

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

ESTUDIOS DE LAS VARIEDADES DE *Olea europaea* L.  
ESTABLECIDAS EN URUGUAY, CON ÉNFASIS EN SU HISTORIA,  
CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, Y DIVERSIDAD GENÉTICA  
A PARTIR DE MARCADORES MOLECULARES

por

Sylvia Alejandra LÓPEZ CASTIGLIONI  
Verónica Alejandra SILVEIRA SILVA

TESIS presentada como uno de  
los requisitos para obtener el  
título de Ingeniero Agrónomo.

MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2011

Tesis aprobada por:

Director

-----  
Ing. Agr. MSc. Gabriela Pagliano

-----  
Lic. MSc. Jorge Pereira

-----  
Ing. Agr. Gianfranca Camussi

Fecha:

22 de diciembre de 2011

Autor:

-----  
Sylvia Alejandra López Castiglioni

-----  
Verónica Alejandra Silveira Silva

## AGRADECIMIENTOS

Esta tesis fue enmarcada dentro del Proyecto DICyT S/PSP/01/28: "Prospección y Caracterización de variedades de (*Olea europaea* L.) mediante el uso de microsatélites y caracteres morfológicos". Deseamos agradecer a los directores de tesis por su constante apoyo y colaboración en la realización de este trabajo. Del mismo modo debemos agradecer a productores y viveristas, por su atención y material suministrado, ya que se trata del único antecedente a nivel nacional. Además debemos considerar el apoyo invaluable de nuestras familias durante el tiempo empleado en esta propuesta.

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	IX
1. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....	1
1.1 <u>CONCEPTOS GENERALES</u> .....	1
1.2 <u>OBJETIVOS</u> .....	2
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u> .....	3
2.1 <u>CARACTERÍSTICAS DE LA ESPECIE</u> .....	3
2.1.1 <u>Clasificación taxonómica</u> .....	3
2.1.2 <u>Descripción botánica</u> .....	6
2.1.3 <u>Biología reproductiva</u> .....	8
2.1.4 <u>Estructuras reproductivas</u> .....	9
2.1.4.1 <u>La inflorescencia</u> .....	9
2.1.4.2 <u>La flor</u> .....	10
2.1.4.3 <u>El fruto</u> .....	10
2.1.5 <u>Distribución a nivel mundial</u> .....	11
2.1.6 <u>Situación de la olivicultura en el Uruguay</u> .....	15
2.1.7 <u>Variedades y usos</u> .....	18
2.1.8 <u>Referencias históricas del uso del olivo</u> .....	18
2.1.9 <u>Uso actual y propiedades del olivo</u> .....	19
2.2 <u>DIVERSIDAD GENÉTICA</u> .....	21
2.2.1 <u>Poblaciones naturales de <i>Olea europaea</i></u> .....	21
2.2.2 <u>Historia del cultivo y su difusión</u> .....	23
2.2.3 <u>Inicio del cultivo en Uruguay</u> .....	29
2.3 <u>MARCADORES APLICABLES EN ESTUDIOS DE DIVERSIDAD</u> .....	37
2.3.1 <u>Marcadores morfológicos</u> .....	37
2.3.2 <u>Antecedentes morfológicos</u> .....	38
2.3.3 <u>Marcadores moleculares</u> .....	40
2.3.4 <u>Microsatélites</u> .....	44
2.3.5 <u>Antecedentes en <i>Olea europaea</i></u> .....	45
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u> .....	48
3.1 <u>PROSPECCIÓN</u> .....	48
3.2 <u>ENTREVISTA</u> .....	50
3.3 <u>METODOLOGÍA DE MUESTREO</u> .....	51

3.4 METODOLOGÍA DE RECOPIACIÓN DE DATOS HISTÓRICOS.....	52
3.5 ALMACENAMIENTO DEL MATERIAL.....	53
3.6 REGISTRO DE MUESTRAS.....	53
3.7 MATERIAL DE REFERENCIA PARA ESTUDIO MORFOLÓGICO.....	54
3.8 MATERIAL DE REFERENCIA PARA ESTUDIO MOLECULAR.....	54
3.9 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA.....	54
3.9.1 <u>Caracterización de hoja</u> .....	55
3.9.1.1 Forma.....	55
3.9.1.2 Longitud.....	56
3.9.1.3 Ancho.....	56
3.9.1.4 Curvatura longitudinal del limbo.....	56
3.9.2 <u>Caracterización de fruto</u> .....	57
3.9.2.1 Forma (en posición A).....	57
3.9.2.2 Simetría (en posición A).....	58
3.9.2.3 Posición del diámetro transversal máximo (en posición B).....	58
3.9.2.4 Ápice (en posición A).....	59
3.9.2.5 Base (en posición A).....	59
3.9.2.6 Pezón.....	60
3.9.3 <u>Caracterización de endocarpo</u> .....	60
3.9.3.1 Forma (en posición A).....	61
3.9.3.2 Simetría (en posición A).....	61
3.9.3.3 Posición del diámetro transversal máximo (en posición B).....	62
3.9.3.4 Ápice (en posición A).....	62
3.9.3.5 Base (en posición A).....	62
3.9.3.6 Terminación del ápice.....	63
3.10 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR-MICROSATÉLITES.....	63
3.10.1 <u>Extracción y cuantificación de ADN</u> .....	63
3.10.2 <u>Selección de microsatélites</u> .....	65
3.10.3 <u>PCR (Polymerase Chain Reaction) y electroforesis</u> .....	67
3.11 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE RESULTADOS OBTENIDOS.....	67
4. RESULTADOS.....	70
4.1 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HOJA.....	70
4.1.1 <u>Comparación del carácter forma de hoja a nivel de variedades</u> .....	70
4.1.2 <u>Comparación del carácter forma de hoja por sitio de colecta</u> .....	74

4.1.3 <u>Comparación del carácter forma de hoja entre sitios de colecta</u> .....	82
4.1.4 <u>Comparación de medias de forma de hoja de muestras colectadas (T test P. Statística)</u> .....	86
4.2 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE FRUTO.....	89
4.2.1 <u>Comparación de los caracteres de frutos por sitio de colecta</u> .....	89
4.2.2 <u>Comparación de los caracteres de fruto entre los sitios de colecta</u> .....	92
4.2.3 <u>Comparación de los caracteres de fruto a nivel de variedades</u> .....	93
4.2.4 <u>Comparación de los estados de los caracteres del fruto obtenidos en las muestras identificadas a nivel varietal con la información de referencia</u> .....	95
4.3 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE ENDOCARPO.....	100
4.3.1 <u>Comparación de caracteres de endocarpo por sitio de colecta</u> .....	100
4.3.2 <u>Comparación de caracteres de endocarpo entre sitios de colecta</u> .....	105
4.3.3 <u>Comparación de caracteres de endocarpo a nivel de variedades</u> .....	107
4.3.4 <u>Agrupamiento de las muestras de endocarpo por igualdad en los estados de cada característica</u> .....	110
4.3.5 <u>Dendograma de endocarpo</u> .....	117
4.3.6 <u>Comparación de los estados de los caracteres de endocarpo de muestras de variedades conocidas con información de referencia</u> .....	120
4.3.7 <u>Comparación de los estados en los caracteres de endocarpo de muestras no identificadas con información de referencia</u> .....	123
4.4 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR.....	127
4.4.1 <u>Patrones de bandas obtenidos a partir de los pares de cebadores utilizados</u> .....	127
4.4.2 <u>Tamaño (pb) y frecuencia de alelos (%) obtenidos en los diferentes cebadores para el total de muestras</u> .....	128
4.4.3 <u>Tamaño (pb) y porcentaje de bandas polimórficas</u> .....	130

4.4.4 <u>Perfil de bandas (pb) obtenido para cada sitio de colecta con los distintos pares de cebadores</u> .....	131
4.4.5 <u>Comparación de los fragmentos amplificados (pb) entre sitios de colecta para los diez pares de cebadores</u> .....	140
4.4.6 <u>Comparación de los fragmentos amplificados (pb) dentro de cada sitio de colecta para los cebadores UDO99-028 y UDO99-014</u> .....	144
4.4.7 <u>Comparación de los fragmentos amplificados (pb) entre variedades de Los Ranchos y Santa Rosa para los diez pares de cebadores</u> .....	145
4.4.8 <u>Comparación de los fragmentos amplificados (pb) entre variedades de Los Ranchos para el cebador UDO99-028</u> .....	147
4.4.9 <u>Comparación de los fragmentos amplificados (pb) para tres pares de cebadores entre muestras de la variedad Arbequina</u> .....	147
4.4.10 <u>Comparación de los fragmentos amplificados (pb) entre muestras de la variedad Arbequina de tres sitios de colecta con seis cebadores</u> .....	149
4.4.11 <u>Productos de amplificación obtenidos con el par de cebadores UDO99-028 para once variedades</u> .....	152
4.4.12 <u>Comparación de los perfiles de bandas (pb) de las muestras de vivero Santa Rosa y Viña Varela Zarranz con el perfil de referencia para Frantoio</u> .....	152
4.4.13 <u>Comparación del perfil de bandas (pb) obtenido para el total de pares de cebadores de variedades comerciales con datos de referencia</u> .....	153
4.4.14 <u>Estimación de la distancia Jaccard para las diferentes variedades y sitios de colecta</u> .....	155
5. <u>DISCUSIÓN</u> .....	158
5.1 <u>CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA</u> .....	158
5.1.1 <u>Análisis de hoja</u> .....	158
5.1.2 <u>Análisis de fruto</u> .....	160
5.1.3 <u>Análisis de endocarpo</u> .....	162
5.2 <u>CARACTERIZACIÓN MOLECULAR</u> .....	165
5.2.1 <u>Análisis molecular</u> .....	165

6. <u>CONCLUSIONES</u> .....	170
7. <u>RESUMEN</u> .....	172
8. <u>SUMMARY</u> .....	173
9. <u>BIBLIOGRAFÍA</u> .....	174
10. <u>ANEXOS</u> .....	194

## LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Características generales de los marcadores moleculares.....	43
2. Identificación y localización de los lugares prospectados.....	51
3. Secuencias de cebadores de 10 microsatélites para “ Frantoio” .....	66
4. Estadística descriptiva de forma de hoja (largo/ ancho) por variedad de muestras colectadas en Viña Varela Zarranz y establecimiento Los Ranchos.....	71
5. Comparación de medias (T-test) de muestras colectadas en Viña Varela Zarranz y Los Ranchos.....	73
6. Comparación de varianza (%) entre y dentro de muestras colectadas en Viña Varela Zarranz y Los Ranchos.....	73
7. Estadística descriptiva de forma de hoja (largo/ ancho) de muestras colectadas en EEFAS.....	74
8. Comparación de medias (T-test) de muestras colectadas en EEFAS.....	76
9. Comparación de varianza (%) de muestras colectadas en EEFAS.....	76
10. Estadística descriptiva de forma de hoja (largo/ ancho) de muestras colectadas en ex Quinta de Posse.....	77
11. Comparación de medias (T-test) de muestras colectadas en ex Quinta de Posse.....	80
12. Comparación de varianza de muestras colectadas en ex Quinta de Posse.....	81
13. Estadística descriptiva de forma de hoja (largo/ ancho) por sitio de colecta.....	83
14. Comparación de medias (T- test) de muestras por sitio de colecta.....	85
15. Comparación de varianza (%) entre y dentro de sitios de colecta.....	86
16. Test para muestras dependientes comparadas con variedades del establecimiento Los Ranchos.....	88
17. Estados de los caracteres del fruto analizados por muestra colectada en EEFAS.....	89

18. Estados de los caracteres del fruto analizados por muestra colectada en ex Quinta de Pose.....	90
19. Estados de los caracteres del fruto analizados por muestra colectada en el establecimiento Los Ranchos.....	91
20. Porcentaje en que aparecen los diferentes estados de los caracteres del fruto en cada sitio de colecta.....	93
21. Porcentaje en que aparecen los diferentes estados para cada uno de los caracteres del fruto analizados a nivel de variedades.....	95
22. Comparación de los caracteres obtenidos del fruto de la variedad analizada Taggiasca con la información de referencia.....	97
23. Comparación de los caracteres obtenidos del fruto de la variedad analizada Leccino con la información de referencia.....	97
24. Comparación de los caracteres obtenidos del fruto de la variedad analizada Arbequina con la información de referencia.....	98
25. Comparación de los caracteres obtenidos del fruto de la variedad analizada Pendolino con la información de referencia.....	98
26. Comparación de los caracteres obtenidos del fruto de la variedad analizada Manzanilla con la información de referencia. ....	98
27. Comparación de los caracteres obtenidos del fruto de la variedad analizada Sevillana con la información de referencia.....	99
28. Comparación de los caracteres obtenidos del fruto de la variedad analizada Razzo con la información de referencia .....	99
29. Comparación de los caracteres obtenidos del fruto de la variedad analizada Razzo con la información de referencia .....	99
30. Estados de los caracteres de endocarpo analizados por muestra colectada en EEFAS.....	101
31. Estados de los caracteres de endocarpo analizados por muestra colectada en ex Quinta de Posse.....	102
32. Estados de los caracteres de endocarpo analizados por muestra colectada en el establecimiento Los Ranchos.....	104
33. Caracterización de los sitios de colecta a través de seis caracteres de endocarpo.....	106
34. Porcentaje en que aparecen los diferentes estados para cada uno de los caracteres del endocarpo analizados a nivel de variedades.....	109
35. Agrupamiento de las muestras de endocarpo por coincidencia en los estados de cada característica.....	111
36. Agrupamiento de las muestras de endocarpo por coincidencia en los estados de cada característica.....	112
37. Agrupamiento de las muestras de endocarpo por coincidencia en los estados de cada característica.....	113
38. Agrupamiento de las muestras de endocarpo por coincidencia en los estados de cada característica.....	114

39. Agrupamiento de las muestras de endocarpo por coincidencia en los estados de cada característica.....	114
40. Agrupamiento de las muestras de endocarpo por coincidencia en los estados de cada característica.....	115
41. Agrupamiento de las muestras de endocarpo por coincidencia en los estados de cada característica.....	116
42. Agrupamiento de las muestras de endocarpo por coincidencia en los estados de cada característica.....	116
43. Comparación de los estados de caracteres obtenidos del endocarpo de la variedad analizada Taggiasca con la información de referencia.....	121
44. Comparación de los estados de caracteres obtenidos del endocarpo de la variedad analizada Leccino con la información de referencia.....	121
45. Comparación de los estados de caracteres obtenidos del endocarpo de la variedad analizada Arbequina con la información de referencia.....	121
46. Comparación de los estados de caracteres obtenidos del endocarpo de la variedad analizada Pendolino con la información de referencia.....	122
47. Comparación de los estados de caracteres obtenidos del endocarpo de la variedad analizada Manzanilla con la información de referencia.....	122
48. Comparación de los estados de caracteres obtenidos del endocarpo de la variedad analizada Sevillana con la información de referencia.....	122
49. Comparación de los estados de caracteres obtenidos del endocarpo de la variedad analizada Razzo con la información de referencia.....	123
50. Comparación de los estados de caracteres obtenidos del endocarpo de la variedad analizada Razzo con la información de referencia para Frantoio.....	123
51. Caracterización de las muestras analizadas a través de seis caracteres del endocarpo para la variedad Arbequina.....	124
52. Caracterización de las muestras analizadas a través de seis caracteres del endocarpo para la variedad Frantoio.....	125
53. Caracterización de las muestras analizadas a través de seis caracteres del endocarpo para la variedad Leccino.....	125
54. Caracterización de las muestras analizadas a través de seis caracteres del endocarpo para las variedades Sevillana y Gordal Sevillana o Sevillano.....	125
55. Caracterización de las muestras analizadas conjuntamente a través de doce caracteres de endocarpo y fruto. ....	126

56. Comparación entre el rango obtenido y el esperado para cada cebador y el perfil de Frantoio.....	127
57. Tamaño (pb) y frecuencia (%) de los alelos obtenidos para los diez pares de cebadores analizados en el total de individuos.....	129
58. Rango de tamaño de bandas polimórficas porcentaje de polimorfismo para cada cebador.....	130
59. Perfil de bandas (pb) obtenido en muestras del sitio de colecta de EEFAS (Salto) para los distintos pares de cebadores.....	132
60. Perfil de bandas (pb) obtenido en muestras del sitio de colecta Quebrada del Castillo .....	133
61. Perfil de bandas (pb) obtenido en muestras del sitio de colecta ex Quinta de Canessa para los distintos pares de cebadores.....	135
62. Perfil de bandas (pb) obtenido en muestras del sitio de colecta ex Quinta de Posse para los distintos pares de cebadores.....	136
63. Perfil de bandas (pb) obtenido en muestras del sitio de colecta Coronel Raíz para los distintos pares de cebadores.....	137
64. Perfil de bandas (pb) obtenido en muestras del sitio de colecta Quinta de Arteaga para los distintos pares de cebadores.....	139
65. Perfil de bandas (pb) obtenido para todos los sitios muestreados.....	141
66. Perfil de bandas (pb) obtenido en establecimiento Los Ranchos y vivero Santa Rosa para los distintos pares de cebadores.....	146
67. Comparación del rango (pb) obtenido en muestras de cuatro sitios con el rango observado para cada cebador.....	151
68. Comparación de la variedad Frantoio procedente del vivero Santa Rosa y muestra de Viña Varela Zarranz con datos de referencia.....	153
69. Perfiles de bandas obtenidos en muestras de diferentes variedades del establecimiento Acción Forestal (Casupá -Florida) y el rango observado para cada cebador.....	154

#### Figura No.

1. Distribución y relación entre taxones de <i>Olea</i> .....	6
2. Área de cultivo del olivo a nivel mundial.....	12
3. Evolución del área plantada (miles de ha) a nivel mundial.....	13
4. Producción y consumo de aceite de oliva a nivel mundial.....	14
5. Área de cultivo del olivo en el Uruguay .....	17
6. Ubicación de la zona de Levante y Mar Egeo.....	25

7. Ruta de dispersión del olivo.....	26
8. Esquema del origen de las variedades de olivo.....	28
9. Los primeros ranchos construidos en el Miguelete.....	30
10. Ex Granja Pons con olivos de 1895 actual Viña Varela Zarranz (Depto. de Canelones).....	34
11. Entrada a la Viña “Varela Zarranz” en el año 2011.....	34
12. Ubicación de los sitios de colecta en los deptos: Maldonado, Canelones, Salto, y Río Negro (imagen modificada de Google Earth).....	49
13. Mapa satelital de los sitios de colecta en el Depto. de Mdeo (imagen modificada de Google Earth).....	49
14. Sitios de colecta: a) Ex Quinta de Canessa, b) Calle Cnel. Raíz, c) Quinta de Arteaga (árbol y detalle del fruto), d) Ex Escuela Jackson, e) Quebrada del Castillo, f) Viña Varela Zarranz.....	50
15. Forma de hoja.....	56
16. Curvatura longitudinal del limbo.....	57
17. Forma de fruto (en posición A).....	58
18. Simetría del fruto (en posición A) .....	58
19. Posición del diámetro transversal máximo (en posición B) del fruto.....	59
20. Ápice del fruto (en posición A).....	59
21. Base del fruto en (en posición A).....	60
22. Estados del pezón del fruto.....	60
23. Forma del endocarpo (en posición A).....	61
24. Simetría del endocarpo (en posición A).....	61
25. Posición del diámetro transversal máximo del endocarpo (en posición B).....	62
26. Ápice del endocarpo (en posición A).....	62
27. Base del endocarpo (en posición A).....	63
28. Terminación del ápice del endocarpo.....	63
29. Dispersión de valores del descriptor l/a por árbol de variedades de olivos localizados en los establecimientos Los Ranchos y Viña Varela Zarranz.....	72
30. Dispersión de valores del descriptor l/a por árbol de olivos localizados en EEFAS.....	75
31. Dispersión de valores del descriptor l/a por árbol de olivos localizados en ex Quinta de Pose.....	79
32. Dispersión de valores del descriptor l/a por sitio de colecta.....	84
33. UPGMA a partir de 17 estados de endocarpo de los diferentes sitios de colecta.....	119
34. Productos de PCR de Var. Frantoio con diferentes cebadores.....	128

35. Productos PCR con el cebador UDO99-028 aplicados a las muestras de la Quinta de Arteaga (Montevideo Rural).....	144
36. Productos PCR con el cebador UDO99-028 en muestras provenientes de la ex Escuela Jackson (Canelones).....	144
37. Productos PCR con el cebador UDO99-014 en siete muestras provenientes de cuatro sitios de colecta del sur y sureste del país.....	145
38. Productos PCR con el cebador UDO99-028 empleado con muestras de variedades provenientes del establecimiento Los Ranchos.....	147
39. Productos de amplificación con par de cebadores UDO99-014.....	148
40. Productos de amplificación con par de cebadores UDO99-028.....	148
41. Productos de amplificación con el par de cebadores UDO99-043.....	149
42. Productos de amplificación con par de cebadores UDO99-28.....	152
43. Patrones de bandas generados por el par de cebadores UD099-28 (1-8) y UD099-31 (9-16). ....	155
44. Dendrograma obtenido a partir de distancias de Jaccard aplicando el algoritmo UPGMA con diez pares de cebadores para los sitios de colecta.....	157

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 CONCEPTOS GENERALES

El olivo *Olea europaea* L., es un importante cultivo cuyo origen se remonta probablemente a más de 3000 años sobre la ribera del Mar Mediterráneo (Boskou, citado por Beltrán et al., 2005), utilizado en la producción de aceite y como alimento humano (Wu et al., 2004). Se encuentra entre los árboles más antiguos que se han cultivado en el mundo (Liphschitz et al., citados por Kapellakis et al., 2008). Actualmente mantiene su importancia encontrándose olivares en regiones como Estados Unidos, Argentina, Nueva Zelanda o Australia. Su hábitat está determinado por el clima mediterráneo, localizado entre los paralelos 30° y 45° de ambos hemisferios (Trujillo y Barranco, 2004).

Existe un gran número de cultivares de olivos alrededor del mundo estimándose alrededor de 1200 con más de 3000 sinonimias (Rugini y Lavee, citados por Lopes et al., 2004). Ésto lleva a la necesidad de la correcta identificación de las diferentes cultivares por lo que actualmente se dispone de una gran cantidad de medios y técnicas para diferenciarlos. A nivel mundial existen 1400 millones de olivos plantados de los cuales un 68,89% se ubican en Europa, un 18,03% en África, un 9,88% en Asia, un 2,7% en América y un 0,5% en Oceanía (COI, citado por Vilar et al., 2010).

En Uruguay en los últimos ocho años se han plantado aproximadamente 8000 ha, con una proyección para los próximos tres años de 3000 ha adicionales (Villamil et al., 2010). Estos indicadores son una muestra de la dinámica de este sector agropecuario que se encuentra actualmente en un momento de máximo desarrollo, tanto a nivel de nuevas plantaciones como en la instalación de almazaras de gran nivel tecnológico (plantas para extracción de aceite) y una capacidad de procesamiento acorde a los niveles de producción (Peverelli, 2008a).

El cultivo del olivo se incentivó a partir de la promulgación de la Ley Cannesa (1937) la cual proporcionaba una serie de beneficios y estímulos a la producción (Urbina, 1938). En los años posteriores a la vigencia de dicha ley, surgieron varios emprendimientos olivareros en distintos lugares del país, como el Mercado Olivarero del Uruguay con plantaciones en el departamento de San José (Mercado Olivarero, 1950). Otras explotaciones importantes se establecieron en el litoral del país en los departamentos de Paysandú (650 ha) y Río Negro (100 ha) Tous et al. (2005). Acompañando este desarrollo de la olivicultura se establecieron varias almazaras en el país, como por ejemplo el

establecimiento Urreta S.A (departamento de Salto) (Una empresa... 2007), CAODUSA S.A. en la localidad de Fray Marcos en el departamento de Florida (Montañez, s.f.).

De estas plantaciones establecidas en el país, se desconoce su identidad varietal, procedencia, tipo de propagación lo que imposibilita saber como se han adaptado a las condiciones climáticas y edáficas de los distintos puntos del país donde se localizan y continúan la mayoría de ellos en producción, por lo que constituyen un excelente material de estudio.

A nivel productivo resulta necesario realizar una identificación de estos olivos mediante una caracterización genética y morfológica. Los marcadores moleculares de tipo microsatélites (Cipriani et al., 2002) y los morfológicos adoptados como estándares de clasificación (Barranco et al., 2000) para el Comité Oleícola Internacional, basados en el análisis de hoja, fruto y endocarpo, proporcionan información precisa que permite conocer aspectos de las características agronómicas y de crecimiento del cultivo (Cavagnaro et al., 2001). Teniendo en cuenta que desde hace varias décadas existe en el mundo un número reducido de variedades de olivo en producción, en el marco de esta línea de trabajo se realizó la tesis, que tiene como objetivo caracterizar el material colectado de “viejos montes”, para obtener una identificación varietal acorde a las exigencias actuales en el mercado.

## 1.2 OBJETIVOS

Se plantean los siguientes objetivos: historiar a nivel internacional y nacional el cultivo de *Olea europaea* L. y caracterizar a nivel morfológico y molecular los distintos montes implantadas en nuestro país.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 CARACTERÍSTICAS DE LA ESPECIE

#### 2.1.1 Clasificación taxonómica

El olivo, *Olea europaea* L., pertenece a la familia Oleaceae y al orden Lamiales (Oxelman et al., Bremer, Olmsted, citados por Sher y Weber, 2009). La familia Oleaceae comprende más de 30 géneros y 600 especies que en su mayoría son árboles y arbustos (Cronquist, citado por Bracci et al., 2011), distribuidas naturalmente por las regiones tropicales y templadas del mundo (Trujillo y Barranco, 2004). Habiendo sido incluida en diferentes órdenes, actualmente existe acuerdo en que derivan del orden Lamiales, como una de las primeras familias divergentes (Oxelman et al., Bremer et al., Olmstead et al., citados por Sher y Weber, 2009). Esta especie en particular es la única que produce fruta comestible, por lo que es cultivada desde la antigüedad con fines de extracción de aceite y producción de aceitunas para consumo de mesa según (Sofo et al., Wu et al., citados por Mora et al., 2007).

Trabajos realizados por Green y Wickens, citados por Rallo et al. (2003) indican que el olivo pertenece al género *Olea* el cual está dividido en dos subgéneros *Olea* y *Paniculatae*. Green, citado por Rubio de Casas et al. (2006) describen al género *Olea* incluyendo 40 taxas distribuidas a través de África, Europa, Asia y Oceanía. Sin embargo, Moutier et al. (2006) los clasifica dentro de tres subgéneros: *Paniculatae*, *Tetrapilus* y *Olea*. Ambos autores coinciden que el subgénero *Olea* está dividido en dos secciones: *Olea* y *Ligustroides*.

Según Breton et al., citados por Moutier et al. (2006) al describir la biogeografía de los taxa indica que la sección *Olea* incluye el complejo *O. europaea* L. para englobar a los olivos del Mediterráneo. La revisión taxonómica del género *Olea* incluyó a la mayoría de las especies del área mediterránea de África y Asia en cuatro especies dentro del complejo: *Olea europaea*, *Olea capensis*, *Olea woodiana*, *Olea lancea* como lo indica la Figura 1.

Dentro de *Olea europaea* L., existen seis subespecies que han sido definidas usando caracteres morfológicos (Green y Wickens, Vargas et al., Green, citados por Besnard et al., 2002). Cada una de esas subespecies tienen distribución específica: *O. europaea* subsp. *europaea* corresponde al olivo mediterráneo, Besnard et al. (2002), *O. europaea* subsp. *maroccana* en el sur y oeste de Marruecos, *O. europaea* subsp. *laperrini* en las montañas del Sahara, *O. europaea* subsp. *ceraciformis*, en la Isla Madeira, *O. europaea* subsp.

*guanchica* en las Islas Canarias y *O. europaea* subsp. *cuspidata* que se distribuye desde el sur de África al sur de Egipto y desde Arabia hacia el Norte de India y suroeste de China (Green, citado por Bracci et al., 2011). De acuerdo a los trabajos realizados por Quézel, citado por Besnard et al. (2002) todas estas taxas se suponen que son interfértiles con el olivo mediterráneo.

Los autores Green y Wickens, citados por Angiolillo et al. (1999) incluyeron a la mayoría de las especies del complejo *Olea* dentro de la especie *O. europaea*, en base a caracteres morfológicos, cariológicos, anatómicos, palinológicos y evidencias bioquímicas. Sin embargo, Zohary, citado por Angiolillo et al. (1999) manifestó el aislamiento geográfico de *O. africana*, *O. chrysophylla* y *O. ferruginea* y diferencias morfológicas de *O. europaea* justificando completamente su clasificación como especie independiente. Besnard et al. (2002) estableció la presencia de *O. europaea* subsp *africana* del sur este africano, *O. europaea* subsp *chrysophylla* desde el este de África a Arabia. Loukas y Krimbas, citados por Angiolillo et al. (1999) afirmaron que *O. laperrinei* es una forma intermedia entre *O. europaea* y *O. chrysophylla*.

Dentro del género *Olea* hay 35 especies de plantas incluido el olivo *Olea europaea* L. se encuentran todas las variedades cultivadas de olivos de relevancia económica y agrícola y también los olivos silvestres (acebuches). Hay diferencias de opinión de como subclasificar dentro de la especie, pero generalmente se considera que los olivos cultivados pertenecen a la subespecie *sativa* y que los olivos silvestres (acebuches) a la subespecie *sylvestris* (Laguna 2007, Rapoport 2008). En el Mediterráneo existen dos formas de olivo: olivo silvestre (*Olea europaea*. subsp. *europaea* var. *sylvestris*) y olivo cultivado (*Olea europaea*. subsp. *europaea* var. *europaea*) coexistiendo en muchas áreas ambas especies Bracci et al. (2011).

Los olivos silvestres incluyen los verdaderos oleaster (verdaderas formas silvestres presentes en áreas naturales) y formas feral las cuales pueden proceder de semillas de clones cultivados o productos de la hibridación entre los verdaderos olivos silvestres y los cultivares (Zohary y Hopf, Angiolillo et al., Lumaret et al., citados por Belaj et al., 2007). Según Scheepens y Excursion (2008) formas feral es la mezcla de de *Olea europaea* subsp. *europaea* var. *sylvestris* x *Olea europaea* subsp. *europaea* var. *europaea*. Por lo tanto las formas feral y oleaster contribuyen a la variabilidad de *O. europaea* según Sefc et al. (2000). La distinción morfológica entre estas dos formas se dificulta debido a su fenotipo similar (Bronzini de Caraffa et al., citados por Belaj et al., 2007).

*O. europaea* es la única especie de la familia Oleaceae con fruto, una drupa, que es comestible (Rapoport, 2008). El olivo cultivado es un exponente de la cultura mediterránea, por su valor agronómico constituye parte esencial de

los valores ecológicos y paisajísticos del ámbito mediterráneo, como se ha expresado en la E-Conference sobre Biodiversidad en la región mediterránea (Freitas, citado por Hernández et al., 2004).

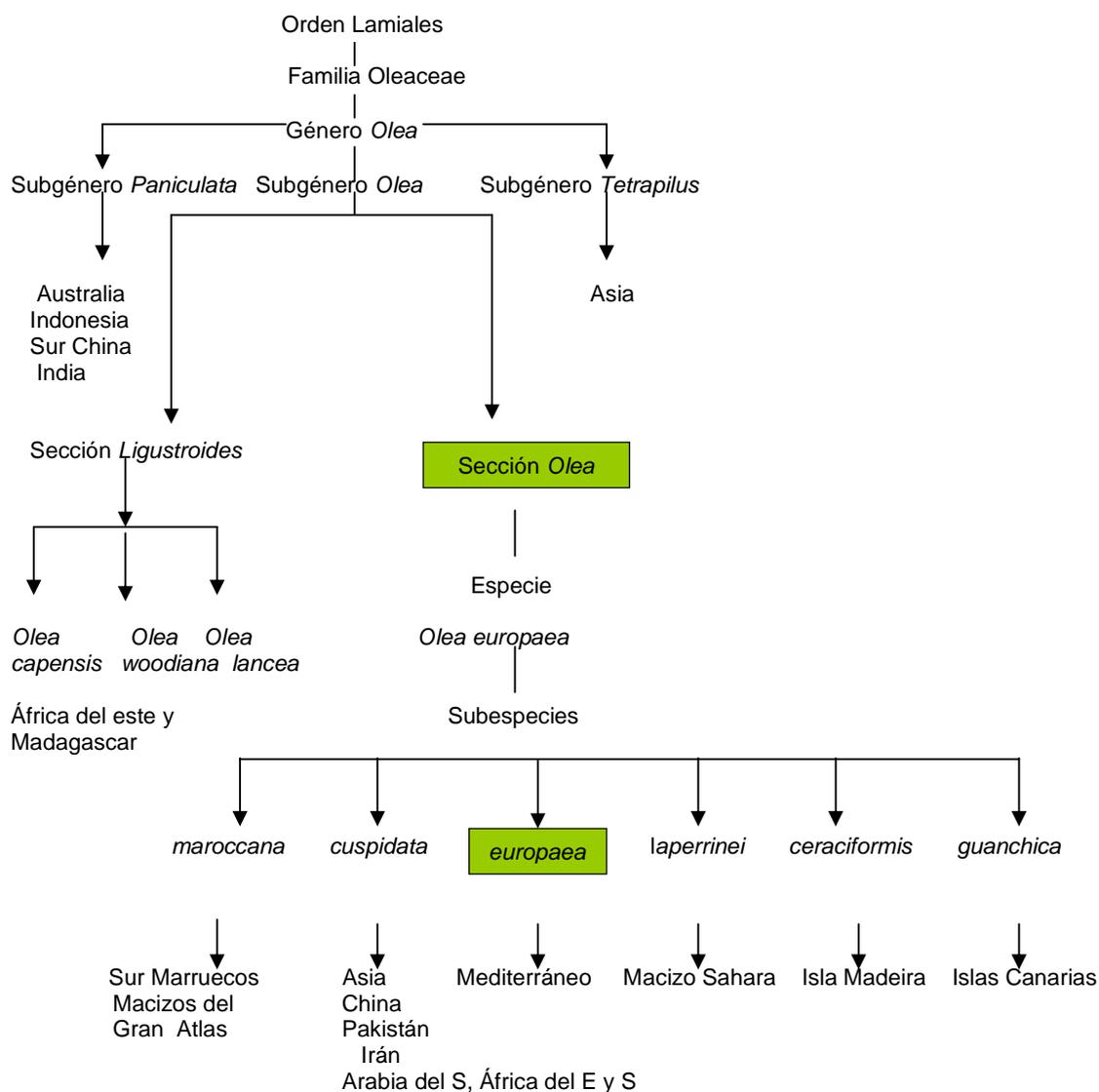


Figura1. Distribución y relación entre taxones de *Olea*

Fuente: elaboración según Breton et al., citados por Moutier et al. (2006) y complementado por Sher y Weber (2009).

### 2.1.2 Descripción botánica

El olivo cultivado es un árbol muy longevo que tiene la capacidad de renovar el tronco mediante rebrotes que le permiten sobrevivir, por ello en la antigüedad fue considerado un árbol inmortal según lo indica Rincón (s.f.) y

puede ser productivo durante cientos de años (Trujillo y Barranco, 2004). Su tamaño en general es mediano dependiendo de la variedad y de las condiciones de cultivo, pudiendo variar entre de 4 a 8 m de altura; el tronco es grueso y la corteza de color gris a verde grisáceo (Trujillo y Barranco, 2004). El porte natural de la especie es abierto caracterizado por una ramificación inicial ortogeótopa, donde el peso de la copa y/o cosecha obliga al ramo inclinarse y a dirigirse en el sentido de la mayor disponibilidad de espacio y luz, de forma que la copa adquiere una forma hemisférica. Se distinguen otros dos tipos de porte: erguido donde las ramas principales crecen con tendencia a la verticalidad y presentan una dominancia apical acusada, llorón caracterizado por ramos y ramas de poco diámetro que crecen desde el principio inclinados hacia abajo (Barranco et al., 2000).

La forma de la copa es redondeada y la tendencia natural de la especie es producir una copa densa, aunque la forma del árbol es influida en gran medida por las condiciones agronómicas y ambientales de crecimiento; también las prácticas de poda permiten cambiar su forma para favorecer la penetración de la luz demostrando el olivo tener una gran plasticidad morfogénica. Otros caracteres del árbol como el porte, color de la madera y la longitud de los entrenudos varían con el cultivar Rapoport (2008).

Sus hojas sobreviven de 2 a 3 años (perennifolias) aunque también pueden permanecer por más tiempo. Éstas son simples, variando la forma de elíptica a lanceolada y con bordes enteros. El limbo tiene una longitud entre 3 y 9 cm y un ancho entre 1 y 1,8 cm. La nervadura central es muy marcada y las nervaduras secundarias muy poco aparentes. El pecíolo tiene una longitud que no supera los 0,5 cm (Trujillo y Barranco, 2004). En cada nudo aparecen dos hojas opuestas y los planos de las hojas de dos nudos consecutivos se disponen entre sí a 90°, esta disposición se denomina decusada (Ávila, 2000).

El haz de la hoja es generalmente de color verde-oscuro brillante debido a la existencia de una cutícula gruesa que le permite adaptarse a períodos prolongados calurosos y con escasas precipitaciones. El envés está cubierto por abundantes pelos aparasolados que le confieren un color blanco-plateado. Estos tricomas especiales tienen un soporte cubierto por una superficie en forma de disco y conforman una capa protectora sobre la superficie de la hoja, éstos también crecen por el haz pero en cantidad muy inferior a la del envés (Rapoport, 2008).

La profundidad, expansión lateral y grado de ramificación del sistema radical del olivo se ven influenciados claramente por características del suelo como: tipo, profundidad, aireación y contenido hídrico según Trujillo y Barranco (2004), Fernández et al., citados por Rapoport (2008). La morfología de la raíz

depende del modo en que se haya originado el árbol y también del suelo. Si el árbol procede de semilla, durante los primeros años se forma una raíz principal (pivotante) que domina el sistema radical. En cambio, si el árbol se ha producido por propagación vegetativa mediante enraizamiento de estaquillas semileñosas (método comercial habitual de propagación de árboles), se forman múltiples raíces adventicias que se comportan en su mayoría como raíces principales en el árbol. Las raíces más jóvenes de color blanco están recubiertas por un elevado número de pelos y son las más activas en la absorción del agua y nutrientes. Las raíces maduras son de color marrón debido a la suberización de las mismas (Trujillo y Barranco, 2004).

