



ESTUDIO MOLECULAR

DEL GERMOPLASMA DEL OLIVO EN COLOMBIA

Por: ¹GARCÍA Francisco / ²JARAMILLO, Luz Stella

GERMPLASM MOLECULAR STUDY IN COLOMBIA OLIVE

¹Ph.D. en biología Vegetal, Director Instituto de Investigaciones Científicas en Ciencias Agropecuarias, Fundación Universitaria Juan de Castellanos JDC, jfgm29@hotmail.com

²M.Sc (c) Fundación Universitaria Juan de Castellanos mil.agros@yahoo.es

Recibido: 16 de julio de 2012

Aceptado para publicación: 03 de octubre de 2012

Tipo: Investigación



RESUMEN

La Olivicultura en Colombia no es una actividad agrícola económicamente importante, sin embargo en la región del Alto Ricaurte-Boyacá-Colombia se practica desde hace más de 200 años. Las plantaciones que existen suman alrededor de 18000 árboles de los cuales aproximadamente 3000 son plantaciones nuevas sembradas durante los últimos cuatro años, los demás son árboles de más de 30 años. No se sabe estos olivos a qué variedades corresponden; sin embargo son conocidos con el nombre de algunas variedades Italianas, españolas y portuguesas. El presente estudio buscó la identificación de los olivos plantados en la región a través de análisis molecular, para lo cual se escogieron árboles (39 árboles de tres y cuatro años así como otros mayores de 30 años) en tres municipios y cinco fincas. El ADN se extrajo a través del método CTAB y para la identificación varietal se emplearon marcadores genéticos basados en reacción en cadena de la polimerasa, (PCR) con microsatélites (SSR). De las 39 muestras analizadas se encuentra que existen 10 genotipos donde el genotipo 4 contiene la mayor cantidad de individuos tanto de árboles jóvenes como de aquellos mayores de 30 años; la finca donde existe mayor diversidad es "La Rioja de los Villamiles" y la más homogénea "Las Acacias", ambos en Sutamarchán Boyacá. Los genotipos encontrados no corresponden a las denominaciones dadas en la región, también se encuentra que hay varios casos de homonimia.

Palabras clave: variedad, heterocigosis, homocigosis, genotipo, marcadores genéticos.

ABSTRACT

The Olive in Colombia is not an economically important agricultural activity, however in the Upper-Boyaca-Colombia Ricaurte has been practiced for over 200 years. Existing plantations totaling about 18,000 trees of which approximately 3000 are new plantations planted during the last four years, the others are trees over 30 years. No one knows these trees correspond to varieties, but are known by the name of some varieties Italian, Spanish and Portuguese. This study aimed to identify the trees planted in the region through molecular analysis, which were chosen for trees (39 trees of three and four years and over 30 others) in three municipalities and five farms. DNA was extracted using the method for identifying CTAB and varietal genetic markers were used based chain reaction Polymerase (PCR) with microsatellites (SSR). Of the 39 samples tested is that there are 10 genotypes where genotype 4 contains the greatest number of individuals both young trees as those over age 30, the farm where there is greater diversity "of La Rioja Villamiles" and more homogeneous "Las Acacias", both in Sutamarchán Boyacá. The genotypes found not correspond to the names given in the region, is also found that there are several cases of homonymy.

Keywords: variety, heterozygous, homozygous, genotype, genetic markers.



INTRODUCCIÓN

Morfología del olivo

El árbol de olivo es una planta arbórea siempre verde que puede alcanzar hasta quince metros de altura, con un tronco cuyo radio llega a medidas superiores a los cien centímetros, dependiendo de la edad, que puede ser de más de cien años, se encuentran reportes de plantas con cerca de 900 años en el sur de Italia y España. Es una de las plantas cultivadas más antiguas, cuyos orígenes como cultivo son de 4000-3000 a.C. en la zona de Palestina. Actualmente el 95% del área mundial cultivada se encuentra en el Mediterráneo (Barranco *et al.*, 2008). En muchos casos se prefiere hablar de cultivar para indicar la presencia de clones dentro de un mismo cultivar, es decir individuos genéticamente heterogéneos que se diferencian por un número más o menos amplio de caracteres. Estos individuos pueden ser ecotipos del mismo cultivar o de diferente cultivar originados por semilla o propagación vegetativa (Belliniet *al.*, 2003).

