

El cultivo del caqui ha crecido enormemente en la región Valenciana en los últimos 20 años al presentarse como una alternativa interesante al cultivo de cítricos. Sin embargo, su cultivo se enfrenta a tres problemas importantes. En primer lugar, su producción es monovarietal y se centra en la variedad *Rojo Brillante*, lo que conlleva un riesgo sanitario y de mercado importante que pone de manifiesto la necesidad de aumentar el número de variedades disponibles. En segundo lugar, el cambio climático pone en peligro la producción de caqui en zonas mediterráneas debido a un aumento en la salinidad del agua y suelo. La salinidad afecta especialmente al caqui debido a sus efectos sobre la producción, calidad y postcosecha de la fruta. La falta de patrones tolerantes a la salinidad compatibles con las condiciones de cultivo además agrava este problema, por lo que es necesario el desarrollo de patrones clonales tolerantes a la salinidad. En tercer lugar, la industria del caqui está basada en la aplicación de tratamientos postcosecha de desastringencia. Aunque existen variedades naturalmente no astringentes, su uso en el Mediterráneo es complicado debido a la incompatibilidad con los patrones existentes. Además, la salinidad afecta gravemente la eficacia del tratamiento de desastringencia. Por ello, cabe destacar que se necesita más información acerca de los mecanismos moleculares que controlan el desarrollo de la astringencia para poder desarrollar nuevas variedades y/o unos tratamientos de desastringencia más efectivos.

En el contexto de la mejora genética y la biología molecular, pueden distinguirse tres objetivos para mejorar las condiciones de cultivo en esta región: el desarrollo de nuevas variedades de caqui con una época de madurez distinta a *Rojo Brillante*, el desarrollo de patrones clonales tolerantes a la salinidad y compatibles con variedades no astringentes y la obtención de nuevos conocimientos acerca de las bases moleculares del mecanismo de regulación de la astringencia para optimizar los tratamientos postcosecha. La presente tesis ha contribuido a estos tres objetivos.

Respecto a la obtención de nuevas variedades, se ha desarrollado un análisis de diversidad genética del banco de germoplasma del IVIA, lo que es un recurso importante para la planificación de cruces. Para asegurar una mejora genética eficiente y evitar redundancias en la colección, se ha efectuado un análisis de diversidad usando secuencias microsatélites. El análisis ha arrojado datos de gran utilidad, como el descubrimiento de alelos únicos, que permiten la identificación rápida de variedades, o la división de la colección de acuerdo con el tipo de astringencia del fruto, confirmando el fondo genético común de las accesiones que comparten este carácter. Además, el mapa de las relaciones filogenéticas generado será de gran utilidad para la planificación futura de cruces dentro del programa de mejora de caqui.

Para abordar el problema de la salinidad, se han realizado distintos ensayos de estrés salino en invernadero con distintas poblaciones de especies utilizadas como patrón de caqui: *Diospyros virginiana* (tolerante a salinidad), *Diospyros kaki* (sensible a salinidad y compatible) y *Diospyros lotus* (sensible a salinidad). Además, debido a los caracteres de gran interés presentes en estas dos especies, se incluyó en los ensayos una población proveniente de un retrocruce entre *D. kaki* y *D. virginiana*. Como resultado, varios individuos de estas poblaciones se han seleccionado debido a su tolerancia a la salinidad, ya que podrían tener las características adecuadas para ser patrones clonales. Complementariamente, se han usado aproximaciones fisiológicas, transcriptómicas y de secuenciación masiva de transcriptoma para hacer una primera descripción de los mecanismos de tolerancia a la salinidad presentes en estas especies. Como resultado, se han descrito los principales caracteres relacionados con la tolerancia a la salinidad en el género *Diospyros*, como la compartimentalización de iones, la expresión en raíz de un gen similar a *HKT-1*, la abundancia de canales de cloruro o la arquitectura de raíz.

Finalmente, para obtener más información sobre la biosíntesis de proantocianidinas, la molécula responsable de la astringencia, se formuló la hipótesis de la existencia de un complejo proteico del tipo MBW (MYB-bHLH-WD40) que podía regular la ruta molecular de forma análoga a la regulación existente en otras especies estudiadas. En primer lugar se secuenció un gen tipo WD40, posible ortólogo de *TTG1* de *Arabidopsis thaliana*. El papel de este gen y otros genes del hipotético complejo (*MYB2*, *MYB4* y *MYC1*) han sido estudiados mediante un análisis transcriptómico en distintos estadios de madurez de frutos astringentes y no astringentes. Además, se ha observado mediante microscopía la localización celular de estos genes mediante la expresión transitoria con fusión con fluorescencia en hojas de *Nicotiana benthamiana* y hemos analizado su interacción mediante ensayos de doble híbrido en levadura y BiFC (complementación bimolecular de fluorescencia) mediante expresión transitoria en hojas de *Nicotiana benthamiana*. Finalmente, hemos analizado los efectos de estos genes y de sus interacciones en la ruta de biosíntesis de proantocianidinas usando el promotor del gen *ANR* (antocianidin reductasa) y promotores de los genes reguladores *MYC1* y *MYB4*, fusionándolos con una luciferasa como gen delator y coexpresándolos con distintas combinaciones de los genes del complejo MBW mediante expresión transitoria en hojas de *Nicotiana benthamiana*. Los resultados de estos ensayos confirman la interacción nuclear de estos genes y su papel en la regulación de la producción de la astringencia, dando lugar a un modelo básico con algunas diferencias a los propuestos en otras especies.