El árbol de olivo presenta dos formas diferentes, una en la fase juvenil y otra en la fase adulta. Las diferencias entre estas fases se manifiestan en la capacidad reproductiva (solamente en fase adulta), en el potencial para enraizamiento (mayor en la fase juvenil) y en diferencias morfológicas en hojas y ramas según Rapoport (2008). El período juvenil del olivo transcurre desde que germina la semilla hasta que florece; dicho período es largo y oscila entre 12-13 años (Bellini, citado por García-Limones et al., 2007), a sólo 4-5 años en climas de mayor duración de la estación vegetativa, especialmente cuando se desarrolla con adecuados sistemas de poda (Lavee et al., citados por García-Limones et al., 2007).

### 2.1.3 Biología reproductiva

Genéticamente el olivo es un organismo diploide ( $2n=2x= 46$ ) según Breviglieri y Battaglia, citados por Bracci (2011), con un gran número de variedades la mayoría de las cuales son autoincompatibles. A diferencia de otros cultivos, el germoplasma de olivo no ha sufrido erosión genética porque no ha ocurrido intercambio con nuevos genotipos y los genotipos más antiguos son capaces de sobrevivir por un largo tiempo sin cultivarse. Por lo tanto esta variabilidad considerable ha sido preservada hasta ahora sin haber sido explotada o estudiada (Angiolillo et al., 1999).

La polinización del olivo es anemófila, el polen es muy liviano siendo transportado sin dificultad por el viento a grandes distancias (Villemur et al., 2006), habiendo evidencias de que puede viajar hasta 200 km (Ribeiro et al., citados por Belaj et al., 2007). El polen resulta sensible a las condiciones atmosféricas sobre todo a los períodos de frío, niebla y exceso de humedad ambiental (Villemur et al., 2006).

La polinización y la fecundación son los requisitos esenciales para la formación y el cuajado de los frutos Rapoport (2008). La mayoría de las variedades son capaces de dar fruto en condiciones de autopolinización Trujillo y Barranco (2004).

En el olivo las interacciones entre el tubo polínico y el estilo representan un importante punto de control de la fecundación. Allí ocurre la selección de un sólo tubo polínico, un fenómeno llamado selección gamética, por el cual unos gametos son preferidos a los otros para la fecundación. En cambio la autoincompatibilidad en el olivo, se expresa por el retraso de los tubos polínicos del mismo cultivar para atravesar el estigma; por esta razón pueden no llegar a tiempo para encontrar primordios seminales viables (Cuevas et al., citados por Rapoport, 2008).

Como consecuencia de la fecundación uno de los cuatro óvulos, designado óvulo funcional, comienza su desarrollo como semilla y los restantes óvulos abortan y terminan degenerando. La fecundación y determinación del óvulo funcional y el desarrollo y crecimiento de éste, estimulan el crecimiento del ovario para formar el fruto y el cuajado de este fruto. El cuajado y principio del crecimiento de unos ovarios desencadena el proceso de abscisión de los ovarios no fecundados y algunos fecundados pero menos desarrollados Rapoport (2008).

Eventualmente se forman frutos partenocárpicos cuando no se ha producido polinización. Estos frutos se conocen como zofairones o azofairones, donde factores hormonales endógenos sustituyen al estímulo del óvulo funcional, pero no lo suficiente para que el fruto alcance su tamaño normal; por lo que suelen ser más pequeños que los frutos resultantes de la fecundación y tienen una forma mas aplastada. Éstos no tienen valor económico y en muchos casos no permanecen hasta la cosecha Rapoport (2008).

#### 2.1.4 Estructuras reproductivas

##### 2.1.4.1 La inflorescencia

La inflorescencia del olivo es una panícula, con un eje central el cual se ramifica. El número de flores por inflorescencia oscila entre 10 y 40, dependiendo de la variedad, de las condiciones ambientales y fisiológicas del árbol, éstas pueden estar aisladas o formar grupos de tres a cinco flores (Trujillo y Barranco, 2004). Las inflorescencias se desarrollan en las axilas foliares de los nudos de crecimiento vegetativo del año previo a la floración Rapoport (2008).

En las inflorescencias se presentan flores de dos tipos: perfectas y estaminíferas. Las flores perfectas son hermafroditas, compuestas de estambres y pistilo bien desarrollados. Las estaminíferas o masculinas, también conocidas como imperfectas, tienen el ovario rudimentario o ausente y parecen formarse debido a un fallo en el desarrollo del mismo. Como consecuencia de la falta de ovario funcional las flores estaminíferas no dan lugar a la formación de un fruto. La proporción de flores estaminíferas (% aborto ovárico), así como el número de flores por inflorescencia, varían según el cultivar y el año Rapoport (2008).

#### 2.1.4.2 La flor

Las flores del olivo son pequeñas y actinomorfas con disposición regular de pétalos y sépalos y simetría radiada en torno al eje del pedúnculo floral. El cáliz constituido por el conjunto de los sépalos, es un pequeño tubo acampanulado de color blanco verdoso, que se mantiene junto a la base del ovario después de la caída de los pétalos. La corola está compuesta por cuatro pétalos blancos o blanco-amarillentos dispuestos en cruz unidos a su base. Los dos estambres insertados en la corola en orientación opuesta, se componen de un filamento corto y una antera relativamente grande.

Los numerosos granos de polen se forman en el interior de las anteras durante las seis semanas anteriores a la floración. El pistilo que se encuentra en el centro de la flor se compone de un ovario súpero, estilo pequeño y un estigma muy desarrollado bilobulado y papiloso Rapoport (2008). La floración del olivo ocurre en la primavera (entre octubre y noviembre), en el Hemisferio Sur Villamil et al. (2010).

La mayoría de las variedades son capaces de dar fruto en condiciones de autopolinización pero el cuajado generalmente se produce por la intervención de polen de otra variedad. La fructificación ocurre en ramas del año anterior, circunstancia que favorece la alternancia entre cosechas, pues en un año de elevada producción el crecimiento vegetativo portador de la siguiente cosecha es reducido, efecto conocido como “vecería” Trujillo y Barranco (2004).

#### 2.1.4.3 El fruto

El fruto (forma elipsoidal a globosa) se considera una drupa compuesto por una sola semilla. Presenta tres tejidos principales: endocarpo, mesocarpo y exocarpo. El endocarpo es el hueso de la aceituna, el mesocarpo la carne o

pulpa y el exocarpo la piel. El conjunto de estos tres tejidos se denomina pericarpo. Su tamaño es pequeño (1 a 4 cm de longitud y 0,6 a 2 cm de diámetro) Rapoport (2008). El peso de la fruta es entre 2 y 4 g en los árboles silvestres, si bien puede llegar a más de 10 g en algunas variedades cultivadas (Trujillo y Barranco, 2004).

La fase de maduración en el olivo incluye cambios cualitativos de diversa naturaleza en la composición del fruto, cuyas modificaciones externas de coloración, características de esta fase, se utilizan como indicadores de dicha maduración. Los cambios externos en la coloración de la aceituna comienzan cuando el color verde intenso se transforma en un verde claro-amarillento. A continuación empiezan a aparecer manchas violáceas (enverado), que se van extendiendo hasta ocupar todo el epicarpio (Barranco et al., 1998).

Paulatinamente, la pulpa adquiere coloraciones violáceas hasta llegar al hueso y la epidermis alcanza el color definitivo, que en la mayoría de las variedades es el negro, aunque recubierto de una capa blanquecina de pruina. De este modo, se considera período de maduración al transcurrido desde que comienza el cambio del color externo del fruto (enverado) hasta que el color negro o violáceo característico según el cultivar, se generaliza en la epidermis (Lavee y Wodner, citados por Barranco et al., 1998). En la mayoría de las variedades, la coloración de la piel comienza en el ápice (inicio del envero) y continúa hacia el extremo opuesto (final del envero). El período de maduración es variable, estando afectado por las condiciones ambientales y las características varietales (Beltrán et al., 2008).

En frutos totalmente desarrollados, la pulpa (mesocarpo) representa un 70 a 90%, el hueso un 9-27% y la semilla un 2-3% del peso total del fruto. Estos porcentajes varían de forma notable en función de la variedad, estado de madurez del fruto, nivel de carga del árbol, etc. Los componentes mayoritarios tanto de la pulpa como de la semilla son el agua y el aceite (Fernández et al., citados por Beltrán et al., 2008). Se ha determinado que en la pulpa el porcentaje de agua alcanza un valor medio de 50-60% mientras que el aceite representa el 20-30%, existiendo una relación inversa entre sí (Beltrán et al., 2008).

#### 2.1.5 Distribución a nivel mundial

*Olea europaea* L se distribuye en la zona del planeta donde habita la civilización más antigua del mundo, la Cuenca del Mediterráneo; se encuentra presente a lo largo de toda su extensión, donde la especie exhibe gran capacidad de adaptación a extremos meteorológicos y a una amplia gama de

suelos (Hernández et al., 2004). Es una especie termófila (Solari y Vernet, Terral y Arnold-Simard, citados por Besnard et al., 2002) y la región donde se encuentra está caracterizada por inviernos suaves, veranos secos y calurosos. Las áreas que presentan este tipo de clima se localizan entre los paralelos 30° y 45° de ambos hemisferios (Trujillo y Barranco, 2004).

Si bien el origen de esta especie se circunscribe a la región mediterránea, también se encuentran olivares en países como los Estados Unidos, Argentina, Nueva Zelanda o Australia (Trujillo y Barranco 2004, Figura 2). A nivel mundial existen 1400 millones de olivos plantados, de los cuales un 68,89% se ubican en Europa, un 18,03% en África, un 9,88 en Asia, un 2,7% en América y un 0,5% en Oceanía (COI, citado por Vilar et al., 2010).



Figura 2. Área de cultivo del olivo a nivel mundial

A nivel mundial el área de cultivo se ha incrementado constantemente desde el año 1981 con 7.787 miles de hectáreas a 10.371 en el año 2006 (COI, citado por Peverelli 2009, Figura 3). Las últimas cifras disponibles ubican en el entorno de 11 millones de hectáreas la superficie mundial cultivada (Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, citado por Vilar et al., 2010).

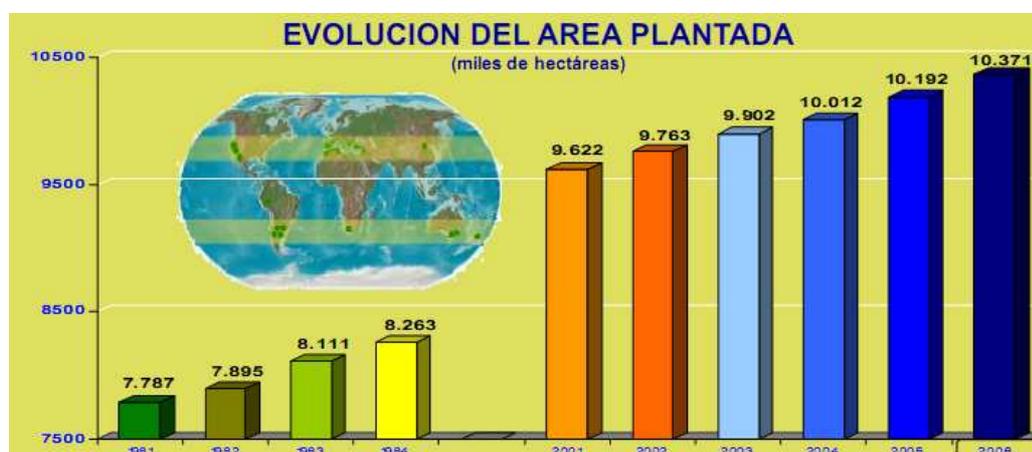


Figura 3. Evolución del área plantada (miles de ha) a nivel mundial

En tres países se encuentra más del 50% de la producción y consumo: España, Italia y Grecia. La principal área productiva y consumidora es la Cuenca del Mediterráneo, más recientemente se han sumado Estados Unidos, Australia, Chile y Argentina, Peverelli (2009). En referencia al aceite de oliva los principales productores son: España (33%), Italia (23%) y Grecia (18%); los principales países consumidores son Italia (30%), España (22%) y Grecia (10%). Si se toma en cuenta el aceituna de mesa los principales países productores son España (20%), Turquía (15%) y Egipto (12%); sin embargo, los principales consumidores son Estados Unidos (13%), Egipto (12%), Turquía (11%), Italia (11%) y España (11%), Peverelli (2009).

El Consejo Oleícola Internacional (COI) es el único organismo intergubernamental en el mundo, en que se hayan representados los países productores o consumidores de aceite de oliva y aceitunas de mesa. Contribuye de manera decisiva al desarrollo responsable y sostenible del olivar, constituye un foro mundial donde se debaten las políticas a adoptar y se abordan los retos a que se enfrenta el sector. Fue creado en Madrid (España) en 1959 bajo los auspicios de las Naciones Unidas (COI, 2011b).

Una vez al año, el COI actualiza las series estadísticas mundiales sobre producción y consumo entre otros. En la Figura 4 se presentan las series disponibles que comprenden los datos mundiales de la campaña oleícola 1990/91 hasta el 2008/09. Por "campaña oleícola" se entiende el período de doce meses transcurrido desde el 1 de octubre de un año hasta el 30 de septiembre del año siguiente. La producción mundial de aceite de oliva en el año 1990/91 era de 1453 millones de toneladas mientras que en 2008/09 ascendió a 2669.5 millones de toneladas. Si se toma en cuenta el consumo en 1990/91 era de 1666.5 millones de toneladas, pero en 2008/09 ascendió a

2831.5 millones de toneladas. En la campaña 2009/10 según datos preliminares la producción se ubicaría en 3024 millones de toneladas y el consumo en 2873 millones de toneladas (COI, 2011a).

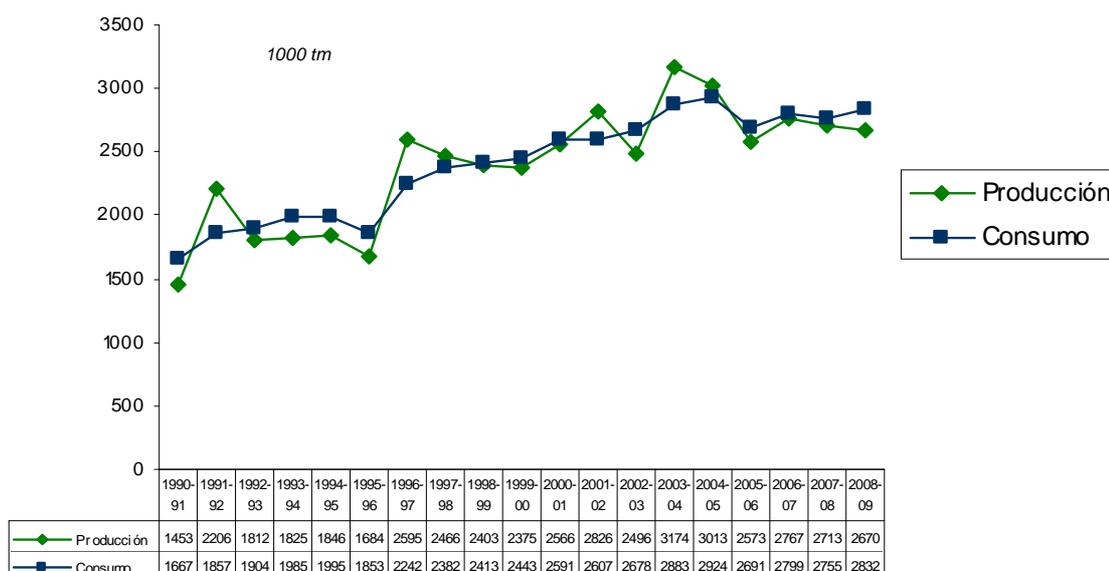


Figura 4. Producción y consumo de aceite de oliva a nivel mundial

Fuente: elaboración propia con datos COI (1990-2009).

El consumo de aceite de oliva extra virgen ha mostrado un significativo aumento en los últimos años, especialmente en países como EE.UU., China, Japón, Canadá, Australia y Brasil; un ejemplo de esto es el caso de EE.UU. que presenta tasas de crecimiento del orden 10% en 10 años, con un consumo promedio de 0,5 litros per capita. Por otro lado existen países cuyo consumo es mayor, como es el caso de países como España que presenta un consumo de aceite de oliva de 9 litros per capita por año, Italia 11 litros per capita por año, mientras que Grecia consume 21 litros per capita por año (Soto et al., 2010).

Si bien en Uruguay actualmente se consumen 0,25 litros per capita por año de aceite de oliva, estudios de mercado de aceite de oliva en el país llegaron a la conclusión de que el consumo irá creciendo poco a poco, existiendo un fuerte potencial de desarrollo. Cada vez más la gente valora el uso del aceite de oliva, ya sea por sus propiedades gastronómicas, como por su contribución a una dieta más saludable. En la medida que el público comience a distinguir las calidades como sucedió con el vino, habrá más consumo de aceite uruguayo (Rodríguez, citado por Fernández, 2011).

### 2.1.6 Situación actual de la Olivicultura en el Uruguay

En el año 2002 comenzó a adquirir fuerza el cultivo del olivo en Uruguay, acompañado de la recuperación de algunos viejos olivares. La difusión de las propiedades gastronómicas y de los buenos efectos sobre la salud del aceite de oliva, comprobados a través de la llamada dieta mediterránea, hicieron disparar su consumo sobre todo en los países desarrollados.

La sequía y los intensos fríos que han afectados los países de la cuenca mediterránea (principales productores a nivel mundial), determinaron la pérdida de alrededor de dos millones de hectáreas de olivares. Ésto ha alentado a productores californianos y del Hemisferio Sur situados en latitud similar, a incursionar en la plantación de olivos Furtado y Quagliotti (2008).

Tommasino (2009) menciona como indicadores de este nuevo impulso a finales de la década del 90, podrían citarse:

- la recuperación de montes abandonados, la introducción de variedades y su evaluación y la instalación de nuevas plantaciones. En este proceso hay una fuerte participación de capital extranjero regional y europeo (alrededor del 80% de los 25 millones de dólares invertidos);
- la coordinación con centros oleícolas internacionales y con el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) que inicia la investigación sobre el rubro, básicamente en lo relativo a la evaluación varietal, “paquete tecnológico” y calidad del aceite;
- la creación de una gremial única de productores, la Asociación Olivícola Uruguay (ASOLUR) que nuclea a más de 50 productores, técnicos, viveristas y almazaras;
- la instalación de varias plantas de procesamiento (molinos de aceite o almazaras). Se puede hablar del establecimiento de una cadena oleícola, en donde ya empieza a entrelazarse una fuerte integración vertical, con empresas en producción, con almazaras y marcas de aceite propias que comercializan a nivel interno y exportan;
- el comienzo de la producción de aceite a partir de las nuevas plantaciones realizadas en 2002; el inicio de una corriente exportadora de aceite; y la obtención de premios internacionales.

Existen actualmente 8000 ha plantadas de olivos en diversas zonas del país con una proyección para los próximos tres años de 3000 ha adicionales

(Villamil et al., 2010) indicador del crecimiento de la actividad, que a partir del 2002 se expande constantemente. Estos indicadores son una muestra de la dinámica de este sector agropecuario, que se encuentra actualmente en un momento de máximo desarrollo, tanto a nivel de nuevas plantaciones como en la instalación de almazaras de gran nivel tecnológico y una capacidad de procesamiento acorde a los niveles de producción (Peverelli, 2008). En la Figura 5 se indican las zonas donde se ubican las principales plantaciones, estimadas a partir de la localización de los mayores emprendimiento agroindustriales (plantaciones, viveros, almazaras) (ASOLUR, 2011).

Históricamente la olivicultura no ha sido una actividad de gran desarrollo en nuestro país y el impulso actual según los técnicos que trabajan en el ramo, debería orientarse a lograr el máximo de calidad y participar en mercados de alto poder adquisitivo tanto a nivel regional como internacional Peverelli (2008).

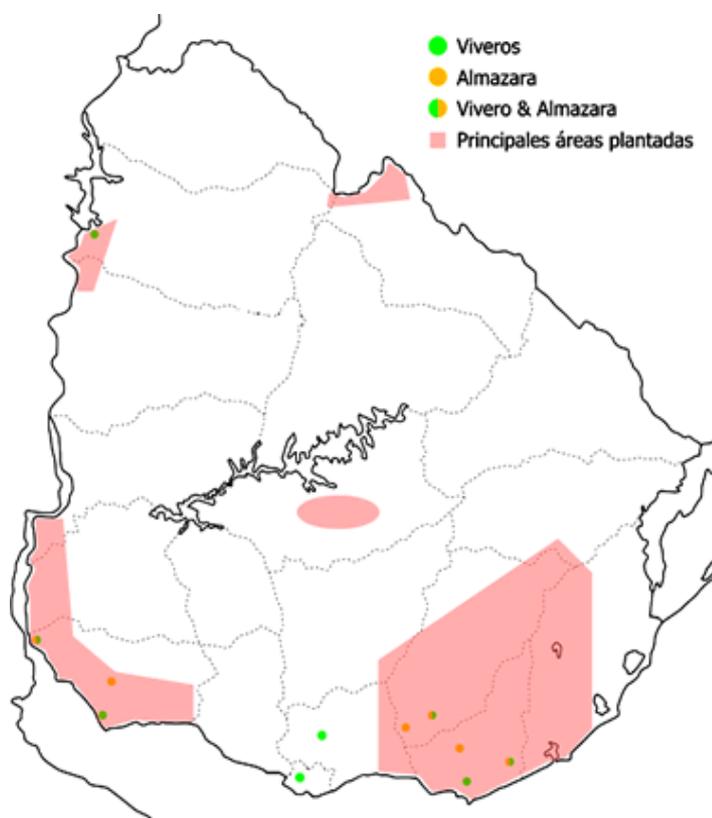


Figura 5. Área de cultivo del olivo en el Uruguay

Actualmente el 87% del área cultivada son nuevas plantaciones; el número de plantas por hectárea es de 285-330 (Villamil, 2009). En relación a las variedades de olivo que se están plantando, Arbequina de origen español es la más cultivada (50,5% del área total) y es utilizada para la fabricación de aceite. Otras variedades españolas como Picual (7,4%), son cultivadas con finalidad aceitera y Manzanilla (3%) para obtener aceitunas de mesa. De Italia, se han introducido variedades con diferentes finalidades, como Leccino (5,3%) (para la obtención de aceite y aceituna de mesa), Frantoio (14%) y Coratina (5%) (para la obtención de aceite), mientras que de Israel, se ha introducido al país la variedad Barnea (5,1%) con los fines de obtener aceite y aceitunas de mesa. En menor medida existe una gran cantidad de variedades (Arbosana, Koroneiki y Picholine entre otras) según Conde et al.<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> Conde, P. 2010. Com. personal.

### 2.1.7 Variedades y usos

Existe un gran número de cultivares de olivos alrededor del mundo estimándose en 1200 con más de 3000 sinonimias (Rugini y Lavee, citados por Lopes et al., 2004) lo que ha hecho que la correcta identificación de las distintas variedades sea una cuestión de suma necesidad y relevancia. Según los autores (Claros et al., Ouazzani et al., Khadari et al., Rotondi, et al., Besnard et al., Contento et al., citados por Mora et al., 2007) en función de las áreas geográficas de crecimiento, esta especie presenta diversos ecotipos. Según factores como uso, calidad, productividad, capacidad de adaptación, suelo y clima, es el tipo de variedad que se planta Peverelli (2009).

### 2.1.8 Referencias históricas del uso del olivo

El olivo es un cultivo subtropical (Rallo et al., 2000), su origen se remonta probablemente a más de 3000 años en la Cuenca del Mediterráneo (Boskou, citado por Beltrán et al., 2005), desde sus inicios ha sido una fuente importante de aceite (Solari y Vernet, Terral y Arnold-Simard, citados por Bernard et al., 2002) y como alimento humano (Wu et al., 2004). El aceite de oliva virgen es el zumo oleoso de las aceitunas que se separa de los demás componentes del fruto Alba (2008).

Formaba parte de muchos de los hábitos humanos, que iban desde el uso en numerosas recetas alimenticias hasta aplicaciones en el cuidado corporal como ungüentos, habiendo rastros de importaciones en grandes cantidades desde la costa mediterránea fenicia. Han quedado claras referencias en tablillas minoicas (1900 a.C.) sobre su importancia, en donde se describe con perfección su utilización en la elaboración de alimentos e iluminación, además de ser el principal objeto del comercio y probablemente la causa esencial del florecimiento de este pueblo. El olivo fue para los griegos alimento principal del pueblo y de los soldados, además de su trascendencia religiosa, médica y social (Martínez et al., 2005).

Es en Grecia donde el olivo alcanzó su mayor relevancia a partir del siglo IV antes de Cristo y donde está más ampliamente documentada su historia y uso. Gracias a la ciencia de Hipócrates fue elevado a la categoría de medicamento, una consideración que mantuvo durante gran parte de la edad media y moderna ya que se obtenían productos curativos utilizados en medicina popular (Martínez et al., 2005).

### 2.1.9 Uso actual y propiedades del olivo

Cuando el aceite se obtiene por sistemas de elaboración adecuados y procede de frutos de buena calidad, posee excepcionales características organolépticas. Es prácticamente el único entre los aceites vegetales que puede consumirse crudo, conservando íntegra su composición química Alba (2008), dentro del conjunto de las grasas y aceites tiene la peculiaridad de ser muy rico en ácidos grasos monoinsaturados como el oleico (Cert et al., Tous y Romero, citados por Luna et al., 2006).

Este tipo de aceite posee 70% de ácido oleico (familia de los Omega 9), 7-8% de Ácido linoleico (Omega 6) y una pequeña proporción (0,5-1%) de Ácido linolénico (Omega 3) (Palmetti, s.f.). También es particular su contenido en componentes menores de elevada importancia para la salud y de importancia nutritiva, entre los que se destaca el contenido en vitaminas liposolubles y en componentes fenólicos, a los cuales se les asigna propiedades beneficiosas para la salud humana (Alba, 2008). Esta serie de compuestos marcan su superioridad sobre otros alimentos grasos, como los aceites de semilla, (girasol) que poseen un predominio de ácidos grasos poliinsaturados (Cert et al., Tous y Romero, citados por Luna et al., 2006).

La primera mención del papel benéfico del aceite de oliva, en el ámbito científico, proviene del estudio de los "Siete países" (Keys, citado por Martínez y Mañas, 2008), el cual lo llevó posteriormente a proponer que la ingestión de la dieta que contenga una elevada proporción de ácidos grasos monoinsaturados, era compatible con niveles adecuados de colesterol plasmático y una baja incidencia de infarto de miocardio. Coincidiendo con esta afirmación, en el III Congreso Internacional sobre el Valor Biológico del Aceite de Oliva celebrado en Creta en 1980, se comenzaron a aportar pruebas científicas del valor saludable de este producto, ya no sólo en el campo de las patologías cardiovasculares, sino también en otros tipos de alteraciones gastrointestinales (úlceras pépticas, litiasis biliar, etc.) Martínez y Mañas (2008). Recientemente, resultados de estudios científicos realizados en Francia, indicaron que un alto consumo de aceite de oliva contribuye a prevenir infartos en personas adultas (Samieri et al., 2011).

Otro aspecto a resaltar es la elevada actividad antimicrobiana de los polifenoles frente a un amplio espectro de patógenos transmitidos a través de los alimentos, como por ejemplo *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella sonnei* y *Salmonella enterica* entre otros (Medina et al., citados por Romero et al., 2007).

El uso de las hojas de olivo se ha mencionado desde hace siglos para fines medicinales lo que ha sido confirmado científicamente en los últimos años, señalando que los extractos de hoja poseen propiedades antibacterianas, antiinflamatorias y antioxidantes. Investigaciones realizadas por el equipo dirigido por Tania Perrinjaquet-Moccetti, Bióloga Molecular de la firma Frutarom Switzerland Ltd., de Wädenswil, (ZH) Suiza, publicados en la revista *Phytotherapy Research*, sostienen que un suplemento con extracto de hoja de olivo ayudaría a reducir la presión y el colesterol en las personas en riesgo de desarrollar hipertensión. Los autores atribuyen los resultados obtenidos en este estudio, a los distintos "componentes bioactivos" de la hoja de olivo de los cuales el más importante es la oleuropeína. Previamente se había demostrado que este compuesto actúa como antioxidante y ayuda a relajar y dilatar los vasos sanguíneos (Swisslatin, 2008).

El fruto del olivo, la aceituna, ha constituido un alimento fundamental en la dieta mediterránea; Dífilo en el siglo III antes de Cristo afirmaba que las aceitunas eran aperitivas, astringentes y facilitaban la digestión. Actualmente es un alimento complementario y la posibilidad de preparación con los cuatro sabores básicos: ácido, dulce, salado y amargo, permite su empleo en todo tipo de platos, lo que justifica su actual expansión por diversos países del mundo (Rejano y Garrido, 2008).

Según la norma de calidad del Consejo Oleícola Internacional, citado por Rejano y Garrido (2008) se denomina aceituna de mesa al "fruto de variedades determinadas del olivo cultivado, sano, recogido en el estado de madurez adecuado y de calidad tal que sometido a preparaciones acordes, resulta un producto de consumo y de buena conservación como mercancía comercial". Otro aspecto de empleo del olivo es su madera, la cual ha sido utilizada desde hace siglos obteniéndose utensilios domésticos y objetos de decoración (Martínez et al., 2005).

## 2.2 DIVERSIDAD GENÉTICA

Por diversidad genética de una especie se entiende su variación alélica y genotípica. Esto abarca poblaciones determinadas de la misma especie o la variación genética de una población resultado de miles de años de evolución (Zamudio, 2009). A partir de esta diversidad la especie puede adaptarse a los cambios que se presentan en su entorno al ofrecer la posibilidad de respuestas diferentes a nuevas presiones de selección (Jiménez y Collada 2000, Hidalgo 2003).

La heterogénea organización genética en el olivo del Mediterráneo tiene una compleja historia biogeográfica, resultado probablemente de varios factores relacionados no sólo a la ocurrencia de zonas de refugio, sino también a las condiciones biogeográficas del la Cuenca del Mediterráneo, cambios ambientales, dispersión y selección por humanos, hibridación entre distintas taxa han contribuido a esparcir y diferenciar en poblaciones de olivos del Mediterráneo (Besnard et al., 2002).

En este sentido, resulta necesario preservar los recursos genéticos para salvaguardar las características adaptativas y usar los genes de interés para desarrollar programas de mejoramiento (Charafi et al., 2008), determinar las relaciones entre las formas cultivadas y las silvestres y en algunos casos reconstruir las historia del olivo (Bronzini de Caraffa et al., 2002).

### 2.2.1 Poblaciones naturales de *Olea europaea*

El origen de *O. europaea* var. *sylvestris* es aún poco conocido y continua siendo controvertido entre naturalistas, botánicos y prehistoriadores (Bervillé et al., citados por Mataix y Barbancho, 2006).

Palamarev, citado por Mataix y Barbancho (2006) afirma que *O. europaea* var. *sylvestris* existe alrededor de la cuenca Mediterránea desde el terciario; ésto ha sido evidenciado a través de la palinología detectando trazas de polen que datan de mas de 3.2 millones de años (Suc, citado por Mataix y Barbancho, 2006). Fósiles del período terciario (un millón de años atrás) demuestran la existencia de un antecesor del olivo en Italia (Boskou, citado por Kapellakis et al., 2008).

*O. europaea* var. *sylvestris* parecería ser el resultado de la hibridación entre *Olea europaea* ssp. *laperrinei* como progenitor femenino y *Olea europaea* ssp. *cuspidata* como progenitor masculino y debería haber aparecido 500.000

años atrás en el este de África dispersándose desde este punto hacia la Cuenca del Mediterráneo (Bervillé et al., citados por Mataix y Barbancho, 2006). La distribución de la diversidad genética de poblaciones de olivos silvestres ha sido reconstruida, sobre la base de la recolonización de la Cuenca del Mediterráneo, desde refugios de la edad de hielo localizadas en regiones del oeste y este en dicho mar (Breton et al., citados por Belaj et al., 2007). *Olea* sobrevivió en la Edad del Hielo en tres refugios independientes: noroeste de África, oeste y este del Mediterráneo propuesta realizada luego de la caracterización genética a partir de ADN mitocondrial, por la existencia de mitotipos específicos (Breton et al., citados por Scheepens y Excursion, 2008). Trabajos realizados aplicando marcadores moleculares como RAPDS y SSSr llevaron a proponer que en vez de tres serían cuatro las áreas refugio, al sumar a Córcega y Sicilia en conjunto (Breton et al., 2006b).

Los mencionados estudios basados en la variación del ADN mitocondrial han permitido proponer al menos dos orígenes distintos del olivo silvestre del Mediterráneo, uno en el Cercano este y otro en la zona del Maghreb (Besnard y Bervillé, citados por Besnard et al., 2001b). A partir de estos orígenes se ha producido la dispersión por el hombre, produciéndose cruzamientos con olivos silvestres locales. Una fuerte diferenciación genética fue observada también por marcadores cloroplásticos (cpDNA) entre olivos del este y oeste del Mediterráneo, sugiriendo que estas áreas han representado diferentes refugios glaciales Besnard et al. (2002).

El análisis de la diversidad genética citoplasmática ha demostrado una separación este-oeste de poblaciones de olivos oleaster caracterizadas por dos distintos grupos de mitotipos según Terral et al. (2004). En las poblaciones de oleaster, el mitotipo ME1 es el único presente en el Cercano este (Besnard y Bervillé, citados por Besnard et al., 2001b), mientras que los mitotipos MOM y MCK fueron encontrados solamente en el oeste del Mediterráneo (Besnard et al., 2001b).

Otros análisis de poblaciones de olivo basados en la ocurrencia de distintas aloenzimas mostraron una clara diferenciación genética nuclear entre olivos silvestres del este y oeste de la cuenca Mediterránea, sugiriendo que ellos tal vez hubiesen tenido un origen filogeográfico diferente (Lumaret et al., 2004). Evidencias de la sobrevivencia de poblaciones silvestres de olivos en el oeste del Mediterráneo incluidas España e Italia ha sido aportado por estudios aloenzimas (Lumaret y Quazzani, Lumaret et al., citados por Belaj et al., 2007), Inter-Simple Sequence Repeats (ISSRs) (Vargas y Kadereit, citados por Belaj et al., 2007) y SSRs (Breton et al., citados por Belaj et al., 2007). Estos métodos diferentes de análisis genético nuclear, además de la variación citoplasmática, han mostrado una clara distinción entre oleaster del este y oeste del

Mediterráneo (Besnard et al., Lumaret et al., citados por Belaj et al., 2007).

Los acebuches u olivos silvestres formarían pequeños o grandes bosques antes de la introducción del olivo domesticado o cultivado. Con la llegada del olivo, se produce la coexistencia de plantas relacionadas, que pueden hibridarse y que revierten a niveles más primitivos al escaparse del cultivo o al ser estos abandonados (Loussert y Brousse, citados por Espejo, 2005).

Según datos nucleares (RAPDs) y citoplasmáticos, muchos de los cultivares encontrados en el oeste y muchas de las formas muestreadas en cercanías de cultivos de olivos estarían relacionadas con olivos silvestres del este del Mediterráneo (Besnard y Bervillé, Besnard et al., citados por Besnard et al., 2002). Estos olivos silvestres del oeste pudieran ser la forma feral que corresponde al resultado de la introducción del este y al flujo de genes de olivos cultivados hacia poblaciones silvestres, considerándose una fuente de variación artificial lo que oscurece el efecto de migración (Besnard et al., 2002).

La diferenciación nuclear genética observada entre oleaster y olivos cultivados, puede ser atribuible mayormente al nivel de heterocigosis y ocasionalmente a una composición alélica distinta entre éstas dos formas interfértiles de la misma especie. La ocurrencia de una heterocigosis mas baja en los olivos cultivados que en los silvestres se puede deber a la acción de una intensa selección (muy probablemente por tamaño de fruta y/o alto contenido de aceite) (Lumaret et al., 2004). Estudios de variabilidad genética en olivo en base a AFLP (Angiolillo et al., citados por Besnard et al., 2001b), indicaron que olivos silvestres y cultivados del oeste del Mediterráneo no se agruparon juntos pero fueron relativamente distantes.

### 2.2.2 Historia del cultivo y su difusión

Una planta se considera como cultivada cuando es sembrada y manejada por humanos fuera de su hábitat silvestre. La domesticación es el proceso mediante el cual un organismo vivo pasa a ser dependiente de los seres humanos estableciéndose una simbiosis organismo-hombre (Scheepens y Excursión, 2008). Las referencias más antiguas al olivo tanto históricas como religiosas proceden de Egipto, en donde se afirmaba que su descubrimiento se debía la misma Diosa Isis esposa de Osiris, que se remontan a más de 6.000 años de antigüedad (Ponsich, citado por Martínez et al., 2005).

A pesar de las referencias históricas procedentes de Egipto, el origen del olivo domesticado continúa aun confuso. El proceso de domesticación comenzó a partir del olivo silvestre, lo cual ha sido corroborado por diversos y numerosos

análisis moleculares (Besnard et al., 2001a). Según los autores (Barranco et al., citados por Hernández et al., 2004) se sostiene que se originó probablemente hace más de 6000 años, como resultado de la intervención humana en los montes de acebuche (*Olea europaea*, variedad *oleaster*) del primitivo bosque mediterráneo. El olivo silvestre y el cultivado no siempre pueden ser diferenciados por criterios botánicos y su distinción es basada simplemente porque el cultivado ha sido domesticado, mientras que el *oleaster* sigue siendo silvestre (Dubur-Jarrige, citado por Mataix y Barbancho, 2006).

La domesticación se considera universalmente que comenzó en el período Neolítico en el este del Mediterráneo alrededor de 5800 años atrás Breton et al. (2006a), en la región correspondiente a la Antigua Persia y Mesopotamia y desde ahí se diseminó a Siria y Palestina (Kiritsakis, Di Giovacchino, citados por Kapellakis et al., 2008). Claros signos de domesticación provienen del Cercano este durante la Edad temprana de Bronce (segunda mitad del quinto milenio a.C.) (Lipshitz et al., Zohary y Spiegel-Roy, citados por Lumaret et al., 2004). Los habitantes de esas áreas desarrollaron el cultivo del olivo y luego lo llevaron al norte de África por tierra o mar (Loukas y Krimbas, citados por Kapellakis et al., 2008). Otros autores afirman que el olivo se originó en África donde los antiguos egipcios desarrollaron y practicaron este cultivo (Balatsouras, citado por Kapellakis et al., 2008).