Dos españoles, el franciscano Fray Junípero Serra y José de Gálvez llevaron el cultivo a América del Norte en 1769. En México lo introdujo dos siglos antes (1560) Antonio Ribero. La planta dio origen a la que se conoce actualmente como variedad de la Misión, por haberse establecido en la misión franciscana de San Diego (California). Luego fue llevado a América del sur, Chile, Argentina y Perú, donde por las condiciones climáticas ha tenido más desarrollo; en Chile por ejemplo en la actualidad existen 583 ha (Donnoso, 2006), en el valle del río

Huasco Región de Atacama y valle de Azapa ubicada a 250msnm (Sotomayor, 2002) y en la actualidad existen 25000 has dedicadas al cultivo para producción de aceite, reconocido como de buena calidad (INIA, 2010).

En Argentina a finales de 2003 ya se habían plantado olivares modernos en Catamarca 18862 has, La Rioja 14610 has y San Juan con 9237 has. Destinadas a la extracción de aceite con variedades como: Arbequina, Manzanilla, Picual, Frantoio, Coratina, entre otras (Bravo *et al.*, 2004).

Brasil aún no posee importantes plantaciones comerciales para abastecer la demanda interna. Para minimizar esta deficiencia, actualmente se están realizando diferentes trabajos de investigación con el objetivo de evaluar variedades de olivo que puedan adaptarse a las condiciones ambientales existentes (De Oliveira *et al.*, 2003a; De Oliveira *et al.*, 2003b).

En Perú el cultivo de olivo se hace principalmente para la producción de aceituna de mesa, cuenta con un área sembrada de 15000 has en la región de Arequipa provincias de Caravelí, Camaná e Islay. Cuyas exportaciones de aceitunas en diferentes presentaciones alcanzan las 5000 ton al año a países como Brasil, Estados Unidos, Venezuela, Chile, Italia e Israel entre otros (Gutiérrez, 2007).

A Colombia los olivos fueron traídos por los dominicos y laicos españoles desde 1531 a la región de Villa de Leyva, donde hay evidencias de olivos centenarios en la antigua Misión de Santo Ecce Homo; también se tiene conocimiento que en 1875 el español José María Gutiérrez sembró en esta región cinco mil olivos y mil vides (García, 1963). A finales de los años cincuenta del siglo pasado, se introdujeron variedades



des procedentes de Portugal, España e Italia de las cuales las que mejor adaptación tuvieron fueron: Picual, Cordovil, Passareira, la identificada por la población local como “Leyva de tronco amarillo” y otra anónima pero reconocido el árbol como productivo; así mismo la existencia de un patrón adaptado en la zona y conocido como “Leyva de tronco verde oscuro” (Taguas, 2009).

La difusión de cultivares, hibridación, selección de descendencia y clonación ha originado una gran diversidad de cultivares autóctonos en todo el mundo. En América es probable que en el inicio del cultivo se utilizara propagación sexual de las primeras variedades introducidas (Barranco *et al.*, 2008).

Los estudios iniciales para la identificación varietal hacen referencia únicamente a características botánicas, para distinguir la variedad con base en la diferenciación morfológica de la hoja, fruto, endocarpo e inflorescencia. Diferentes trabajos abordan el estudio de las variedades de olivo en el siglo XX iniciando con el VII Congreso Internacional de Oleicultura, celebrado en Sevilla España en 1924.

En 1970 se inicia en Córdoba el establecimiento del Banco Mundial de Germoplasma de Olivo. La primera colección de este Banco incorporó las 65 variedades existentes en la Estación de Olivicultura de Jaén. Esta iniciativa desencadenó el comienzo de la Catalogación de las variedades de olivo en España. Los estudios iniciales tenían dos limitaciones: a) confusión entre los conceptos de variedad botánica y cultivar, y b) insuficiencia del método adoptado (Barranco *et al.*, 2005).

La identificación varietal se puede hacer utilizando diferen-

te marcadores bioquímicos (isoenzimas y otras proteínas) así como los de ADN. Estos últimos son técnicas relativamente sencillas dentro de la biología molecular que identifican diferencias en la secuencia de ADN. Estos además de permitir la identificación de las variedades, incluso en plantas de corta edad, ayudan en la obtención de nuevas variedades por cruzamiento.

El marcador ideal para la identificación de las especies agrarias, debe ser: estable en el tiempo, neutro (ningún efecto sobre el fenotipo), altamente polimórfico (presencia de una alta variabilidad), fácilmente identificables, ser detectados directamente en el ADN y económico.

