

Rev. FCA UNCuyo. Tomo XXXIV. N° 2. Año 2002



LA HOMOGENEIDAD VARIETAL EN VIVEROS DE OLIVO ESTUDIADA CON MARCADORES MOLECULARES

EVALUATION OF GENOTYPIC HOMOGENEITY IN OLIVE NURSERIES USING MOLECULAR MARKERS

Pablo F. Cavagnaro
Ricardo W. Masuelli

Originales
Recepción: 02/11/2001
Aceptación: 05/03/2002

RESUMEN

La difusión de variedades tradicionales de olivo (*Olea europea* L.) y la obtención de nuevas variantes fenotípicas han generado confusión en la correcta identificación y denominación de algunas de las aprox. 2 000 variedades conocidas a nivel mundial. En la Argentina, en los últimos años se ha triplicado la superficie implantada con olivo principalmente a partir de plantas de viveros locales e importadas. Con el fin de evaluar la homogeneidad genotípica del material comercializado en Mendoza, se probaron 7 marcadores RAPD altamente reproducibles en muestras de 5 viveros, correspondientes a 5 variedades de olivo. Los marcadores RAPD fueron previamente desarrollados para caracterizar las variedades del INTA Junín. Arbequina y Arauco fueron los materiales más homogéneos. En ambas variedades, todos los individuos compartieron el 100 % de los marcadores utilizados. Los lotes de muestras de Empeltre, Farga y Aloreña no fueron genotípicamente homogéneos, observándose 2-3 patrones diferentes por lote. Todas las variedades ensayadas -en alguna de sus muestras- tuvieron diferencias con su respectiva variedad del INTA Junín. Arbequina y Arauco también compartieron el 100 % de marcadores entre sí, no pudiéndose separar ambos grupos.

SUMMARY

Approx. 2 000 olive (*Olea europea* L.) varieties are known in the world. Due to the commerce, promotion of old varieties and the development of new phenotypic variants, a situation of uncertainty exists regarding the correct identification and denomination of some cultivars. In the last years the Argentine olive-cultivated area has been triple folded. Most of the plant materials came from local nurseries and some from importation. In order to test the genotypic homogeneity of the materials commercialized by the local nurseries, plant samples from 5 of them were tested using 7 reproducible RAPD markers. These markers were previously developed for characterizing cultivars from the germplasm bank of INTA Junín. Only samples from cultivars Arbequina and Arauco showed complete homogeneity regarding the markers assayed. Samples from cultivars Empeltre, Farga and Aloreña were not genotypically homogeneous, showing from 2 to 3 different RAPD patterns per lot of samples. All the varieties tested from the nurseries, showed differences with their respective varieties from INTA Junín, for at least 1 of the samples. Arbequina and Arauco also shared 100 % of the markers between them. Therefore it was not possible to distinguish one from the other by the use of these markers.

Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Agrarias. UNCuyo. Alte. Brown N° 500.
Casilla de Correo 7. M5528AHB Chacras de Coria. Mendoza. Argentina. ccea@fca.uncu.edu.ar

Palabras clave

olivo • identificación varietal • marcadores moleculares • RAPD

Key words

olive • variety identification • molecular markers • RAPD

INTRODUCCIÓN

El cultivo del olivo (*Olea europea* L.) se inició en el Medio Oriente hace más de 6 000 años. Tan antiguo origen, la hibridación temprana entre distintas especies y la selección de plantas originó numerosas variedades. La propagación vegetativa ha mantenido las características de muchas cultivares de las aprox. 2 000 actualmente conocidas (7). La mayoría de las cultivadas en la Argentina provienen de España e Italia, habiendo sido introducidas por los inmigrantes. No todas conservaron sus nombres originales; algunas adquirieron nuevas denominaciones generando problemas de sinonimia. El principal proveedor argentino de plantas -desde 1958 hasta 1994- fue el INTA Catamarca, que las producía injertadas sobre seedlings (plantas originadas a partir de semilla) de Arbequina y otras variedades no identificadas (11). La difusión intencionada de seedlings sin injertar, como así también por accidentes -que significaron la pérdida de los injertos pero no de los porta-injertos- dieron origen, por segregación genética, a individuos diferentes. Varios de ellos fueron seleccionados generando nuevas cultivares. Una consecuencia de dicho proceso fue la aparición de nuevos genotipos que, aunque respondiendo fenotípicamente a una determinada cultivar, se distinguen nítidamente por la precocidad para entrar en producción, la vecería, el tamaño de frutos, etc. (11). Por ejemplo, dentro de la cv. Manzanilla se han detectado aprox. media docena de Manzanillas reales diferentes entre sí y otras tantas Manzanillas mejoradas. En el complejo panorama varietal del germoplasma argentino, dado la expansión de variedades tradicionales en nuevas zonas de cultivo -con diferentes tecnologías y labores de campo- se han apreciado características distintivas (debidas solamente a influencia ambiental) suscitándose nuevas denominaciones para tales fenotipos.