Otras evidencias consideran que el cultivo del olivo se situó en el norte de Palestina y en el sur de Siria durante el período Calcolítico en Teleilat Ghassul al norte del mar Muerto (3700-3200 a.C.) (Zohary y Hopf, Zohary y Spiegel-Roy, citados por Espejo, 2005) y en otros yacimientos del mismo período en el valle del Jordán (Neef, citado por Espejo, 2005). En el tercer milenio a.C. en la temprana Edad del Bronce las aceitunas al igual que uvas e higos constituían una importante aportación a la agricultura mediterránea; primero en el Levante más tarde en la región del Egeo (Espejo 2005, Levante Mediterráneo... 2009, Figura 6). Estudios morfológicos en fragmentos carbonizados de madera y endocarpos de frutos de olivos en Alicante, al este de España, (Terral y Arnold-Simard, citados por Mataix y Barbancho, 2006) y en el sur de Francia, ponen en evidencia la presencia y el uso del cultivo desde el Neolítico con un claro incremento de su explotación durante la Edad del Bronce (Mataix y Barbancho, 2006).

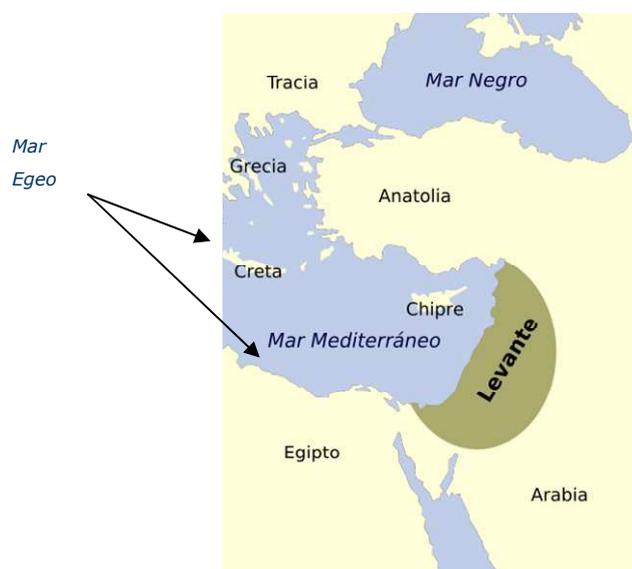


Figura 6. Ubicación de la zona de Levante y Mar Egeo

La importante diferencia genética entre los linajes orientales y occidentales de la cuenca Mediterránea permite la reconstrucción de un proceso, que a partir de hallazgos arqueológicos, indican que la domesticación del olivo a partir del acebuche silvestre comenzó en el Oriente Próximo y se expandió posteriormente hacia el oeste (Zohary y Spiegel-Roy, citados por Arroyo et al., 2004). Esta expansión se desarrolló progresivamente en dos fases: hacia el norte hasta Anatolia pasando por Chipre y hacia al sur llegando a Egipto a través de Creta (Ávila 2000, Civantos 2008). Luego el olivo fue llevado a España desde la Región de Siria, Líbano y Jordania (North s.f., Rodríguez y Ballester, citados por Beltrán et al. 2005, Figura 7).



Figura 7. Ruta de dispersión del olivo

Probablemente las civilizaciones fenicia, griega y romana expandieron el cultivo del olivo en toda la cuenca mediterránea, entre 2500 y 2000 a.C. desde la región propuesta como originaria del este (Bervillé et al., 2005). Según Espejo (2005) es posible que el cultivo haya sido desarrollado por culturas griega, romana y árabe porque en el español aparecen vocablos derivados de esas tres culturas. La influencia romana se refleja en las palabras olivo, oliva y óleo que vienen del latín *olivum*, *oliva* y *óleum* y que a su vez provienen de la palabra griega *elaion*. También es llamativo la existencia de palabras en español aceite y aceituna, que proceden de los términos árabe *zait* y *zaitum* y hebreo *zeit* o *sait*.

Existen múltiples evidencias que la difusión del cultivo no tardó en desarrollarse de este a oeste, a través de las dos orillas del Mare Nostrum. “*En este proceso, parece ser que se seleccionaron de cada zona los individuos de semilla más interesante y mejor adaptados al medio*” sostuvo Diego Barranco. Por consiguiente, los cultivos actuales son luego del desarrollo de cientos de generaciones el resultado de aquellas propagaciones vegetativas, consecuencia de un largo proceso biológico, que tantos siglos después nos sorprende comprobar como se ha ido consolidando en los espacios naturales de toda la cuenca mediterránea Ávila (2000). Los primeros olivicultores (Lumaret et al., 2004) seleccionaron en bosques de acebuche (olivo silvestre) los individuos más interesantes por algunas características tales como la producción, tamaño del fruto, contenido de aceite y adaptación al medio. Por medio de la propagación vegetativa capaz de mantener las características de los individuos inicialmente seleccionados, se establecen las primeras variedades Trujillo y Barranco (2004).

Posteriormente al difundirse el cultivo por varios sucesos migratorios a través de la Cuenca del Mediterráneo, especialmente del este al oeste (Lumaret et al., 2004) y dada la interfertilidad de las formas silvestres y cultivadas, los individuos inicialmente seleccionados y propagados se hibridaron con material silvestre existente en las zonas donde llegaban las variedades inicialmente seleccionadas. Nuevamente de los individuos resultantes se debieron seleccionar y propagar aquellos más sobresalientes y mejor adaptados en las respectivas zonas (Trujillo y Barranco 2004, Figura 8). Estudios moleculares (RAPDS y RFLP mitocondrial) sostuvieron que el propósito de la selección en el pool genético del oeste fue principalmente hacia la producción de aceite (Bernard et al., 2001a).

Como resultado hay un gran número de variedades presentes en todos los países donde la especie es cultivada, dificultando el mantenimiento y preservación del germoplasma (Carriero et al., 2002). El olivo domesticado se caracteriza por presentar gran tamaño, dosel redondeado con largas ramas sin espinas, frutos carnosos y ovalados que deberían eliminar la confusión Mataix y Barbancho (2006). Sin embargo, los olivos silvestres presentan frutos pequeños con bajo contenido de pulpa-aceite (Carriero et al., 2002), que al ser podados o transplantados pueden ser confundido con el olivo cultivado abandonado Mataix y Barbancho (2006).

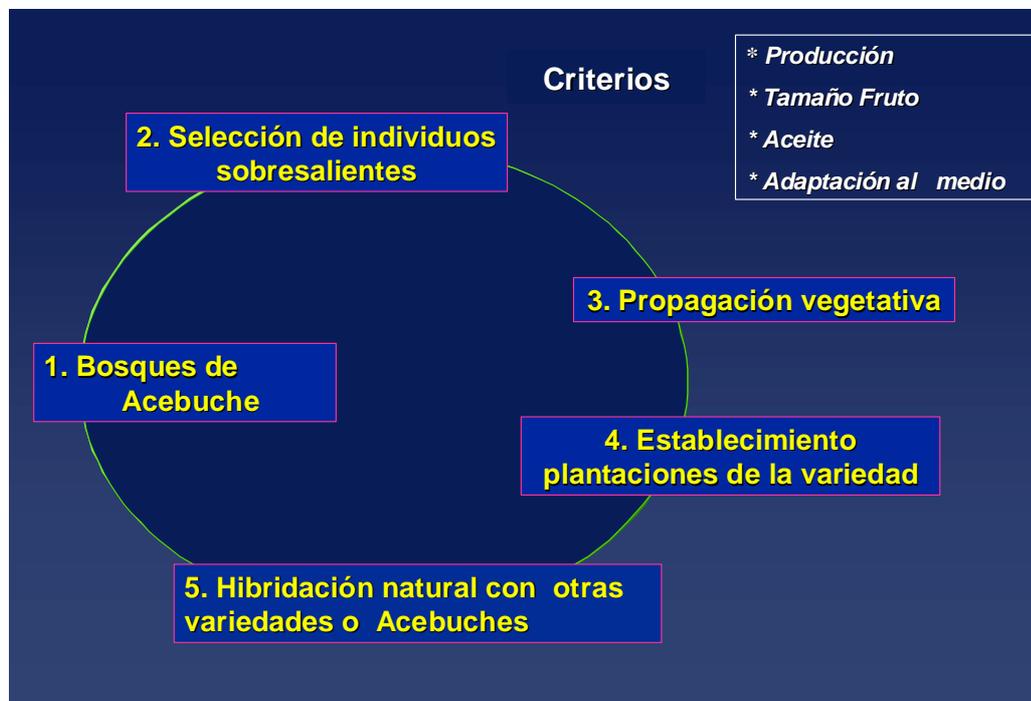


Figura 8. Esquema del origen de las variedades de olivo

A partir del siglo XV con los viajes oceánicos de Colón, Magallanes, Juan Sebastián Elcano Civantos (2008) y los misioneros, se introdujeron olivos que se expandieron en América Espejo (2005). Éstos se cultivaron en regiones con climatología similar a la mediterránea como en Argentina, Chile y California Espejo (2005).

En 1560 Antonio de Rivera, Procurador General del Perú trajo desde Sevilla (España), plantas de olivo (estacas) a Lima, habiendo sobrevivido sólo tres de ellas. Una de las tres plantas fue hurtada y llevada a Chile donde se obtuvieron nuevos individuos a partir de estacas y al cabo de tres años fue devuelta al Perú, al sitio donde originalmente se había plantado. Por esta relación descrita por el Inca Gracilazo de la Vega, Pérez Castellano (1914) infiere que los olivos de Buenos Aires se trajeron desde Chile.

Jury (2001b), indica que en la Argentina el cultivo del olivo comenzó alrededor del siglo XVI con las primeras explotaciones realizadas por los colonizadores españoles, quienes trajeron aceitunas para realizar conservas. En ésta época Don Francisco Aguirre alrededor del año 1562, introdujo las primeras plantas desde Perú a la Provincia de La Rioja. Por sucesivas selecciones, cruzamientos y multiplicaciones el cultivo se extendió a otras

provincias como Córdoba, Mendoza y San Juan, dando así origen a “Arauco” una variedad o ecotipo totalmente argentino (Jury, 2001a). A principios de 1700 los Jesuitas establecieron misiones en México y en Bajo California. Los Padres Franciscanos que viajaron desde el norte de México, fundaron su primera misión en 1769 en San Diego de Alcalá (California). Los olivos fueron entre las pocas frutas plantadas que crecieron en esa primera misión. El cultivar “Misión” predominó en las primeras plantaciones de San Diego, probablemente originado por la propagación vegetativa, de los mejores árboles de la mezcla original proveniente de las plantas de semilla. Entre 1850 y 1900 numerosos cultivares de países mediterráneos fueron introducidos en California entre los que se destacaban mayormente Manzanilla, Barouni Ascolana y Sevillana que conjuntamente con Misión, que se había desarrollado en el propio territorio, con la finalidad de mejorar la producción de aceite (Connell, 1994).

### 2.2.3 Inicio del cultivo en Uruguay

Los antecedentes de la introducción de las primeras plantas de olivos y su cultivo sobre el Miguelete, se encuentran en “Observaciones sobre la Agricultura”, libro escrito por el Presbítero Juan Manuel Pérez Castellanos unos de los vecinos más caracterizados de la zona Pérez Castellanos (1914). Esta publicación escrita a pedido del Gobierno Económico de la Provincia Oriental, resumía sus conocimientos y experiencias adquiridas a través de cuarenta años en las tareas agronómicas. Dicha obra fue redactada entre los meses de junio 1813 y febrero de 1814, pero recién en 1948 el Gral. Oribe hizo editarla de forma de guía a los agricultores del Miguelete (Muñoz, 1992). En la citada publicación se daba cuenta que las primeras plantas de olivos llegaron a nuestro país desde Buenos Aires, alrededor del año 1780 (provenientes de España previo paso por Perú, Chile) y las últimas vinieron bajo forma de estacas en 1810, siendo “mas de 250 las que brotaron en septiembre en las costas del Miguelete”. En sus relatos hizo referencia también a otras quintas: *“Los mejores olivos que he visto por aquí son de Juan Pedro Aguirre en una chacra enfrente a la mía, Miguelete por medio. Tienen 25 a 30 años [...]”*.

Luego de la independencia de la provincia, los montes del Miguelete se multiplicaron en número y las especies plantadas alcanzaron su máximo esplendor en las postrimerías del siglo XIX, sumándose a la flora autóctona (sauces, talas, espinillos, etc.) nacida en sus orillas, el árbol frutal, maderable y de adorno (como el olivo) y gran cantidad de especies exóticas (Comisión de Vecinos del Barrio Atahualpa 2007, Figura 9).



Figura 9. Los primeros ranchos construidos en el Miguelete

Fuente: Barrios y Reyes, citados por Comisión de Vecinos del Barrio Atahualpa (2007).

A partir de la Guerra Grande (1843-1851) las chacras del Miguelete empezaron a ser solicitadas por la clase alta urbana Caubarrère y Monzón (1996). Al mismo tiempo y gracias a la prosperidad en aumento la vida social cobró un gran impulso, puesto que el arroyo era una vía de fácil comunicación, motivo de esparcimiento propicio para excursiones en bote y para pesca, permitiéndoles disfrutar de reuniones al aire libre. Es aquí, donde se instalaron las villas llamadas “quintas”, mansiones grandes y muy elegantes, habitadas al menos durante la estación estival (cuando no todo el año) por las familias más adineradas de Montevideo Comisión de Vecinos del Barrio Atahualpa (2007, ver ANEXO I). Es de destacar que De La Torre en el año 1858 quiso que se trajera 15000 estacas de olivos de Buenos, a partir de las cuales se desarrolló viveros para la venta de plantas (De la Torre, citado por Muñoz, 1992).

Desde 1870 muchas quintas del Prado y sus alrededores fueron compradas por particulares, las cuales se parcelaron y remataron. De esta manera en estas zonas de Montevideo, convivieron grandes y lujosas quintas veraniegas con pequeñas casa habitadas por inmigrantes que mantenían su actividad productiva para el consumo familiar Caubarrère y Monzón (1996). Más tarde diversos propietarios montevideanos de predios, extendieron las plantaciones a otras zonas de la ciudad Pérez Castellanos (1914). El empresario Juan José Arteaga fundador de la primera empresa de saneamiento de Montevideo encargado de construir la red (1856) que hoy sigue funcionando, en 1870 adquirió una quinta de 14 ha comprendida en la zona rural de este

depto. Actualmente ésta tiene árboles de más de 100 años, en los que se destaca olivos (con buenas condiciones sanitarias y productivas), manzanos y duraznos (La quinta... 2010).

En 1811 en el departamento de Maldonado Don Francisco Aguilar y Leal proveniente de las Islas Canarias se estableció con un contingente de colonos. El mismo era propietario de la Quintas “La Florida”, “La Paz” y la “Azotea” donde se dedicó a las plantaciones de pinos, tabaco, olivares, papas y moreras (para poder alimentar a los gusanos de seda). La visión que tenía del porvenir de la patria lo lleva a escribir en Mayo de 1839 a Don Gabriel Antonio Pereira “los gusanos de seda que he traído a Maldonado dan espléndido aumento y un resultado como no era de esperarse las plantas de olivos, los pinos” según Ellis (1978).

Por otra parte en otro punto de Maldonado en 1890 Francisco Piria adquirió una 2700 ha y fundó un “Establecimiento Agronómico “en la zona comprendida entre los alrededores del Cerro Pan de Azúcar y la costa atlántica, a la que posteriormente le daría nombre (La historia... 2009). Es así que comenzó su obra con la formación de un verdadero ejido de quintas y huertas, con frutales, olivares, viñedos y tabacos. Envió muestras de tierra a Paris para su análisis e importó de Italia y Francia cepas, castaños y olivos. La administración de la producción agrícola se hacía en el establecimiento "Central" o casas de los peones, actual establecimiento Quebrada del Castillo. Allí se llevaba la documentación correspondiente y diariamente se distribuía al personal de las cuadrillas. También se efectuaba el mantenimiento y reparación de vehículos, maquinarias en los talleres de carpintería y herrería (Crónica de ... 2009).

La Asociación Rural del Uruguay constituida a comienzos de 1870 por un heterogéneo grupo de productores rurales, apostó a la difusión de nuevos rubros de huerta, el fortalecimiento de la fruticultura y de una tríada mediterránea: la vid, el olivo y el gusano de seda (ARU, citado por Beretta 2003a, Beretta 2008). Así en algunas notas publicadas dedicadas a la importancia de la vid y el olivo, se expresaba: “¿*qué hacemos con esos grandes y vigorosos almácigos de olivos y parras si las comisiones de agricultura del interior no hacen nada para solicitar de la central el envío de algunos miles de plantas a los departamentos para esparcir tan ricas plantaciones? En los pueblos y ciudades del litoral y en los que cruza el ferrocarril, hágase algo en este sentido y en menos de cuatro años tendremos vino y aceite del país para llenar una parte de nuestro indispensable consumo [...]*” (ARU, citado por Beretta, 2003a).

Juan B. Basso inmigrante italiano, funda con su hijo Domingo Basso en 1863 en la Quinta Gómez (Paso Molino) un establecimiento frutícola y hortícola, que posteriormente se denominó Domingo Basso. En 1880 se efectúa la primera expansión del establecimiento, comprando una fracción de campo en Colón (Camino Colman) y en el año 1882 una fracción de campo en la zona de Sayago (Domingo Basso... 2009).

En los establecimientos de Colón y Sayago se cultivaban olivos procedentes de Italia y España para la producción de aceitunas (Basso, 1907) y a partir de la primera planta de producción de aceite de oliva inaugurada en el país (Domingo Basso... 2009) la elaboración de aceite, el cual se vendía y tenía muy buena aceptación. En esa época un olivar de 8 años producía en promedio entre 80 y 100 kg de aceitunas aunque algunos ejemplares alcanzaron entre 120 y 130 kg en dichos establecimientos (Basso, 1907).

En 1874, Francisco Vidiella, inmigrante catalán e hijo de vitivinicultores, adquirió un predio en Colón e inició la introducción de diversas cepas en forma experimental, proceso que culminó exitosamente (Beretta y Beyhaut, 2003b) y que daría renombre a su establecimiento Granja Vidiella con una superficie de 25 ha (Baptista, 2003).

A solicitud de la Comisión de Agricultura, en el informe presentado en 1877 sobre su trabajo en el terreno, F. Vidiella expresó con optimismo: *“Nuestras plantaciones de viñas y olivos no dejan nada que desear, puesto que las lindísimas filas de cepas, tiradas a cordel, están magníficamente engalanadas por la naturaleza”*. En otra parte de ese informe, resumía la seriedad del emprendimiento que llevaba adelante: *“Nuestras labores son largas, científicas y costosas y no hay por qué esperar ninguna clase de compensación durante los primeros tres o cuatro años de su plantación”*. Por último, describía lo avanzado del trabajo en su granja: *“Ochenta mil pies de viña sistema Guyot y tres mil cuatrocientos olivos Niza, Sevilla y Cataluña [...]”* (Beretta y Beyhaut, 2003b).

En 1888 en el departamento de Canelones en la Localidad de Suárez, Diego Pons (próspero comerciante hijo de catalanes) adquirió parcelas de tierra y originó La Granja Pons (Figura 10). En ese mismo año implantó sus primeras cepas de vid y cuatro años después construyó una bodega (actualmente Viña Varela Zarranz). También se dedicó a la producción de ganado, forrajes, forestación y a la elaboración de aceite de oliva, llegando a producir 7000 litros anuales Pellegrino y Oliveira (2007). Es de destacar que en sus comienzos, Diego Pons plantó muchísimos olivos, de los cuales hoy quedan algunos ejemplares de más de 100 años. Luego en 1944 a partir del fallecimiento de Diego Pons, Ramón y Antonio Varela hijos de inmigrantes españoles

adquirieron La Granja Pons y continuaron con la producción de olivos y vid<sup>2</sup>. Actualmente se mantiene el camino de olivos (Figura 11) que acompaña las parcelas de vid desde la formación del establecimiento y flanquea el acceso de alrededor de 400 m, formando un túnel de sombra y ofreciendo un entorno de encanto a la entrada del establecimiento según Pellegrino y Oliveira (2007).

---

<sup>2</sup>Varela, A. 2008. Com. personal.

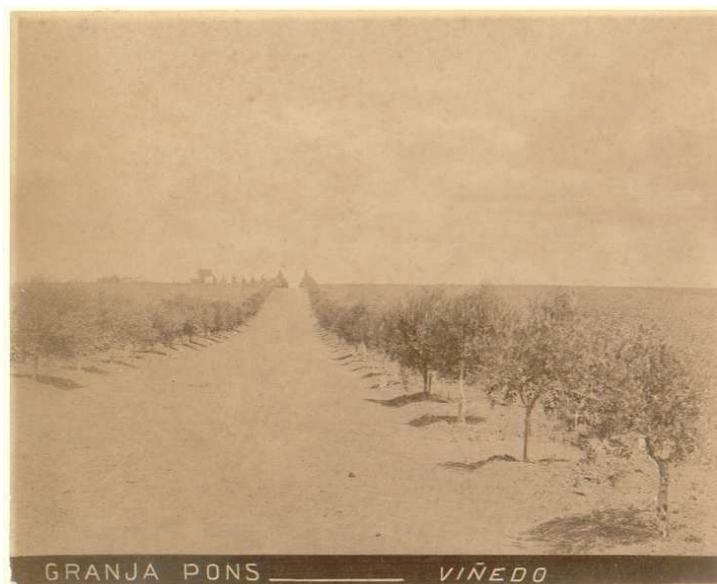


Figura 10. Ex Granja Pons con olivos de 1895 actual Viña Varela Zarranz (depto. de Canelones)<sup>2</sup>



Figura 11. Entrada a la “Viña Varela Zarranz” en el año 2011

Como impulso al cultivo del olivo en 1895 el Congreso Nacional de Ganadería y Agricultura, reunido en Montevideo aprobó por unanimidad de votos las siguientes conclusiones: *“Debe recomendarse y hacerse todo lo posible para que se desarrolle en el país el cultivo del olivo, pues ya se sabe y no cabe duda que vegeta y fructifica admirablemente produciendo un aceite abundante y excelente que puede competir con el mejor de Europa [...]”*

Mercado Olivarero (1950).

En el noreste del departamento de Montevideo, en el Paraje Barros Blancos, fue inaugurada en 1915 la Escuela Agrícola Jackson por la Congregación Salesiana, dedicada a la actividad horti-frutícola y a la formación de peritos agrónomos en forma intensa. Hacia 1934 ya existía un olivar que ocupaba 10 ha con el cual se elaboraba aceite de alta calidad (Historia del... 2011). Actualmente en el predio se encuentra parte de esa antigua plantación que abarca una superficie de 1 ha (URUGUAY. MVOTMA. DINAMA, s.f.).

Otro incentivo a la olivicultura fue la publicación de La Cartilla del Cultivo del Olivo y Ley del Fomento Olivícola, publicación realizada por Urbina (1938) del Ministerio de Ganadería y Agricultura. La mencionada ley conocida como La Ley "Cannesa" sancionada el 10 de noviembre de 1937, promovía las plantaciones de olivos con una serie de beneficios y estímulos, para quien las realizara a partir de una hectárea. Se exoneraban impuestos como contribución inmobiliaria y a partir de cinco hectáreas la patente de vehículos de uso rural. Se otorgaban premios de estímulo (de cien pesos y mil pesos), plantas gratuitas y el Banco República ofrecía planes de crédito a los cultivadores. El vivero Nacional de Toledo, fue el encargado de la formación de montes madres de olivos, para la producción de plantas que serían entregadas a los productores. Mientras no se dispusiera de las plantas, estas procedían de viveros particulares compradas por el Poder Ejecutivo. En los años siguientes a la Ley de Fomento del olivo entre 1940 y 1960 surgieron varios emprendimientos de plantaciones en distintos lugares del país.

Un ejemplo lo constituyó El Mercado Olivarero del Uruguay conformado por un grupo de accionistas, con el apoyo crediticio de la banca privada y oficial, que formaron una Colonia Agrícola "San José de Mayo", mediante un plan de operaciones para la adquisición de montes y acciones. Ésta colonia ocupaba tres fracciones de campo en Cagancha (Estación Rodríguez, depto. de San José) situados en el kilómetro 84 de la carretera Montevideo-Canelones-San José. Se pretendía abarcar 5000 ha con un total de quinientos mil olivos, calculando solamente una producción de 100 kg por planta (Mercado Olivarero, 1950). Entre 1948-1949 el Mercado Olivarero del Uruguay gestionó a través de la Embajada de Uruguay en Buenos Aires, la importación de plantas de las siguientes variedades: Arbequina, Picudilla, Arauco, Manzanilla, Misión y Leccino, con destino a sus plantaciones (Mercado Olivarero, 1950).

En 1950 llegó a Uruguay un grupo de franceses, que habían desarrollado actividades agropecuarias en el norte de Sudáfrica y fundaron "La Estancia Los Ranchos" en el depto de Río Negro (Paraje Rincón de las Gallinas). Su interés por el lugar, estaba dado por el microclima especial parecido al del

Mediterráneo y condiciones favorables para el cultivo que había en la zona, por lo que plantaron viñedos y olivares provenientes de Europa (Zurbriggen, citado por Cotelo, 2002). Las variedades de olivo introducidas fueron Leccino, Taggiasca, Pendolino, Moraiolo, Frantoio, Manzanilla, Arbequina provenientes de España e Italia (Los Ranchos, 2011)

De estos olivares se extraían las aceitunas y se las vendían a Mauá, una aceitera cercana situada en Mercedes (departamento de Soriano). Pero en determinado momento los árboles fueron abandonados, hasta que en 1994 una descendiente de los propietarios originales, la señora Mireille Bertrand decidió retomar la actividad. Allí se hizo una reconversión del monte con variedades españolas e italianas. En 1999 después de una importante inversión se logró llevar la energía al establecimiento agropecuario y el proyecto del aceite se pudo hacer realidad (Zurbriggen, citado por Cotelo, 2002). Se produjo aceite de oliva extra virgen a partir de cuatro variedades españolas e italianas: Leccino, Arbequina, Manzanilla y Taggiasca (Cotelo, citado por Cotelo, 2002).

En el litoral oeste del país, en el departamento de Salto, en el año 1953 el Establecimiento Urreta S.A. instaló una moderna almazara para la extracción de aceite puro de oliva, utilizándose como materia prima las aceitunas que se cosechaban en ese departamento. Según lo indicaba la empresa el aceite obtenido competía en calidad con los más renombrados aceites de origen extranjero (Una empresa... 2007). En el departamento de Florida, en 1954 en Fray Marcos, fue creada la fábrica de aceite CAODUSA S.A. (Compañía Agrícola Olivarera del Uruguay Sociedad Anónima) que funcionó unos pocos años según lo indica (Hurgando en... 2003).

La compañía facilitaba la obtención de montes de olivos de 100, 75, 50 y 25 ha de olivos, completamente sanos y en plena producción, con facilidades de pago, ventajas sociales y económicas. De acuerdo a informes técnicos especializados por parte de la empresa, las regiones que demostraban ser más aptas en nuestro país para preparar montes de olivos eran: la zona litoral norte que comprendía los departamentos de Paysandú, Salto y Artigas y la zona sur y este que abarcaba Florida, Minas y Treinta y Tres. De esta forma la empresa promocionó el cultivo del olivo a gran escala en el país, destacando la calidad de los aceites nacionales, que en diversas exposiciones figuraron en un primer plano en comparación con los aceites importados Montañés (s.f.).

En la década del 70 se inició una campaña a nivel mundial de desprestigio contra el aceite de oliva, el que pasó a ser considerado un producto nocivo para la salud humana. Paralelamente se promocionó el consumo de otros aceites de origen vegetal como el de girasol y de maíz, provocando una importante caída del precio internacional del aceite de oliva que no podía competir en precio con

los aceites antes mencionados Jury (2001a).

Actualmente se encuentran en las calles de Montevideo un número importante de olivos que son vestigios de antiguas chacras y quintas tales como los ubicados en Gral. Hornos ex Quinta de Posse, Emancipación ex Quinta Canessa<sup>3</sup> y en Calle Coronel Raíz<sup>4</sup>. En la zona rural persisten restos de antiguas plantaciones en Melilla y Paso de la Arena.

## 2.3 MARCADORES APLICABLES EN ESTUDIOS DE DIVERSIDAD

### 2.3.1 Marcadores morfológicos

Se consideran marcadores morfológicos a los caracteres de un individuo que se expresan en un ambiente específico y que el hombre identifica con un objetivo determinado. Estos fueron los primeros en ser utilizados por el hombre, con ellos se estima la variación morfológica existente en una población. Tradicionalmente, la diversidad que existe dentro y entre las poblaciones se ha determinado fácilmente, no requiere de un equipo sofisticado y son la apreciación más directa de un fenotipo (De Vicente y Fulton, 2003).

Asimismo, permiten un muestreo taxonómico mucho más cuidadoso que el que se realiza con análisis moleculares, lo que es importante para revisiones sistemáticas, estudios de la evolución del carácter y valoración filogenética (Hillis y Wiens, citados por Rentarúa, 2007). Otro atributo importante es que están al alcance para uso inmediato (De Vicente y Fulton, 2003). Sin embargo, hay varias limitaciones para su uso, de las que la principal es precisamente que se basan en las características morfológicas o expresadas en el individuo (fenotipo). Éstas son fuertemente influidas por el ambiente en que se desarrollan, además generalmente sólo se pueden identificar y medir en individuos completos o adultos (Solís y Andrade, 2005), deben ser tomadas por un experto en la especie, pueden variar en las diferentes etapas del desarrollo de las plantas y su número es limitado (De Vicente y Fulton, 2003).

---

<sup>3</sup> Intendencia Municipal de Montevideo. CCZ 14. 2009. Datos relevados entre vecinos del lugar (sin publicar).

<sup>4</sup> Intendencia Municipal de Montevideo. CCZ 13. 2009. Datos relevados entre vecinos del lugar (sin publicar).

### 2.3.2 Antecedentes morfológicos

Los primeros trabajos que se tiene conocimiento, datan del siglo I de la era cristiana, donde Columela realiza una descripción de variedades de olivo en España<sup>5</sup>. A comienzos del siglo XX (Ruby, citado por Idrissi y Quazzani, 2004) fue el primero en utilizar los diferentes órganos del olivo (hoja, fruto y endocarpo) para caracterizar y clasificar las variedades de esta especie. A partir de este, diversos trabajos de identificación varietal fueron realizados en España, Italia y Argelia a través de combinaciones de caracteres morfológicos, agronómicos y fenológicos (Priego, Cifferri et al., Hauville, Morettini y Amellini, Ortega, Baldini y Scaramuzzi, Rallo y Cidraes, Cimato et al., Cantini et al., citados por Idrissi y Quazzani, 2004). En Andalucía (Barranco y Rallo, citados por Idrissi y Quazzani, 2004) inventariaron e identificaron 156 variedades sobre la base de un esquema pomológico incluyendo un gran número de caracteres relativos al árbol, rama fructífera, fruto, inflorescencia, hoja y endocarpo.

Para la caracterización de diez variedades de olivo en Argentina, se utilizaron caracteres morfológicos del endocarpo y marcadores moleculares. Los caracteres del endocarpo mostraron diferente grado de dispersión con respecto al valor modal. Caracteres tales como “distribución de surcos” y “forma de la base” presentaron un menor grado de dispersión en relación a la moda, mientras que 99,1% y 98% de los datos respectivos a cada carácter coincidieron con el valor modal. Sin embargo, el carácter posición del “diámetro transversal máximo” resultó poco consistente ya que sólo el 84,4% de los datos coincidieron con la moda. A través del análisis de los caracteres más confiables del endocarpo fue posible diferenciar ocho de diez variedades analizadas. La variedad Frantoio y Arbequina no se pudieron diferenciar a través de estos caracteres. El análisis de caracteres menos confiables como “número de surcos” y posición del “diámetro transversal máximo” permitiría la separación de estas variedades (Cavagnaro et al., 2001).

Según Barranco y Rallo, COI, citados por Idrissi y Quazzani (2004) utilizaron 23 caracteres morfológicos para la caracterización primaria de variedades de olivo, cada carácter presentaba de dos a cuatro categorías. Los caracteres relativos a la hoja e inflorescencia se determinaron a partir de una muestra de 40 hojas y 40 inflorescencias. La descripción de frutos se realizó a través de una muestra de 40 frutos que también se utilizaron para la

---

<sup>5</sup> Tapia, F.A. 2001. Prospección y caracterización morfológica de las variedades de olivo cultivadas en las regiones III y IV de Chile. 136p. (sin publicar).

caracterización de endocarpo. Para verificar la autenticidad de las variedades estudiadas se realizó la comparación de la descripción morfológica obtenida con la caracterización del Catálogo Mundial de variedades de olivo (COI, citado por Idrissi y Quazzani, 2004) y las fichas varietales disponibles en la literatura. Para la mayoría de las variedades se detectaron diferencias entre los fenotipos con una misma denominación (homonimia) Idrissi y Quazzani (2004).

Espada et al. (2009) aplicando el esquema pomológico de Barranco y Rallo del año 1984, identificaron y catalogaron variedades de olivos cultivados en la comarca El Somontano de Barbastro, Huesca, España. Estos trabajos muestran la gran utilidad de los caracteres utilizados para inventariar variedades de diferentes regiones oleícolas de cada país, permitiendo resolver diversos casos de homonimia así como de sinonimia (Rallo y Cidraes, Caballero y Del Rio, citados por Idrissi y Quazzani, 2004). Numerosas sinonimias (variedades con el mismo nombre que correspondían a diferente genotipo) Matías et al. (2003) y la existencia de grupos de cultivares con características morfológicas similares dificultan la labor de caracterización e identificación (Barranco y Rallo, Fontanazza, citados por Cavagnaro et al., 2001)

El hecho de que los caracteres morfológicos sean fuertemente influenciados por el ambiente, ha dificultado el uso de algunos descriptores desarrollados por Barranco y Rallo en el año 1984, para identificar variedades cultivadas en España (Cavagnaro et al., 2001). Sin embargo, estos autores citan caracteres del endocarpo como altamente heredables, poco influenciados por el ambiente y de valor en la distinción de variedades (Cavagnaro et al., 2001). La mayoría de estos estudios pone en evidencia que las características de endocarpo son más estables que la de fruto y hoja según Idrissi y Quazzani (2004). Otros de los inconvenientes se deben a la necesidad de usar un número elevado de caracteres y al hecho de que requieren el empleo de órganos no siempre presentes (fruto y endocarpo) según Trujillo et al. (2005).

Caracteres del endocarpo muestran una variabilidad importante entre las variedades (Bari et al., citados por Idrissi y Quazzani, 2004). También se ha observado fluctuaciones en los índices de la forma de fruto, hoja y de endocarpo aún siendo de la misma variedad (Baldini y Scaramuzzi, citados por Idrissi y Quazzani, 2004). Francisconi, citado por Idrissi y Quazzani (2004) observó variaciones entre individuos de una misma variedad cultivadas en diferentes altitudes.

Del análisis estadístico de los parámetros morfológicos de hojas, fruto y endocarpo, que se estudiaron con el objetivo de conocer las características morfológicas de las variedades mayoritarias del olivar de Extremadura, se

dedujo que todos los parámetros medidos fueron significativamente diferentes para cada variedad. Sin embargo, la mayoría de ellos muestra una alta dependencia del entorno edafoclimático en el que se desarrollan las plantas. Solamente se identificaron dos parámetros morfológicos: la forma del fruto (largo/ancho) y el diámetro máximo del endocarpo, claramente dependiente de la variedad y no de la localización. Estos serían los parámetros más fijos y adecuados para la caracterización varietal de las variedades estudiadas según Llerena (2008).

Un inconveniente de este método para diferenciar variedades es que el análisis de algunos caracteres cualitativos se basa en apreciaciones subjetivas. Así por ejemplo, el endocarpo de una variedad puede parecer “ligeramente asimétrico” o “simétrico” según el observador que realice el estudio. Esta falta de estandarización en el método para evaluar este tipo de caracteres, dificulta el aprovechamiento de información sobre clasificaciones varietales provenientes de otras regiones (Cavagnaro et al., 2001).

Para la Identificación varietal en el programa de obtención y control de plantas certificadas de olivo en Andalucía, se han utilizado métodos morfológicos y marcadores de ADN. El material utilizado como referencia (control) fue el identificado por el Banco de Germoplasma Mundial de Olivo del CIFA “Alameda del Obispo” de Córdoba (IFAPA). En todos los casos los datos morfológicos coincidieron al 100% con los datos moleculares Ojeda et al. (2006).

### 2.3.3 Marcadores moleculares

Históricamente, los estudios relacionados con diversidad genética en plantas han estado relacionados con datos arqueológicos, botánicos, lingüísticos, históricos y morfológicos. Vale decir, desde el punto de vista agronómico y comercial, la caracterización del germoplasma se ha basado fundamentalmente en características de alta y de baja heredabilidad, medidas a través del fenotipo (Beserra y Paredes, 2000). Tradicionalmente, los marcadores utilizados en estudios de genética y mejoramiento eran aquellos controlados por genes asociados a caracteres morfológicos, en general fenotipos de fácil identificación visual, que contribuyeron significativamente al desarrollo teórico del análisis de ligamiento y en la construcción de las primeras versiones de mapas genéticos (Ferreira y Grattapaglia, citados por Yañes, 2002).

La revolución en este plano se inició con el descubrimiento y utilización de

los marcadores isoenzimáticos. El número de marcadores genéticos disponibles fue ampliado y la aplicación de la técnica se expandió prácticamente a todas las especies de plantas (Ferreira y Grattapaglia, citados por Yañes, 2002). Con la llegada de las técnicas modernas de la biología molecular, surgieron diversos métodos de mayor sensibilidad para detectar cambios en el genotipo de los individuos (polimorfismo genético) directamente a nivel del DNA, es decir los llamados marcadores moleculares que en general, pueden acelerar los programas de mejoramiento genético según Beserra y Paredes (2000). Un Marcador molecular es cualquier fenotipo molecular oriundo de la expresión de un gen o de segmentos específicos de DNA, que puede ser detectado y su herencia monitoreada. El mismo recibe el nombre de marcador genético cuando su comportamiento se rige de acuerdo con las leyes básicas de la herencia mendeliana (Ferreira y Grattapaglia, Villamón, citados por Yañes, 2002).

