

RESUM

En el context del programa de millora genètica que es duu a terme en l'IVIA, en aquesta tesi s'ha desenvolupat una sèrie d'eines que implementen el programa i en permeten augmentar l'eficàcia. En primer lloc, s'ha estudiat la diversitat genètica de la col·lecció de germoplasma de l'IVIA, per mitjà de marcadors moleculars tipus microsatèl·lit, ja que els recursos fitogenètics són la principal eina de la millora. Combinant 3 tipus d'anàlisi: Factorial de Correspondència, mètode d'agrupament Bayesià i UPGMA, s'ha determinat l'estructura poblacional de la col·lecció. S'han obtingut 5 subpoblacions relacionades amb els orígens de les accessions. Les distàncies genètiques obtingudes i les anàlisis d'agrupació suggereixen que les accessions introduïdes en la conca mediterrània procedirien d'Àsia. D'altra banda, s'han obtingut 3 subpoblacions formades per accessions d'origen europeu que demostren l'alta diversificació varietal i l'adaptació de l'espècie als països mediterranis malgrat la seua tardana introducció a Europa. També l'anàlisi dels al·lels de compatibilitat ha aportat informació sobre el moviment de germoplasma i ha contribuït a conèixer els grups d'intercompatibilitat dins de la col·lecció. La informació genètica generada complementa la fenotípica obtinguda prèviament per l'IVIA i serà de gran ajuda en la planificació dels futurs creuaments del programa.

Una altra eina biotecnològica per implementar el programa de millora ha estat la posada a punt de tècniques per augmentar la diversitat basada en genotips amb diferents nivells de ploïdia. D'una banda, s'ha utilitzat la mutagènesi química amb colquicina i posterior selecció *in vitro* amb l'objectiu d'obtenir poliploides, de gran interès en nespre, ja que pot donar lloc a varietats amb fruits de major grandària (tetraploides) o fruits sense llavor (triploides). Es van obtenir poliploides estables submergint les llavors sense germinar en una solució de colquicina, dos triploides ($3x$) possiblement ja presents en el lot de llavor híbrida de partida i un tetraploide ($4x$). El nivell de ploïdia es va determinar primer mitjançant citometria de flux, els resultats es van confirmar posteriorment per recompte cromosòmic en fulla, àpex radicular i avaluació morfològica.

D'altra banda, amb la finalitat d'obtenir haploides i doble-haploides (DH), s'ha estudiat la capacitat d'inducció de embriogènesi gametofítica en ambdós tipus de gàmetes, masculins (cultiu de microspores aïllades i antereres) i femenins (ginogènesi *in situ* induïda per pol·len irradiat). La producció de línies pures mitjançant tècniques

biotecnològiques en una única generació és especialment útil en espècies de llarg període intergeneracional com el nesprer. Els genotips haploides permeten obtenir individus homozigots en un sol pas, faciliten estudis genètics, alineament de seqüències i explotar el vigor híbrid. En els experiments de cultiu de microspores aïllades es va aconseguir induir callogènesi en diverses accessions de l'espècie, sent el primer pas cap a la resposta morfogènica. El cultiu d'anteres ha donat lloc a una plàntula triploide ($3x$), possiblement a causa d'una duplicació cromosòmica espontània durant el procés de regeneració, i ha permès demostrar que és possible la inducció de embriogènesi en nesprer encara que hi ha molts factors que influeixen en la resposta. Mitjançant ginogènesi *in situ* amb pol·len irradiat amb raigs gamma i posterior rescat i cultiu d'embrions *in vitro* ha estat possible obtenir quatre plantes haploides. El nivell de ploïdia es va determinar primer mitjançant citometria de flux, els resultats es van confirmar posteriorment per recompte cromosòmic en fulla.