Habitualmente la identificación varietal en olivo se ha realizado mediante el análisis de los caracteres morfológicos del árbol y sus hojas, frutos e inflorescencias. Estos indicadores, por ser altamente afectados por el ambiente, no son aptos para un reconocimiento inequívoco. En cambio, los marcadores moleculares a nivel del ADN -no influidos por el ambiente- permiten establecer la identidad de genotipos crecidos en distintas condiciones ecológicas. En los viveros, posibilitan el fichaje de plantas jóvenes, de difícil identificación morfológica. Entre dichos marcadores moleculares, la técnica RAPD (random amplified polymorphic DNA) ha sido exitosamente utilizada para distinguir variedades de olivo (4, 6, 10, 14, 15). Como en la Argentina actualmente no rige ninguna certificación varietal, los viveros olivícolas de Mendoza propagan su material en forma de esquejes a partir de plantas establecidas hace años en la región. Cada viverista, basado en su experiencia, analiza los mencionados caracteres morfológicos valiéndose muchas veces de apreciaciones subjetivas, e identifica las plantas madres. La escasa práctica de la ley vigente de semillas y viveros impide al viverista garantizar lo que vende y al productor asegurarse de lo que compra. Ambos necesitarían operar con plantas genotípicamente homogéneas, de caracteres fisiológicos y agronómicos uniformes: desarrollo, fertilidad, tolerancia a patógenos y al stress, longevidad, calidad aceitera y conservera de frutos, rendimiento, etc.

La promulgación de la ley nacional 22 021 -llamada de "Promoción agrícola"- favoreció el incremento del área cultivada con olivos, implantándose plantas de viveros locales e importadas de España e Italia (13). Dado el bajo consumo argentino de aceitunas de mesa y aceite de oliva: apenas 0,2 kg/hab.año -mientras que en Italia asciende a 10- se prevé la exportación de excedentes. Sin embargo, la conquista de mercados internacionales dependerá de la capacidad para competir y desplazar en calidad, homogeneidad y precio a los productos europeos. El reconocimiento de genotipos, junto con técnicas culturales e industriales adecuadas, permitiría satisfacer las condiciones exigidas. Por tal motivo se estimó conveniente estudiar la homogeneidad genotípica del material propagado y comercializado por los viveros empleando marcadores RAPD altamente reproducibles, previamente desarrollados para las variedades del banco de germoplasma de olivo del INTA Junín (3).

MATERIALES Y MÉTODOS

En un trabajo anterior se utilizaron 15 iniciadores para amplificar los patrones RAPD de 10 variedades del banco de germoplasma del INTA Junín (3). De las 125 bandas amplificadas se seleccionaron, en base a intensidad y consistencia, sólo 10 bandas polimórficas altamente reproducibles (P.A.R.) que permitieron diferenciar las variedades ensayadas. Para evaluar la reproducibilidad de los marcadores RAPD se repitió cada reacción 3-5 veces usando, en cada caso, ADN de extracciones independientes. La figura 1a (pág. 20) ejemplifica los patrones amplificados por el iniciador OPA19 para las 10 variedades del INTA Junín. En las reacciones de RAPD de este trabajo y para establecer la homogeneidad genotípica de 5 variedades recolectadas en viveros mendocinos, se utilizaron los iniciadores OPB4, OPB6, OPB14 y OPA19 para amplificar 7 bandas P.A.R (tabla 1).

Tabla 1. Marcadores RAPD altamente reproducibles seleccionados para evaluar la homogeneidad genotípica de 5 variedades de olivo propagadas en los viveros mendocinos (3).