Entre las principales ventajas de los marcadores moleculares descritas por Ferreira y Grattapaglia (1996) se pueden destacar:

- el nivel de polimorfismo de los marcadores moleculares es generalmente alto para cada locus estudiado facilitando la construcción de mapas genéticos, contrariamente al limitado polimorfismo que presentan los marcadores morfológicos, que hacen que el investigador deba recurrir a un gran número de cruzamientos para el estudio de ligamientos genéticos.;
- los marcadores moleculares son neutros con relación a los efectos fenotípicos, con efecto epistático o pleiotrópico mínimo o nulo;
- en general los marcadores moleculares son codominantes (capaz de distinguir entre un homocigoto y un heterocigoto) y contienen mayor cantidad de información genética por locus que los marcadores morfológicos, los cuales en su mayoría, son dominantes o recesivos (Tanksley, Beckman y Soller, Burr et al., Stuber, citados por Ferreira y Grattapaglia, 1996);
- los marcadores basados en el ADN pueden utilizarse en cualquier fase del desarrollo de la planta, a partir de la etapa de desarrollo que permita extraer el material fresco necesario para obtener una suficiente cantidad de ADN Ferreira y Grattapaglia (1996).

Los polimorfismos en el ADN tienen su origen en cambios localizados en las secuencias químicas de las bases nitrogenadas que conforman la molécula. Estos cambios se deben normalmente a: cambios en las bases (adición, transición, transversión o delección); reorganizaciones en la secuencia del ADN (delección, inversión, inserción o duplicación de segmentos de ADN); expansión o contracción de números de unidades secuenciales de VNTRs

(Variable Number of Tandem Repeats), como son los satélites, minisatélites y microsátélites según Valadez y Kahl (2000).

En los últimos años se han desarrollado marcadores moleculares en olivos que han sido satisfactoriamente aplicados para la clasificación e identificación de cultivares (Busconi et al., 2006). Entre ellos se destacan: Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) (Wiesman et al., Mekuria et al., Belaj et al., citados por De la Rosa et al., 2003), Amplified Fragment Length Polymorphism AFLP (Angiolillo et al., citados por De la Rosa et al., 2003), Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) (Besnard y Bervillé, citados por De la Rosa et al., 2003), Simple Sequence Repeat (SSR) or Microsatellite Markers (Sefc et al., Cipriani et al., citados por De la Rosa et al., 2003). Los resultados de estos estudios mostraron que los cultivares de olivo tienen un alto grado de diversidad y que estos marcadores empleados son suficientes para detectar polimorfismo en olivos (Wu et al., 2004). La elección del marcador a usar dependerá de los objetivos del estudio, del costo y de las características que cada uno de ellos presentan Beserra y Paredes (2000). A continuación se detalla las características generales de los marcadores RFLP, ISSR, AFLP y RAPD que se indican en el cuadro 1.

Cuadro 1. Características generales de los marcadores moleculares

Características	ISOENZIMAS	RFLP	RAPD	AFLP	SSRs
Nivel de polimorfismo*	Bajo	Bajo	Bajo-moderado	Bajo-moderado	Alto
Dominancia*	Codominante	Codominante	Dominante	Dominante	Codominante
Número de loci*	Multiloci	Multiloci	Multiloci	Multiloci	Multiloci
Abundancia en el genoma*	Baja	Media	Muy alta	Alta	Media
Cantidad de ADN	-----	Grande	Limitada	Limitada	Limitada
Calidad de ADN	-----	Buena	Buena	Buena	Sin restricciones
Reproducibilidad	Poca	Buena	Baja	Buena	Buena
Costo	Bajo	Costoso	Medio	Medio	Medio
Accesibilidad tecnológica	Alta	Media	Baja	Media	Baja

## Referencias:

RFLP: Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (Restriction fragment length polymorphism)

RAPD: Polimorfismo de ADN amplificado al azar (Random amplified polymorphic DNA)

AFLP: Polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados (Amplified fragment length polymorphism)

ISSR: Secuencia entre repeticiones simples (Inter-simple sequence repeat) Secuencias simples repetidas

Fuente: elaboración según (Besserra y Paredes 2000, Ramírez 2003, Martínez 2006, Rentarías 2007, Hopp 2010, Ralia et al. 2011).

De lo anterior se puede apreciar que tanto los enfoques moleculares como morfológicos tienen ventajas y desventajas; ambos siguen desempeñando un papel crucial en casi todos los grupos de organismos y que hasta nuestros días las especies se describen y se identifican en base a ambas clases de datos (Rentarías, 2007).

#### 2.3.4 Microsatélites

Los microsatélites se han convertido en uno de los marcadores moleculares más útiles en mejoramiento de plantas, ampliamente usado para estudiar el fingerprinting (huella genética) de los cultivares, test de paternidad y mapeo del genoma Rallo et al. (2003). Estos consisten en motivos (grupo constante) de secuencias constantes de 1-6 pares de bases de largo repetidas en tandem varias veces (Cipriani et al., 2002). Sin embargo, Hopp (2010) los define como cualquier serie de secuencias cortas repetidas (1-10 pb), mientras que Valadez y Kahl (2000) los definen como secuencias medianamente repetidas ordenadas en serie; son secuencias de ADN altamente variables (hipervariables) dispersas a través de los genomas de hongos, plantas y de animales. Estas repeticiones cortas son abundantes y frecuentemente esparcidas en el genoma de eucariota, altamente polimórficas disponibles para ensayos de PCR (Polymerase Chain Reaction), usando cebadores (primers) complementarios a las regiones flanqueantes (Cipriani et al., 2002).

El polimorfismo de los microsatélites se basa en el diferente número de repeticiones de los motivos de secuencias cortas en un locus dado según Rallo et al. (2000). El origen del polimorfismo continúa en debate, aunque previsiblemente este se deba al evento de "resbalón" o "slipagge" durante la replicación del DNA (Schlotterer y Tautz, Zane et al., citados por Yañes, 2002), en el cual la cadena nueva o la cadena patrón se desliza sobre la otra en al menos un motivo, resultando en un mal apareamiento de las mismas (Moxon y Wills, citados por Yañes, 2002). Otras posibles causas para la generación de polimorfismo se deban a otros tipos de mutaciones, como las deleciones e inserciones, ya sean en el microsatélite en si o en las regiones que lo flanquean alterando el tamaño de la región microsatélite. La duplicación de una secuencia microsatélite en otra región del genoma da lugar a la generación de marcadores microsatélites multilocus (Jarne y Lagoda, Villamón, citados por Yañes, 2002).

Debido a la alta conservación de las regiones flanqueantes los marcadores microsatélites son los elegidos en estudios sobre genética de poblaciones y para la huella genética (fingerprinting) de individuos (Rafalski et al., citados por Cipriani et al., 2002); teniendo un alto potencial para estudios genéticos a nivel varietal, de especie y género (Szewc-McFadden et al., Smulders et al., citados por Rallo et al., 2003). Es así, que los principales cultivos en la actualidad cuentan con una base de datos con apreciable cantidad de microsatélites, a modo de ejemplo es el caso de la papa (Milbourne et al., citados por Yañes, 2002), yuca (Mba et al., citados por Yañes, 2002), arroz (Cho et al., citados por Yañes, 2002), trigo (Bryan et al., citados por Yañes, 2002) y cebada (Dávila et al., citados por Yañes, 2002).

Analizando el genoma para cada individuo con microsatélites da lugar a la obtención de patrones de bandas individuales y específicos. Estos patrones se manifiestan en fragmentos de longitud variable y se observan después de teñir los geles con sales de plata, bromuro de etidio, por autoradiografía o por métodos no radiactivos (Winter y Kahl, citados por Valadez y Kahl, 2000). Los distintos patrones de bandas que exhibe el genoma de los organismos, pueden traducirse a árboles filogenéticos o dendogramas con el uso de métodos estadísticos y programas de computación, lo que permite definir de manera mas clara la relación a nivel de ADN entre los individuos de una determinada población (Weising et al., citados por Valadez y Kahl, 2000).

Las mayores desventajas de esta clase de marcadores moleculares son el tiempo requerido para su aislamiento y los costos involucrados, pero estas desventajas han sido recientemente superadas por la introducción de bibliotecas genéticas y secuenciación automática (Morgante et al., citados por Cipriani et al., 2002). Los marcadores microsatélites se han recomendado para generar una identificación única de individuos (huella digital), obteniendo una base de datos para caracterización de cultivares (Belaj et al., 2004).

### 2.3.5 Antecedentes en *Olea europaea*

Entre los marcadores utilizados en olivo, los microsatélites se han convertido en los marcadores por excelencia, dada su naturaleza codominante, capacidad discriminante y repetitividad entre laboratorios. El alto número de microsatélites disponible actualmente permite su utilización rutinaria en estudios de recursos genéticos en olivos y en programas de mejoramiento según Trujillo et al. (2006). En *Olea europaea*, estos marcadores han sido usado en diferentes aplicaciones como en la discriminación de cultivares Sarri et al., Fendri et al., citados por Bracci (2011), como en estudios de relaciones entre olivos silvestres y cultivados (Belaj et al., citados por Bracci, 2011).

Tratándose de una especie con gran diversidad como el olivo, las tres técnicas (RAPDs, AFLPs, SSRs) se pueden utilizar con éxito para estudios de diversidad genética y caracterización varietal (Belaj et al., 2003). Sin embargo, para la identificación de variedades a efectos de certificación varietal, los SSRs ofrecen la facilidad de documentar y compartir sus resultados (Belaj et al., 2003) y mayores ventajas dada su gran reproducibilidad Belaj et al. (2003), sea en el mismo laboratorio o en diferentes laboratorios que realicen experimentos idénticos Belaj et al. (2004). Ambos los AFLPs (Vos et al., citados por Belaj et al., 2003) y los RAPDs (Fabbri et al., Mekuria et al., Gemas et al., Gonzalo-Claros et al., Hess et al., Belaj et al., Besnard et al., Sanz-Cortés et al., citados por Belaj et al., 2003), son muy eficientes para el estudio de las relaciones

genéticas en olivo. Debido a su gran capacidad los AFLPs son muy eficaces para muchas aplicaciones en olivo, pero su compleja técnica limita su utilización Fendri (2008). Los marcadores RAPD seguirán siendo una buena opción para estudios de diversidad genética, clarificación de sinonimias y homonimias en olivo, por su sencillez y el bajo coste pero su uso se verá limitado en el futuro debido a la falta de consistencia entre distintos laboratorios (Jones et al., citados por Belaj et al., 2003).

Los marcadores moleculares RAPDs, AFLPs y SSRs fueron comparados en cuanto a su información y eficiencia en estudios de diversidad genética y relaciones entre treinta y dos cultivares de olivo en Italia y España. El mayor nivel de polimorfismo detectado por los marcadores SSRs (más que con RAPDs y AFLPs), destacan su capacidad de discriminación según Belaj et al. (2003). Este resultado está de acuerdo con otros estudios, donde los SSRs fueron comparados con otros sistemas de marcadores (Powell et al., Pejic et al., Belaj et al., citados por Taamalli et al., 2006). Estos marcadores fueron capaces de discriminar efectivamente varios genotipos, pero solamente los SSRs fueron capaz de diferenciar los cultivares “Frantoio” y “Cellina” (Belaj et al., 2003). La gran variabilidad observada en loci SSRs, fue la esperada a causa del único mecanismo por el cual esta variación se genera: deslizamiento durante la replicación, que ocurre más frecuentemente que mutaciones sencillas de nucleótidos y eventos de inserción y delección, los cuales generan el polimorfismo detectable por análisis AFLP (Powell et al., Melbourne et al., citados por Taamalli et al., 2006).

En previo reporte de la transferibilidad de los SSRs dentro de la familia Oleáceas (Lefort et al., citados por Rallo et al., 2003) se demostró que loci SSRs desarrollados para *Fraxinus* estuvieron presentes en varias taxa dentro del género *Olea* Rallo et al. (2003). Tres microsatélites aislados de *Fraxinus excelsior* L. ha sido exitosamente aplicado en el olivo (Lefort et al., citados por Cipriani et al., 2002). Treinta microsatélites aislados de olivo, usando bibliotecas genómicas enriquecidas en repeticiones (AC) y (AG) y aplicados a una lista de 13 cultivos de diferentes regiones de Italia, se han usado para evaluar el grado de polimorfismo de estos marcadores. Todos los cultivares fueron fácilmente separados unos de otros. Se resolvieron dos problemas de sinonimia “Frantoio” y “Casaliva” que son considerados muy similares. Frecuentemente los cultivares “Leccino” y “Less” son considerados algunas veces un mismo cultivar y a partir de diferencias mostradas en 22 de los 28 loci polimórficos por lo que esa posibilidad puede ser excluido. El alto valor de diversidad genética (h) y el poder de discriminación (PD) encontrados en muchos de los loci microsatélites estudiados, los convierte en una herramienta válida para discriminar entre los cultivares que se propagan corrientemente (Cipriani et al., 2002).

Cuatro microsatélites, IAS-oli11, IAS-oli12, IAS-oli17, IAS-oli22, desarrollados por el Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC) de Córdoba, España, fueron utilizados para identificar genotipos pertenecientes al olivar de dicha provincia. Los perfiles electroforéticos generados por las accesiones de los cultivares Arbequina y Frantoio fueron similares a los obtenidos con las muestras de referencia de CSIC (Córdoba), pero no se pudo verificar identidad entre las muestras de referencia con las colectadas de Empeltre y Manzanilla. A su vez, se confirmó la presunta sinonimia entre Frantoio y Oblonga. Las muestras locales de Nevadillo no mostraron diferencias entre sí aunque el perfil de resultados de microsatélites fue distinto al de Picual, cultivar considerado como sinónimo. A partir de esta serie de resultados se consideró la necesidad de profundizar los estudios tendientes a establecer la correcta identidad de los materiales locales cuyos perfiles microsatélites presentaron diferencias con los materiales de referencia y confirmaron la utilidad de los microsatélites como herramienta para la identificación y autenticación varietal (Taborda et al., 2006).

Aplicando cinco microsatélites desarrollados para olivo, fueron estudiados 33 genotipos de 15 especies de *Olea*. Al menos doce de ellas fueron exitosamente amplificadas para los cuatro loci más polimórficos. El polimorfismo se encontró tanto a nivel inter como intra específico, confirmando su utilidad como una herramienta útil para estudios de biodiversidad. La identificación de cultivares pudo ser lograda a través de dichos microsatélites en un total de 46 cultivares. El 95% de alelos fue identificado con sólo tres microsatélites (Rallo et al., 2002).

Posteriormente con nueve pares de cebadores SSR se analizaron en 35 cultivares de España e Italia de interés comercial. Todos los microsatélites fueron polimórficos con una media de 7,5 alelos por locus, con un poder de discriminación (PD) medio de 0,79. El conjunto de microsatélites aplicados discriminó todos los cultivares estudiados. La combinación conjunta de tres de ellos, UDO99-009, UDO99-043 y UDO99-14 hizo posible la identificación de todos los cultivares incluidos en este estudio (Belaj et al., 2004).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 PROSPECCIÓN

Se emplearon para el desarrollo de los diversos análisis realizados en este trabajo, ramas jóvenes y frutos de 152 árboles provenientes de 14 sitios diferentes, que incluyeron a plantaciones centenarias y montes implantados posteriormente a 1950. El muestreo se realizó en los meses de febrero de 2006, octubre de 2007 y diciembre 2010 y los sitios de procedencia se localizaron en departamentos del sur, sureste y litoral oeste del país (Figuras 12-14, cuadro 2), abarcando ambientes diversos en términos de suelo y clima; en cada sitio se realizaron dos o más visitas.

La colecta de muestras también abarcó a los restos de montes de las viejas quintas existentes en zonas urbanas y suburbanas del departamento de Montevideo: Sayago, Peñarol, Barros Blancos, Paso de la Arena, actualmente incorporadas al arbolado público. Para la ubicación de los árboles correspondientes a la zona urbana de Montevideo, se dispuso de la información existente en la Intendencia Municipal de Montevideo (Unidad de Áreas Verdes) a través de los Sistema de Información Geográfica Municipal (IMM.UAV, 2006b) y el de Áreas Verdes (IMM.UAV, 2006a).

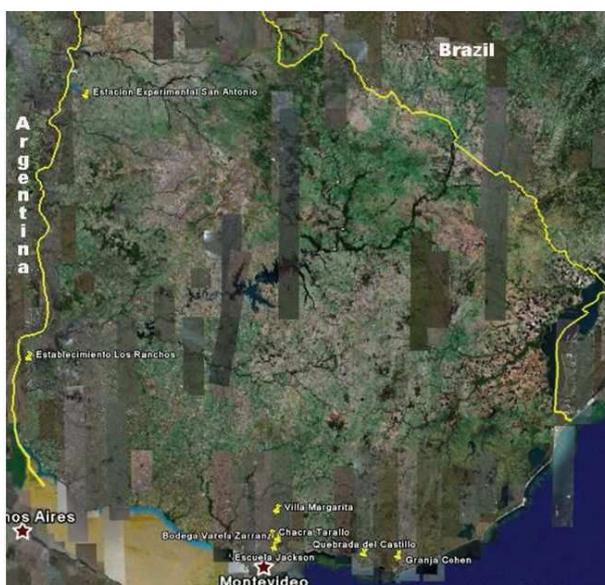


Figura 12. Ubicación de los sitios de colecta en los deptos: Maldonado, Canelones, Salto y Río Negro (imagen modificada de Google Earth)

Referencias:

En amarillo se visualizan los puntos de recolección

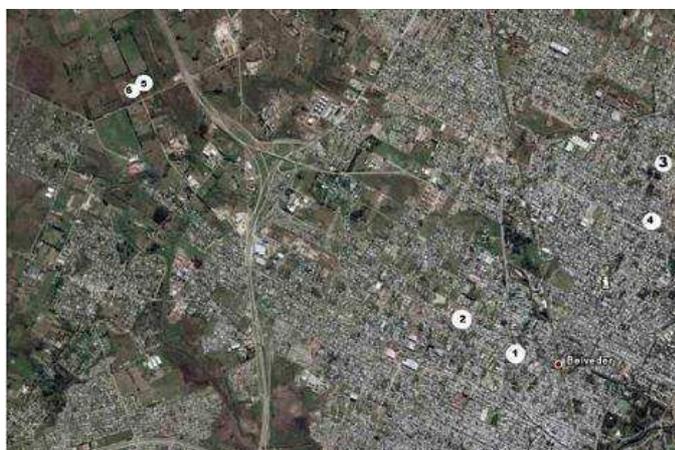


Figura 13. Mapa satelital de los sitios de colecta en el depto. de Mdeo (imagen modificada de Google Earth)

Referencias:

En círculos se visualizan los puntos de recolección

1. Ex Quinta de Canessa
2. Ex Quinta de Posse
3. Calle Cnel. Raíz
4. Calle Oliveras
5. Quinta de Arteaga
6. Quinta de Tomasito

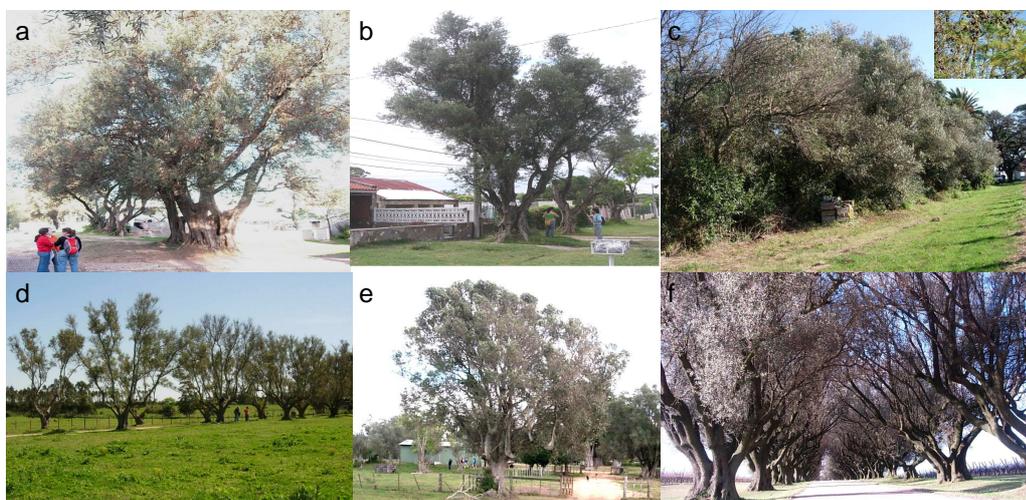


Figura 14. Sitios de colecta: a) Ex Quinta de Canessa, b) Calle Coronel Raíz, c) Quinta de Arteaga (árbol y detalle del fruto), d) Ex Escuela Jackson, e) Quebrada del Castillo, f) Viña Varela Zarranz

### 3.2 ENTREVISTA

Las informaciones de los sitios en los cuales se encontraban los árboles que fueron estudiados, referidos a su historia, propietarios, fecha de plantación, edad estimada, productividad, destino de la producción, manejo cultural y sanitario, que se obtuvieron a partir de entrevistas a los productores o vecinos de la zona de colecta.

Cuadro 2. Identificación y localización de los lugares prospectados

Sitios de colecta	Abreviaturas de cada sitio de colecta	No. de plantas seleccionadas	Localización
1. EEFAS (Facultad de Agronomía San Antonio)	EEFAS	9	Ruta 31 km 21 (San Antonio, Salto)
2. Quebrada del Castillo	Q. del Castillo	6	Ruta 37 km 4 (Piriápolis, Maldonado)
3. Granja de Cohen	G. de Cohen	8	Ruta 39 y Ruta 9 (San Carlos, Maldonado)
4. Ex Quinta de Canessa	Ex Q. de Canessa	6	Calle Emancipación entre Av. Garzón y G. Pérez (Montevideo)
5. Quinta de Tarallo	Q. de Tarallo	6	Ruta 33 km 19 (Sauce, Canelones)
6. Quinta "Villa Margarita"	Q. Villa Margarita	4	Ruta 6 a 300 m de Ruta 11 (Sta. Rosa, Canelones)
7. Ex Escuela Jackson	Ex Esc. Jackson	14	Ruta 8 km 17 (Barros Blancos, Montevideo)
8. Ex Quinta de Posse	Ex Q. de Posse	16	Gral. Hornos entre Guzmán y Obera (Montevideo)
9. Calle Coronel Raíz	C. Cnel. Raíz	10	Cnel. Raíz entre Edison y Gral. Batlle y Ordóñez (Montevideo)
10. Calle Oliveras	C. Oliveras	5	Calle Oliveras esq. A. Recalde (Montevideo)
11. Quinta de Arteaga	Q. de Arteaga	14	Cno. de la Granja y Rey del Monte (Pº de la Arena-Montevideo)
12. Viña Varela Zarranz	V. Varela Zarranz	11	Ruta 74 km 29 (Joaquín Suárez, Canelones)
13. Establecimiento Los Ranchos	E. Los Ranchos	42	A 30km al sur de Fray Bentos (R. de las Gallinas, Río Negro)
14. Quinta de Tomasito	Q. de Tomasito	1	Cno. de la Granja y Cno. Pérez (Pº de la Arena, Montevideo)
TOTAL		152	

### 3.3 METODOLOGÍA DE MUESTREO

Para la realización del muestreo en el caso de características que no han sido analizadas anteriormente y que no se disponía de información sobre la variación existente en poblaciones de la misma especie, se tomó al azar un número de ejemplares equivalente al 30% del total existente en cada sitio según

lo sugerido por el Depto. Biometría Estadística y Computación (2006)<sup>6</sup>

La determinación de los árboles que serían muestreados se realizó en cada sitio en el momento de la visita, seleccionándose por producción de fruta y estado fitosanitario general, según lo detallado por Barranco et al. (2000). Cada ejemplar seleccionado como muestra fue marcado con cinta y se le asignó un código para su posterior identificación, en caso de nuevas visitas a los sitios de colecta, donde la primera letra y número correspondían a un sitio de colecta determinado y la siguiente letra y número a la muestra específica. Se extrajeron de los cuatro puntos extremos opuestos de cada árbol, hojas jóvenes para la caracterización molecular, hojas adultas y frutos para el estudio morfológico.

### 3.4 METODOLOGÍA DE RECOPIACIÓN DE DATOS HISTÓRICOS

La recopilación de los antecedentes históricos del cultivo de olivo en Uruguay se inició con la búsqueda de citas bibliográficas en diversas fuentes de información. En la sección “Archivos históricos” de la Biblioteca Nacional se obtuvieron datos de la introducción de las primeras plantas al país, incentivos del gobierno a la olivicultura, ubicación de viveros, quintas y emprendimientos olivícolas en distintos lugares del país.

Posteriormente en la Biblioteca de la Intendencia Municipal de Montevideo (I.M.M) se accedió a la información de las antiguas quintas que existieron en la ciudad. En la Unidad Áreas Verdes de la I.M.M se accedió al Sistema de Información Geográfica Municipal (IMM.UAV, 2006b) y al Sistema de Áreas Verdes a través de la Base de datos Oracle (IMM.UAV, 2006a), se ubicaron los ejemplares existentes en las aceras de la ciudad, en los Barrios de Belvedere, Paso Molino, Sayago y Peñarol. En otras redes informáticas, se obtuvieron los datos recabados por la Comisión de Vecinos del Barrio Atahualpa, sobre la ubicación de las antiguas quintas en las cercanías del Arroyo Miguelete (Montevideo). Por esta vía se obtuvieron referencias de otros emprendimientos en el territorio nacional.

Conjuntamente con el Ing. Agr. Jorge Peverelli, se localizaron restos de antiguos olivares, en los departamentos de Maldonado y Canelones. Sus propietarios informaron la época de plantación y origen de los montes. En el establecimiento del Ing. Agr. Daniel Varela (Viña Varela Zarranz) obtuvimos registros de plantaciones de la zona. Testimonios de antiguos viveristas, como Eduardo y Natalia Schölderle, del Vivero Toledo Chico (con más de 100 años de existencia), brindaron datos de otras plantaciones como la ex Escuela Jackson (Barros Blancos, Montevideo) citando diversos antecedentes y publicaciones depositadas en la Biblioteca de la Asociación Rural del Uruguay.

En la Estación Experimental San Antonio (Salto) de la Facultad de Agronomía, la Ing. Agr. Beatriz Vignale, facilitó el acceso al Jardín de Introducción del citado centro y a una serie de registros de olivos plantados en ese lugar desde el año 1943. En la zona rural del departamento de Montevideo, a través del conocimiento de plantaciones, aportadas por Ing. Agr. Carlos Mantero del Departamento Forestal, se ubicaron establecimientos en el Paso de la Arena, donde resultó de gran valor la información basada en la tradición oral de los lugareños que indicaron la ubicación de viejos árboles y/o antiguas quintas en distintas zonas de la ciudad.

La información del cultivo en el mundo y particularmente en América se obtuvo de libros y publicaciones científicas y de los datos de acceso electrónico disponibles en el Consejo Oleícola Internacional (C.O.I).

### 3.5 ALMACENAMIENTO DEL MATERIAL

El material de campo colectado se colocó en bolsas de nylon etiquetadas con el código asignado a cada muestra y se almacenaron en conservadoras de plástico a 5°C. Una vez en el laboratorio las muestras de hojas jóvenes (destinadas a análisis molecular) se etiquetaron y se colocaron en envases con sílica gel a -80°C. Las muestras de hojas y frutos para análisis morfológico se rotularon y almacenaron en bolsas de nylon a -20°C.

### 3.6 REGISTRO DE MUESTRAS

Los datos recabados de cada ejemplar muestreado se registraron en en una base de datos conteniendo información referente a: lugar de colecta, ubicación del árbol en el monte, caracteres morfológicos de hoja, fruto y endocarpo. En el laboratorio se analizaron y registraron los datos de hoja y fruto. Luego se aplicó la técnica de extracción de la pulpa del fruto y se tomaron los datos morfológicos del endocarpo. El total de muestras obtenidas en cada sitio de colecta (hoja, fruto y endocarpo) fueron fotografiadas y digitalizados (cámara digital Nikon modelo Coolpix 5200, Japón) con una sensibilidad de 5.1 mega píxeles.

---

<sup>6</sup> Gravina, V. 2006. Com. personal.

### 3.7 MATERIAL DE REFERENCIA PARA ESTUDIO MORFOLÓGICO

Para la caracterización morfológica de cada muestra, se compararon los resultados obtenidos de hoja, fruto y endocarpo con los estándares propuestos por Barranco et al. (2000). La muestra de Razzo fue comparada con la variedad de referencia Frantoio (Barranco et al., 2000) ya que esta presenta como sinonimia "Razzo" y con la información de referencia para Razzo según lo indicado por Cimato et al. (2001).

### 3.8 MATERIAL DE REFERENCIA PARA ESTUDIO MOLECULAR

A los efectos de obtener los perfiles moleculares SSR de referencia se utilizaron muestras identificadas varietalmente. Las variedades Arbequina, Frantoio, Picual, Barnea, Coratina y Arbosana, fueron proporcionadas por el vivero Santa Rosa (Ruta 11, km 118.6, Santa Rosa, Canelones), importadas de los países de origen. Cinco muestras provenientes del establecimiento "Los Ranchos" (Taggiasca, Leccino, Arbequina, Pendolino y Manzanilla) y las variedades Arbequina, Frantoio, Picual, Barnea, Coratina y Arbosana del establecimiento Acción Forestal (Ruta 7, Km 113, Dpto. Florida). Estas plantas se originaron de estacas y/o por micropropagación, siendo las variedades que actualmente se cultivan en el país.

### 3.9 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

Para caracterizar morfológicamente el material colectado, se empleó una serie de caracteres preestablecidos de hoja adulta, fruto y endocarpo, estructurados en base a descriptores cualitativos y cuantitativos específicos. En el caso de caracteres cuantitativos se utilizaron escalas de nivel con intervalos suficientemente amplios (Espada et al., 2009). Estos permitieron calificar medidas reales según una escala de categorías convencional y creciente. Para los caracteres cualitativos, las categorías establecidas fueron muy sencillas y claramente identificables (Barranco et al., 2000). De cada árbol muestreado se tomaron hojas y frutos para su caracterización. Se colectaron 40 hojas adultas por árbol caracterizándolas en función de cuatro características discriminantes: longitud (l), ancho (a), forma (l/a) y curvatura longitudinal del limbo.

También se colectaron la mayor cantidad de frutos disponibles por árbol (máx. 40) (Barranco et al., 2000) para el Comité Oleícola Internacional (COI). Los frutos se colectaron cuando concluido el envero, en los cuales se midieron 6 características: forma (longitud/ancho) en posición A, simetría en posición A, posición del diámetro transversal máximo en posición B, forma del ápice en

posición A, forma de la base en posición A y pezón (Barranco et al., 2000) para el Comité Oleícola Internacional (COI).

Luego del registro de las características pomológicas (fruto) se procedió a la extracción de la pulpa y acondicionamiento del endocarpo para su caracterización morfológica. Para ello se aplicó el siguiente protocolo: inicialmente se colocaron los frutos en solución de NaOH al 10% durante 42 hs y luego se separó manualmente la pulpa. Los endocarpos se colocaron en solución NaOH al 5% por 12 hs. Después se trataron con ácido cítrico al 5% durante 24 hs. Finalmente se lavaron con agua destilada y se secaron al aire de acuerdo a lo estipulado por Cavagnaro et al. (2001). Los caracteres utilizados para la caracterización de endocarpo fueron: forma (longitud/ancho) en posición A, simetría en posición A, posición del diámetro transversal máximo en posición B, ápice en posición A, base en posición A y terminación del ápice en posición A.

Si bien todos los caracteres aportan información para la diferenciación de variedades, son los caracteres medidos en endocarpos los más ampliamente utilizados Trentacoste y Puertas (2002). Éstos caracteres han sido calificados como los de mayor poder discriminante, por ser de alta heredabilidad y poco influenciados por el ambiente; basado en estas propiedades han sido considerados especialmente útiles para discriminar variedades morfológicamente distintas Cavagnaro et al. (2001).

Los resultados obtenidos de la caracterización de hoja, fruto y endocarpo, formaron parte de la base de datos con la cual se realizaron mediante herramientas estadísticas, comparaciones entre y dentro de los sitios de colecta y comparación con los estándares del COI (Barranco et al., 2000) para cada variedad. A continuación se detallan los caracteres aplicados y sus correspondientes variantes (estados) para hoja, fruto y edocarpo, que se analizaron en cada una de las muestras obtenidas (Barranco et al., 2000).

### 3.9.1 Caracterización de hoja

Los caracteres forma, longitud y ancho son cuantitativos y la curvatura longitudinal del limbo es cualitativo (Barranco et al., 2000, Figuras 15-16).

#### 3.9.1.1 Forma

Determinada por la relación entre la longitud (L) y ancho (A):  
Elíptica ( $L/A < 4$ ) (1)

Elíptico-lanceolada (L/A 4-6) (2)  
Lanceolada (L/A > 6) (3)



Figura 15. Forma de hoja

#### 3.9.1.2 Longitud

Corta (< 5 cm)  
Media (5-7 cm)  
Larga (> 7 cm)

#### 3.9.1.3 Ancho

Estrecha (< 1 cm)  
Media (1-1,5 cm)  
Ancha (> 1,5 cm)

#### 3.9.1.4 Curvatura longitudinal del limbo

La torsión de su eje longitudinal permite clasificar la lámina foliar como:

Epinástica (1)  
Plana (2)  
Hiponástica (3)  
Helicoidal (4)

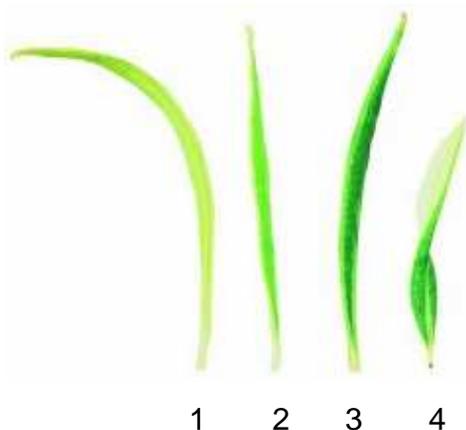


Figura 16. Curvatura longitudinal del limbo

A partir de la media del largo y ancho de hojas de cada árbol, se calculó el coeficiente de relación largo/ancho foliar. Con este coeficiente se compararon las muestras dentro y entre cada sitio de colecta y con los datos del COI.

### 3.9.2 Caracterización de fruto

Se tomó una muestra de frutos de la zona media de ramos fructíferos elegidos en diferentes puntos del árbol. La descripción del fruto se realizó aproximadamente cuando concluyó el envero o cambio de color, criterio que permite caracterizar el comienzo de la maduración. Al mencionar algunos caracteres de fruto se detallaba que dicha medida se obtenía en una posición determinada del mismo. Las posiciones de referencia se denominaron como A y B, llamándose posición "A" aquella en la que el fruto presenta generalmente mayor asimetría al sujetarlo por sus extremos entre los dedos índice y pulgar y posición "B" es la que resulta al girar 90° la posición anterior, quedando la parte más desarrollada hacia el observador (Barranco et al., 2000, Figuras 17-22).

#### 3.9.2.1 Forma (en posición A)

Determinada en función de la relación entre longitud (L) y ancho (A):

Esférica ( $L/A < 1,25$ ) (1)

Ovoidal ( $L/A 1,25-1,45$ ) (2)

Alargada ( $L/A > 1,45$ ) (3)

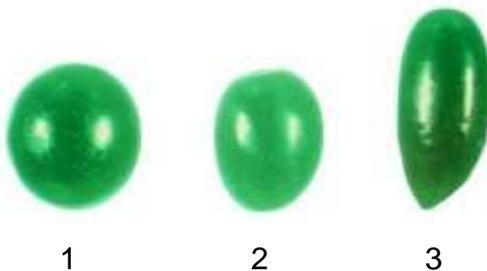


Figura 17. Forma del fruto (en posición A)

### 3.9.2.2 Simetría (en posición A)

Determinada por la relación entre sus dos mitades longitudinales:

- Simétrico (1)
- Ligeramente asimétrico (2)
- Asimétrico (3)

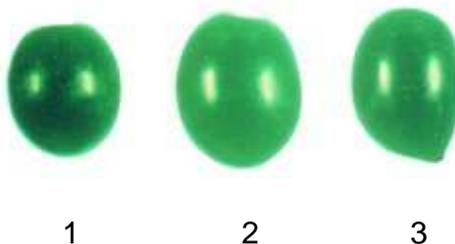


Figura 18. Simetría del fruto (en posición A)

### 3.9.2.3 Posición del diámetro transversal máximo (en posición B)

Según su situación puede estar:

- Hacia la base (situado hacia el pedúnculo) (1)
- Centrada (2)
- Hacia el ápice (3)

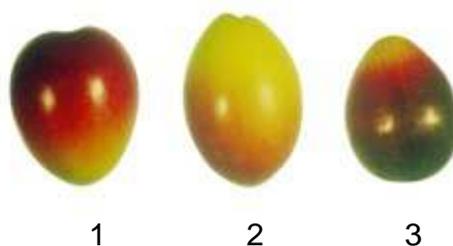


Figura 19. Posición del diámetro transversal máximo (en posición B) del fruto

#### 3.9.2.4 Ápice (en posición A)

Apuntado (1)  
Redondeado (2)



Figura 20. Ápice del fruto (en posición A)

#### 3.9.2.5 Base (en posición A)

Truncada (1)  
Redondeada (2)

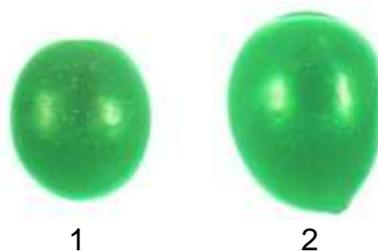


Figura 21. Base del fruto (en posición A)

### 3.9.2.6 Pezón

Éste carácter del punto estilar del fruto puede estar de la siguiente forma:

- Ausente (1)
- Esbozado (2)
- Evidente (3)



Figura 22. Estados del pezón del fruto

### 3.9.3 Caracterización de endocarpo

El endocarpo consiste en la porción interna lignificada del fruto que protege la semilla. Usualmente se denomina hueso, al conjunto integrado por el endocarpo y la semilla. Al igual que en el fruto, en algunos caracteres se hace referencia a dos posiciones. La posición "A" corresponde a la de máxima asimetría y es aquella en que la sutura carpelar queda a la vista del observador. La posición "B" resulta de un giro de 90° respecto a la anterior, de modo que la porción más desarrollada queda hacia el observador (Barranco et al., 2000). Estos caracteres del endocarpo son mas confiables en la identificación de variedades (Cavagnaro et al., 2001, Figuras 23-28).