Marcadores bioquímicos (proteínas totales y de reserva e isoenzimas): el análisis de las proteínas, respecto de otros marcadores bioquímicos ofrece la ventaja de la simplicidad de la técnica de extracción y separación mientras que la información sobre la variabilidad genética es menos exhaustiva. El análisis de la proteína es utilizada para la identificación de especies y variedades diversas: en particular para el olivo, son estudiadas las proteínas de reserva de la semilla (Durante *et al.*, 1992) y la proteína total de las hojas (Petruccioli, 1992).

Las enzimas son proteínas altamente especializadas que catalizan las numerosas reacciones bioquímicas que ocurren en los seres vivos. El término isoenzima fue propuesto por Markert y Moller (1959) para indicar formas moleculares múltiples de una enzima que catalizan la misma reacción bioquímica. La electroforesis isoenzimática permite revelar la variabilidad genética que se produce en muchas proteínas enzimáticas. Las diferencias varietales son evidenciadas a través del

polimorfismo enzimático. Porque las secuencias de aminoácidos de las proteínas son determinadas a partir de las secuencias de nucleótidos del gen, el análisis de una estructura proteica, usando electroforesis, es una primera aproximación al análisis del gen (Gottlieb, 1977). El polimorfismo isoenzimático resulta un simple marcador para analizar la relación genética en la población (Gottlieb, 1981).

Marcadores basados en la PCR (Polymerase Chain Reaction): la reacción en cadena de la polimerasa ha posibilitado la generación de nuevos marcadores. La ampliación de fragmentos de ADN y la evaluación directa de las diferencias en longitud de los productos amplificados sin necesidad de transferencia a membranas e hibridación, han supuesto un cambio cualitativo en las posibilidades de utilización de los marcadores de ADN en Mejora Genética Vegetal (MGV). Las ventajas de obtención de dos fragmentos de ADN son dos: utilizar como cebadores secuencias genómicas conocidas o usar cebadores aleatorios. Estos últimos son los que necesitan menos información previa, y por tanto son de utilidad en aquellas especies en las que, no existan estudio genómicos.

La PCR aprovecha algunas particularidades de la duplicación celular del ADN: de un filamento sencillo de ADN sintetiza uno nuevo, para complementar. Tal proceso viene inducido de una enzima, la ADN-polimerasa, que cumple diversas funciones entre ellas la reparación y la duplicación del ADN. La cantidad de ADN requerido por la PCR es mínima, basta con una región pequeña de ADN con doble hélice para iniciar la síntesis. La PCR realiza un ciclo y cada ciclo de amplificación puede redoblar la cantidad de "ADN target".

El método de amplificación prevé tres etapas fundamentales: 1) desnaturalización (por el calor se abren las cadenas de ADN), 2) alineamiento de secuencias cortas conocidas como primer, que delimitan las regiones que se van a replicar, y 3) formándose cadenas nuevas de ADN por acción de la Taq-polimerasa, una enzima termoestable capaz de añadir nucleótidos a los extremos de los primeros.

SSR (SIMPLE SEQUENCE REPEAT)

Los microsatélites SSR separan las regiones de ADN caracterizadas por la repetición de dos o más bases nitrogenadas de la misma secuencia 1-6. La repetición de las bases Adenina-Timina (AT) es la más frecuente en las plantas. Los microsatélites son difundidos y dispersos en el genoma de la planta, además presentan un elevado nivel de variabilidad al interior de algunas especies; esta característica los convierte en una excelente herramienta para el mapeo de los dos fingerprintig. Se estima en efecto que la frecuencia en el genoma de la planta sea de un SSR cada 50 kb. Inicialmente los análisis de los microsatélites eran basados sobre la técnica RFLP, es decir el ADN venía cortado y luego hibridado con sondas a secuencias repetidas, esto se homologa a la región micro-satélite, cebador capaz de reconocer y luego ampliar la región.

Las ventajas de los microsatélites están en su elevada reproducibilidad y en su alto grado de polimorfismo (la técnica permite en efecto hasta una decena de alelos por locus), y en la actualidad la técnica SSR ha demostrado proporcionar marcadores muy confiables y útiles para la resolución de problemas de identificación varietal y tipificación genética del olivo por cuanto ha demostrado alta transferibilidad y elevado polimorfismo, co-dominanza, aspectos muy interesantes para el olivo (Ganino *et al.*, 2006).

El presente estudio busca determinar las variedades de olivo





existentes en la zona del alto Ricaurte mediante la utilización de marcadores moleculares, término que indica cualquier carácter hereditario de manera simple, el cual se convierte en un elemento de identificación o de referencia. (Ganinoet, al., 2006).

