiente existente hasta la fecha para la producción de DH en berenjena.

Como investigación fundamental, se estudió la dinámica del  $\text{Ca}^{2+}$  durante la microsporogénesis y la microgametogénesis *in vivo*, así como durante las primeras etapas de la embriogénesis de microsporas inducida *in vitro*, y se estableció un vínculo entre la embriogénesis de microsporas y los cambios en el nivel y distribución intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$ . Además, se estudió la deposición de calosa y celulosa durante las primeras etapas de la embriogénesis de microsporas y se demostró que la excesiva deposición de calosa y la inhibición de la deposición de celulosa, exclusivas de las microsporas embriogénicas, están causadas por el aumento transitorio de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular que se produce justo tras la inducción. Hemos demostrado que esta particular dinámica de la deposición de calosa y celulosa está relacionada con la capacidad androgénica, y que es fundamental para la correcta progresión y éxito de la embriogénesis de microsporas.

En resumen, la investigación realizada en esta Tesis ayuda a comprender mejor la base de la embriogénesis de microsporas y de la totipotencia celular, y a aplicar la potente tecnología DH a un cultivo económicamente importante como es la berenjena.