### 3.9.3.1 Forma (en posición A)

Determinada en función de la relación entre longitud (L) y ancho (A):

- Esférica ( $L/A < 1,4$ ) (1)
- Ovoidal ( $L/A 1,4-1,8$ ) (2)
- Elíptica ( $L/A 1,8-2,2$ ) (3)
- Alargada ( $L/A > 2,2$ ) (4)



Figura 23. Forma del endocarpo (en posición A)

### 3.9.3.2 Simetría (en posición A)

Determinada por la correspondencia entre sus dos mitades longitudinales:

- Simétrico (1)
- Ligeramente asimétrico (2)
- Asimétrico (3)



Figura 24. Simetría del endocarpo (en posición A)

### 3.9.3.3 Posición del diámetro transversal máximo (en posición B)

Según su situación puede encontrarse:

Hacia la base (situado hacia la inserción) (1)

Centrada (2)

Hacia el ápice (3)



1                      2                      3

Figura 25. Posición del diámetro transversal máximo del endocarpo (en posición B)

### 3.9.3.4 Ápice (en posición A)

Apuntado (1)

Redondeado (2)



1                      2

Figura 26. Ápice del endocarpo (en posición A)

### 3.9.3.5 Base (en posición A)

Truncada (1)

Apuntada (2)

Redondeada (3)

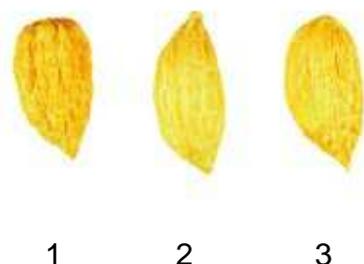


Figura 27. Base del endocarpo (en posición A)

### 3.9.3.6 Terminación del ápice

Sin mucrón (1)  
Con mucrón (2)



Figura 28. Terminación del ápice del endocarpo

## 3.10 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR-MICROSATÉLITES

### 3.10.1 Extracción y cuantificación de ADN

El material vegetal objeto de este trabajo, no había sido anteriormente estudiado en el Laboratorio de Biotecnología (Departamento de Biología Vegetal) de la Facultad de Agronomía. Por tal motivo fue necesaria una puesta a punto de todas las etapas del análisis molecular. Para extraer y cuantificar el ADN (ácido desoxirribonucleico) genómico se probaron 2 protocolos: uno fue el de Ferreira y Grattapaglia (1996) de uso frecuente en dicho laboratorio para marcadores RAPD y el otro fue el método de extracción Doyle y Dolyle del año

1990, modificado por Cipriani et al. (2001) especialmente diseñado para marcadores SSR y AFLP. La principal diferencia entre ambos protocolos era la cantidad inicial de material vegetal necesario para obtener niveles y calidad de ADN suficientes para la amplificación. El protocolo de Ferreira y Grattapaglia (1996) fue altamente eficiente en calidad y cantidad de ADN partiéndose de una cantidad de inicial de 100 mg de tejido fresco, con algunas modificaciones dada la característica oleosa del material vegetal por lo que fue adoptado finalmente para la realización de los estudios moleculares.

Dicho protocolo consistió en pesar primeramente 100 mg de tejido fresco (hojas jóvenes) por muestra, cortado en pequeños trozos con tijera entomológica y luego colocado en tubos eppendorf conteniendo Nitrógeno líquido donde se maceró manualmente con un pistón de teflón para obtener una optimización del macerado. Al tejido vegetal triturado se le adicionó 700 µl de buffer de extracción CTAB (Bromuro de Cetil-Trimetil-Amonio) 2X [1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl, 0,2% Mercapto-etanol, 2% (w/v) CTAB pH 8,0], se agitó en vortex manteniéndolo posteriormente a 60° C en baño maría durante 1 hora (invirtiéndose los tubos cada 15 minutos). Luego de dicho tiempo se retiró del baño y se enfrió durante 30 minutos a temperatura ambiente, para adicionarle luego 600 µl de Cloroformo/Alcohol Isoamílico (CIA 24:1; v/v) a cada muestra, agitándose nuevamente cada diez minutos para emulsionar las fases. Seguidamente se centrifugó a 12000 rpm durante 5 minutos a 5°C, transfiriéndose posteriormente el sobrenadante (aproximadamente 800 µl) a nuevo tubo eppendorf al que nuevamente se agregó 600 µl de CIA, agitándolos del mismo modo y centrifugado a 12000 rpm durante 5 minutos. Luego se retiró la fase superior y el sobrenadante se transfirió a un nuevo tubo agregándosele una fracción equivalente 2/3 del volumen de sobrenadante (aproximadamente 400 µl) de una solución acuosa de Isopropanol (2-Propanol) frío (-20 °C). Se mezcló suavemente y se dejó a -20° C durante una hora para la precipitación de los ácidos nucleicos. Pasado dicho tiempo se retiró del freezer y se centrifugó durante 5 minutos a 7500 rpm. Posteriormente se eliminó la fase líquida (Isopropanol) adicionándose 700 µl de Etanol 70% frío. Se agitó suavemente y centrifugó a 15000 rpm durante 1 minuto. Se retiró nuevamente la fase acuosa y se agregó Etanol 95% en la misma cantidad y centrifugándose en las mismas condiciones. Finalmente se eliminó la fase acuosa quedándonos con el precipitado colocándose los tubos que lo contenían en forma invertida en estufa a 37°C durante 1 hora. El "pellet" obtenido se resuspendió en 50µl de Tampón TE (Tris-HCL 10mM, EDTA 1mM, ph 8,0) almacenándose cada tubo con el ADN en solución a -20°C.

La evaluación de la calidad del ADN obtenido y su cuantificación se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa (Fermentas, USA) al 1% de buffer

TAE 1X (0,04M Tris-acetato, 0,001M EDTA, pH 8,5), teñido con Bromuro de etidio a una concentración final de 50  $\mu\text{m}/\text{ml}$ . La cuantificación se realizó mediante la comparación visual del ADN obtenido con cuatro patrones de concentraciones conocidas: 10, 50, 100 y 200  $\text{ng}/\mu\text{l}$  de ADN genómico comercial (Fago  $\lambda$  DNA, Fermentas, USA). En cada posillo se cargó 2  $\mu\text{l}$  de ADN y 3  $\mu\text{l}$  de Loading Buffer 6X (10 mM Tris-HCl (pH 7,6), 0,03% Bromophenol blue, 0,03% Xylene cyanol FF, 60% Glycerol, 60 mM EDTA) (6X DNA Loading Dye, Fermentas, USA). Se dejó migrar durante una hora a 70V (voltaje constante). Se usó marcador de peso molecular conocido de 25-700 pb (DNA Ladder, Low Range, Fermentas, USA)

### 3.10.2 Selección de microsatélites

La caracterización del material genético usando microsatélites se realizó de acuerdo a las especificaciones de Cipriani et al. (2002) usando 10 del grupo de los 30 pares de cebadores por su poder discriminante, descritos por estos autores del Centro Nacional de Investigación (Scandici) de Firenze, Italia (cuadro 3).

Cuadro 3. Secuencias de cebadores de 10 microsatélites para “Frantoio”

Locus 5' → 3'	No. alelos	Motivo de repetición	Rango de tamaño	Largo (pb)	Perfil Frantoio	Poder discriminante para Cipriani et al. (2001)
UDO99-006 F-TCAGTTTGTTCCTTTAGTGGA R-TTGTAATATGCCATGTAACCTCGAT	3	(GT)5(AT)6 G (GT)9	150/174	172	170/174	0.68
UDO99-007 F-TGTGTTCTTTATTTGAAGGAATCTT R-TCGCTTTTGTGTACATATTCG	7	(GT)21	94-141	120	108/120	0.67
UDO99-008 F-AAAAACACAACCCGTGCAAT R-AAATTCCTCCAAGCCGATCT	3	(AC)13	160-170	159	160/165	0.75
UDO99-009 F-TTGATTTACATTGCTGACCA R-CATAGGGAAGAGCTGCAAGG	6	(AG)16	83-119	119	103/119	0.74
UDO99-011 F-TGACTCCCTTTAAACTCATCAGG R-TGCGCATGTAGATGTGAATATG	5	(CT)7(CA)10 (CT)2 (CA)2CT(CA) 2CT (CA) 9	105-132	115	115/124	0.75
UDO99-014 F-TTCCCCTTATTCAATGTGAACC R-ACTGCAGTTTGGGAATCAAA	3	(GT)10	95-105	103	95/105	0.74
UDO99-028 F-CTGCAGCTTCTGCCATAC R-GCAGATCATCATTTGGCACT	4	(CA)23(TA)3	136-172	152	154	0.74
UDO99-031 F-TATCCTCTATGTGGCGATG R-TTGGTTAAAAGGATTGATACA	5	(TG)21 (TATG)6	114-155	151	147/155	0.85
UDO99-035 F-AATTTAATGGTCACACACAC R-ATTGCGAAATAGATCTACGA	5	(CA)15	136-168	145	136/168	0.62
UDO99-043 F-TCGGCTTTACAACCCATTTTC R-TGCCAATTATGGGGCTAACT	5	(GT)12	179-219	174	179/219	0.75

Fuente: elaboración según Cipriani et al. (2002).

### 3.10.3 PCR (Polymerase Chain Reaction) y electroforesis

La amplificación de los 10 pares de iniciadores microsatélites fue realizada a través del Protocolo Doyle y Doyle del año 1990, modificado por Cipriani et al. (2002). Para realizar la reacción de PCR (Polymerase Chain Reaction) la amplificación de los pares de iniciadores microsatélites fue realizada según Cipriani et al. (2002). La reacción de PCR se efectuó sobre un volumen final de 20ul, conteniendo 11,92 µl de agua destilada autoclavada, 2 µl de buffer PCR (10 X), 0,8 µl de MgCl<sub>2</sub> (1,5 mM), 1,6 µl de dNTPs (2,5 µM de cada dNTP), 1,2 µl de c/cebador (5 ng/ µl), 0,25 µl de Taq ADN polimerasa [INVITROGEN] (1,25 unidades) y 1 µl de ADN genómico (10 ng/µl). Las reacciones de amplificación fueron efectuadas usando un termociclador Biometra ® Personal Cycler siguiendo el siguiente perfil de temperaturas y tiempos: 95°C durante 5 minutos, seguido de 35 ciclos de (94°C por 45 segundos, 57°C por 45 segundos y 72°C por 45 segundos) finalizando con 72°C por 8 minutos. Los productos de amplificación se analizaron mediante electroforesis en geles de agarosa (Fermentas, USA) al 3% empleando como tampón TBE 1X (0,045M Tris-Borato, 0,001M EDTA pH 8,0). Como referencia para estimar el tamaño (pb) de los productos amplificados se usó marcador de peso molecular conocido de 25-700 pb (DNA Ladder, Low Range, Fermentas, USA). En las migraciones electroforéticas se incluyeron amplificaciones de materiales de referencia, obtenidos en el Vivero Santa Rosa S.A., las variedades Arbequina, Arbosana, Barnea, Coratina, Picual y Frantoio y las provenientes del Establecimiento "Los Ranchos" Taggiasca, Leccino, Arbequina, Pendolino y Manzanilla cuyos perfiles de productos de amplificación se conocía (Rallo et al. 2000, Cipriani et al. 2002, Baldoni et al. 2009). Las 169 muestras fueron analizadas con los diez pares de cebadores y las provenientes de sitios de Montevideo (65) fueron amplificadas una segunda vez. El grado de resolución de la electroforesis estuvo cuantificado por los niveles de bandas del patrón de peso molecular Fermentas MPM Low Range (25-700 pb con intervalos de 50 y 100 pb). Los patrones de bandas obtenidos fueron utilizados para la identificación del material colectado a nivel varietal cuyo origen se desconocía.

### 3.11 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

Los resultados de las muestras obtenidos se compararon entre y dentro de los sitios de colecta y se cotejaron con las muestras de variedades conocidas.

Los resultados obtenidos a partir de los caracteres morfológicos de hoja (l/a), fueron analizados estadísticamente mediante el programa Statistica

(versión 5.0) realizado por StatSoft (1995) y mediante el programa G-Stat Student (versión 2.0), de libre distribución a la comunidad científica, desarrollado por Molina y Marino (2002). Los caracteres de variación continua se analizaron en función de su media, varianza y desvío estándar. A partir de estos parámetros se realizaron comparaciones de medias dentro y entre árboles observando si existían diferencias significativas entre ellas (Test-t de Student para muestras dependientes, con un grado de significación ( $p < 0.05$ ) StatSoft (1995); las varianzas de las medias de cada muestra se analizaron mediante la modalidad Análisis de varianza (ANOVA: "Analysis of Variance"), determinando los porcentajes de distribución de las varianzas Molina y Marino (2002). De este modo se pudo cuantificar donde se encuentran los mayores grados de varianzas, si dentro de los árboles o entre árboles. Este indicador nos permitió extraer hipótesis referidas a si los datos pertenecen a diferentes variedades (cuando la varianza es mayor entre árboles) o si hemos analizado datos que pertenecen a la misma variedad (cuando la varianza es mayor dentro de cada árbol).

Para los datos de variación discreta, se confeccionaron matrices de presencia/ausencia de los estados de cada carácter morfológico y molecular, para cada muestra y se calcularon coeficientes de similitud entre las mismas. La matriz de resultados obtenida fue analizada mediante el programa SIMQUAL del paquete "Numerical Taxonomy System for Personal Computer" (NTSYS-pc versión 1.8). (Rohlf, 1994) y las similitudes entre las accesiones fueron estimadas usando el coeficiente de asociación de Jaccard (CAJ) (Jaccard, citado por Jackson, 1989), el cual se calcula como:

$CAJ = a / (n-d)$ , donde:

a: es el número de coincidencias positivas ( la presencia de una banda en ambas muestras),

d: es el número de coincidencias negativas (la ausencia de una banda en ambas muestras) ,

n: es el total de la muestra, incluyendo el número de coincidencias y discordancias.

Este coeficiente se caracteriza por no considerar las coincidencias negativas (0,0) como elemento en favor de la similitud. Los valores de similitud obtenidos a partir de la aplicación de este coeficiente varían entre 0 (mínima similitud) y 1 (máxima similitud). Posteriormente a partir de la matriz de asociación obtenida se realizó un análisis de agrupamiento usando el método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method), técnica de ligamiento promedio ("average linkage") aritmético "no ponderado".

De acuerdo a la base matemática del coeficiente de asociación se esperaba que las muestras de las mismas variedades presentaran mayores similitudes y las de distintas variedades menores semejanzas.

Esta metodología permitió agrupar las muestras analizadas a nivel morfológico y molecular, previa construcción de matrices de similitud y de dendrogramas, por su parecido o diferencia.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HOJA

#### 4.1.1 Comparación del carácter forma de hoja a nivel de variedades

Para caracterizar la variable forma de hoja por árbol se estimó el coeficiente largo/ ancho ( $l/a$ ), partiéndose de las medidas individuales respectivas y determinándose: media, valor mínimo, valor máximo y varianza del citado coeficiente.

Se emplearon como materiales de control para éste parámetro los obtenidos en Los Ranchos (5 variedades) en donde se colectaron hojas en 5 a 14 árboles por variedad. Por otra parte también se colectó material procedente de EEFAS. Las hojas colectadas de siete variedades de EEFAS, procedían de un sólo ejemplar existente de cada una. Los valores obtenidos en todas las muestras analizadas con el cociente largo/ancho de hoja, resultaron ampliamente informativos por su variación numérica y distribución, tanto en la dispersión de valores de este descriptor como a nivel de cada sitio y por árbol.

Las 42 muestras provenientes del establecimiento Los Ranchos estaban clasificadas y correspondían a las variedades Taggiasca (14 árboles), Leccino (13 árboles), Arbequina (5 árboles), Pendolino (5 árboles) y Manzanilla (5 árboles). Los valores medios del parámetro largo/ancho hallados para cada variedad en el total de árboles muestreados, estuvieron comprendidos entre 3,78 (Pendolino) y 6,06 (Manzanilla) detectándose más de una forma de hoja. Las variedades, Taggiasca, Leccino y Arbequina se clasificaron como elíptica-lanceolada; Pendolino forma elíptica y Manzanilla forma lanceolada

Para completar el cuadro de comparaciones entre variedades fueron contrastados los resultados de las medidas obtenidas en Viña Varela Zarranz (11 muestras) que morfológica y molecularmente se caracterizaron como pertenecientes a la variedad Frantoio (Pereira et al., 2007) (valor medio del cociente  $l/a$  de hojas 3,97 y forma elíptica) (cuadro 4 y Figura 29).

Cuadro 4. Estadística descriptiva de forma de hoja (largo/ ancho) por variedad de muestras colectadas en Viña Varela Zarranz y establecimiento Los Ranchos

	V.Varela Zarranz	E. Los Ranchos				
	Frantoio	Taggiasca	Leccino	Arbequina	Pendolino	Manzanilla
Media	3,97	4,26	4,04	5,68	3,78	6,06
Forma de hoja: l/a	Elíptica	Elíptica-lanceolada	Elíptica-lanceolada	Elíptica-lanceolada	Elíptica	Lanceolada
N (No. de árboles)	11	14	13	5	5	5
Confid-95%	3,69	4,08	3,89	5,27	3,63	5,60
Confid+95%	4,25	4,45	4,19	6,09	3,93	6,51
Mínimo	3,53	3,64	3,69	5,32	3,63	5,61
Máximo	4,90	4,86	4,42	6,11	3,91	6,61
Varianza	0,17	0,10	0,06	0,11	0,01	0,13

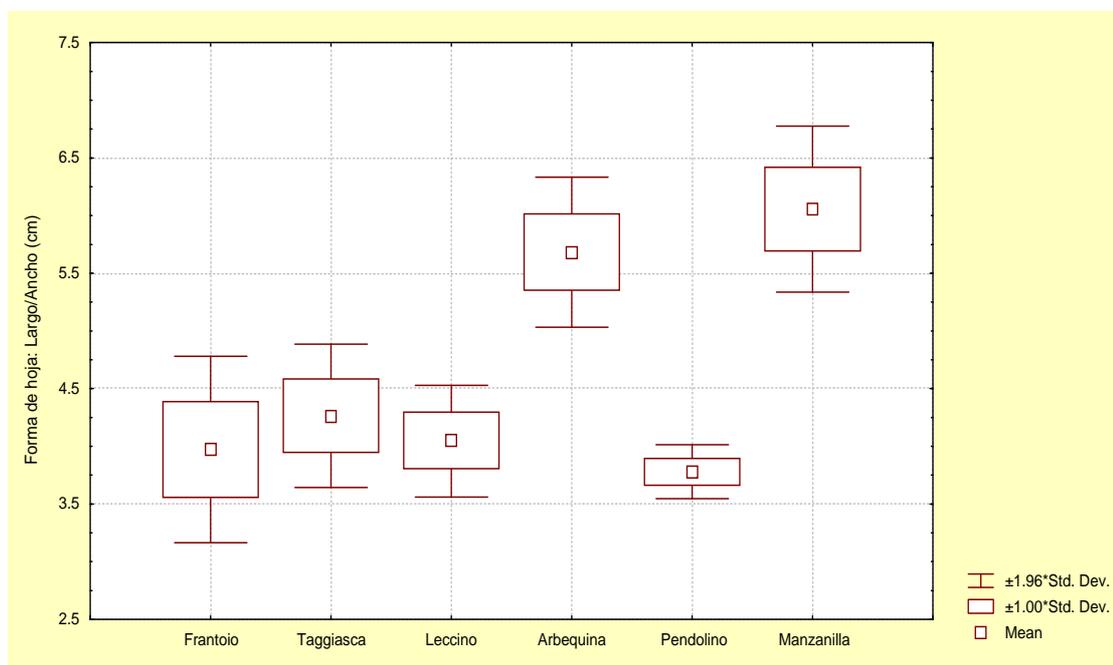


Figura 29. Dispersión de valores del descriptor l/a por árbol de variedades de olivos localizados en el establecimiento Los Ranchos y Viña Varela Zarranz

Mediante el T-test de comparación de medias, Pendolino, Arbequina y Manzanilla, se pueden distinguir de las otras variedades del establecimiento Los Ranchos, mientras que Taggiasca y Leccino se diferencian de las tres restantes pero no entre sí. El test de comparación de medias de Frantoio, resultó en diferencias significativas con los valores de Arbequina y Manzanilla, pero no lo fue con las de Taggiasca, Leccino y Pendolino (cuadro 5).

Cuadro 5. Comparación de medias (T-test) de muestras colectadas en Viña Varela Zarranz y Los Ranchos

	V. Varela Zarranz S12M10	E. Los Ranchos (Taggiasca)	E. Los Ranchos (Leccino)	E. Los Ranchos (Arbequina)	E. Los Ranchos (Pendolino)	E. Los Ranchos (Manzanilla)
V. Varela Zarranz	1					
E. Los Ranchos (Taggiasca)	0,130	1				
E. Los Ranchos (Leccino)	0,442	0,111	1			
E. Los Ranchos (Arbequina)	0,000	0,001	0,000	1		
E. Los Ranchos (Pendolino)	0,797	0,021	0,032	0,000	1	
E. Los Ranchos (Manzanilla)	0,002	0,000	0,000	0,044	0,000	1

Diferencias mínimas significativas con una  $p < 0,05$

Referencias:

Números en rojo significa que hay diferencias entre medias

Números en negro significa que no hay diferencias entre medias

El análisis de varianzas de las muestras de las diferentes variedades de los sitios Viña Varela Zarranz y establecimiento Los Ranchos, realizado a partir de las hojas colectadas y el cálculo del coeficiente I/a, mostró que el 84,29% de la varianza estuvo localizada entre grupos (variedades) y el restante 15,71% dentro de las mismas (cuadro 6).

Cuadro 6. Comparación de varianza (%) entre y dentro de muestras colectadas en Viña Varela Zarranz y Los Ranchos

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L	Cuadrado Medio	Valor -F	Valor-p
Entre Grupos	27,8570 (84,29%)	5	5,5714	51,4772	0,0004E-14
Dentro Grupos	5,1951 (15,71%)	48	0,10824		
Total (corr.)	33,0520	53			

#### 4.1.2 Comparación del carácter forma de hoja por sitio de colecta

Al analizar muestras provenientes de montes que estaban tipificados varietalmente a priori, como las de EEFAS, las medidas del coeficiente de largo/ancho por variedad (árbol) estuvieron comprendidos entre hojas cuyo valor promedio varió entre un mínimo de 3,34 (40 hojas por árbol) (variedad Grosso Andrea) y un máximo de 6,13 (variedad Razzo). De acuerdo a los intervalos del valor forma de hoja fijados por Barranco et al. (2000) para el COI, la variedades Grosso Andrea y Correggiolo se clasificaron como elíptica, Razzo de forma lanceolada y las restantes variedades de este sitio como elíptica-lanceolada (cuadro 7, Figura 30).

Cuadro 7. Estadística descriptiva de forma de hoja (largo/ ancho) de muestras colectadas en EEFAS

	Estación Experimental San Antonio (EEFAS)								
	S1M1 Arbequina	S1M2	S1M3	S1M4 Sevillana	S1M5 Grosso Andrea	S1M6 Moraiolo	S1M7 Correggiolo	S1M8 Sta. Catalina	S1M9 Razzo
Media	5,03	4,60	4,58	5,04	3,34	4,50	3,72	4,62	6,13
Forma de hoja: l/a	Elíptica-lanceolada	Elíptica-lanceolada	Elíptica-lanceolada	Elíptica-lanceolada	Elíptica	Elíptica-lanceolada	Elíptica	Elíptica-lanceolada	Lanceolada
N (No. de hojas)	40	40	40	40	40	40	40	40	40
Confid-95%	4,80	4,37	4,44	4,77	3,15	4,31	3,60	4,42	5,87
Confid+95%	5,25	4,83	4,73	5,31	3,53	4,70	3,83	4,82	6,39
Mínimo	3,53	3,67	3,21	3,33	2,60	2,83	3,08	3,00	4,58
Máximo	6,44	6,44	5,80	7,00	5,88	5,55	4,40	6,11	8,13
Varianza	0,50	0,51	0,20	0,70	0,36	0,39	0,13	0,39	0,66

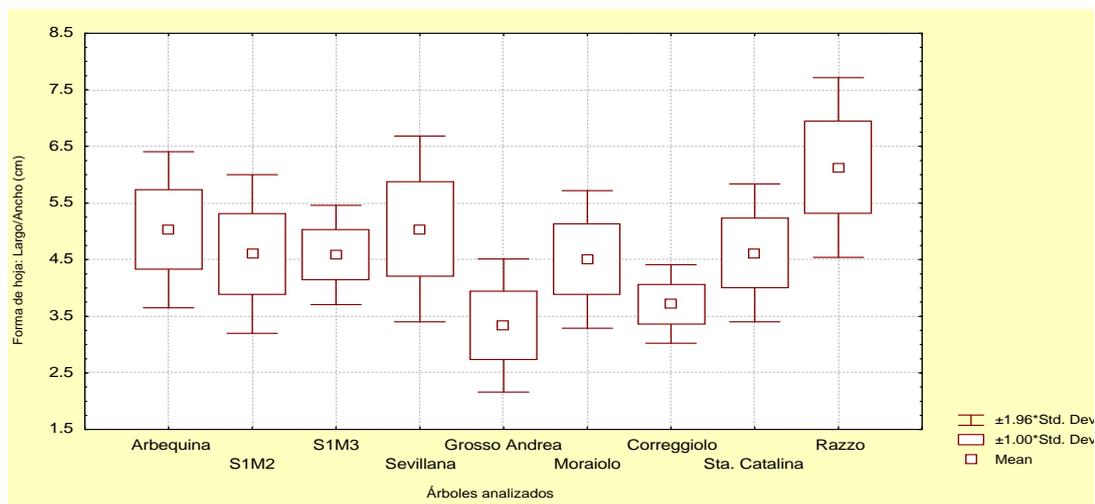


Figura 30. Dispersión de valores del descriptor l/a por árbol de olivos localizados en EEFA

Al realizar comparaciones apareadas para las medias del parámetro forma de hoja por variedad mediante un T-test con un intervalo de confianza de 95%, se observó que las variedades Grosso Andrea y Correggiolo con forma de hoja elíptica eran estadísticamente diferentes de Razzo, con forma de hoja lanceolada. Las restantes muestras se agruparon presentando una misma forma de hoja elíptica-lanceolada (Arbequina, sevillana, Moraiolo, Santa Catalina, S1M2, S1M3). La comparación de medias de cada árbol mediante el T-test varió entre las variedades. Para el caso de Grosso Andrea, Correggiolo y Razzo sus medias fueron completamente diferentes a las demás, mientras que en Moraiolo, Santa Catalina, Arbequina y Sevillana sus medias no se diferenciaron estadísticamente de Santa Catalina, Moraiolo, Sevillana y Arbequina respectivamente. Las muestras S1M2 y S1M3 cuya identidad varietal se desconocía sus medias fueron estadísticamente iguales de Moraiolo y Santa Catalina y entre sí (cuadro 8).

Cuadro 8. Comparación de medias (T-test) de muestras colectadas en EEFAS

	S1M1 Arbequina	S1M2	S1M3	S1M4 Sevillana	S1M5 Grosso Andrea	S1M6 Moraiolo	S1M7 Correggio lo	S1M8 Sta. Catalina	S1M9 Razzo
S1M1 Arbequina	1								
S1M2	0,012	1							
S1M3	0,000	0,891	1						
S1M4 Sevillana	0,938	0,013	0,002	1					
S1M5 Grosso Andrea	0,000	0,000	0,000	0,000	1				
S1M6 Moraiolo	0,000	0,513	0,499	0,002	0,000	1			
S1M7 Correggio lo	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1		
S1M8 Sta, Catalina	0,008	0,909	0,776	0,013	0,000	0,397	0,000	1	
S1M9 Razzo	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1

Diferencias mínimas significativas con una  $p < 0,05$

Referencias:

Números en rojo significa que hay diferencias entre medias

Números en negro significa que no hay diferencias entre medias

Al mismo tiempo el análisis de varianza del coeficiente l/a en este sitio de colecta mostró que la varianza se reparte 57,72% entre árboles y el 42,28% dentro de los mismos (cuadro 9).

Cuadro 9. Comparación de varianza (%) de muestras colectadas en EEFAS

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L	Cuadrado Medio	Valor -F	Valor-p
Entre Grupos	203,5224 (57,72%)	8	25,443	59,906	0,0004E-57
Dentro Grupos	149,0593 (42,28%)	351	0,4247		
Total (corr.)	352,5817	359			

Las muestras provenientes de predios cuya identificación varietal se desconocía, mostraron un patrón diferente. Las muestras procedentes de ex Quinta de Posse (cuarenta hojas de cada una de los 16 árboles) el valor largo/ancho de hoja estuvo comprendido entre 2,62 y 4,03 y una media para el sitio de 3,30 (forma elíptica). En referencia a la forma variaron desde elíptica a elíptica-lanceolada (cuadro 10, Figura 31).

Cuadro 10. Estadística descriptiva de forma de hoja (largo/ ancho) de muestras colectadas en ex Quinta de Posse

	Ex Quinta de Posse							
	S8M1	S8M2	S8M3	S8M4	S8M5	S8M6	S8M7	S8M8
Media	3,17	3,44	3,11	4,03	3,51	3,19	3,5	3,08
Forma de hoja: l/a	Elíptica	Elíptica	Elíptica	Elíptica-lanceolada	Elíptica	Elíptica	Elíptica	Elíptica
N (No. de hojas)	40	40	40	40	40	40	40	40
Confid-95%	3,06	3,28	2,97	3,89	3,35	3,06	3,29	3,01
Confid+95%	3,28	3,60	3,24	4,18	3,66	3,33	3,70	3,15
Mínimo	2,60	2,23	2,14	2,93	2,73	2,57	2,19	2,55
Máximo	4,06	4,71	4,42	5,00	4,78	4,00	4,70	3,46
Varianza	0,12	0,25	0,18	0,21	0,23	0,18	0,40	0,05

	Ex Quinta de Posse							
	S8M9	S8M10	S8M11	S8M12	S8M13	S8M14	S8M15	S8M16
Media	2,98	3,39	3,46	3,40	2,62	4,01	2,81	3,11
Forma de hoja: l/a	Elíptica	Elíptica	Elíptica	Elíptica	Elíptica	Elíptica-lanceolada	Elíptica	Elíptica
N (No. de hojas)	40	40	40	40	40	40	40	40
Confid-95%	2,85	3,25	3,25	3,27	2,49	3,86	2,68	2,94
Confid+95 %	3,12	3,52	3,68	3,52	2,76	4,16	2,94	3,29
Mínimo	1,92	2,53	2,42	2,67	1,79	3,21	1,69	2,00
Máximo	4,00	4,38	4,93	4,09	3,75	5,00	3,70	4,70
Varianza	0,18	0,17	0,46	0,14	0,17	0,22	0,16	0,29

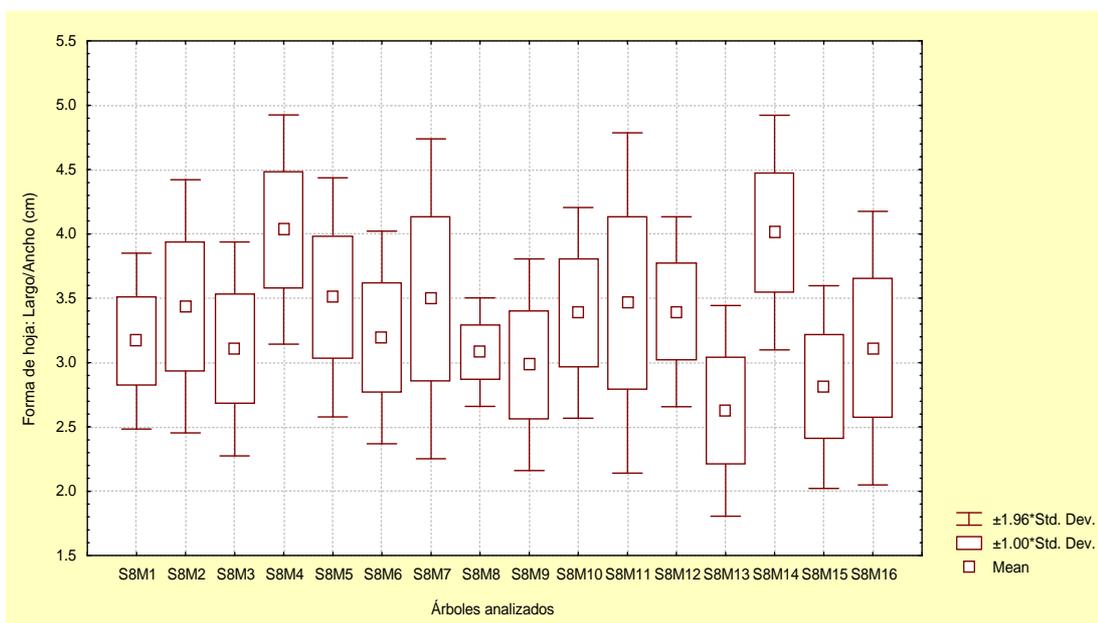


Figura 31. Dispersión de valores del descriptor l/a por árbol de olivos localizados en ex Quinta de Posse

En el test de comparación de medias se presentaron diferencias significativas entre la mayoría de los árboles, excepto las muestras S8M10, S8M11 y S8M12 que fueron similares entre sí y con S8M2, S8M5 y S8M7. Las diferencias entre medias muestrales (por árbol) variaron entre 14/15 para la muestra S8M4 y 8/15 para la muestra S8M12 (cuadro 11).

Cuadro 11. Comparación de medias (T-test) de muestras colectadas en ex Quinta de Posse

	S8M1	S8M2	S8M3	S8M4	S8M5	S8M6	S8M7	S8M8
S8M1	1							
S8M2	0,007	1						
S8M3	0,500	0,005	1					
S8M4	0,000	0,000	0,000	1				
S8M5	0,000	0,542	0,000	0,000	1			
S8M6	0,776	0,039	0,368	0,000	0,008	1		
S8M7	0,007	0,687	0,005	0,000	0,915	0,014	1	
S8M8	0,187	0,000	0,750	0,000	0,000	0,096	0,000	1
S8M9	0,065	0,000	0,150	0,000	0,000	0,021	0,000	0,248
S8M10	0,024	0,607	0,007	0,000	0,222	0,034	0,359	0,000
S8M11	0,021	0,842	0,011	0,000	0,776	0,045	0,836	0,001
S8M12	0,006	0,669	0,003	0,000	0,224	0,052	0,398	0,000
S8M13	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
S8M14	0,000	0,000	0,000	0,830	0,000	0,000	0,000	0,000
S8M15	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
S8M16	0,619	0,007	0,958	0,000	0,002	0,437	0,016	0,737

	S8M9	S8M10	S8M11	S8M12	S8M13	S8M14	S8M15	S8M16
S8M9	1							
S8M10	0,000	1						
S8M11	0,002	0,542	1					
S8M12	0,000	0,922	0,560	1				
S8M13	0,000	0,000	0,000	0,000	1			
S8M14	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1		
S8M15	0,074	0,000	0,000	0,000	0,024	0,000	1	
S8M16	0,169	0,011	0,014	0,010	0,000	0,000	0,013	1

Diferencias mínimas significativas con una  $p < 0,05$

Referencias:

Números en rojo significa que hay diferencias entre medias

Números en negro significa que no hay diferencias entre medias

Los análisis de varianza en este sitio de colecta mostraron que se reparte 25,64% entre árboles y el 74,36% dentro de los mismos. Este modo de partición de la varianza llevaría a proponer que los árboles de este sitio son de la misma variedad y se observa variación en la forma de la hoja a nivel intra varietal (cuadro 12).

Cuadro 12. Comparación de varianza de muestras colectadas en ex Quinta de Posse

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L	Cuadrado Medio	Valor -F	Valor-p
Entre Grupos	34,4186 (25,64%)	11	3,129	14,6706	0,0002E-20
Dentro Grupos	99,8156 (74,36%)	468	0,2133		
Total (corr.)	134,2342	479			

#### 4.1.3 Comparación del carácter forma de hoja entre sitios de colecta

El análisis de las 152 plantas en 14 sitios resultó en que todas las clases de formas de hoja pudieron ser identificadas. Se realizó un análisis de estadística descriptiva utilizando las medidas largo/ancho de la hoja, agrupándolas por sitio de colecta variando entre 3,0 (muestras de ex Escuela Jackson) y 5,02 (Quinta de Arteaga). El valor mínimo l/a por árbol fue 1,0 (Granja Cohen) y el máximo/árbol fue 9,5 (Granja de Cohen). Las varianzas de l/a por árbol estuvieron comprendidas entre 0,19 (Calle Coronel Raíz) y 0,57 (Granja de Cohen). Estos dos valores son buenos indicadores para describir el muestreo realizado en este trabajo como sumamente variable y heterogéneo. Los valores l/a promedio por sitio fueron entre 3,00 (ex Escuela Jackson) y 5,02 (Quinta de Arteaga).

En el diagrama de cajas se observó que los sitios de colecta ex Escuela Jackson, ex Quinta de Posse y Calle Coronel Raíz, se alejaron de los demás, por presentar forma de hoja elíptica, (valores de 3,00, 3,30 y 3,31 respectivamente) con un rango de variación que estuvo cercano al límite de elíptica ( $l/a < 4$ ) a elíptica-lanceolada ( $l/a 4-6$ ) para las muestras de ex Quinta de Canessa y Quinta de Tarallo Las demás muestras, Quebrada del Castillo, Granja de Cohen, Quinta Villa Margarita, Calle Oliveras y Quinta de Arteaga fueron elíptica-lanceolada (cuadro 13, Figura 32).