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en fincas de 5 municipios en la región del Alto Ricaurte-Boyacá (Tabla 1) a 2100 msnm, temperaturas promedio máximas de 26 °C, mínimas de 7°C y medias de 17°C, fotoperiodo de 12,5 horas/día y humedad relativa del 73,7%.

Tabla 1. Distribución de árboles por finca, municipio y estado del cultivo

FINCA	MUNICIPIO	EDAD DEL CULTIVO	UNIDADES EXPERIMENTALES	MANEJO DEL CULTIVO	ESTADO ACTUAL
1 Las Acacias	Sutamarchán	4 años	12	Fertilización, controles fitosanitarios	Fumagina, ácaros
2 Entre Lagos	Villa de Leyva	3 años	8	Fertilización, controles fitosanitarios	Fumagina, ácaros
3 La Rioja	Sutamarchán	Mayor 30 años	8	Fertilización, controles fitosanitarios	Epifitas, líquenes
4 Pasadena	Villa de Leyva	Mayor de 40 años	6		Epifitas, líquenes
5 El Olivar	Sáchica	Mayor de 40 años	4		Epifitas, líquenes
6 San José	Villa de Leyva	Mayor 30 años	8	Fertilización	Epifitas, líquenes
7 Aceitunos	Sáchica	Mayor 30 años	1	Fertilización	Epifitas, líquenes

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

El análisis molecular se aplicó a hojas cerciorándose que no todas las plantas tenían frutos, el muestreo se hizo en árboles que habían mostrado producción y las denominaciones varietales que tenía el olivicultor. Se recogieron 40 hojas completamente desarrolladas por árbol en ramas de un año, ubicadas a la altura del observador, se empacaron en bolsas plásticas selladas y marcadas para transportar al laboratorio de la Universidad de Parma donde se realizó el análisis molecular mediante marcadores SSR.

EXTRACCIÓN DEL ADN DE LAS HOJAS

Las hojas en el laboratorio fueron conservadas a -80°C hasta la extracción del ADN genómico que se hizo siguiendo la metodología CTAB (Belaj *et al.*, 2001).

El protocolo de extracción ha previsto además, el tratamiento del ADN con la enzima (ARNasa); este proceso ha permitido la completa eliminación del ARN que pudiese interferir durante el proceso de cuantificación del ADN (sobrestimando la cantidad de ADN en la reacción de amplificación).

Una vez ocurrida la reacción enzimática con ARNasa, el ADN es precipitado y luego lavado en etanol, suspendido en al menos 100 µl de tampón TE.

El ADN se cuantificó utilizando el método espectrofotométrico (Spectrophotometer Uvickon 930, Kontron Instruments Inc., Boston, MA, USA), midiendo la absorbancia 260nm. El reporte $R = OD_{260}/OD_{280}$ consideró válido el índice de pureza (calidad) del ADN. En efecto mientras la medida de absorbancia a 260 indica la presencia de ácidos nucleicos, la medida de la absorbancia a 280 indica la presencia de impurezas (sobre todo proteínas). Un valor de R comprendido entre 1.8 y 2 indica una buena pureza del ADN. En este estudio, y para los marcadores utilizados, se consideró aceptable un valor de R comprendido entre 1.6 y 2.

Cuando por espectrofotometría el reporte OD_{260}/OD_{280}



(R) ha resultado bajo, se ha efectuado una purificación con fenol y cloroformo (pH 7.8). Esta metodología prevé la extracción de ADN con igual volumen de fenol, luego un pase en vortex y centrifuga, recuperando al terminar esta operación la fase acuosa; el paso sucesivo ha previsto la extracción del sobrenadante mediante ayuda de igual volumen de una solución fenol-cloroformo (1:1), luego un pase en vortex y centrifuga, y se recupera el sobrenadante; el último pase ha previsto la extracción del sobrenadante mediante ayuda de un volumen igual de cloroformo, luego un pase en vortex y centrifuga, teniendo que recuperar el sobrenadante. Sucesivamente el ADN se ha precipitado con isopropanol y acetato de sodio, luego se lava en etanol al 75% y se suspende en tampón TE.

La cualidad del ADN se ha evaluado inicialmente mediante electroforesis sobre gel de agarosa al 0.8% para estar seguros de haber eliminado todo el ARN y de tener un ADN no degradado. Sólo después del test sobre el gel si se hace una nueva cuantificación en el espectrofotómetro. Cuantificado el ADN los estratos se han diluido en tampón TE llevando la concentración del ADN de cada muestra a 20 ng/μl.