Marcadores	Variedades				
	Empeltre	Farga	Aloreña	Arbequina	Arauco
Serie I *					
OPB4-560 ^a	+ ^b	+	-	+	+
OPB6-564	-	+	+	+	+
OPB14-580	-	+	-	+	+
OPB14-700	+	+	+	+	-
OPB14-1300	+	+	+	+	+
OPA19-500	-	+	+	-	+
OPA19-520	+	-	+	+	+
Serie II **					
OPB19-2300	+	+	+	-	-
OPB19-1200	-	-	-	+	+
OPB19-1050	-	-	+	+	+

* La serie I agrupa los 7 marcadores utilizados en este trabajo.

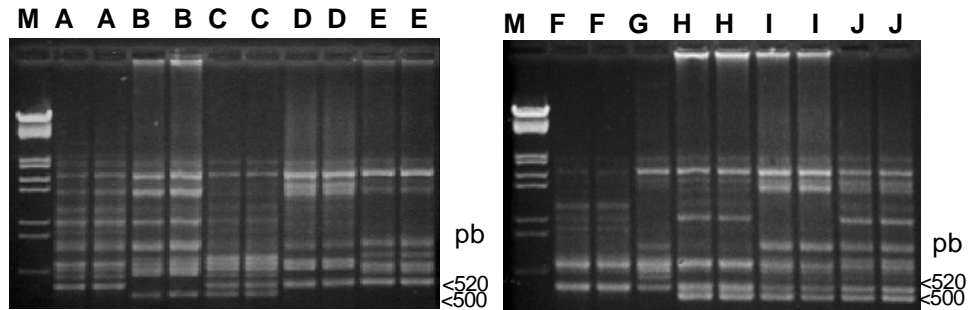
a. Denominación de los marcadores: las letras y el número que les sigue corresponden a la serie de iniciadores de Operon, la cifra siguiente es la longitud, en pares de bases, del fragmento RAPD amplificado.

b. Banda: (+) presencia y (-) ausencia.

** La serie II agrupa los restantes marcadores desarrollados anteriormente.

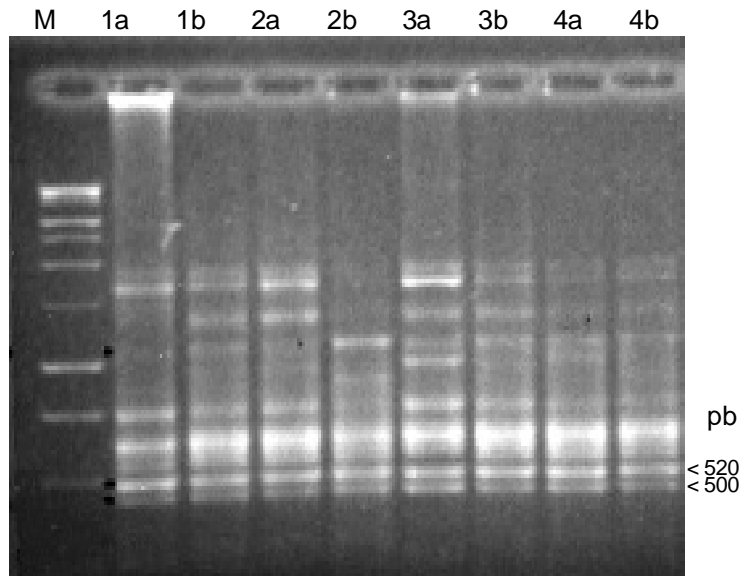
Patrones RAPD amplificados con el iniciador OPA19

Figura 1a. Patrones de amplificación de 10 variedades del INTA Junín (3). Se realizaron 2 reacciones por variedad, excepto para Changlot Real.



M: marcador fago lambda digerido con enzimas de restricción Eco RI y Hind III
 A: Empeltre E: Aloreña H: Arauco
 B: Farga F: Arbequina I: Nevadillo
 C: Frantoio G: Changlot Real J: Manzanilla de Carmona
 D: Manzanilla española

Figura 1b. Patrones amplificados por las muestras Arbequina de 4 viveros mendocinos.



M: marcador fago lambda digerido con enzimas de restricción Eco RI y Hind III.
 Las letras a y b indican cada una de las dos muestras de los viveros 1 al 4.
 Las flechas indican bandas polimórficas altamente reproducibles y su tamaño molecular, estimado en número de pares de bases.