Cuadro 13. Estadística descriptiva de forma de hoja (largo/ ancho) por sitio de colecta

	Sitios de colecta								
	Q. del Castillo	G. de Cohen	ex Q. de Canessa	Q. de Tarallo	Q. Villa Margarita	ex Esc. Jackson	C. Cnel . Raíz	C. Oliveras	Q. de Arteaga
Media	4,14	4,40	3,98	3,90	4,02	3,00	3,31	4,75	5,02
Forma de hoja: l/a	Elíptica-lanceolada	Elíptica-lanceolada	Elíptica	Elíptica	Elíptica-lanceolada	Elíptica	Elíptica	Elíptica-lanceolada	Elíptica-lanceolada
N (No. de árboles)	6	8	6	6	4	14	10	5	14
Confid-95%	4,07	4,31	3,91	3,83	3,93	2,95	3,00	4,05	4,71
Confid+95%	4,22	4,48	4,05	3,97	4,10	3,05	3,62	5,45	5,34
Mínimo	2,94	1,00	2,96	2,42	2,72	1,35	2,75	3,99	3,87
Máximo	7,00	9,50	6,00	6,00	5,56	5,08	4,18	5,43	6,21
Varianza	0,34	0,57	0,29	0,34	0,3	0,40	0,19	0,32	0,30

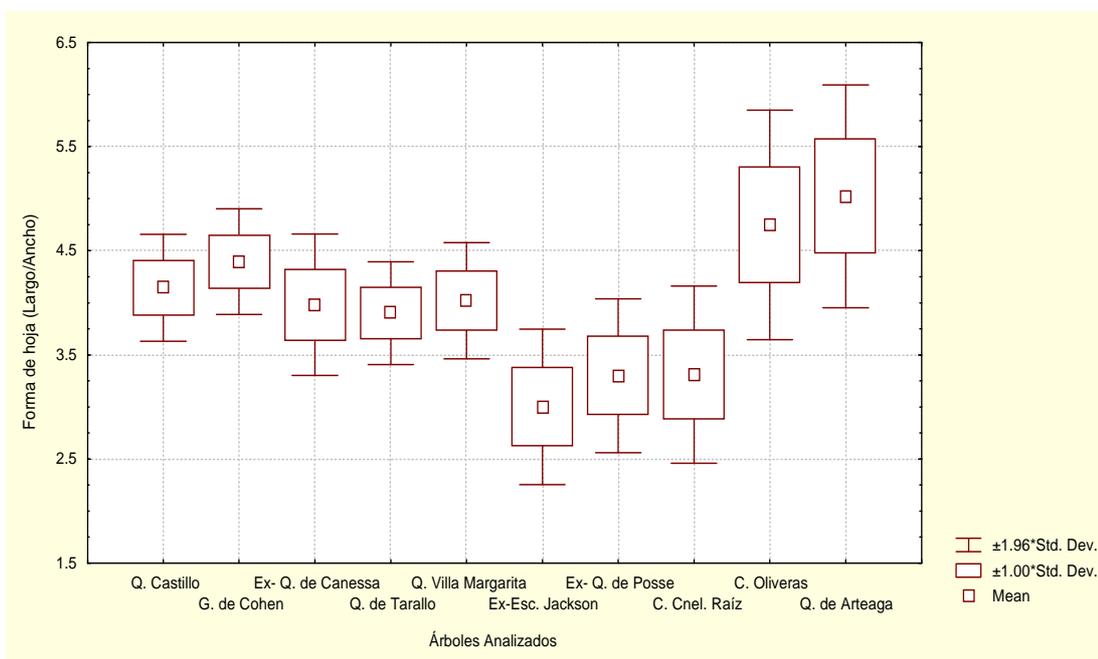


Figura 32. Dispersión de valores del descriptor l/a por sitio de colecta

La tabla de comparación de medias de cada sitio de colecta mediante el T-test fue variable con un promedio de medias para todos los puntos de muestreo de 3,98 (forma elíptica) variando entre los sitios de colecta con ninguna semejanza en medias sobre 9 comparaciones para las hojas provenientes de la ex Escuela Jackson y 2 para las colectadas en la ex Quinta de Canessa (cuadro 14).

Cuadro 14. Comparación de medias (T- test) de muestras por sitio de colecta

	Q. del Castillo	G. de Cohen	ex Q. de Canessa	Q. de Tarallo	Q. Villa Margarita	ex Esc. Jackson	ex Q. de Posse	C. Cnel. Raíz	C. Oliveras	Q. de Arteaga
EEFAS										
Q. del Castillo	1									
G. de Cohen	0,023	1								
ex Q. de Canessa	0,156	0,033	1							
Q. de Tarallo	0,162	0,013	0,605	1						
Q. Villa Margarita	0,483	0,067	0,792	0,729	1					
ex Esc. Jackson	0,000	0,000	0,000	0,001	0,030	1				
ex Q. de Posse	0,015	0,000	0,054	0,018	0,176	0,012	1			
C. Cnel. Raíz	0,015	0,000	0,130	0,180	0,003	0,029	0,836	1		
Calle Oliveras	0,106	0,221	0,119	0,060	0,020	0,007	0,019	0,000	1	
Q. de Arteaga	0,079	0,069	0,077	0,022	0,248	0,000	0,000	0,000	0,975	1

Diferencias mínimas significativas con una  $p < 0,05$

Referencias:

Números en rojo significa que hay diferencias entre medias

Números en negro significa que no hay diferencias entre medias

Finalmente acuerdo al análisis de partición de la varianza por la metodología ANOVA, el 70,14% de la varianza se distribuye entre muestras y el 29,86% dentro de las muestras de las distintas localidades (cuadro15).

Cuadro 15. Comparación de varianza (%) entre y dentro de sitios de colecta

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L	Cuadrado Medio	Valor -F	Valor-p
Entre Grupos	45,2663 (70,14%)	12	3,7722	18,0094	0,0003E-15
Dentro Grupos	19,27 (29,86%)	92	0,2095		
Total (corr.)	64,5363	104			

#### 4.1.4 Comparación de medias de forma de hoja de muestras colectadas (T test P. Statistica)

Con el fin de identificar similitudes y diferencias se realizó el Test de comparación entre medias (diferencias significativas con una  $p < 0,05$ ) de forma de hoja (largo/ancho) con el Programa Statistica. Se contrastó los individuos de cada sitio de colecta entre si y luego con los resultados obtenidos en las variedades del establecimiento Los Ranchos (Taggiasca, Leccino, Pendolino, Arbequina y Manzanilla).

Al comparar las variedades de EEFAS con las del establecimiento Los Ranchos las muestras S1M3 y S1M8 (Sta. Catalina) coincidieron en forma de hoja con Taggiasca, mientras S1M5 (Grosso Andrea y S1M7 (Corregiolo), coincidieron en forma de hoja con Pendolino. El resto de las muestras coincidieron con dos o tres variedades que no siempre correspondieron a la misma forma de hoja que presentaba la muestra comparada.

Las muestras colectadas en la Quinta de Posse en función de los valores forma de hoja (l/a), algunas de ellas (S8M2, S8M5, S8M6, S8M7, S8M9, S8M10, S8M13, S8M16) según el T-test de comparación de medias resultaron semejantes a la variedad Pendolino, coincidiendo también en la forma de hoja (elíptica). Sin embargo con el mismo test, otras muestras no coincidieron con ninguna variedad del establecimiento Los Ranchos. Únicamente las muestras S8M4 y S8M11 coincidieron con Leccino y Pendolino y S8M14 coincidió con Taggiasca, Leccino y Pendolino. Cuando se comparó la forma de hoja de

estas tres muestras con las variedades a las que se asemejaban no siempre hubo coincidencia en las formas.

En Viña Varela Zarranz según los valores de forma de hoja ( $l/a$ ), hubieron muestras (S12M1, S2M2, S2M4, S2M6) que según el test de comparación de medias dieron semejantes sólo a la variedad Pendolino, coincidiendo también en la forma de hoja (elíptica). La muestra S12M7 fue semejante a dos variedades y coincidió en forma de hoja con ambas (Taggiasca y Leccino). Sólo cinco muestras (S12M11) y (S12M3, S12M5, S12M8, S12M10) coincidieron según test con dos (Arbequina, Manzanilla) a tres variedades (Taggiasca, Leccino y Pendolino) respectivamente. Cuando se comparó la forma de hoja de estas cinco muestras con las variedades a que se asemejaban, no siempre hubo coincidencia en las formas. El resto de los diez sitios de colecta, presentaron muestras semejantes con una o más variedades y casos de muestras que no se parecieron a ninguna de las variedades del establecimiento Los Ranchos (cuadro 16).

Cuadro 16. Test para muestras dependientes comparadas con variedades del establecimiento Los Ranchos

Diferencias*	Semejanzas													
Taggiasca	Taggiasca	Arbequina	Pendolino	Manzanilla	Taggiasca	Taggiasca	Taggiasca	Leccino	Arbequina	Taggiasca	Taggiasca	Arbequina	Taggiasca	
Leccino					Leccino	Pendolino	Arbequina	Pendolino	Manzanilla	Arbequina	Leccino	Pendolino	Leccino	
Arbequina										Manzanilla	Pendolino	Manzanilla	Arbequina	
Pendolino													Pendolino	
Manzanilla													Manzanilla	
Tomasito	S1M3	S10M1	S1M5 Grosso Andrea	S11M12	S2M1	S1M6 Moraiole	S11M10	S2M4	S1M4 Sevillana	Lobos11	S1M2	S1M1 Arbequina	S10M4	
S7M1	S1M8 Sta. Catalina	S10M5	S1M7 Correggiolo		S3M6			S2M6	S1M9 Razzo		S2M2			
S7M3	S4M2	S11M1	S2M3		S3M7			S3M4	S11M4		S2M5			
S7M5	S6M1	S11M14	S3M5		S5M2			S4M1	S11M5		S3M1			
S7M6	S9M5		S4M5		S12M7			S4M4	S11M6		S3M2			
S7M7			S5M3					S5M5	S11M7		S3M3			
S7M8			S6M2					S7M2	S11M9		S3M8			
S7M9			S6M4					S8M4	S11M16		S4M3			
S7M10			S7M4					S8M11	S12M11		S4M6			
S7M11			S7M13					S11M3	Lobos6		S5M1			
S7M12			S8M2					Lobos8			S5M4			
S8M1			S8M5								S5M6			
S8M3			S8M6								S6M3			
S8M8			S8M7								S7M14			
S8M12			S8M9								S8M14			
S8M15			S8M10								S9M1			
S9M2			S8M13								S10M2			
S9M4			S8M16								S12M3			
S9M6			S9M3								S12M5			
S9M8			S9M7								S12M8			
S9M9			S12M1								S12M9			
S9M10			S12M2								S12M10			
S10M3			S12M4											
S11M2			S12M6											
S11M11			LOBOS33											
S11M13														
No. muestras	26	5	4	25	1	5	1	1	11	10	1	22	1	1

\*Diferencias entre medias son significativas con una probabilidad menor a 0,05

## 4.2 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE FRUTO

### 4.2.1 Comparación de los caracteres de frutos por sitio de colecta

Se analizaron seis caracteres del fruto por sitio de colecta, que mostraron un total de 15 estados, variando entre dos y tres por característica. En la obtención de muestras para forma de fruto, se presentó la dificultad de estar presentes en el momento adecuado para su recolección (envero), por lo que en la mayoría de los sitios estudiados no se pudo recolectar 40 frutos por árbol, por lo que no se pudo analizar los resultados en función de las cifras obtenidas.

En la Estación Experimental de la Facultad de Agronomía San Antonio (EEFAS) se realizó la caracterización de fruto en tres muestras S1M3 (muestra de variedad no identificada), S1M4 (Sevillana) y S1M9 (Razzo) que tuvieron similitud en: simetría, posición del diámetro transversal máximo y forma de ápice. Las muestras S1M3 y S1M4 (Sevillana) se diferenciaron entre si por la forma de la base y pezón; si comparamos S1M3 y S1M9 (Razzo) se distinguieron por los estados de forma del fruto, base y pezón (cuadro 17).

Cuadro 17. Estados de los caracteres del fruto analizados por muestra colectada en EEFAS

	EEFAS						
	FRUTO						
	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv.máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (B)	Pezón	Fotos de muestras
S1M3	Ovoidal	Simétrico	Centrada	Redondeado	Redondeada	Ausente	
S1M4 Sevillana	Ovoidal	Simétrico	Centrada	Redondeado	Truncada	Esbozado	S/ foto
S1M9 Razzo	Esférica	Simétrico	Centrada	Redondeado	Truncada	Ausente	

En la ex Quinta de Pose se realizó la caracterización de fruto de nueve muestras (S8M1, S8M2, S8M3, S8M4, S8M5, S8M6, S8M7, S8M8 y S8M10) que mostraron coincidencia en los estados de los siguientes caracteres: simetría (asimétrico), posición de diámetro transversal máximo (centrado), forma del ápice (apuntado), forma de la base (truncada) y pezón (esbozado). La

forma del fruto en estado alargada fue lo que permitió distinguir S8M2, S8M3 y S8M10 del resto de las muestras que presentaron forma ovoidal (cuadro 18).

Cuadro 18. Estados de los caracteres del fruto analizados por muestra colectada en ex Quinta de Posse

	EX QUINTA DE POSSE						
	FRUTO						
	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv.máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (B)	Pezón	Fotos de muestras
S8M1 S8M4 S8M5 S8M6 S8M7 S8M8	Ovoidal	Asimétrico	Centrado	Apuntado	Truncada	Esbozado	
S8M2 S8M3 S8M10	Alargada	Asimétrico	Centrado	Apuntado	Truncada	Esbozado	

En el establecimiento Los Ranchos en todas las variedades muestreadas los estados más frecuentes fueron: la forma alargada, el estado simétrico, diámetro transversal máximo centrado, forma de la base truncada y pezón esbozado (cuadro 19).

Cuadro 19. Estados de los caracteres del fruto analizados por muestra colectada en el establecimiento Los Ranchos

	ESTABLECIMIENTO LOS RANCHOS						
	FRUTO						
	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv. máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (B)	Pezón	Fotos de muestras
S13M3 S13M15 Taggiasca	Alargada	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Esbozado	
S13M4 Taggiasca	Alargada	Lig. asimétrico	Hacia ápice	Redondeado	Truncada	Esbozado	
S13M5 Taggiasca	Alargada	Simétrico	Centrado	Apuntado	Truncada	Esbozado	
S13M6 S13M8 S13M9 S13M10 Taggiasca	Alargada	Simétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Ausente	
S13M12 S13M13 Taggiasca	Alargada	Lig. asimétrico	Hacia ápice	Apuntado	Truncada	Esbozado	
S13M20 Leccino	Alargada	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Esbozado	
S13M31 Arbequina	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Esbozado	
S13M36 Pendolino	Alargada	Simétrico	Centrado	Apuntado	Truncada	Evidente	S/Foto
S13M37 Pendolino	Alargada	Simétrico	Centrado	Apuntado	Truncada	Esbozado	
S13M42 Manzanilla	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Apuntado	Truncada	Esbozado	S/Foto
S13M46 Manzanilla	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Apuntado	Truncada	Ausente	

#### 4.2.2 Comparación de los caracteres de fruto entre sitios de colecta

Las muestras de fruto de la Quinta de Tarallo, ex Quinta de Posse y calle Coronel Raíz, fueron las más uniformes, presentando un sólo estado en cinco de las seis, el resto de los sitios lo fueron en uno o dos caracteres. La forma del ápice y forma de la base fueron los caracteres que tuvieron menor variabilidad, al encontrarse en seis de los siete sitios muestreados un sólo estado. La mayoría de los sitios de colecta coincidieron en presentar en mayor porcentaje los estados forma de fruto alargada, simetría en estado simétrico y asimétrico, diámetro transversal máximo centrado, forma de ápice redondeada y forma de base truncada.

Los sitios que se diferenciaron en algunos de estos estados fueron Granja Cohen donde el 75% de las muestras presentaron forma del fruto esférica y en la ex Quinta de Posse donde se observó que el 67% de frutos era de forma ovoidal. La Quinta de Arteaga presentó variabilidad en el diámetro máximo donde aparecen los estados: centrado y hacia la base cada uno en un 50% y resultados completamente diferentes se observaron en la Quinta de Tarallo donde fue el único sitio donde apareció la forma de base redondeada.

Sólo dos estados del carácter pezón: ausente y esbozado, se observaron en todos los frutos obtenidos, no apareciendo ninguno que presentara el estado evidente. Las muestras de la ex Quinta de Posse y de la calle Coronel Raíz presentaron pezón esbozado, no diferenciándose ambos por esta característica, pero si se diferenciaron totalmente de las muestras de la Granja Cohen donde el pezón estuvo ausente. El resumen de los resultados obtenidos en los demás sitios de colecta se presenta en el (cuadro 20).

Cuadro 20. Porcentaje en que aparecen los diferentes estados de los caracteres del fruto en cada sitio de colecta

Caracteres de fruto	Estados de los caracteres	Sitios de colecta						
		Q. del Castillo (S2)	G. de Cohen (S3)	Ex Q. de Canessa (S4)	Q. de Tarallo (S5)	Ex Q. de Posse (S8)	C. Cnel. Raíz (S9)	Q. de Arteaga (S11)
Forma (A)	Alargado	75		80	100	33	100	70
	Ovoidal	25	25	20		67		30
	Esférico		75					
Simetría (A)	Simétrico	100	75	60	100			
	Lig. asimétrico		25	40			33	40
	Asimétrico					100	67	60
Ø. transv. máx. (B)	Centrado	75	75	80	100	100	100	50
	Hacia ápice	25		20				
	Hacia base		25					50
Forma ápice (A)	Redondeado	75	100	100	100			40
	Apuntado	25				100	100	60
Forma base (B)	Truncado	100	88	100		100	100	100
	Redondeada		13		100			
Pezón	Ausente	50	100	80	50			20
	Esbozado	50		20	50	100	100	80

#### 4.2.3 Comparación de los caracteres de frutos a nivel de variedades

Los frutos tomados de las muestras identificadas a nivel varietal tanto del establecimiento Los Ranchos como de EEFAS, fueron las más uniformes, presentando un sólo estado en la mayoría de los caracteres analizados, con excepción del carácter pezón donde los frutos de las variedades Taggiasca, Pendolino y Manzanilla presentaron dos estados: ausente y esbozado. La variedad Taggiasca, también se diferenció por presentar dos estados en los caracteres simetría, diámetro transversal máximo y forma del ápice, siendo la más variable de acuerdo a los seis caracteres de fruto.

Entre las muestra de la misma variedad, se pudieron observar determinados estados de caracteres que aparecieron con mayor frecuencia, como en la simetría el estado simétrico, el diámetro transversal máximo centrado, la forma de ápice redondeado, pezón esbozado y forma de base truncada que estuvo presente en la totalidad de las variedades.

En el carácter forma de fruto los estados alargado y ovoidal aparecieron en el mismo número de variedades permitiendo diferenciarlas, Taggiasca, Leccino y Pendolino (alargada) y Arbequina, Manzanilla y Sevillana (forma ovoidal). La forma esférica sólo apareció en la muestra de Razzo, siendo el estado de éste carácter propio de dicha variedad.

El estado del carácter simetría, ligeramente asimétrico permitió diferenciar a Leccino del resto de las variedades que presentaron en todas sus muestras el estado simétrico. Por diámetro transversal máximo y forma de la base no se pudieron diferenciar las variedades, ya que todas presentaron los mismos estados (centrado y truncado respectivamente).

La forma de ápice apuntada permitió diferenciar las variedades Pendolino y Manzanilla de la mayoría de las muestras de Taggiasca y de la totalidad de las muestras de Leccino y Arbequina, Sevillana y Razzo, con forma de ápice redondeada (cuadro 21).

Cuadro 21. Porcentaje en que aparecen los diferentes estados para cada uno de los caracteres del fruto analizados a nivel de variedades

Caracteres de fruto	Estados de los caracteres	Sitios de colecta						
		Taggiasca (E. Los Ranchos)	Leccino (E. Los Ranchos)	Pendolino (E. Los Ranchos)	Arbequina (E. Los Ranchos)	Manzanilla (E. Los Ranchos)	Sevillana (EEFAS)	Razzo (EEFAS)
Forma (A)	Alargado	100	100	100				
	Ovoidal				100	100	100	
	Esférico							100
Simetría (A)	Simétrico	50		100	100	100	100	100
	Lig. asimétrico	50	100					
	Asimétrico							
Ø. transv. máx. (B)	Centrado	70	100	100	100	100	100	100
	Hacia ápice	30						
	Hacia base							
Forma ápice (A)	Redondeado	70	100		100		100	100
	Apuntado	30		100		100		
Forma base (B)	Truncado	100	100	100	100	100	100	100
	Redondeada							
Pezón	Ausente	30		50		50		100
	Esbozado	70	100	50	100	50	100	

#### 4.2.4 Comparación de los estados de los caracteres del fruto obtenidos en las muestras identificadas a nivel varietal con la información de referencia

Se realizó una comparación de caracteres de los frutos obtenidos de olivos de identidad varietal conocida, con la información de referencia Barranco et al. (2000) para el COI y también con otra referencia (Cimato et al., 2001) se comparó Razzo. En la mayoría de los casos se presentaron más de una coincidencia en los caracteres de fruto, aunque en ninguna muestra la coincidencia fue total. En los estados de las características forma del fruto y pezón no hubo coincidencia con la bibliografía de referencia.

Los caracteres que presentaron coincidencia con los datos de Barranco et al. (2000) para el COI en el total de los frutos muestreados por variedad fueron: forma de fruto (Sevillana), simetría (Leccino, Arbequina y Manzanilla), diámetro transversal máximo (Leccino, Manzanilla y Sevillana), forma del ápice (Leccino, Arbequina y Razzo), forma de la base (Taggiasca, Leccino, Arbequina, Pendolino y Manzanilla) y pezón (Razzo).

Las variedades en que todos sus frutos se diferenciaron en algunos de los estado de caracteres, con los datos el COI fueron: Taggiasca, Leccino, Arbequina, Pendolino, Manzanilla y Razzo para forma del fruto; Pendolino, Sevillana y Razzo para simetría; Arbequina, Pendolino y Razzo para diámetro transversal máximo; Pendolino, Manzanilla y Sevillana para forma del ápice; para forma de la base Sevillana y Razzo y para pezón, Leccino, Arbequina, Pendolio, Manzanilla y Sevillana (Barranco et al., 2000).

Para Taggiasca los caracteres que coincidieron en un mayor porcentaje con la bibliografía fueron simetría, diámetro transversal máximo, forma de la base y del ápice (4/6). En las muestras de Leccino los caracteres que coincidieron con la citada referencia fueron: simetría, diámetro transversal máximo, forma del ápice y forma de la base (4/6), no coincidieron forma del fruto y pezón (2/6). Los caracteres de Arbequina que coincidieron con la referencia fueron forma de la base, forma del ápice y simetría (3/6), excepto forma del fruto, diámetro transversal máximo y pezón (Barranco et al., 2000).

En otras variedades como Pendolino sólo coincidió con un carácter (1/6), (forma de la base). Todos los frutos de la variedad Manzanilla coincidieron en todas las muestras los caracteres simetría, diámetro transversal máximo, forma de la base (3/6), no coincidiendo forma de fruto y del ápice (3/6); en el carácter pezón la mitad de las muestras presentó el estado ausente lo que coincide con la referencia del COI. Entre los fruto de Sevillana hubo coincidencia con la referencia en los caracteres forma del fruto, diámetro transversal máximo (2/6) y fueron diferentes en simetría, forma del ápice, forma de la base y pezón (4/6) (Barranco et al., 2000).

Debido a que Razzo presenta como sinonimia Frantoio, se comparon las muestras con las referencias del COI para Razzo (Barranco et al., 2000) y con las referencias de Frantoio (Cimato et al., 2001). Las muestras fueron iguales a las referencias (Barranco et al., 2000) de la variedad Frantoio en los caracteres forma del ápice y pezón y diferentes en la forma del fruto, simetría, diámetro transversal máximo y forma de la base. Según (Cimato et al., 2001). Los caracteres simetría, diámetro transversal máximo y forma de la base presentarían más de un estado en la variedad Razzo. En dicha variedad hubo

coincidencia en diámetro transversal máximo y forma de ápice y diferencias en forma de fruto, simetría y forma de base (cuadros 22-29).

Cuadro 22. Comparación de los caracteres obtenidos del fruto de la variedad analizadas Taggiasca con la información de referencia

	FRUTO					
Barranco et al. (2000)	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv.máx. (B)	Forma Ápice (A)	Forma Base (B)	Pezón
Taggiasca	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Ausente
S13M4 Taggiasca	Alargada	Lig. asimétrico	Hacia ápice	Redondeado	Truncada	Esbozado
S13M12 Taggiasca	Alargada	Lig. asimétrico	Hacia ápice	Apuntado	Truncada	Esbozado
S13M3 Taggiasca	Alargada	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Esbozado
S13M5 Taggiasca)	Alargada	Simétrico	Centrado	Apuntado	Truncada	Esbozado
S13M6 Taggiasca	Alargada	Simétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Esbozado
S13M10 Taggiasca	Alargada	Simétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Ausente

Cuadro 23. Comparación de los caracteres obtenidos del fruto de la variedad analizada Leccino con la información de referencia

	FRUTO					
Barranco et al. (2000)	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv.máx. (B)	Forma Ápice (A)	Forma Base (B)	Pezón
Leccino	Ovoidal	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Ausente
S13M20 Leccino	Alargada	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Esbozado

Cuadro 24. Comparación de los caracteres obtenidos del fruto de la variedad analizada Arbequina con la información de referencia

	FRUTO					
Barranco et al. (2000)	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv.máx. (B)	Forma Ápice (A)	Forma Base (B)	Pezón
Arbequina	Esférica	Simétrico	Hacia base	Redondeado	Truncada	Ausente
S13M31 Arbequina	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Esbozado

Cuadro 25. Comparación de los caracteres obtenidos del fruto de la variedad analizada Pendolino con la información de referencia

	FRUTO					
Barranco et al. (2000)	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv.máx. (B)	Forma Ápice (A)	Forma Base (B)	Pezón
Pendolino	Ovoidal	Asimétrico	Hacia ápice	Redondeado	Truncada	Ausente
S13M36 Pendolino	Alargada	Simétrico	Centrado	Apuntado	Truncada	Evidente
S13M37 Pendolino	Alargada	Simétrico	Centrado	Apuntado	Truncada	Esbozado

Cuadro 26. Comparación de los caracteres obtenidos del fruto de la variedad analizada Manzanilla con la información de referencia

	FRUTO					
Barranco et al. (2000)	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv.máx. (B)	Forma Ápice (A)	Forma Base (B)	Pezón
Manzanilla	Esférica	Simétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Ausente
S13M42 Manzanilla	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Apuntado	Truncada	Esbozado
S13M46 Manzanilla	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Apuntado	Truncada	Ausente

Cuadro 27. Comparación de los caracteres obtenidos del fruto de la variedad analizada Sevillana con la información de referencia

	FRUTO					
Barranco et al. (2000)	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv.máx. (B)	Forma Ápice (A)	Forma Base (B)	Pezón
Sevillana	Ovoidal	Asimétrico	Centrado	Apuntado	Redondeada	Ausente
S1M4 Sevillana	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Esbozado

Cuadro 28. Comparación de los caracteres obtenidos del fruto de la variedad analizada Razzo con la información de referencia

	FRUTO					
Barranco et al. (2000)	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv.máx. (B)	Forma Ápice (A)	Forma Base (B)	Pezón
Frantoio	Ovoidal	Lig. asimétrico	Hacia ápice	Redondeado	Reondeada	Ausente
S1M9 Razzo	Esférica	Simétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Ausente

Cuadro 29. Comparación de los caracteres obtenidos del fruto de la variedad analizada Razzo con la información de referencia

	FRUTO					
Ciimato et al. (2001)	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv.máx. (B)	Forma Ápice (A)	Forma Base (B)	Pezón
Razzo	Elíptica	Lig. Asimétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	s/d
		Asimétrico	Centro-apical		Lig. apuntada	
S1M9 Razzo	Esférica	Simétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Ausente

### 4.3 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE ENDOCARPO

#### 4.3.1 Comparación de caracteres de endocarpo por sitio de colecta

Se analizaron seis caracteres del endocarpo a 73 muestras provenientes de todos los sitios de colecta, que mostraron un total de 17 estados, variando entre dos y cuatro por característica.

En la Estación Experimental de la Facultad de Agronomía San Antonio (EEFAS) se realizó la caracterización del endocarpo en tres muestras S1M3 (muestra de variedad desconocida), S1M4 (Sevillana) y S1M9 (Razzo) que mostraron similitud en: simetría (simétrico), forma del ápice (redondeado) y terminación del ápice (sin mucrón).

Las muestras S1M3 (muestra de variedad desconocida) y S1M4 (Sevillana) se diferenciaron entre sí por la forma del endocarpo (elíptica una y ovoidal la otra) y la forma de la base (redondeada y truncada respectivamente). Si comparamos S1M3 con S1M9 (Razzo) se distinguieron entre sí por: forma del endocarpo (elíptica y esférica respectivamente); posición del diámetro transversal máximo (centrado y hacia la base el otro) y forma de la base (redondeada y truncada respectivamente). Por otra parte S1M4 (Sevillana) se diferenció de S1M9 (Razzo) sólo en dos caracteres: la forma del endocarpo (ovoidal una y esférica la otra) y posición de diámetro transversal máximo (centrado y hacia la base respectivamente) (cuadro 30).

Cuadro 30. Estados de los caracteres de endocarpo analizados por muestra colectada en EFFAS

	EFFAS						
	ENDOCARPO						
	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv. máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Terminación ápice	Fotos de muestras
S1M3	Elíptica	Simétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Sin mucrón	
S1M4 Sevillana	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Sin mucrón	
S1M9 Razzo	Esférica	Simétrico	Hacia base	Redondeado	Truncada	Sin mucrón	

Provenientes de la ex Quinta de Posse (S8) se realizó la caracterización de nueve muestras de endocarpo (S8M1, S8M2, S8M3, S8M4, S8M5, S8M6, S8M7, S8M8 y S8M10) que mostraron coincidencia en: forma (elíptica), simetría (ligeramente asimétrico), forma de ápice (redondeado) y terminación de ápice (con mucrón) excepto S8M10. Por otra parte si tomamos en cuenta: S8M1, S8M2, S8M3, S8M4, S8M5, S8M6 estas coincidieron en todas las características descritas para endocarpo. Por último la muestra S8M7 se diferenció del resto de las muestras del sitio por presentar el carácter forma de la base (A) de tipo redondeada (cuadro 31).

Cuadro 31. Estados de los caracteres de endocarpo analizados por muestra colectada en ex Quinta de Posse

	EX QUINTA DE POSSE						
	ENDOCARPO						
	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv. máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Terminación ápice	Fotos de muestras
S8M1 S8M2 S8M3 S8M4 S8M5 S8M6	Elíptica	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Con mucrón	
S8M7	Elíptica	Lig.asimétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Con mucrón	
S8M8	Elíptica	Lig.asimétrico	Hacia ápice	Redondeado	Truncada	Con mucrón	
S8M10	Elíptica	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Sin mucrón	

En el total de las variedades colectadas en el Establecimiento Los Ranchos, los estados más frecuentes fueron: forma (alargada), simetría (ligeramente asimétrico), diámetro transversal máximo (centrado), forma de ápice (redondeado) y terminación de ápice (con mucrón). Tanto para las muestras de: Leccino, Arbequina y Manzanilla (S13M46) hubo total coincidencia en: forma (elíptica), simetría (ligeramente asimétrico), posición de diámetro transversal máximo (centrado). En las variedades Leccino y Pendolino no hubo variación entre muestras de la misma variedad, no así para Taggiasca, Arbequina y Manzanilla en las que hubo variaciones intra varietales.

Se presentaron sólo dos formas de endocarpo: elítica en Arbequina y en la muestra de Manzanilla S13M46 y alargada en Taggiasca, Leccino, Pendolino y S13M42 de Manzanilla. La posición del diámetro transversal máximo (B) (hacia el ápice) de la mayoría de las muestras de Taggiasca (S13M3, S13M4, S13M5, S13M6, S13M8, S13M9, S13M10, S13M11, S13M12, S13M13), permitió diferenciarlas de las otras variedades (Leccino, Arbequina, Pendolino y Manzanilla) que presentaron posición de diámetro transversal máximo centrado.

Sólo dos muestras de Taggiasca (S13M7, S13M15) presentaron diferencia en la forma de base (A) (redondeada) y en la posición del diámetro transversal máximo B (centrado) (cuadro 32).

Las muestras de la variedad Arbequina, fueron homogéneas en la mayoría de los estados de los caracteres, excepto en forma de la base en que se presentaron los estados truncada (S13M29) y apuntada (S13M31). Tomando en cuenta sólo la forma de base truncada S13M29 se pudo diferenciar de las demás variedades. La forma de ápice apuntada de las muestras de la variedad Leccino y de la variedad Pendolino permitió separarlas del resto de las variedades que presentaron forma de ápice redondeada.

La terminación del ápice sin mucrón en ambas muestras de Arbequina (S13M29 y S13M31) permitió diferenciarlas de las demás variedades, las cuales mostraron presencia de mucrón. El estado asimétrico en el carácter simetría (A) en las muestras S13M36 y S13M37 de la variedad Pendolino, permitió diferenciarlas de las demás variedades (Taggiasca, Leccino, Arbequina, Manzanilla).

Cuadro 32. Estados de los caracteres de endocarpo analizados por muestra colectada en el establecimiento Los Ranchos

	ESTABLECIMIENTO LOS RANCHOS						
	ENDOCARPO						
	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv. máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Terminación ápice	Fotos de muestras
S13M3 S13M4 S13M5 S13M6 S13M8 S13M9 S13M10 S13M11 S13M12 S13M13 Taggiasca	Alargada	Lig. asimétrico	Hacia ápice	Redondeado	Apuntada	Con mucrón	
S13M7 S13M15 Taggiasca	Alargada	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Con mucrón	
S13M16 S13M17 S13M18 S13M19 S13M20 S13M21 Leccino	Alargada	Lig. asimétrico	Centrado	Apuntado	Redondeada	Con mucrón	
S13M29 Arbequina	Elíptica	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Sin mucrón	
S13M31 Arbequina	Elíptica	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Apuntada	Sin mucrón	
S13M36 S13M37 Pendolino	Alargada	Asimétrico	Centrado	Apuntado	Redondeada	Con mucrón	
S13M42 Manzanilla	Alargada	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Apuntada	Con mucrón	
S13M46 Manzanilla	Elíptica	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Con mucrón	

#### 4.3.2 Comparación de los caracteres de endocarpo entre sitios de colecta

La característica forma de endocarpo presentó menor variación en sus estados, apareciendo predominantemente la forma elíptica en la mayoría de los sitios colectados, con excepción en los sitios de Granja Cohen donde la forma de endocarpo más frecuente fue ovoidal (S3M1, S3M2, S3M4, S3M5, S3M6, S3M7) y fué el único sitio donde sólo dos muestras (S3M3, S3M8) presentaron forma de endocarpo esférica y en la Quinta de Arteaga donde la forma de endocarpo mayoritaria fue alargada (S11M2, S11M4, S11M5, S11M7, S11M9, S11M10) presentándose en menor proporción la forma elíptica (S11M3, S11M6, S11M14, S11M16).

En el carácter simetría se presentaron promedialmente en mayor proporción los estados simétricos (46,88%) y lig. asimétrico (45,63%); mientras que el estado asimétrico sólo apareció en Quinta de Arteaga en la mayoría de sus muestras (60%) (S11M2, S11M3, S11M6, S11M7, S11M9, S11M10).

El carácter diámetro transversal máximo, presentó principalmente dos estados: centrado y hacia ápice por sitio de colecta, salvo en Granja Cohen (S3M1, S3M2, S3M3, S3M4, S3M5, S3M6, S3M7, S3M8) donde sólo apareció el estado centrado (100%) y en la calle Oliveras (S10M1, S10M2, S10M3, S3M4, S3M5) donde el 100% de las muestras exhibían el estado hacia el ápice, pudiéndose diferenciar ambos sitios de colecta. El carácter diámetro transversal máximo en su estado hacia la base (S11M3, S11M10) (20%), al igual que la forma de base apuntada (S11M7, S11M9) (20%) sólo se observó en las muestras mencionadas de la Quinta de Arteaga. Este sitio de colecta presentó mayor variabilidad en estas dos características, al presentar los tres estados de cada una de las mismas.

Las muestras (S2M1, S2M2, S2M3, S2M5) de Quebrada del Castillo y las de Quinta de Tarallo (S5M3, S5M4) mostraron forma de base redondeada, llegándose a diferenciar de las muestras de la calle Coronel Raíz (S9M2, S9M4, S9M10) y Calle Oliveras (S10M1, S10M2, S10M3, S10M4, S10M5) que presentaron en un 100% base truncada.

Las características forma de ápice redondeada (70,31%) y terminación del ápice con mucrón (72,06%), fueron las que aparecieron en mayor frecuencia en los sitios de colecta. Sólo en la exQuinta de Canessa, la totalidad de las muestras (S4M1, S4M3, S4M4, S4M5, S4M6) presentaron la terminación del ápice sin mucrón, lo que permitió diferenciarla de los demás sitios de colecta. (cuadro 33).

Cuadro 33. Caracterización de los sitios de colecta a través de seis caracteres de endocarpo

Caracteres endocarpo	Estados caracteres endocarpo	Q. del Castillo (S2)	G. de Cohen (S3)	ex Q. de Canessa (S4)	Q. de Tarallo (S5)	ex Q. de Posse (S8)	C. Cnel. Raíz (S9)	C. Oliveras (S10)	Q. de Arteaga (S11)	Prom. valores de moda
Forma (A)	Elíptica	2,036+/-0,141		2,051+/-0,108	2,061+/-0,113	1,998+/-0,132	1,850+/-0,232	2,050+/-0,113		
	Ovoidal		1,536+/-0,229							
	Esférica									
	Alargada								2,45+/-0,345	
Simetría (A)	Simétrico	75	100	100	100					46,88
	Lig. asimétrico	25				100	100	100	40	45,63
	Asimétrico								60	7,50
Ø. transv. máx. (B)	Centrado	50	100	80	50	89	67		70	63,25
	Hacia ápice	50		20	50	11	33	100	10	34,25
	Hacia base								20	2,50
Forma ápice (A)	Redondeado	25	87,5	80	50	100	100	100	20	70,31
	Apuntado	75	12,5	20	50				80	29,69
Forma base (A)	Truncada		62,5	20		89	100	100	10	47,69
	Redondeada	100	37,5	80	100	11			70	49,81
	Apuntada								20	2,50
Terminación del ápice	Sin mucrón	25	87,5	100		11				27,94
	Con mucrón	75	12,5		100	89	100	100	100	72,06

#### 4.3.3. Comparación de los caracteres de endocarpo a nivel de variedades

En las muestras de las variedades analizadas se presentaron, sea en mayor o menor frecuencia, todos los estados de cada característica evaluadas según los estándares del COI.