ANÁLISIS SSR

Para el análisis SSR han sido consideradas 39 muestras obtenidas de hojas de los cultivares de la zona de estudio, identificadas como el olivicultor las conoce, en aquellas de las que no se obtuvo información se le asignó un código. Los árboles fueron elegidos en base a la información de los olivicultores, recogiendo sólo material vegetal de aquellos que han dado producción, y de los cuales se ha obtenido el material para los nuevos cultivos.

AMPLIFICACIÓN SSR

Para la amplificación del ADN se han utilizado 10 copias de los cebadores SSR ya utilizadas por otros autores, que han mostrado una buena capacidad discriminante: DCA3, DCA5, DCA9, DCA16, DCA17, (Sefc *et al.*, 2000); UDO18, UDO43, (Marrazzo *et al.*, 2002); GAPU101, GAPU103 y EMO90 (Carrero *et al.*, 2002) (Tabla 2).

Tabla 2. Elenco de los oligonucleotidos utilizados y de las respectivas temperaturas de análisis

Primer	For 5' → 3'	Rev 5' → 3'	Size	T (°C) (annealing)
DCA3	CCCAAGCGGAGGTGTATAITGTTAC	TGCTTTTGTCTGTTTGAGATGTTG	250	50
DCA 5	AACAAATCCCATACGAAGTCC	CGTGTGCTGTGAAGAAAATCG	200	50
DCA 9	AATCAAAGTCTTCCTTCTCATTTTCG	GATCCTTCCAAAAGTATAAC CTCTC	191	55
DCA 16	TTAGTGGGATTCTGTAGAT GGTG	TTTTAGTGGGATTCTGTAGAT TTAGC	178	50
DCA 17	GATCAAATCTACCAAAAAT ATA	TAATTTTGGCACGTTAGTAT TGG	145	50
DCA 18	AAGAAAGAAAAAGGCAGAATTAAGC	GTTTTCTCTCTACATAAAGTGAC	183	50
EMO 90	CATCCGGATTCTTGCTTTT	AGCGAATGTAGCTTTGCATGT	191	55
GAPU101	CATGAAAGGAGGGGACATA	GGCACTTGTGTGCAGATTG	264	57
GAPU 103	TGAATTTAACTTTAAACCCACACA	GCATCGCTCGATTTTATCC	245	57
UDO 43	TCGGCTTTACAACCCATTTTC	TGCCAATTATGGGGCTAACT	174	52

La reacción de amplificación se ha efectuado en un volumen de 25 μl que contiene un buffer de reacción (International PBI, Milano, IT), 1.5 mM MgCl² (Internatinal PBI, Milano, IT), 0,2 mM dNTPs (American Biosciences), 0,2 μM de cebador (MWG

Biotech, Ebersberg), 20 ng de ADN genómico y 0,6 Taq polimerasa (International PBI, Milano, IT).

La reacción de amplificación se optimizó en Thermalcycler MJPC 100 Research (Watertown, Mass.) programando un primer pase a 95°C por 5 minutos, seguido de 25 ó 35 ciclos de 45 segundos a 94°C, 45 segundos a la temperatura de recorrido específica para cada copia de cebador, 45 segundos a 72°C respectivamente para la desnaturalización, el recorrido y extensión del cebador, al término del ciclo han efectuado 8 min de incubación a 72°C.

La elección del número de ciclos en PCR es dada por el tipo de marcador del cebador y de la sensibilidad de secuenciador en la lectura de la fluorescencia. Los cebadores utilizados en el análisis SSR son marcadores con dos fluorescencias, y más precisamente algunos con fluorescencia de emisión de luz azul (CY5) y otros con fluorescencia de emisión de luz verde (IRD700).

La elección de dos tipos de marcadores se debe a la posibilidad de analizar contemporáneamente al secuenciador de dos productos de amplificación obtenidos con cebadores diversos (análisis múltiple). La amplificación con cebador marcado con fluoróforo y emisión de luz verde ha requerido 35 ciclos para obtener un buen resultado.

Los productos de amplificación han estado separados mediante el uso de secuenciadores CEQ separation Gel Genetic Analysis System (BeckmanCoulter, Inc.). Los perfiles de las bandas han sido analizados por comparación con un marker CEQ DNA Size Standard kit 400 (Beckman Coulter, Inc.).