I. *Material vegetal y extracción de ADN*

El material se recolectó a principios de 1997. De cada vivero se tomaron aleatoriamente 2 muestras de esquejes con hojas de las variedades Arbequina, Arauco, Empeltre, Aloreña y Farga. Para el muestreo se utilizó material de propagación que se encontraba en las camas de enraizamiento de cinco viveros comerciales de Mendoza, numerados aleatoriamente de 1 a 5. En el resto de esta comunicación se hará referencia a ellos solamente por su número. Cabe destacar que no todos los establecimientos comercializaban las 5 variedades anteriormente mencionadas.

Se extrajo el ADN de hojas jóvenes y sanas con el método de microextracción (5). La pureza -estimada como la relación de absorbancias a 260:280 nm- y la concentración de ADN se determinaron con un espectrofotómetro GeneQuanta (Pharmacia™). La integridad del ADN se analizó por electroforesis sobre minigel de agarosa (9).

II. *Condiciones de las reacciones de PCR*

Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 20 µl conteniendo:

- 10 mM Tris (pH 9.0),
- 1,5 mM MgCl₂
- 0,2 µM de de c/iniciador
- 10 pares de bases de longitud (Operon Techn Alameda. Cal. USA)
- 1 U Taq ADN polimerasa (Promega)
- de 60 a 80 ng ADN genómico
- 50 mM KCl
- 100 µM dNTP
- 0,1 % Triton X-100

El termociclador MJ Research PTC-100 fue programado en dos pasos:

1. desnaturalización a 94 °C por 3 minutos
45 ciclos a 92 °C por 30 segundos
35 °C por un minuto
y 72 °C por 2 minutos
2. extensión a 72 °C por 5 minutos

Los productos de amplificación se separaron por electroforesis a 5 V/cm sobre geles de agarosa al 1,5 % (P/V) en buffer TBE. Los geles se trataron con bromuro de etidio (0,5 µg/ml), se expusieron a luz ultravioleta y se fotografiaron con cámara Polaroid, usando película 667. Dado que la reproducibilidad de los marcadores RAPD empleados en el análisis fue previamente probada, no se realizaron repeticiones de cada reacción de PCR.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los 4 iniciadores permitieron la amplificación de 7 fragmentos diferenciales altamente reproducibles (tabla 1, pág. 19) para las 5 variedades ensayadas. El análisis de las bandas P.A.R. registró diferentes grados de homogeneidad en los materiales de los viveros mendocinos, según la variedad analizada.

a. *Variedad Arbequina*

De las variedades ensayadas, la comercializada con el nombre de Arbequina, o Arbequina catalana, mostró el mayor grado de homogeneidad varietal. Todas las muestras analizadas presentaron el mismo patrón de bandas diferenciales compartiendo, entre sí, el 100 % de los marcadores (tabla 2).

Tabla 2. Bandas RAPD amplificadas por las muestras de Arbequina de 5 viveros.

Marcadores	Arbequina INTA Junín	Muestras de viveros										A (%)	B (%)
		1a	1b	2a	2b	3a	3b	4a	4b	5a	5b		
OPB4-560 ^a	+ ^b	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100	85,7
OPB6-564	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
OPB14-580	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
OPB14-700	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
OPB14-1300	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
OPA19-500	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
OPA19-520	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		

a. Denominación de los marcadores: las letras y el número que les sigue corresponden a la serie de iniciadores de Operon. La cifra siguiente es la longitud, en pares de bases, del fragmento RAPD amplificado.

b. Bandas: (+) presencia y (-) ausencia.

El porcentaje de marcadores en común se realizó entre las muestras de viveros (A), comparándolas con su respectiva variedad del INTA Junín (B).

Los casilleros en gris muestran aquellos marcadores que presentaron diferencias respecto a Arbequina de Junín.

Estos datos sugieren que las muestras analizadas corresponden a un mismo genotipo. Para confirmar esta hipótesis serían necesarios más marcadores RAPD altamente reproducibles, así como otros más consistentes (AFLP o microsatélites). Las muestras de viveros compartieron 6 -de los 7 marcadores- con la variedad Arbequina del INTA Junín (Arbequina-J). El marcador OPA19-500 mostró diferencias entre las muestras de viveros y la del INTA Junín, indicando variabilidad genotípica entre ellas. La figura 1b (pág. 20) muestra los patrones de amplificación de todas las muestras de viveros con el iniciador OPA19 y las bandas P.A.R. El resto de las bandas polimórficas no se tuvo en cuenta debido que, bajo las condiciones de trabajo, presentaban baja reproducibilidad.