Los caracteres que coincidieron en presentarse en mayor frecuencia entre las variedades fueron: forma del endocarpo (alargada), simetría (ligeramente asimétrico) (57,14%), forma del ápice (redondeado) (71,23%), diámetro máximo (transversal centrado) (62,34%) y terminación del ápice (presencia de mucrón) (57,14%); a partir de los cuales no se pudieron diferenciar las variedades en que estos estados aparecieron.

Observando los estados de los caracteres, para forma de endocarpo no se pudieron diferenciar entre las muestras de Taggiasca, Leccino y Pendolino que presentaron en su totalidad la forma alargada de endocarpo, sin embargo sí se diferenció Arbequina con forma elíptica, mientras que en Manzanilla se observó variabilidad con respecto a la media presentando en sus muestras ambas formas (alargada y elíptica).

Los estados de forma del endocarpo (esférica) y el diámetro transversal máximo (hacia la base) sólo aparecieron en la variedad Razzo, mientras que la forma ovoidal del endocarpo sólo se presentó en la variedad Sevillana, pudiendo ser estos estados discriminativo para separar estas variedades.

En simetría (A), Pendolino mostró el estado asimétrico diferenciándose de Taggiasca, Leccino, Arbequina y Manzanilla que fueron ligeramente asimétricos. Las dos muestras de EEFAS, Razzo y Sevillana no se diferenciaron entre sí por este carácter presentando ambas el estado simétrico, pero si se diferenciaron de las variedades de Los Ranchos que presentaron estado asimétrico y ligeramente asimétrico.

Todas las muestras de Leccino y Pendolino mostraron forma de base redondeada, por lo cual se diferenciaron de Sevillana y Razzo que mostraron forma de base truncada. Taggiasca fue la única variedad que presentó en la mayoría de sus muestras (81,82%) forma de base apuntada, excepto la muestra S13M7 con forma de base redondeada. Arbequina y Manzanilla mostraron ser más variable al presentar sus muestras más de un estado en esta característica; Arbequina presentó forma de base truncada y apuntada, mientras que Manzanilla fue apuntada y redondeada.

Con forma de ápice redondeado, Taggiasca, Arbequina, Manzanilla, Sevillana y Razzo no se llegaron a diferenciar; tampoco se pudieron separar por esta característica Leccino y Pendolino entre sí que mostraron ápice apuntado. Taggiasca mostró un mayor porcentaje de muestras (81,82%) con diámetro transversal máximo hacia el ápice, diferenciándose del resto de las variedades que presentaron diámetro transversal máximo centrado, con excepción de Razzo con el diámetro hacia la base. La mayoría de las variedades no se diferenciaron en la terminación del ápice por presentar mucrón, salvo Arbequina, Sevillana y Razzo en las cuales el mucrón estuvo ausente (cuadro 34).

Cuadro 34. Porcentaje en que aparecen los diferentes estados para cada uno de los caracteres del endocarpo analizados a nivel de variedades

Caracteres endocarpo	Estados caracteres endocarpo	Taggiasca Los Ranchos	Leccino Los Ranchos	Pendolino Los Ranchos	Arbequina Los Ranchos	Manzanilla Los Ranchos	Sevillana EEFAS	Razzo EEFAS	Prom. de valores de moda
Forma (A)	Elíptica				2,245+/-0,029	2,146+/-0,303			
	Ovoidal						1,597		
	Esférica							1,355	
	Alargada	3,00+/-0,314	3,236+/-0,308	3,311+/-0,621					
Simetría (A)	Simétrico						100	100	28,57
	Lig. asimétrico	100	100		100	100			57,14
	Asimétrico			100					14,29
Ø. transv. máx. (B)	Centrado	18,18	100	100	100	100	100		62,34
	Hacia ápice	81,82							23,38
	Hacia base							100	14,29
Forma ápice (A)	Redondeado	100			100	100	100	100	71,23
	Apuntado		100	100					28,57
Forma base (A)	Truncada				50		100	100	35,71
	Redondeada	18,18	100	100		50			38,31
	Apuntada	81,82			50	50			25,97
Terminación del ápice	Sin mucrón				100		100	100	42,86
	Con mucrón	100	100	100		100			57,14

#### 4.3.4 Agrupamiento de las muestras de endocarpo por igualdad en los estados de cada característica

El agrupamiento de las muestras de endocarpo en base a los caracteres forma de endocarpo, simetría, forma de base, forma de ápice, diámetro transversal máximo y terminación del ápice, permitió ver la variabilidad existente dentro y entre los sitios de colecta, observándose 30 categorías.

Dentro de cada sitio de colecta no todos los endocarpos fueron iguales y muestras de diferentes sitios se agruparon al presentar los mismos estados de los caracteres. El único sitio que presentó sus muestras de endocarpo homogéneas para los diferentes caracteres fue calle Oliveras (S10), con forma elíptica, simetría ligeramente asimétrica, ápice redondeado, base truncada, diámetro transversal máximo hacia el ápice y terminación del ápice con mucrón. En el mismo grupo, compartiendo los estados de los caracteres, se presentó una muestra del sitio Coronel Raíz (S9M4) y otra muestra de ex Quinta de Posse (S8M8).

En el total de las 73 muestras de endocarpo, los estados que aparecieron con mayor frecuencia fueron la forma elíptica (36 muestras), el estado ligeramente asimétrico (43 muestras), ápice redondeado (50 muestras), forma de la base redondeada y truncada (33 y 26 muestras respectivamente), diámetro transversal máximo centrado (48 muestras) y terminación del ápice con mucrón (53 muestras).

Sólo en dos sitios de colecta, la mayoría de sus muestras abarcaron los estados menos frecuentes. Estos fueron, Quinta de Arteaga (S11) con forma alargada, simetría asimétrica y forma de ápice apuntado y Granja de Cohen (S3) con endocarpos de forma ovoidal y esférica, que también lo presentaron respectivamente la variedad Sevillana (S1M4) y Razzo (S1M9), del sitio de colecta EEFA (cuadros 35-42).

Cuadro 35. Agrupamiento de las muestras de endocarpo por coincidencia en los estados de cada característica

Forma (A)	Simetría (A)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Ø. transv. máx. (B)	Terminación ápice	Muestra	Endocarpo
Elíptica	Simétrico	Redondeado	Truncada	Centrado	Sin mucrón	S4M5	
			Redondeada	Centrado	Sin mucrón	S1M3	
		S4M4					
		S4M3					
		Redondeado	Redondeada	Hacia ápice	Sin mucrón	S2M3	
				Hacia ápice	Con mucrón	S5M4	
		Apuntado	Redondeada	Hacia ápice	Sin mucrón	S4M1	
				Centrado	Con mucrón	S2M1	
						S2M2	
		S5M3					

Cuadro 36. Agrupamiento de las muestras de endocarpo por coincidencia en los estados de cada característica

Forma (A)	Simetría (A)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Ø. transv. máx. (B)	Terminación ápice	Muestra	Endocarpo
Elíptica	Lig. asimétrico	Redondeado	Truncada	Hacia ápice	Con mucrón	S10M3	
						S10M1	
						S10M2	
						S10M4	
						S10M5	
						S9M4	
						S8M8	
			S8M3				
			S8M6				
			S8M2				
			S9M2				
			S8M1				
			S9M10				
			S8M4				
S8M5							

Cuadro 37. Agrupamiento de las muestras de endocarpo por coincidencia en los estados de cada característica

Forma (A)	Simetría (A)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Ø. transv. máx. (B)	Terminación ápice	Muestra	Endocarpo
Elíptica	Lig. asimétrico	Redondeado	Truncada	Centrado	Sin mucrón	S8M10	
						S13M29 Arbequina	
			Redondeada		Con mucrón	S8M7	
						S11M14	
						S11M16	
Apuntada	Sin mucrón	S13M46 Manzanilla					
		S13M31 Arbequina					

Cuadro 38. Agrupamiento de las muestras de endocarpo por coincidencia en los estados de cada característica

Forma (A)	Simetría (A)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Ø. transv. máx. (B)	Terminación ápice	Muestra	Endocarpo
Elíptica	Lig. asimétrico	Apuntado	Redondeada	Hacia ápice	Con mucrón	S2M5	
	Asimétrico			Hacia ápice	Con mucrón	S11M6	
				Hacia base	Con mucrón	S11M3	

Cuadro 39. Agrupamiento de las muestras de endocarpo por coincidencia en los estados de cada característica

Forma (A)	Simetría (A)	Forma ápice (A)	Forma Base (A)	Ø. transv. máx. (B)	Terminación ápice	Muestra	Endocarpo
Ovoidal	Simétrico	Redondeado	Redondeada	Centrado	Sin mucrón	S3M4	
						S3M5	
						S3M6	
		Truncada	Centrado	Sin mucrón	S1M4 Sevillana		
					S3M2		
					S3M7		
Apuntado	Truncada	Centrado	Con mucrón	S3M1			

Cuadro 40. Agrupamiento de las muestras de endocarpo por coincidencia en los estados de cada característica

Forma (A)	Simetría (A)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Ø. transv. máx. (B)	Terminación ápice	Muestra	Endocarpo
Alargada	Lig. asimétrico	Redondeado	Apuntada	Centrado	Con mucrón	S13M42 Manzanilla	
				Hacia ápice	Con mucrón	S13M3-M6 S13M8-M13 Taggiasca	
			Redondeada	Centrado	Con mucrón	S13M15-M7 Taggiasca	
		Apuntado	Redondeada	Centrado	Con mucrón	S11M4	
						S11M5	
						Centrado	Con mucrón

Cuadro 41. Agrupamiento de las muestras de endocarpo por coincidencia en los estados de cada característica

Forma (A)	Simetría (A)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Ø. transv. máx. (B)	Terminación ápice	Muestra	Endocarpo
Alargada	Asimétrico	Apuntado	Redondada	Hacia base	Con mucrón	S11M10	
				Centrado		S13M36-M37 Pendolino	
			Apuntada	Centrado	Con mucrón	S11M7	
						S11M9	
Truncada	Centrado	Con mucrón	S11M2				

Cuadro 42. Agrupamiento de las muestras de endocarpo por coincidencia en los estados de cada característica

Forma (A)	Simetría (A)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Ø. transv. máx. (B)	Terminación ápice	Muestra	Endocarpo
Esférica	Simétrico	Redondeado	Truncada	Hacia base	Sin mucrón	S1M9 Razzo	
				Centrado	Sin mucrón	S3M3	
						S3M8	

#### 4.3.5 Dendograma de endocarpo

En el análisis de agrupamiento usando el método UPGMA, se observaron dos grandes grupos que se separaron con un coeficiente de similitud de 0,46. El grupo uno constituido por la mayoría de las muestras de los siguientes sitios de colecta: EFFAS (S1), Quebrada del Castillo (S2), Granja de Cohen (S3), ex Quinta de Canessa (S4) y Quinta de Tarallo (S5), que presentaron en común el estado simétrico, la forma del ápice redondeado, con excepción de S4M1 que presentó ápice apuntado, que junto con el carácter posición del diámetro transversal máximo hacia ápice lo separaron de las muestras S4M3, S4M4 y S4M6 con forma de ápice redondeado y diámetro transversal máximo centrado. La muestra S4M5 del mismo sitio de colecta fue diferente por presentar la forma de la base truncada.

El estado terminación del ápice con mucrón estuvo presente en todas las muestras, menos en S5M4 que fue la única que presentó presencia de mucrón, al igual que S5M3 (grupo dos), pero de la cual se diferenció (coeficiente similitud de 0,46) en la forma del ápice y en la posición del diámetro transversal máximo.

En el grupo dos, aparecen las muestras de los siguientes sitios de colecta: Establecimiento Los Ranchos (S13), Quinta de Arteaga (S11), Quinta de Posse (S8) y Coronel Raíz (S9) y las muestras (S2M1, S2M2, S2M5) de Quebrada del Castillo y (S3M1) de Granja de Cohen. Este grupo se subdivide en dos subgrupos A y B con un coeficiente de similitud de 0,39, cuyas muestras difieren totalmente en la forma del ápice (A), apuntado en el subgrupo A y redondeado en el subgrupo B.

Muestras más homogéneas en las características forma del endocarpo y posición del diámetro transversal máximo se presentaron en el subgrupo B, en que aparecieron sólo dos estados en cada una, también en simetría y forma del ápice (A), con sólo un estado el de ligeramente asimétrico y redondeado respectivamente; mientras que en el subgrupo A se presentaron hasta tres estados por característica, con excepción de la forma del ápice (sólo apuntado) y en la terminación del ápice con mucrón.

En el subgrupo A la muestra S3M1 difiere de las demás muestras incluidas en este subgrupo (coeficiente de similitud de 0,36), por ser la única con forma de endocarpo ovoidal; a su vez queda separada de las muestras del mismo sitio de colecta ubicadas en el grupo uno al ser totalmente diferente en forma y terminación del ápice.

En la variedad Leccino las muestras S13M16, S13M17, S13M18, S13M19, S13M20 y S13M21 se agruparon con total similaridad al igual que las muestras S13M36 y S13M37 de la variedad Pendolino. Ambos grupos presentaron similaridad entre ellos (coeficiente 0,115), lo que concuerda pues ambas variedades se diferencian en un sólo carácter: el de simetría. En Quinta de Arteaga las muestras S11M6, S11M4 y S11M5 fueron diferentes a S11M2, S11M7, S11M9, S11M3 y S11M10 con un coeficiente de similitud cercano a 0,34; S11M6 fue la única con la posición del diámetro transversal máximo hacia el ápice.

En el subgrupo B aparecieron las variedades Taggiasca, Arbequina y Manzanilla correspondientes al establecimiento Los Ranchos. Se observó un agrupamiento con total similitud de las muestras S13M3, S13M4, S13M5, S13M6, S13M8, S13M9, S13M12, S13M13 de la variedad Taggiasca, separándose de S13M10, S13M7 y S13M15 por presentar diferencias con estas en uno o más caracteres (forma del endocarpo, forma de la base y/o diámetro transversal máximo). Las muestras de Arbequina S13M29 y S13M31 se separaron por presentar diferencias en el carácter forma de la base, al igual que las muestras de Manzanilla (S13M42 y S13M46) que presentaron las mismas diferencias.

En el sitio de colecta Quinta de Posse (S8) la muestra S8M10 quedó separada del resto de las muestras de este sitio (coeficiente de similitud de 0,19), debido a que la misma difiere en las siguientes características: forma de la base, posición diámetro transversal máximo y terminación del ápice. La muestra S8M8 fue la más diferente al resto de las muestras con un coeficiente de similitud de 0,23, diferenciándose por ser la única muestra de la salida con la posición del diámetro transversal máximo hacia el ápice. Las muestras S8M1, S8M2, S8M3, S8M4, S8M5 y S8M6 con igualdad en las características del endocarpo quedaron juntas.

En el sitio de colecta Quinta de Arteaga (S11) las muestras S11M14 y S11M16 quedaron agrupadas, pero separadas de las demás muestras de ese sitio con un coeficiente de similitud de 0,39, de las cuales difirieron totalmente al presentar forma de ápice redondeado y forma de endocarpo elíptica.

Las únicas muestras que quedaron agrupadas fueron las de la calle Oliveras, presentando total homogeneidad en los caracteres, éstas a su vez se agruparon con las muestras S8M8 y S9M4 de Quinta de Posse y calle Coronel Raíz respectivamente, presentando los mismos estados en las diferentes características del endocarpo (Figura 33).

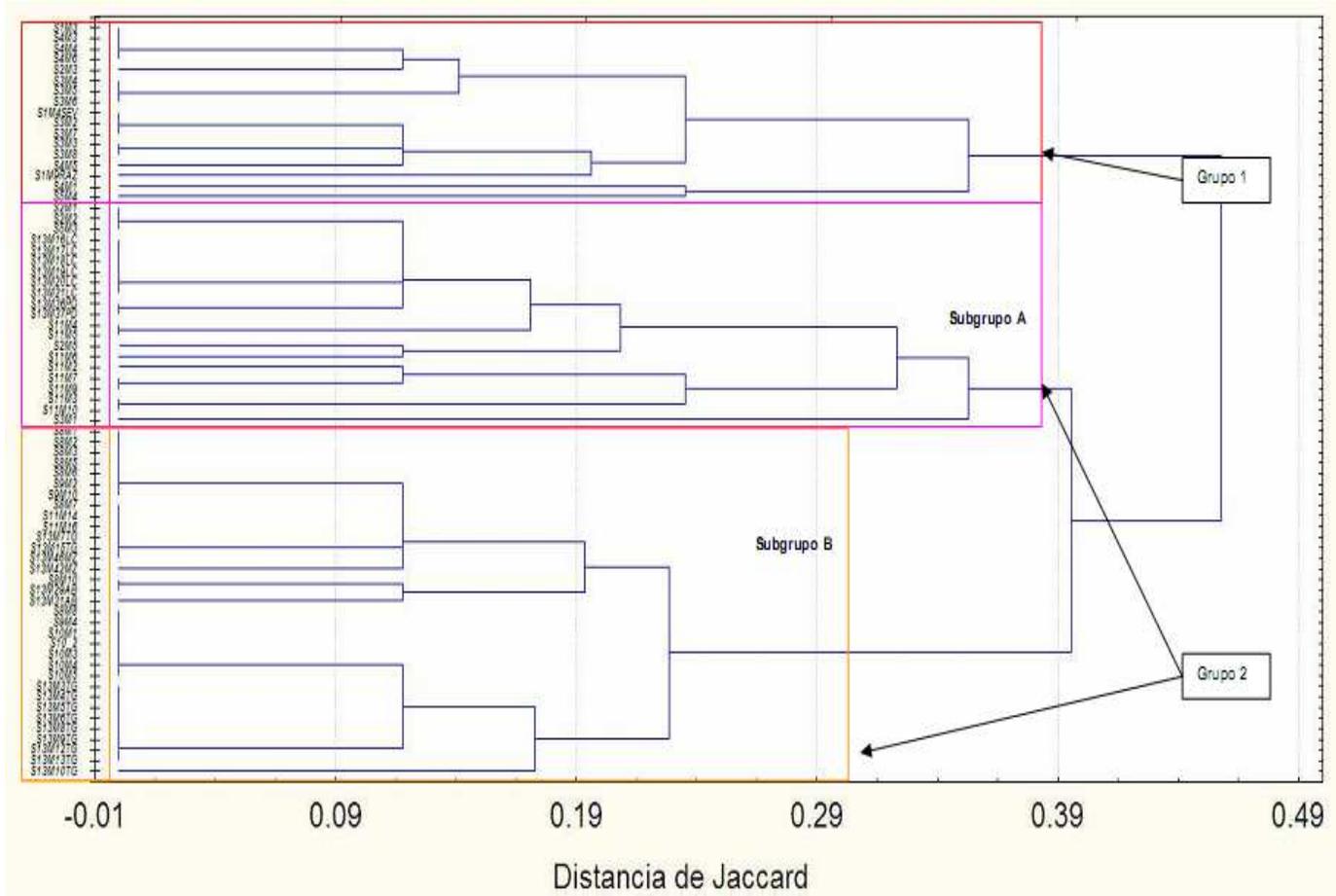


Figura 33. UPGMA a partir de 17 estados de endocarpo de los diferentes sitios de colecta

#### 4.3.6 Comparación de los estados de caracteres del endocarpo de muestras de variedades conocidas con la información de referencia

Al compararse los seis caracteres del endocarpo de las muestras de variedades conocidas con los datos de Barranco et al. (2000) para el COI, en ningún caso hubo una coincidencia en el total de los caracteres, como máximo coincidieron cinco caracteres y como mínimo uno. La mayoría de las muestras de Taggiasca (S13M3, S13M4, S13M5, S13M6, S13M8, S13M9, S13M10, S13M11, S13M12, S13M13) coincidieron en simetría, forma del ápice (A), la base (A), el diámetro transversal máximo (B) y la terminación del ápice. Sin embargo, S13M7 y S13M15 sólo coincidieron en simetría, forma del ápice y terminación del ápice.

En Leccino todas las muestras coincidieron en: forma de la base (A), diámetro transversal máximo (B) y terminación del ápice. En Arbequina todas las muestras coincidieron en forma del ápice (A), diámetro transversal máximo (B) y terminación del ápice; en Pendolino coincidieron en la simetría (A) y terminación del ápice. En Manzanilla la muestra S13M46 coincidió en en simetría (A), forma del ápice (A) y terminación del ápice y la muestra S13M42 además de coincidir en las mismas características concordó en la forma de la base (Barranco et al., 2000, cuadros 43-48).

Las muestras de EEFAS: Sevillana y Razzo coincidieron sólo en un carácter, diámetro transversal máximo y forma del ápice respectivamente. Para la comparación de la muestra de Razzo, se tomó como referencia a Cimato et al. (2001) para dicha variedad (cuadro-49) y (Barranco et al., 2000) para compararla con la variedad de referencia Frantoio, ya que ésta presenta como sinonimia "Razzo", coincidiendo sólo en forma del ápice (A) (cuadro 50).

Cuadro 43. Comparación de los estados de caracteres obtenidos del endocarpo de la variedad analizada Taggiasca con la información de referencia

	ENDOCARPO					
Barranco et al. (2000)	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv. máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Terminación ápice
Taggiasca	Ovoidal	Lig. asimétrico	Hacia ápice	Redondeado	Apuntada	Con mucrón
S13M3-6 S13M8-13 Taggiasca	Alargada	Lig. asimétrico	Hacia ápice	Redondeado	Apuntada	Con mucrón
S13M7 S13M15 Taggiasca	Alargada	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Con mucrón

Cuadro 44. Comparación de los estados de caracteres obtenidos del endocarpo de la variedad analizada Leccino con la información de referencia

	ENDOCARPO					
Barranco et al. (2000)	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv. máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Terminación ápice
Leccino	Elíptica	Asimétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Con mucrón
S13M16- 21 Leccino	Alargada	Lig. asimétrico	Centrado	Apuntado	Redondeada	Con mucrón

Cuadro 45. Comparación de los estados de caracteres obtenidos del endocarpo de la variedad analizada Arbequina con la información de referencia

	ENDOCARPO					
Barranco et al. (2000)	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv. máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Terminación ápice
Arbequina	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Sin mucrón
S13M29 Arbequina	Elíptica	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Sin mucrón
S13M31 Arbequina	Elíptica	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Apuntada	Sin mucrón

Cuadro 46. Comparación de los estados de caracteres obtenidos del endocarpo de la variedad analizada Pendolino con la información de referencia

	ENDOCARPO					
Barranco et al. (2000)	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv. máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Terminación ápice
Pendolino	Elíptica	Asimétrico	Hacia ápice	Redondeado	Apuntada	Con mucrón
S13M36 Pendolino	Alargada	Asimétrico	Centrado	Apuntado	Redondeada	Con mucrón
S13M37 Pendolino	Alargada	Asimétrico	Centrado	Apuntado	Redondeada	Con mucrón

Cuadro 47. Comparación de los estados de caracteres obtenidos del endocarpo de la variedad analizada Manzanilla con la información de referencia

	ENDOCARPO					
Barranco et al. (2000)	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv. máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Terminación ápice
Manzanilla	Ovoidal	Lig. asimétrico	Hacia ápice	Redondeado	Apuntada	Con mucrón
S13M42 Manzanilla	Alargada	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Apuntada	Con mucrón
S13M46 Manzanilla	Elíptica	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Con mucrón

Cuadro 48. Comparación de los estados de caracteres obtenidos del endocarpo de la variedad analizada Sevillana con la información de referencia

	ENDOCARPO					
Barranco et al. (2000)	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv. máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Terminación ápice
Sevillena	Alargada	Lig. Asimétrico	Centrado	Apuntado	Apuntada	Con mucrón
Sevillene						
S1M4 Sevillana	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Sin mucrón

Cuadro 49. Comparación de los estados de caracteres obtenidos del endocarpo de la variedad analizada Razzo con la información de referencia

	ENDOCARPO					
Cimato et al. 2001	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv. máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Terminación ápice
Razzo	Elíptica	Lig. asimétrico	Hacia ápice	Redondeado	Apuntada	Con mucrón
S1M9 Razzo	Esférica	Simétrico	Hacia base	Redondeado	Truncada	Sin mucrón

Cuadro 50. Comparación de los estados de caracteres obtenidos del endocarpo de la variedad analizada Razzo con la información de referencia para Frantoio

	ENDOCARPO					
Barranco et al. (2000)	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv. máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Terminación ápice
Frantoio	Elíptica	Lig. asimétrico	Hacia ápice	Redondeado	Redondeada	Con mucrón
S1M9 Razzo	Esférica	Simétrico	Hacia base	Redondeado	Truncada	Sin mucrón

#### 4.3.7 Comparación de los estados en los caracteres de endocarpo de muestras no identificadas con la información de referencia

Al realizar comparaciones a partir de endocarpo de las 47 muestras analizadas, de las cuales se desconocía su identificación varietal, sólo nueve de ellas coincidieron con los estados de caracteres descritos por Barranco et al. (2000) para COI, para alguna variedad comercial actual.

Tres muestras de la Granja de Cohen (S3M4, S3M5 y S3M6) presentaron los estados de los seis caracteres iguales a Arbequina (Barranco et al., 2000, cuadro 51).

Una muestra proveniente de la Quinta de Tarallo (S5M4) podría ser clasificada como de la variedad Frantoio por cinco de los seis estados, aunque el carácter que no es coincidente con el patrón varietal es simetría en posición (A), Barranco et al. (2000) lo define para COI como ligeramente asimétrico para la variedad mencionada y la muestra analizada se catalogó como simétrico. Una diferencia clasificada por algunos autores (Cavagnaro et al., 2001) como sumamente subjetiva (cuadro 52).

Una muestra de la ex Quinta de Posse (S8M7), resto de las más antiguas plantaciones realizadas en nuestro país coincidió con la actual variedad Leccino, que se cultiva en Europa desde hace más de tres siglos (Belaj et al., 2003) a lo largo de toda la cuenca Mediterránea con diferentes denominaciones. El origen de las primeras plantaciones de olivos en la época colonial, se efectuó a partir de la introducción de estacas provenientes de España (Pérez Castellanos, 1914) e Italia (Basso, 1907), por tanto dicha variedad es posible que sea una de las más antiguas y que se plantan en la ex Banda Oriental (cuadro 53).

Las muestras provenientes de la Quinta de Arteaga, resultaron variables para los caracteres de endocarpo. Dos muestras (S11M14 y S11M16) fueron coincidentes con la tipificación varietal de Leccino (excepto en simetría en posición A) y otras dos (S11M7 y S11M9) con la de las variedades Sevillana y Gordal Sevillana o Sevillano (según su sinonimia), con diferencia también en la simetría (cuadro 54).

Cuadro 51. Caracterización de las muestras analizadas a través de seis caracteres del endocarpo para la variedad Arbequina

	ENDOCARPO					
Barranco et al. (2000)	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv. máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Terminación ápice
Arbequina	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Sin mucrón
S3M4	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Sin mucrón
S3M5	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Sin mucrón
S3M6	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Sin mucrón

Cuadro 52. Caracterización de las muestras analizadas a través de seis caracteres del endocarpo para la variedad Frantoio

	ENDOCARPO					
Barranco et al. (2000)	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv. máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Terminación ápice
Frantoio	Elíptica	Lig. asimétrico	Hacia ápice	Redondeado	Redondeada	Con mucrón
S5M4	Elíptica	Simétrico	Hacia ápice	Redondeado	Redondeada	Con mucrón

Cuadro 53. Caracterización de las muestras analizadas a través de seis caracteres del endocarpo para la variedad Leccino

	ENDOCARPO					
Barranco et al. (2000)	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv. máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Terminación ápice
Leccino	Elíptica	Asimétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Con mucrón
S8M7	Elíptica	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Con mucrón
S11M14	Elíptica	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Con mucrón
S11M16	Elíptica	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Con mucrón

Cuadro 54. Caracterización de las muestras analizadas a través de seis caracteres del endocarpo para las variedades Sevillana y Gordal Sevillana o Sevillano

	ENDOCARPO					
Barranco et al. (2000)	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv. máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Terminación ápice
Sevillana	Alargada	Lig. asimétrico	Centrado	Apuntado	Apuntada	Con mucrón
Sevillene						
Gordal Sevillana sinonimia Sevillano	Alargada	Lig. asimétrico	Centrado	Apuntado	Apuntada	Con mucrón
S11M7	Alargada	Asimétrico	Centrado	Apuntado	Apuntada	Con mucrón
S11M9	Alargada	Asimétrico	Centrado	Apuntado	Apuntada	Con mucrón

Al considerar conjuntamente caracteres de endocarpo y fruto de las nueve muestras que se les había asignado identificación varietal primeramente, cinco la mantuvieron (S3M4, S3M5, S8M7, S11M14, S11M16) al considerar por lo menos cuatro de los seis caracteres de fruto. Esta disminución de coincidencias es atribuible al efecto del ambiente sobre los caracteres de fruto, que los convierte en un elemento de clasificación menos conservado que el endocarpo (cuadro 55).

Cuadro 55. Caracterización de las muestras analizadas a través de seis caracteres de endocarpo y fruto

Barranco et al. (2000)*	ENDOCARPO						FRUTO					
	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv. máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (A)	Terminación ápice	Forma (A)	Simetría (A)	Ø. transv. máx. (B)	Forma ápice (A)	Forma base (B)	Pezón
Arbequina*	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Sin mucrón	Esférico	Simétrico	Hacia base	Redondeado	Truncada	Ausente
S3M4	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Sin mucrón	Esferica	Simétrico	Hacia base	Redondeado	Truncada	Ausente
S3M5	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Sin mucrón	Esferica	Simétrico	Hacia base	Redondeado	Truncada	Ausente
S3M6	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Sin mucrón	Esferica	Simétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Ausente
Leccino	Elíptica	Asimétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Con mucrón	Ovoidal	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Ausente
S8M7	Elíptica	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Con mucrón	Ovoidal	Simétrico	Centrado	Apuntado	Truncada	Ausente
S11M14	Elíptica	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Con mucrón	Ovoidal	Asimétrico	Centrado	Apuntado	Truncada	Esbozado
S11M16	Elíptica	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Con mucrón	Ovoidal	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Ausente
Frantoio*	Elíptica	Lig. asimétrico	Hacia ápice	Redondeado	Redondeada	Con mucrón	Ovoidal	Lig. asimétrico	Hacia ápice	Redondeado	Redondeada	Ausente
S5M4	Elíptica	Simétrico	Hacia ápice	Redondeado	Redondeada	Con mucrón	Alargada	Simétrico	Centrado	Redondeado	Redondeada	Esbozado
Sevillena*	Alargada	Lig. asimétrico	Centrado	Apuntado	Apuntada	Con mucrón	Ovoidal	Asimétrico	Centrado	Apuntado	Truncada	Ausente
Sevillene*												
S11M7	Alargada	Asimétrico	Centrado	Apuntado	Apuntada	Con mucrón	Alargada	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Esbozado
S11M9	Alargada	Asimétrico	Centrado	Apuntado	Apuntada	Con mucrón	Alargada	Asimétrico	Hacia base	Apuntado	Truncada	Esbozado
Gordal Sevillana* sinonimia Sevillano	Alargado	Lig. asimétrico	Centrado	Apuntado	Apuntada	Con mucrón	Ovoidal	Lig. asimétrico	Hacia base o Centrado	Redondeada	Redondeada	Ausente
S11M7	Alargada	Asimétrico	Centrado	Apuntado	Apuntada	Con mucrón	Alargada	Lig. asimétrico	Centrado	Redondeado	Truncada	Esbozado
S11M9	Alargada	Asimétrico	Centrado	Apuntado	Apuntada	Con mucrón	Alargada	Asimétrico	Hacia base	Apuntado	Truncada	Esbozado

#### 4.4 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

##### 4.4.1 Patrones de bandas obtenidos a partir de los pares de cebadores utilizados

Se analizaron mediante amplificación vía PCR de 10 pares de cebadores microsatélites, 111 muestras de olivos de diversas procedencias (cuadro 2). Los mayores porcentajes de amplificación con las condiciones descriptas se obtuvieron para el par de cebadores UDO99-031 en el que el 94,8% (73/77) de las muestras exhibieron productos de amplificación. Los demás cebadores presentaron también un porcentaje de amplificación comprendido entre 76,19 y 94,8, con un promedio para los diez pares de cebadores de 84,7% (cuadro 56).

El rango de fragmentos obtenidos en pares de bases para cada uno de los pares cebadores estuvo dentro del rango esperado según Cipriani et al. (2002), entre los que estuvo incluido, el perfil esperado para la variedad Frantoio tomada por el citado autor como referencia (cuadro 56, Figura 34).

Cuadro 56. Comparación entre el rango obtenido y el rango esperado para cada cebadote y el perfil de Frantoio

Cebadores	Rango observado (pb)	Rango esperado (pb) (Cipriani et al., 2002)	Perfil de Frantoio (pb)	No. muestras analizadas (no se cuenta las s/d)	No. muestras con bandas	No. muestras sin bandas	Frec. con bandas	Frec. sin bandas
UDO99-006	150/174	150/174	150/174	111	91	20	81,98	18,02
UDO99-007	94/141	94/141	108/120	111	91	20	81,98	18,02
UDO99-008	160/170	160/170	160/165	109	93	16	85,32	14,68
UDO99-009	83/119	83/119	103/119	90	71	19	78,88	21,12
UDO99-011	105/132	105/132	115/124	110	98	12	89,09	10,91
UDO99-014	95/105	95/105	95/105	111	101	10	90,99	9,01
UDO99-028	136/172	136/172	154	101	88	13	87,12	12,88
UDO99-031	114/155	114/155	147/155	77	72	5	93,51	6,49
UDO99-035	136/168	136/168	136/148	111	94	17	84,68	15,32
UDO99-043	179/219	179/219	179/219	105	80	25	76,19	23,81



Figura 34. Productos de PCR de Var. *Frantoio* con diferentes cebadores

Referencias:

(6) UDO99-006 (7) UDO99-007 (8) UDO99-008 (9) UDO99-009 (11) UDO99-011  
 (14) UDO99-014 (28) UDO99-028 (35) UDO99-035 (43) UDO99-043

#### 4.4.2 Tamaño (pb) y frecuencia de alelos (%) obtenidos en los diferentes cebadores para el total de muestras

Se detectaron un total de 41 alelos (bandas) para los 10 loci analizados en las muestras estudiadas. Cada par de cebadores correspondió a un locus génico, resultando en promedio 4 bandas (alelos) por locus, con un máximo de 6 bandas entre 136 y 172 pb para el par UDO99-028 y entre 136 y 168 pb para el par UDO99-035 y un mínimo de 2 bandas entre 160 y 170 pb para el UDO99-008 (cuadro 57).

La frecuencia de los distintos alelos fue variable según el par de cebador empleado, siendo los menos frecuentes los alelos 150 pb (1,02%) en el cebador UDO99-011, el alelo 136 pb (1,38%) en el cebador UDO99-031 y el alelo 148 pb (2,14%) en el cebador UDO99-035. Las mayores frecuencias se observaron en el alelo de 179 pb (85,62%) del par UDO99-043 y en el alelo de 100 pb (82,26%) amplificado con el par UDO99-009 (cuadro 57).

Cuadro 57. Tamaño (pb) y frecuencia (%) de los alelos obtenidos para diez cebadores con el total de individuos

	Cebador UDO99-006		Cebador UDO99-007		Cebador UDO99-008		Cebador UDO99-009		Cebador UDO99-011		Cebador UDO99-014		Cebador UDO99-028		Cebador UDO99-031		Cebador UDO99-035		Cebador UDO99-043	
	Alelos (pb)	Frec (%)																		
	150	23,26	94	4,39	160	76,88	83	2,84	105	33,33	95	9,95	136	4,57	114	24,31	136	59,49	179	85,63
	164	3,49	100	28,02	170	24,19	100	82,27	122	9,23	100	74,13	140	12,57	136	1,39	140	11,23	190	2,50
	174	73,26	120	8,79			110	7,09	132	56,41	105	15,92	150	6,29	140	26,39	148	2,14	200	4,38
			141	58,79			119	7,80	150	1,03			160	18,29	150	29,86	150	8,02	219	7,50
													170	50,86	155	18,06	160	3,21		
													172	7,43			168	16,04		
No. alelos	3		4		2		4		4		3		6		5		6		4	
Media alelos	4																			

#### 4.4.3 Tamaño (pb) y porcentaje de bandas polimórficas

Las frecuencias de pares de cebadores que amplificaron bandas (polimórficos) variaron entre un mínimo de 9,86% (UDO99-009) y un máximo de 78,02% (UDO99-007) con un promedio para todos los cebadores de 32,04% (cuadro 58).

Cuadro 58. Rango de tamaño de bandas polimórficas porcentaje de polimorfismo para cada cebador

Cebadores	Rango de tamaño de bandas polimórficas (pb)	No. total bandas presentes	No. bandas polimórficas	% polimorfismo
UDO99-006	150/174	91	13	14,28
UDO99-007	94/141	91	71	78,02
UDO99-008	160/170	93	17	18,27
UDO99-009	83/119	71	7	9,86
UDO99-011	105/132	98	38	38,77
UDO99-014	95/105	101	20	19,80
UDO99-028	140/172	88	24	27,27
UDO99-031	114/155	72	51	70,83
UDO99-035	136/168	94	22	23,40
UDO99-043	179/219	80	11	13,75
Promedio		87,9	28,3	31,42

Fuente: elaboración según Cipiriani et al. (2002).

#### 4.4.4 Perfil de bandas (pb) obtenido para cada sitio de colecta con los distintos pares de cebadores

Las materiales provenientes de la Estación Experimental de San Antonio de la Facultad de Agronomía Salto (EEFAS) correspondían en su mayoría a muestras identificadas varietalmente al tratarse de un Jardín de Introducción, excepto las muestras S1M2 y S1M3. Los pares de cebadores UDO99-007, UDO99-014 y UDO99-035 amplificaron en el total de las muestras por lo menos una banda. En los productos de amplificación obtenidos en las distintas muestras, se observó variabilidad (polimorfismo promedio de 19.5%) presentando diferencias de bandas entre muestras para un mismo cebador.