ANÁLISIS DE LOS DATOS SSR

Medida de los alelos: la capacidad discriminante de los microsatélites, como la de otros marcadores moleculares, está ligada a la variación de dimensión de los alelos o de los fragmentos analizados. Esta dimensión viene expresada con número de pares de bases (pb). Cualquier método de análisis sufre de un error experimental que reduce más o menos la precisión estimada de los fragmentos. Los errores experimentales suman una serie de factores de disturbio: la matriz usada para la electroforesis, el tipo y la composición en base del estándar usado de referencia para estimar la dimensión de los alelos o de los fragmentos del ADN en presencia de compuestos que interfieren con la PCR o con la velocidad de migración de productos de PCR en la matriz usada para la electroforesis y error de la polimerasa (slippage, aggiunta di + A ecc.).

Elaboración de datos: Los datos han sido elaborados estadísticamente mediante software de análisis estadístico GenAlEx 6 (Peakall y Smouse, 2005) para la construcción de la matriz de la distancia genética. El análisis sucesivo ha previsto el uso de los resultados generados por GenAlEx 6 para la construcción de un dendrograma mediante el uso del software Phylip 3.65 (Felsenstein, 2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización molecular

Las relaciones entre las variedades son estudiadas mediante clusteranalysis (UPGMA). A través del análisis estadístico se generó un dendrograma. De las 39 muestras, los marcadores SSR han identificado 10 genotipos diversos de los cuales un

grupo de 23 presentan sinonimia al igual que otro de 7, mientras que sólo dos árboles mostraron homonimia.

Del dendrograma (figura 1) se pueden distinguir dos grupos principales, uno de los cuales (cluster I) es constituido por un único individuo denominado F6 picual 4 (identificado como genotipo 10); otro grupo (cluster II) comprende casi la totalidad de la población estudiada, presenta el IIA integrado por los genotipos 8 y 9 y el IIB por los restantes, éste a su vez se subdivide en IIB1 que lo integran los genotipos 7, 6, 5 y 4 y el IIB2 conformado por los genotipos 3, 2 y 1.

El genotipo 1, integrado por las muestras F3Cordobil2 y F3Picual2 corresponden a árboles de más de 30 años, que son productivos, ubicados en la vereda Centro Roa del municipio de Sutamarchán; entre tanto el genotipo 2, corresponde a la planta F7CG3 hallada en la localidad de Sáchica, de aproximadamente la misma edad de las anteriores, pero de la cual no se conoce producción.

De otra parte, en el grupo de 7 plantas homónimas que conforman el genotipo 3, se hallaron árboles de 50 años aproximadamente: F5O1, 2, 3 y 4, cultivo ubicado en Sáchica, estas plantas actualmente no producen, sin embargo han sido propagadas por su historial productivo en otra época. En este grupo también están dos árboles de 3 años F2X1 3 y F2X1 1 que corresponden al olivar de plantas de 3 años de la vereda Monquirá de Villa de Leyva y el árbol de 30 años, F3 picual 3 de la vereda Centro Roa del municipio de Sutamarchán.

El grupo con mayor cantidad de individuos (genotipo 4) contiene 7 árboles homónimos de la finca 1 con los códigos: F1 Pasareira, Picual y Cordobil como lo muestra la figura 1, estos son árboles de cuatro años de edad, que iniciaron producción; también se encuentra el único ejemplar de la finca 3, F3 Cordobil 1, un árbol de 30 años; además están las plantas jóvenes de la finca 2, señaladas como F2X2 1, 3 y 4; así mismo a este grupo pertenecen individuos de la plantación finca 4 cuya edad es superior a 40 años que corresponden al código F4 Ni2 y F4Ni1 como está señalado en el dendrograma (figura 1); de igual manera están 5 olivos de la finca 6, con código F6 Cordobil, Pasareira y Picual, árboles antiguos de más de 40 años; por último en este grupo se encuentra el árbol F7 CG1 con producción permanente y del cual se ha sacado material para las plantaciones de las fincas 1 y 2.

El genotipo 5 está representado por el ejemplar F2 X2 2, un árbol joven ubicado en la vereda Monquirá, cabe anotar que esta planta la conocen los olivicultores como Vileyva de Tronco Verde, una denominación que le dieron al parecer por considerar que no muestra similitud con las que se han traído de otras partes del mundo y argumentan que puede proceder de un árbol multiplicado por semilla bajo las condiciones ambientales de la localidad.

De la finca 1 se encontró que el árbol F1 Pasareira 2 (genotipo 6) es el único con características genéticas diferentes a los demás representantes de esta finca analizados en el presente estudio; lo mismo ocurrió con el genotipo 8 (F4 Ni1 4) con respecto a la finca 4 y para el olivo F6 picual 4 (genotipo 10) de la finca 6, único individuo diferente del material vegetal de dicha finca. Mientras que para los individuos F3 Acebuche 2 (genotipo 7) y F3 Acebuche 1 (genotipo 9) de la finca 3, que en la región se conocen como olivo rustico, el dendrograma iden-





Fundación Universitaria
Juan D Castellanos

tifica dos plantas con genotipo diferente, homonimia.