b. *Variedad Arauco*

Al igual que Arbequina, las muestras de viveros de Arauco evidenciaron alta homogeneidad varietal, compartiendo el 100 % de los marcadores entre sí (tabla 3, pág. 23). Cabe suponer que las muestras analizadas corresponderían a un mismo genotipo. Comparadas con la variedad Arauco del INTA Junín comparten el 85,7 % de los marcadores. La ausencia de la banda OPB14-580 en Arauco-J revela diferencias genotípicas, al menos en este locus, respecto a los materiales comercializados con el mismo nombre por los viveros. Las muestras de viveros de Arauco y Arbequina mostraron presencia de banda para todos los marcadores ensayados (tabla 2, pág. 22 y tabla 3).

Tabla 3. Bandas RAPD amplificadas por las muestras de Arauco de 4 viveros.

Marcadores	Arauco INTA Junín	Muestras de viveros										A (%)	B (%)
		1a	1b	2a	2b	3a	3b	4a	4b	5a	5b		
OPB4-560	+	+	+	sd	sd	+	+	+	+	+	+	100	85,7
OPB6-564	+	+	+	sd	sd	+	+	+	+	+	+		
OPB14-580	+	+	+	sd	sd	+	+	+	+	+	+		
OPB14-700	-	+	+	sd	sd	+	+	+	+	+	+		
OPB14-1300	+	+	+	sd	sd	+	+	+	+	+	+		
OPA19-500	+	+	+	sd	sd	+	+	+	+	+	+		
OPA19-520	+	+	+	sd	sd	+	+	+	+	+	+		

sd: sin datos + y -: como en tablas precedentes

Por ello, es imposible discriminar entre muestras de viveros de ambas variedades aplicando los 7 marcadores seleccionados. Este problema no aparece en las respectivas dos variedades provenientes del INTA Junín, las cuales presentan algunos marcadores diferenciales (tabla 1, pág. 19). Es necesario desarrollar nuevos marcadores RAPD altamente reproducibles que permitan distinguir entre ambos grupos de materiales de vivero y evitar eventuales confusiones. Asimismo sería conveniente denominar diferencialmente a los materiales Arauco y Arbequina comercializados por los viveros, respecto de las Arauco-J y Arbequina-J respectivamente.

c. Variedad Empeltre

Tabla 4. Bandas RAPD amplificadas por las muestras de Empeltre de 5 viveros.

Marcadores	Empeltre INTA Junín	Muestras de viveros										A (%)	B (%)
		1a	1b	2a	2b	3a	3b	4a	4b	5a	5b		
OPB4-560	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	94,3	77,1
OPB6-564	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
OPB14-580	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-		
OPB14-700	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
OPB14-1300	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
OPA19-500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
OPA19-520	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		

+ y -: como en tablas precedentes

El porcentaje de marcadores compartidos por las muestras de viveros fue, entre sí, del 94,3 % y con Empeltre-J, del 77,1 % (tabla 4).

Considerados solamente los materiales de vivero, se observó que los provenientes de los establecimientos 1 y 5 diferían de los tres restantes. Dichas diferencias obedecieron a variaciones de un solo marcador: OPB14-580. Por otro lado, las muestras 1a, 1b, 2a y 2b fueron las únicas que coincidieron, para ese mismo marcador, con Empeltre-J. Para el marcador OPB6-564, todas las muestras de vivero mostraron presencia de la banda, contrastando así con Empeltre-J, que no la amplificó.

Esto significa que los materiales analizados de vivero difieren de sus respectivas variedades del INTA Junín. La falta de homogeneidad varietal, en las muestras de vivero, estuvo dada por diferencias entre viveros. No hubo diferencias entre muestras de un mismo vivero.

d. *Variedad Farga*

Cuatro de las 6 muestras analizadas compartieron todos los marcadores (tabla 5). Las dos muestras del vivero 1 compartieron, entre sí, todos los marcadores RAPD pero mostraron diferencias, para el marcador OPB14-700, respecto de las muestras de los otros viveros. En principio, las muestras de los viveros 3 y 4 serían iguales, difiriendo ambas de las del vivero 1. No se localizaron diferencias entre las muestras de un mismo vivero. Los materiales de viveros, en su conjunto, compartieron, entre sí, el 95,9 % de los marcadores. Comparados con Farga-J, los materiales de viveros mostraron un alto porcentaje de marcadores en común (95,9 %) presentando diferencias con la primera en sólo uno (tabla 5). Las demás muestras de Farga no mostraron diferencias respecto a su homónimo del INTA Junín. Con-

Tabla 5. Bandas RAPD amplificadas por las muestras de Farga de 3 viveros.

Marcadores	Farga INTA Junín	Muestras de viveros										A (%)	B (%)
		1a	1b	2a	2b	3a	3b	4a	4b	5a	5b		
OPB4-560	+	+	+	sd	sd	+	+	+	+	sd	sd	95,9	95,9
OPB6-564	+	+	+	sd	sd	+	+	+	+	sd	sd		
OPB14-580	+	+	+	sd	sd	+	+	+	+	sd	sd		
OPB14-700	+	-	-	sd	sd	+	+	+	+	sd	sd		
OPB14-1300	+	+	+	sd	sd	+	+	+	+	sd	sd		
OPA19-500	+	+	+	sd	sd	+	+	+	+	sd	sd		
OPA19-520	-	-	-	sd	sd	-	-	-	-	sd	sd		

sd: sin datos

+ y -: como en tablas precedentes

secuentemente, salvo por las muestras del vivero 1, las demás podrían considerarse como el mismo genotipo correspondiente a Farga-J.

e. *Variedad Aloreña*

Las muestras de los viveros 1 y 3 compartieron todos los marcadores entre sí; por lo tanto, corresponderían a un mismo genotipo (tabla 6, pág. 25). Las dos muestras del vivero 4 presentaron diferencias entre sí y con las demás, siendo 4b la de mayor variación respecto de las muestras de los otros viveros. La comparación de las bandas amplificadas por 4a y 4b mostró diferencias en 3 de los 7 marcadores considerados. Esto indica que la muestra 4b sería un genotipo totalmente distinto al de 4a y también diferente al de las demás muestras de Aloreña. En conjunto, las muestras de viveros compartieron, entre sí, el 92,8 % de los marcadores. Comparadas con Aloreña-J, solamente la muestra 4a compartió todas las bandas diferenciales con la primera. Las demás presentaron diferencias, cuando menos, en un marcador, siendo 4b la que mayor variación. Por lo tanto, sólo una de las 6 muestras de viveros analizadas correspondería al mismo genotipo que Aloreña del INTA Junín.

Tabla 6. Bandas RAPD amplificadas por las muestras de Alorena de viveros.

Marcadores	Alorena INTA Junín	Muestras de viveros										A (%)	B (%)
		1a	1b	2a	2b	3a	3b	4a	4b	5a	5b		
OPB4-560	-	-	-	sd	sd	-	-	-	+	sd	sd	92,8	83,33
OPB6-564	+	+	+	sd	sd	+	+	+	+	sd	sd		
OPB14-580	-	+	+	sd	sd	+	+	-	+	sd	sd		
OPB14-700	+	+	+	sd	sd	+	+	+	+	sd	sd		
OPB14-1300	+	+	+	sd	sd	+	+	+	+	sd	sd		
OPA19-500	-	-	-	sd	sd	-	-	-	+	sd	sd		
OPA19-520	+	+	+	sd	sd	+	+	+	+	sd	sd		

sd: sin datos + y -: como en tablas precedentes

Tabla 7. Análisis de bandas P.A.R., generadas por las muestras de los viveros. Homogeneidad varietal y su comparación con las variedades del INTA Junín.

Variedad	Muestras de viveros		Comparación c/ INTA Junín	
	A	B	C	D
Arbequina	100	1	0	1
Arauco	100	1	0	1
Empeltre	60	2	0	2
Farga	66,6	2	66,6	1
Aloreña	66,6	3	16,6	3

- A.** Porcentaje de muestras de viveros que comparten el mismo patrón de bandas diferenciales
- B.** Cantidad de patrones de bandas diferenciales diferentes
- C.** Porcentaje de muestras de vivero que comparten todos los marcadores con su respectiva variedad del INTA Junín.
- D.** Número de marcadores para los cuales se encontraron diferencias entre las muestras de vivero y la variedad del INTA Junín.