De lo anterior, se puede resaltar que la finca 3 tiene la mayor cantidad de olivos de diferente genotipo (1, 3, 4, 7 y 8), la finca 2 tiene genotipos (3, 4 y 5), las fincas 1, 4 y 6 tienen árboles que corresponden en su mayoría al genotipo 4 y sólo un ejemplar de cada una de ellas corresponde a un genotipo diferente (6, 8 y 10) respectivamente como se observa en la Figura 1.

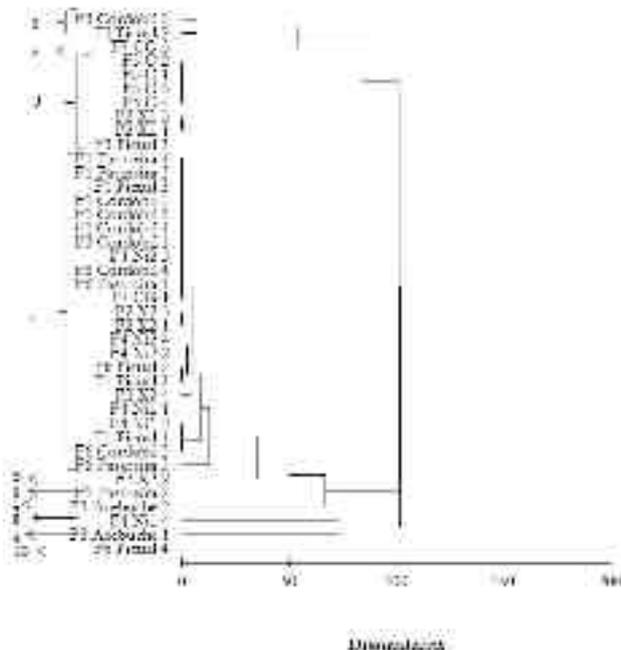


Figura 1. Dendrograma relativo al análisis con marcadores microsatélite (SSR) obtenido mediante UPGMA ClusterAnalysis e indicadores de similitud de Euclidea.

Finalmente esta información no ha permitido identificar los genotipos encontrados en el estudio utilizando la base de datos que existe en el departamento de Biología Evolutiva y Funcional de la Universidad de Parma-Italia, como se aprecia en la Figura 2, dado que no corresponden a las variedades españolas: Manzanilla, Gordal, Sevillana y Arbequina, tampoco a las italianas Ascolana, Tenera, Coratina, Cassanese, Leccino y Frantoio, ni a la francesa Picholine.

**“No duden jamás que un pequeño grupo de
ciudadanos comprometidos y
sensatos sean capaces de cambiar el mundo.
De hecho, nada distinto lo ha logrado”**

MARGARET MEAD

INICIEN

Instituto de Investigaciones Científicas



WWW.JDC.EDU.CO

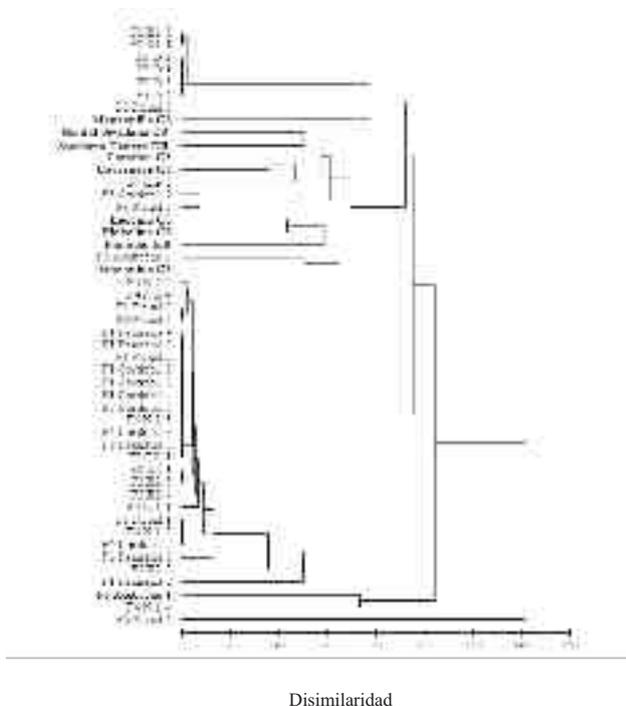


Figura 2. Dendrograma relativo a la comparación de los genotipos colombianos con respecto a genotipos de Italia, España y Francia.