CONCLUSIONES

★ De las 5 variedades ensayadas, sólo Arbequina y Arauco mostraron total homogeneidad en los marcadores amplificados. A su vez, ambas se diferenciaron - en uno de los marcadores- de sus respectivas variedades del INTA Junín. Esta falta de correspondencia en los marcadores OPB14-700 (para Arauco) y OPA19-500 (para Arbequina) implicó que las bandas P.A.R., desarrolladas originalmente para las variedades del INTA Junín, no pudieran ser utilizadas para distinguir materiales de vivero de ambas variedades.

★ Las muestras de viveros de Empeltre, Aloreña y Farga -al menos en dos de ellas- presentaron diferencias con el resto de ellas en -cuando menos- un marcador. Por lo tanto, el material comercializado no es completamente homogéneo en cuanto a su genotipo. Aloreña fue la variedad con la mayor heterogeneidad entre sus muestras de vivero, reconociéndose 3 patrones de bandas P.A.R. diferentes. Asimismo fue la única que mostró diferencias intra-vivero. Es posible que las diferencias intra e inter-viveros se deban a la utilización de plantas madres con mayor o menor grado de variación genotípica pero cuyo fenotipo responde, en términos generales, al tipo varietal.

★ Todas las variedades comercializadas por los viveros mostraron diferencias, en alguno de los marcadores, con las variedades de igual nombre del INTA Junín. El porcentaje de muestras con patrones diferentes a los de sus respectivas variedades del INTA Junín varió de 33 % (para Farga) al 100 % (para Arbequina, Arauco y Empeltre).

★ Consecuentemente, el ordenamiento del panorama varietal del olivo no debería asentarse exclusivamente sobre caracterizaciones morfológicas, influenciadas por el ambiente, sino sobre marcadores moleculares, exentos de la misma. La fácil y segura identificación de los genotipos promoverá materiales comercializados más valiosos, asegurando su genuinidad. Nuevas denominaciones, para distinguir algunos materiales de otros parecidos pero de menor valor cultural, mejorará la calidad de la población olivícola argentina.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barranco, D. y Rallo, L. 1984. Variedades de olivo cultivadas en Andalucía. Dpto. de Pomología. Univ. de Córdoba. España. pp. 107-111.
2. Barranco, D. 1997. Variedades y patrones. En: D. Barranco y R. Fernández-Escobar. El cultivo del olivo. Mundiprensa. Madrid. pp. 59-80.
3. Cavagnaro, P. et al. 2001. Discriminación de variedades de olivo a través del uso de caracteres morfológicos y marcadores moleculares. Agriscientia. Vol. XVIII:27-35.
4. Cresti, M. et al. 1996. Preliminary communication about the identification of DNA in leaves and olive oil of *Olea europea*. Adv. Hort. Sci. 10: 105-107.
5. Dellaporta, S. L. et al. 1983. A plant DNA minipreparation (version II). Plant. Mol. Biol. Reporter. 1:19-21.
6. Fabbri, A. et al. 1995. Random amplified polymorphic DNA analysis of olive (*Olea europea* L.) cultivars. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 120(3): 538-542.
7. Fontanazza, G. 1993. Olivicultura intensiva meccanizzata. Edagricole. Bologna. 112-118 pp.
8. Loomis, W. D. y Bataille, J. 1966. Plant phenolic compounds and the isolation of plants enzymes. Phytochemistry, 5:423-438.
9. Maniatis, T. et al. 1982. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor. NY. USA. pp 6.14-15.
10. Mekuria, G. T. et al. 1999. Genetic variability between different accessions of some common commercial olive cultivars. J. Hort. Sc. and Biotech. 74 (3) 309-314.
11. Pratavia, A. G. 1998. Olivo: el germoplasma argentino. Olivae. 70: 32-35.
12. Rallo, L. 1995. Selección y mejora genética del olivo en España. Olivae. 59: 46-53.
13. Tacchini, J. 1999. Análisis de la situación económica actual y perspectiva futura de la olivicultura argentina. 4to Simp. Intern. Olivicultura.
14. Vergari, G. et al. 1996. Utilización de los marcadores RAPD para la caracterización del germoplasma de olivo. Olivae. 60: 19-22.
15. _____ 1998. Utilización de los marcadores RAPD para la discriminación de variedades de olivo pertenecientes a la población varietal de Frantoio. Olivae.73: 31-36.

Agradecimientos

A los Sres. Gómez de la Torre, Corvalán, Pauletti y Zanneti por la cesión de material de sus viveros.