CONCLUSIONES

Existe variabilidad en los genotipos encontrados principalmente en árboles mayores de 30 años, posiblemente por la cantidad de material vegetal importado y mayor homogeneidad en los cultivares nuevos que se propagaron a partir de aquellos que mostraron producción, esto se refleja en el genotipo 4 donde se encuentran la mayor cantidad de árboles viejos y nuevos propagados a partir de estos, como el caso del árbol señalado como F7GC1 que ha sido multiplicado en los dos cultivares nuevos analizados; sin embargo cabe resaltar que algunos árboles corresponden a material de otros árboles viejos productivos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores le agradecen a los olivicultores Antonio Cortez, Antonio Villamil, César García, Enrique Gómez y Maximino Gómez, el haber permitido realizar el estudio en sus cultivos.

BIBLIOGRAFÍA

- BARRANCO D. FERNÁNDEZ-ESCOBAR, R. & RALLO, L., 2005, El cultivo del olivo, sexta edición, Ediciones Mundi –Prensa Madrid, 756pp.
- BARRANCO D. FERNÁNDEZ-ESCOBAR R. & RALLO L., 2008, El cultivo del olivo, sexta edición, Ediciones Mundi –Prensa Madrid, 846pp.
- BELAJ A., SATOVIC Z., RALLOL & TRUJILLO I., 2004a Optimal use of RADP markers for identifying varieties in olive (*Olea europaea* L.) germplasm collection. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 129(2): 266-270 p.
- BELLINI E., GIORDANI E. & NIN S., 2003. Genetica e miglioramento Pp 113-143. Fiorino P. Trattato di olivicoltura. Edagricole. Bologna, 461pp.
- BRAVO M., GÓMEZ P., KAEN R., MONTALBAN D., OVEJERO D. & ANDRADA C., 2004. Determinación de la época de estabilización de nitrógeno, fósforo y potasio foliar en olivos, del valle central de la provincia de Catamarca. *Rev. Del Cizasvol* 5, Nº 1-2 81-90 p.
- CARRIERO F., FONTANAZZA G., CELLINI F., & GIORGIO G., 2002. Identification of simple sequence repeats (SSRs) in olive (*Olea europaea* L.). *Theor. Appl. Genet.* 104:301-307 p.
- CORTEZ, A., 2010 (Converaciones personales-CON.PER).
- DURANTE M., PETRUCELLI R., BARTOLINI G. & BERNARDI R., 1992. Impiego delle proteine di riserva per l'identificazione delle cultivar di olivo (*Olea europaea* L.). *Cong. "Olive olio qualità".* 57 pp.
- GANINO, T., 2006. Indagini morfologiche e biomolecolari per la caratterizzazione di genotipi miliani di *Olea europaea* L. *Università degli Studi di Parma.*
- GARCÍA, F. 1963 Antecedentes, ensayos, diseño experimental, trabajos realizados, perspectivas económicas del cultivo del olivo en nuestro medio. Instituto de fomento algodonero división oleaginosas perennes
- GOTTLIEB, L. 1981 Electrophoretic evidence and plant populations. *Progress Phytochem.* 7:1 – 46p.
- GOUNARIS, Y., SKUOLA, M., FOURNARAKI, C., DRAKAKAKI, G. & MAKRIS, A. 2002. Comparison of essential oils and genetic relationship of *Origanum x intercedens* to its parental taxa in the island of Crete. *Biochemical Systematics and Ecology*, 30: 249-258p.
- MARRAZZO, T., CIPRIANI, G., MARCONI, R., CIMATO, A. & TESTOLIN, R., 2002. Isolation and characterisation of microsatellite AND in olive (*Olea europaea* L.). *Acta Hort.* 586: 61-64p.
- SEFC, K., LÓPEZ, M.S., MENDONÇA, D., RODRIGUEZ DOS SANTOS, M., LAIMÉR, DA CÂMARA MACHADO, M., & DA CÂMARA MACHADO A., 2000. Identification of microsatellite loci in olive (*Olea europaea* L.) and their characterization in Italian and Iberian olive tree. *Mol. Ecol.* 9:1171-1173p.
- TAGUAS, F. 2009. El cultivo del olivo en el departamento de Boyacá –diagnóstico y plan de acción-. Ediciones cisnecolor. Bogotá. 83pp.