La variedad Razzo (S1M9) amplificó en sólo tres cebadores. Ésta se diferenció del resto de las muestras, al amplificar con el par UDO99-007 dos bandas (120-141 pb), con el par UDO99-014 con una sola banda (105 pb) y con el par de cebadores UDO99-035 amplificó dos bandas (140-168 pb).

Para el par de cebadores UDO99-035, Arbequina y Santa Catalina (ambas con doble banda) se pudieron diferenciar entre sí y con el resto de las muestras. En la variedad Moraiolo, UDO99-043 amplificó dos bandas (179/200 pb), que permitió distinguirla de las demás muestras. Sevillana se diferenció al presentar solamente una banda con los pares de cebadores UDO99-008, UDO99-009, UDO99-031 y con el cebador UDO99-028 dos bandas (140/172 pb), en donde el alelo 140 fue único en esta variedad (cuadro 59).

Cuadro 59. Perfil de bandas (pb) obtenido en muestras del sitio de colecta de EEFAS (Salto) para los distintos pares de cebadores

Cebadores	Rango observado	EEFAS								
		S1M1 Arbequina	S1M2	S1M3	S1M4 Sevillana	S1M5 Grosso Andrea	S1M6 Moraiolo	S1M7 Correggiolo	S1M8 Santa Catalina	S1M9 Razzo
UDO99-006	150/174	150/174	150/174	150/174	150/174	150/174	150/174	150/174	150	0
UDO99-007	94/141	94/141	94/141	94/141	94/141	94/141	94/141	94/141	94/141	120/141
UDO99-008	160/170	160/170	160/170	160/170	160	160/170	160/170	160/170	160/170	0
UDO99-009	83/119	0	83/119	83/119	83	100/119	0	100/119	0	0
UDO99-011	105/132	105	105	105	105	105	105	105	105/132	0
UDO99-014	100/105	100	100	100	100	100	100	100	100	105
UDO99-028	140/172	160	160	160	140/172	160	160	160	150/172	0
UDO99-031	136/155	140/155	140/155	140/155	136	140/155	140/155	140/155	140/155	
UDO99-035	140/168	150/160	168	168	160	150	160	150	160/168	140/168
UDO99-043	179/219	179	179	179	179	179	179/200	179	219	0

En los sitios de colectas correspondientes a viejos olivares de fines del siglo XIX y principios del siglo XX, se observaron diferentes resultados. Los olivos provenientes de la Quebrada del Castillo (Piriápolis, depto. Maldonado) en cinco de los diez pares de cebadores (UDO99-007, UDO99-008, UDO99-011, UDO99-014, UDO99-028), se obtuvieron patrones polimórficos de bandas en la mayoría de las muestras, con un polimorfismo promedio de 23%. El par de cebador UDO99-006 amplificó un fragmento de 174 pb en la muestra S2M6 que la permitió diferenciarse del resto. Finalmente en este sitio el par de cebadores UDO99-028 fue el único presente en todas las muestras, amplificando dos perfiles de bandas diferentes (136/150 pb y 136/172 pb) permitió formar entre los ejemplares dos grupos (cuadro 60).

Cuadro 60. Perfil de bandas (pb) obtenido en muestras del sitio de colecta Quebrada del Castillo

Cebadores	Rango observado	QUEBRADA DEL CASTILLO					
		S2M1	S2M2	S2M3	S2M4	S2M5	S2M6
UDO99-006	174	0	0	0	0	0	174
UDO99-007	120/141	120/141	141	0	0	120/141	0
UDO99-008	160/170	160/170	160	0	170	160/170	160
UDO99-009	100	0	100	0	0	0	0
UDO99-011	122/132	132	132	0	132	132	122/132
UDO99-014	95/105	95/100	105	0	95/105	95/105	105
UDO99-028	136/172	136/172	136/150	136/150	136/150	136/172	136/150
UDO99-035	150	0	150	0	150	0	150
UDO99-043		0	0	0	0	0	0

Todas las muestras colectadas en ex Quinta de Canessa amplificaron entre uno y dos alelos para todos los pares de cebadores, observándose un patrón similar de bandas en 9 (S4M1 a S4M9) de las 14 muestras analizadas y un polimorfismo promedio de 6%.

Los productos de amplificación obtenidos a partir de los pares de cebadores UDO99-006 (150/174 pb) y el UDO99-035 (136/148 pb), permitieron

distinguir S4M13 de las demás muestras. La muestra S4M10 se diferenció al amplificar sólo una banda con el cebador UDO99-007 (100 pb) y en el par UDO99-031 un fragmento de 140 pb (cuadro 61).

En los productos de amplificación obtenidos en las muestras de la ex Quinta de Posse, se observó muy poca variabilidad (polimorfismo promedio de 2%), al presentar un patrón de bandas similar entre muestras para un mismo cebador, con excepción del par de cebador UDO99-011 que presentó dos patrones de bandas. Este cebador presentó una banda en 132 pb, que estuvo presente en las muestras S8M1 a S8M9, S8M13 y S8M14 y dos bandas en 105/132 pb en las muestras S8M10, S8M 11, S8M12 (cuadro 62).

La mayoría de las muestras obtenidas en la calle Coronel Raíz presentaron un patrón similar de bandas en los diferentes pares de cebadores (polimorfismo promedio de 6%). Con los pares de cebadores UDO99-007, UDO99-008, UDO99-031 y UDO99-035, se pudieron diferenciar algunas muestras al exhibir patrones de bandas dobles y simples. Con el UDO99-007 las muestras S9M1 y S9M2 se diferenciaron del resto al presentar doble banda (100/141 pb). Las muestras S9M9 y S9M11 fueron las únicas que presentaron dos bandas de (160/170 pb) con el cebador UDO99-008. Finalmente con el par UDO99-035, se diferenció la muestra S9M2 al amplificar dos bandas en 136/140 pb (cuadro 63).

Cuadro 61. Perfil de bandas (pb) obtenido en muestras del sitio de colecta ex Quinta de Canessa para los distintos pares de cebadores

Pares de Cebadores	Rango observado	EX QUINTA DE CANESSA													
		S4M1	S4M2	S4M3	S4M4	S4M5	S4M6	S4M7	S4M8	S4M9	S4M10	S4M11	S4M12	S4M13	S4M14
UDO99-006	150/174	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174	150/174	174
UDO99-007	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141	100	100/141	100/141	100/141	100/141
UDO99-008	160/170	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160/170	160/170
UDO99-009	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
UDO99-011	105/132	105/132	105/132	105/132	105/132	105/132	105/132	105/132	105/132	105/132	105/132	105/132	105/132	105/132	105/132
UDO99-014	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
UDO99-028	170	170	170	170	170	170	170	170	170	170	170	170	170	170	170
UDO99-031	114/150	114/150	114/150	114/150	114/150	114/150	114/150	114/150	114/150	114/150	140	150	150	150	114/150
UDO99-035	136/148	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136/148	136
UDO99-043	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179

Cuadro 62. Perfil de bandas (pb) obtenido en muestras del sitio de colecta ex Quinta de Posse para los distintos pares de cebadores

Cebadores	Rango observado	EX QUINTA DE POSSE													
		S8M1	S8M2	S8M3	S8M4	S8M5	S8M6	S8M7	S8M8	S8M9	S8M10	S8M11	S8M12	S8M13	S8M14
UDO99-006	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174
UDO99-007	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141
UDO99-008	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160
UDO99-009	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
UDO99-011	105/132	132	132	132	132	132	132	132	132	132	105/132	105/132	105/132	132	132
UDO99-014	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
UDO99-028	170	170	170	170	170	170	170	170	170	170	170	170	170	170	170
UDO99-031	140/150	140/150	140/150	140/150	140/150	140/150	140/150	140/150	140/150	140/150	140/150	140/150	140/150	140/150	140/150
UDO99-035	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136
UDO99-043	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179

Cuadro 63. Perfil de bandas (pb) obtenido en muestras del sitio de colecta Coronel Raíz para los distintos pares de cebadores

Cebadores	Rango observado	CALLE CORONEL RAÍZ													
		S9M1	S9M2	S9M3	S9M4	S9M5	S9M6	S9M7	S9M8	S9M9	S9M10	S9M11	S9M12	S9M13	S9M14
UDO99-006	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174
UDO99-007	100/141	100/141	100/141	141	141	141	141	141	141	141	141	141	141	141	141
UDO99-008	160/170	0	160	160	160	160	160	160	160	160/70	160	160/170	160	160	160
UDO99-009	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
UDO99-011	132	132	132	132	132	132	132	132	132	132	132	132	132	132	s/d
UDO99-014	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
UDO99-028	136/170	170	136	170	170	170	170	170	170	170	170	170	170	170	170
UDO99-031	114/150	114	114/150	114/150	114/150	114	0	114/150	114/150	114/150	114/150	114/150	114/150	0	0
UDO99-035	136/140	136	136/140	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136
UDO99-043	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179

Las muestras provenientes de la Quinta de Arteaga, que amplificaron para los diez pares de cebadores, presentaron fragmentos que permitieron detectar la presencia de tres grupos de olivos. Los diferentes perfiles de bandas en los pares de cebadores UDO99-006, UDO99-007, UDO99-011, UDO99-028, UDO99-031 y UDO99-043 permitieron detectar la variabilidad genética existente, con un polimorfismo promedio del sitio de 16%. Así las muestras S11M1, S11M2, S11M3, S11M4 conforman un grupo, por otro lado S11M5, S11M6, S11M7, S11M8, S11M9, S11M12, por último se agruparon S11M10 y S11M11. Con el patrón de bandas obtenido en los pares de cebadores UDO99-006 (174 pb) y UDO99-011 (105/132 pb) se distinguieron S11M1, S11M2 y S11M3 de las demás muestras del sitio. Las muestras S11M10 y S11M11 con el par UDO99-043 se diferenciaron del resto al ser las únicas que amplificaron dos bandas (179/219 pb). Con el par UDO99-028 las muestras S11M5, S11M6, S11M7, S11M8, S11M9 y S11M12 (Figura 34) se separaron del resto por tener fragmentos que amplificaron con diferente largo en pares de bases (cuadro 64).

Cuadro 64. Perfil de bandas (pb) obtenido en muestras del sitio de colecta Quinta de Arteaga para los distintos pares de cebadores

Cebadores	Rango observado	QUINTA DE ARTEAGA											
		S11M1	S11M2	S11M3	S11M4	S11M5	S11M6	S11M7	S11M8	S11M9	S11M10	S11M11	S11M12
UDO99-006	150/174	174	174	174	150	150	150	150	150	150	150	150	150
UDO99-007	100/141	100/141	100/141	100/141	100	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141	100/141
UDO99-008	160	s/d	s/d	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160
UDO99-009	100	0	0	0	100	100	100	100	100	100	100	100	100
UDO99-011	105/132	105/132	105/132	105/132	105	105	105	105	105	105	105	105	105
UDO99-014	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
UDO99-028	140/170	140	160	160	160	140/170	140/170	140/170	140/170	140/170	140/160	140/160	170
UDO99-031	114/150	114/150	114/150	114/150	140	140	140	140	140	0	114/150	114/150	140
UDO99-035	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136	136
UDO99-043	179/219	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179/219	179/219	179

#### 4.4.5 Comparación de los fragmentos amplificados (pb) entre sitios de colecta para los diez pares de cebadores

Observando el largo de los fragmentos amplificados con cada par de cebadores expresados en pares de bases (alelos) se pudo ver la variabilidad existente entre los diferentes sitios de colecta. El par UDO99-006 con el alelo de 174 pb estuvo presente todas las muestras. Los productos de amplificación de todos los pares de cebadores, obtenidos en las antiguas quintas de Montevideo (ex Quinta de Canessa, ex Quinta de Posse, calle Cnel. Raíz, calle Oliveras y Quinta de Arteaga) se dividieron entre aquellos que fueron comunes y los que permitieron diferenciar dichas muestras. Las bandas coincidentes fueron las obtenidas con los pares UDO99-007 (100 y 141 pb), UDO99-008 (160 pb), UDO99-009 (100 pb), UDO99-011 (132 pb), UDO99-014 (100 pb), UDO99-035 (136 pb) y las del par UDO99-043 la banda 179 pb.

Las muestras de la Granja de Cohen no amplificaron los pares de cebadores UDO99-009, UDO99-031 y UDO99-043, mientras que en el establecimiento Los Ranchos y Viña Varela Zarranz el cebador UDO99-009 amplificó dos alelos (110/119 pb) que no estuvieron presentes en las antiguas quintas de Montevideo. Las muestras del Jardín de Intruducción de EFFAS, Quebrada del Castillo y Quinta de Tarallo fueron las únicas que presentaron la banda 150 pb para el cebador UDO99-035, que permitió diferenciarlos del resto de los sitios (cuadro 65).

Cuadro 65. Perfil de bandas (pb) obtenido para todos los sitios muestreados

Cebadores	SITIOS DE COLECTA													
	EEFAS	Q. del Castillo	G. de Cohen	Ex Q. de Canessa	Q. de Tarallo	Q. Villa Margarita	Ex Q. de Posse	C. Cnel. Raíz	C. Oliveras	Q. de Arteaga	V. V. Zarranz.	E. Los Ranchos	E. Lobos	Q. de Tomasito
UDO99-006	150			150					150	150		150	150	150
												164		
	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174	174
	EEFAS	Q. del Castillo	G. de Cohen	Ex Q. de Canessa	Q. de Tarallo	Q. Villa Margarita	Ex Q. de Posse	C. Cnel. Raíz	C. Oliveras	Q. de Arteaga	V. V. Zarranz.	E. Los Ranchos	E. Lobos	Q. de Tomasito
UDO99-007	94													
			100	100			100	100	100	100				100
		120			120						120	120		
	141	141	141	141	141		141	141	141	141	141	141		141
	EEFAS	Q. del Castillo	G. de Cohen	Ex Q. de Canessa	Q. de Tarallo	Q. Villa Margarita	Ex Q. de Posse	C. Cnel. Raíz	C. Oliveras	Q. de Arteaga	V. V. Zarranz.	E. Los Ranchos	E. Lobos	Q. de Tomasito
UDO99-008	160	160	160	160	160		160	160	160	160				160
	170	170	170	170	170			170			170	170		
	EEFAS	Q. del Castillo	G. de Cohen	Ex Q. de Canessa	Q. de Tarallo	Q. Villa Margarita	Ex Q. de Posse	C. Cnel. Raíz	C. Oliveras	Q. de Arteaga	V. V. Zarranz.	E. Los Ranchos	E. Lobos	Q. de Tomasito
UDO99-009	83													
	100	100		100			100	100	100	100				100
											110	110		
	119										119	119		

	EEFAS	Q. del Castillo	G. de Cohen	Ex Q. de Canessa	Q. de Tarallo	Q. Villa Margarita	Ex Q. de Posse	C. Cnel. Raíz	C. Oliveras	Q. de Arteaga	V. V. Zarranz.	E. Los Ranchos	E. Lobos	Q. de Tomasito
UDO99-011	105			105			105			105		105		
		122	122		122						122	122		
	132	132	132	132	132	132	132	132	132	132	132			132
	EEFAS	Q. del Castillo	G. de Cohen	Ex Q. de Canessa	Q. de Tarallo	Q. Villa Margarita	Ex Q. de Posse	C. Cnel. Raíz	C. Oliveras	Q. de Arteaga	V. V. Zarranz.	E. Los Ranchos	E. Lobos	Q. de Tomasito
UDO99-014		95	95		95	95					95	95	95	
	100	100	100	100		100	100	100	100	100				100
		105			105	105					105	105	105	
	EEFAS	Q. del Castillo	G. de Cohen	Ex Q. de Canessa	Q. de Tarallo	Q. Villa Margarita	Ex Q. de Posse	C. Cnel. Raíz	C. Oliveras	Q. de Arteaga	V. V. Zarranz.	E. Los Ranchos	E. Lobos	Q. de Tomasito
UDO99-028		136												
	140		140		140			140	140	140				140
	150	150	150									150		
	160									160	160	160	160	
				170			170	170		170				
	172	172	172		172				172			172		
	EEFAS	Q. del Castillo	G. de Cohen	Ex Q. de Canessa	Q. de Tarallo	Q. Villa Margarita	Ex Q. de Posse	C. Cnel. Raíz	C. Oliveras	Q. de Arteaga	V. V. Zarranz.	E. Los Ranchos	E. Lobos	Q. de Tomasito
UDO99-031				114				114	114	114				114
	136													
	140			140			140			140	140	140		
				150			150	150		150				
	155								155		155	155		

	EEFAS	Q. del Castillo	G. de Cohen	Ex Q. de Canessa	Q. de Tarallo	Q. Villa Margarita	Ex Q. de Posse	C. Cnel. Raíz	C. Oliveras	Q. de Arteaga	V. V. Zarranz.	E. Los Ranchos	E. Lobos	Q. de Tomasito
UDO99-035				136			136	136	136	136			136	136
			140					140	140		140	140		
				148					148					148
	150	150			150									
	160													
	168		168		168						168	168	168	
	EEFAS	Q. del Castillo	G. de Cohen	Ex Q. de Canessa	Q. de Tarallo	Q. Villa Margarita	Ex Q. de Posse	C. Cnel. Raíz	C. Oliveras	Q. de Arteaga	V. V. Zarranz.	E. Los Ranchos	E. Lobos	Q. de Tomasito
UDO99-043	179			179	179		179	179	179	179	179	179		179
											190			
	200								200			200		
	219				219					219		219		

#### 4.4.6 Comparación de los fragmentos amplificados (pb) dentro de cada sitio de colecta para los cebadores UDO99-028 y UDO99-014

Dentro de los sitios de colecta del sur del país como en Quinta de Arteaga (S11) y ex Escuela Jackson (S7) se encontró homogeneidad y heterogeneidad para un mismo cebador. En el caso del par de cebador UDO99-028, se observó variación dentro del sitio para las muestras provenientes de Quinta de Arteaga (S11), pero no así para los materiales provenientes de la ex Escuela Jackson (S7) donde amplificó las mismas bandas en cada una de las muestras (Figuras 35 -36) .

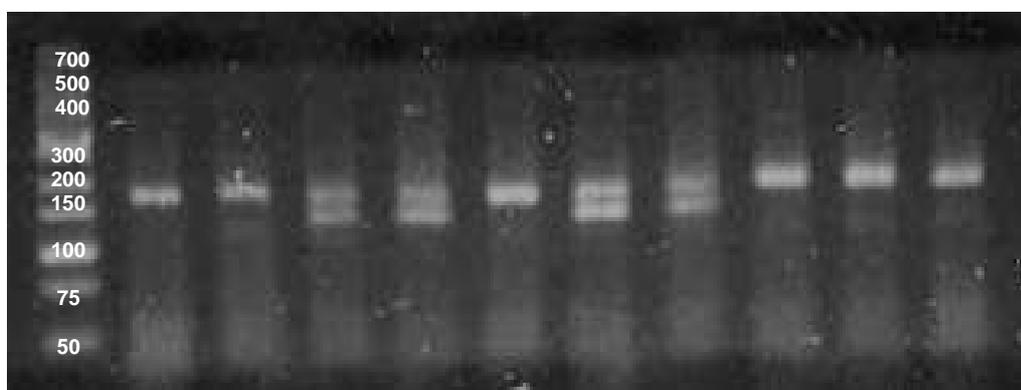


Figura 35. Productos PCR con el cebador UDO99-028 aplicados a las muestras de la Quinta de Arteaga (Montevideo Rural)

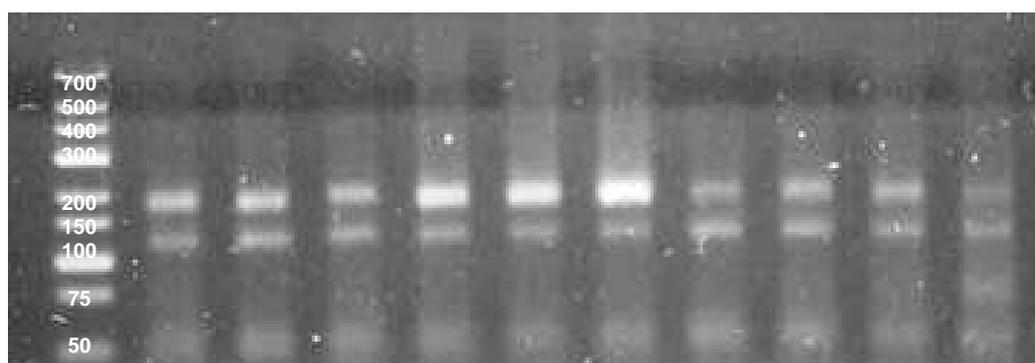


Figura 36. Productos PCR con el cebador UDO99-028 en muestras provenientes de la ex Escuela Jackson (depto. Canelones)

Entre diversos sitios de colecta con un mismo par de cebadores se encontró variabilidad, como para el caso del par de cebador UDO99-014 que al analizarse 2 muestras en el sitio 2 (Quebrada del Castillo), en el sitio 3 (Granja

de Cohen), en el sitio 5 (Quinta de Tarrallo) y una muestra de la Quinta de Tomasito, se observó variabilidad dentro de los sitio de colecta amplificando entre una y dos bandas por muestra en 95/100/105 pb (Figura 37).

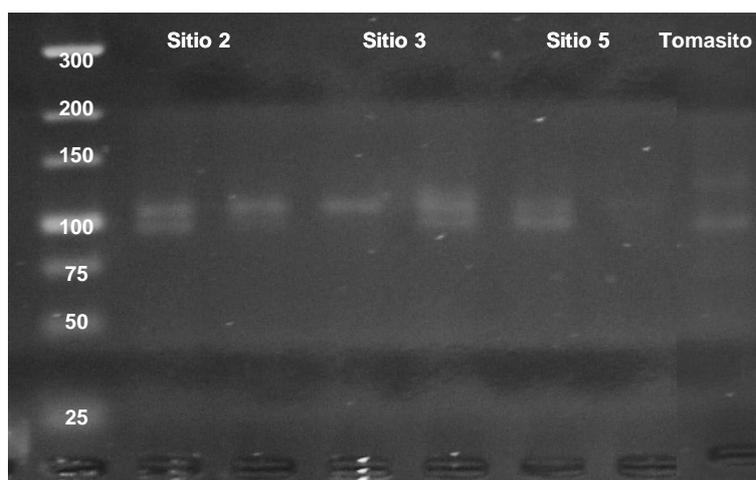


Figura 37. Productos PCR con el cebador UDO99-014 en siete muestras provenientes de cuatro sitios de colecta del sur y sureste del país

#### 4.4.7 Comparación de los fragmentos amplificados (pb) entre variedades de Los Ranchos y Santa Rosa para los diez pares de cebadores

Entre las muestras identificadas varietalmente estaban: las provenientes del establecimiento Los Ranchos donde se analizaron ocho muestras de las variedades, Taggiasca, Leccino, Arbequina, Pendolino y Manzanilla y la variedad Frantoio proveniente del Vivero Santa Rosa. Cada par de cebadores, resultó con grados diferente de eficiencia para distinguir las variedades.

Con el cebador UDO99-006 las variedades Leccino, Arbequina y Pendolino se diferenciaron entre sí al presentar cada una un perfil diferente de alelos. En cambio las variedades Taggiasca y Manzanilla mostraron un mismo patrón de bandas (150/164 pb), por lo que este cebador no permitió distinguirlas, al igual que con el cebador UDO99-043 que también presentó un mismo perfil (179/219 pb). Ambas variedades se diferenciaron con los cebadores UDO99-009, UDO99-028 y UDO99-035.

El par UDO99-031 separó a Leccino (140/155 pb) y Frantoio (114/147 pb) entre ellas y con las demás variedades. Lo mismo ocurrió con el par UDO99-

043, con el cual Leccino presentó también un perfil de bandas propio (200/219 pb), que lo permitió diferenciar de las demás variedades incluida Frantoio.

Con los pares de cebadores UDO99-007, UDO99-008, UDO99-011 y UDO99-014 no se distinguieron entre sí las variedades del establecimiento Los Ranchos, al amplificar en cada una los mismos alelos. Los pares de cebadores UDO99-007, UDO99-008, UDO99-014, UDO99-028, UDO99-031 y UDO99-035 presentaron un perfil de bandas que diferenciaron a Frantoio de las variedades de Los Ranchos (cuadro 66).

Cuadro 66. Perfil de bandas (pb) obtenido en establecimiento Los Ranchos y vivero Santa Rosa para los distintos pares de cebadores

Cebadores	Rango observado	E. LOS RANCHOS								S. ROSA
		S13M8 Tag.	S13M12 Tag.	S13M19 Lec.	S13M23 Lec.	S13M30 Arb.	S13M31 Arb.	S13M36 Pend.	S13M41 Mz.	Frantoio
UDO99-006	150/174	150/164	150/164	150	150	164	164	150/174	150/164	150/160
UDO99-007	94/141	120/141	120/141	120/141	120/141	120/141	120/141	120/141	120/141	94/141
UDO99-008	160/170	170	170	170	170	170	170	170	170	160
UDO99-009	100/119	110/119	110/119	110	110	119	119	110	110	100/119
UDO99-011	105/122	105/122	105/122	105/122	105/122	105/122	105/122	105/122	105/122	105/122
UDO99-014	95/105	95/105	95/105	95/105	95/105	95/105	95/105	95/105	95/105	100
UDO99-028	150/172	160	160	160	160	150/172	160/172	160/172	150	172
UDO99-031	114/155	155	155	140/155	140/155	155	155	155	155	114/147
UDO99-035	136/168	140/168	140/168	168	168	140	140	168	168	136/168
UDO99-043	179/219	179/219	179/219	200/219	200/219	179	179	179/219	179/219	179

#### 4.4.8 Comparación de los fragmentos amplificados (pb) entre variedades de Los Ranchos para el cebador UDO99-028

El par UDO99-028 resultó uno de los de mayor poder de discriminación al distinguir por un lado a Taggiasca y Leccino (ambas con el mismo alelo en 160 pb) de Arbequina, Manzanilla y Pendolino variedades que presentaron patrones diferenciales de bandas (Figura 38).

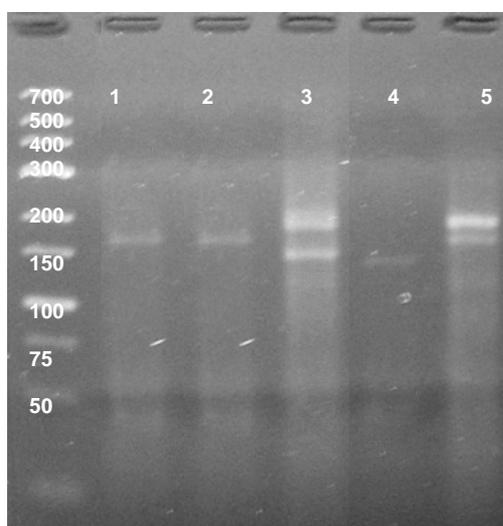


Figura 38. Productos PCR con el cebador UDO99-028 empleado en variedades provenientes del establecimiento Los Ranchos

Referencias:  
 (1) Taggiasca (2) Leccino (3) Arbequina  
 (4) Manzanilla (5) Pendolino

#### 4.4.9 Comparación de los fragmentos amplificados (pb) para tres pares de cebadores entre muestras de la variedad Arbequina

La sensibilidad de los pares de cebadores empleados se pudo confirmar cuando se usaron clones de la variedad Arbequina, proporcionados por el vivero Olivos del Este. Los patrones de bandas resultaron ser idénticos para los pares de cebadores UDO99-014, UDO99-028 y UDO99-043 (Figuras 39-41).

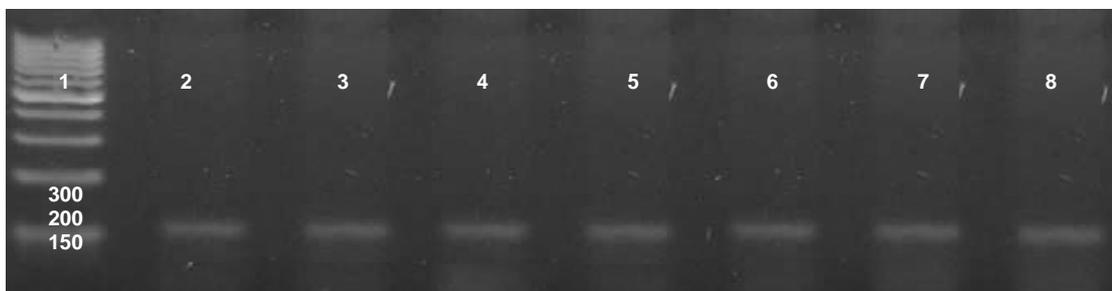


Figura 39. Productos de amplificación con par de cebadores UDO99-014

Referencias:

(1) Marcador Leader de 1 Kb (2-7) plantas Multiplicadas "In Vitro" de Arbequina (8) planta obtenida por estaca de Arbequina

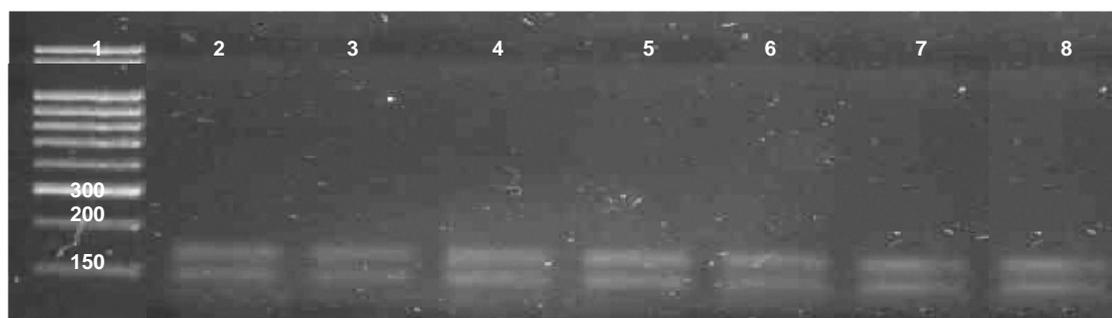


Figura 40. Productos de amplificación con par de cebadores UDO99-028

Referencias:

(1) Marcador Leader de 1 Kb (2-7) Plantas Multiplicadas "In Vitro" de Arbequina (8) Planta obtenida por estaca de Arbequina

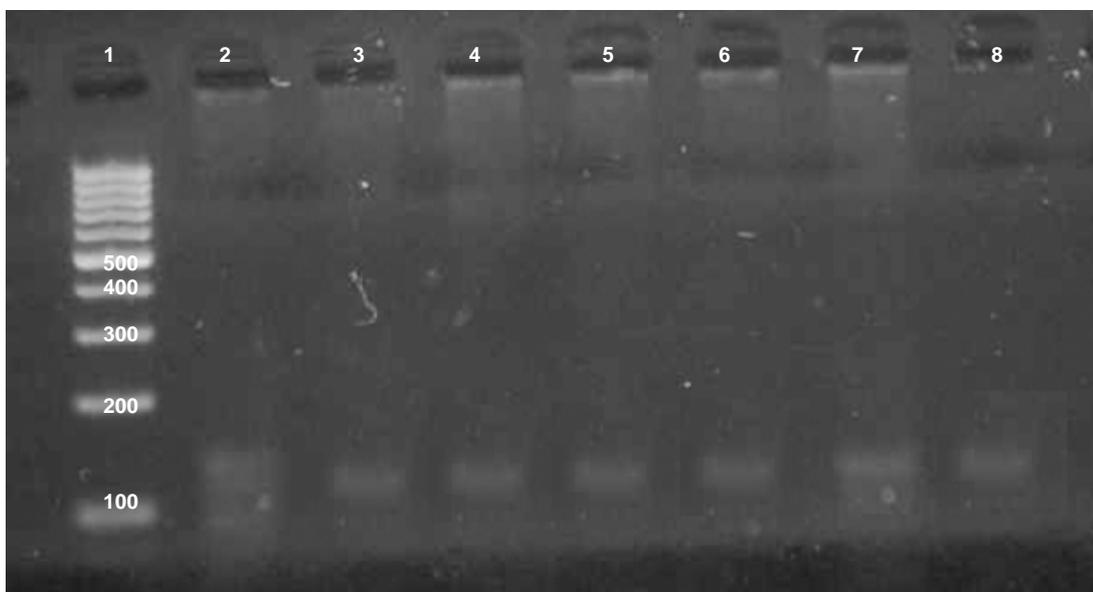


Figura 41. Productos de amplificación con el par de cebadores UDO99-043

Referencias:

(1) Marcador Leader de 1Kb (2-7) Plantas Multiplicadas "In Vitro de Arbequina (8) planta obtenida por estaca de Arbequina

#### 4.4.10 Comparación de los fragmentos amplificados (pb) entre muestras de la variedad Arbequina de tres sitios de colecta con seis cebadores

Comparando las muestras de la variedad Arbequina de diferentes procedencias, se observó variabilidad para cada uno de los pares de cebadores empleados. Los clones de Arbequina fueron más homogéneos, presentando los mismos alelos por cebador. La variabilidad entre ellos estuvo al haber cebadores que no amplificaron como lo fue el cebador UDO99-009 que no produjo fragmentos en dos muestras (1 estaca ex vitro Arbequina y 2 hija in vitro vivero). Para las demás muestras de Arbequina Santa Rosa (S1M1, S13M30 y S13M31), las diferencias encontradas entre ellas fueron en el número de alelos amplificados por cebador (entre uno y dos) y en largo de los fragmentos (pb).

El cebador UDO99-011 varió debido a que en los clones de Arbequina se presentó un sólo fragmento de 132 pb, mientras que las muestras provenientes del vivero Santa Rosa y la del establecimiento Los Ranchos (S13M30 y S13M31), se observaron dos fragmentos de 105/132 y 105/122 pb respectivamente. El par de cebadores UDO99-043 no presentó variabilidad al amplificar un mismo fragmento (alelo de 179 pb) en las diferentes muestras. El

par UDO99-028, exhibió distintos patrones de bandas dentro de la variedad Arbequina según la procedencia, observándose muestras que amplificaron uno y dos fragmentos de longitudes diferentes en pares de bases (cuadro 67).

Cuadro 67. Comparación del rango (pb) obtenido en muestras de cuatro sitios con el rango observado para cada cebador

Cebadores	Rango observado	STA. ROSA	EEFAS	E. LOS RANCHOS		VIVEROS DEL ESTE					
		Arbequina	S1M1 Arbequina	S13M30 Arbequina	S13M31 Arbequina	1 Estaca ex vitro Arb	2Hija in vitro vivero	3Hija in vitro vivero	4Hija in vitro vivero	5Hija in vitro vivero	6Hoja in vitro vivero
UDO99-007	94/141	94/141	94/141	120/141	120/141	0	0	141	0	0	0
UDO99-009	100/119	100/119	0	119	119	0	0	119	119	119	119
UDO99-011	105/132	105/132	105	105/122	105/122	132	132	132	132	132	132
UDO99-014	95/105	100	100	95/105	95/105	0	105	105	105	105	105
UDO99-028	150/172	150	160	150/172	160/172	150/172	150/172	150/172	150/172	150/172	150/172
UDO99-043	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179	179

#### 4.4.11 Productos de amplificación obtenidos con el par de cebadores UDO99-028 para once variedades

Con el par de cebadores UDO99-028 en once variedades comparadas, se observaron siete patrones de bandas diferenciales y sólo algunas variedades no pudieron ser reconocidas entre ellas (Figura 42).

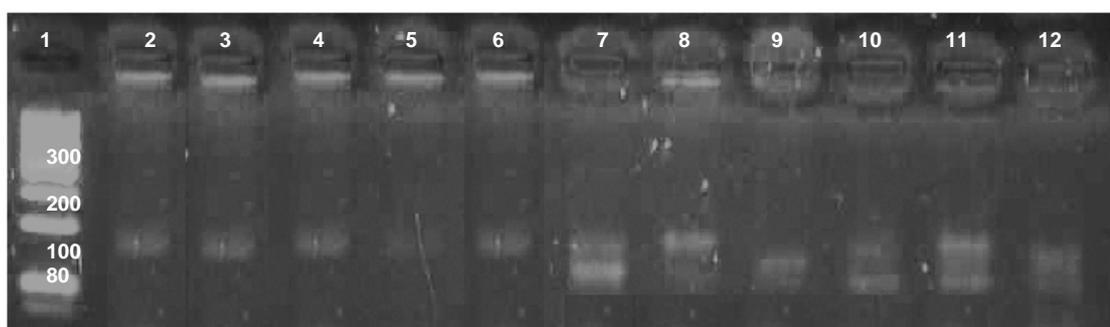


Figura 42. Productos de amplificación con par de cebadores UDO99-28

Referencias:

- (1) Marcador Leader de 1 Kb (2) Arbequina (3) Leccino (4) Picual (5) Razzolla (6) Hojiblanca (7) Frantoio (8) Coratina (9) Manzanilla (10) Ogliarola (11) Barnea (12) Koroneiki

#### 4.4.12 Comparación de los perfiles de bandas (pb) de las muestras de vivero Santa Rosa y Viña Varela Zarranz con el perfil de referencia para Frantoio

El análisis del perfil de los fragmentos de la variedad Frantoio procedente del vivero Santa Rosa y de la muestra de Viña Varela Zarranz (S12M10), generados para los diez cebadores, se encontró diferencias entre ambas, coincidiendo sólo en el par de cebador UDO99-043 con un fragmento de 179 pb. Ambas muestras no estuvieron comprendidas dentro del perfil de Frantoio descrito por Cipriani et al. (2002), para los pares de cebadores UDO99-007, UDO99-028. También la muestra de Frantoio del vivero Santa Rosa no coincidió con el perfil descrito para los cebadores UDO99-011 y UDO99-035 (cuadro 68).

Cuadro 68. Comparación de la variedad Frantoio procedente del vivero Santa Rosa y muestra de Viña Varela Zarranz con datos de referencia

Cebadores	Perfil de Frantoio (pb) Cipriani et al. (2002)	STA. ROSA	V. V. ZARRANZ
		Frantoio	S12M10
UDO99-006	150/174	150/160	174
UDO99-007	108/120	94/141	120/141
UDO99-008	160/165	160	170
UDO99-009	103/119	100/119	110/119
UDO99-011	115/124	105/122	122
UDO99-014	95/105	100	95/105
UDO99-028	154	172	160
UDO99-031	147/155	147/155	140/155
UDO99-035	136/148	136/168	140
UDO99-043	179/219	179	179

#### 4.4.13 Comparación del perfil de bandas (pb) obtenido para el total de pares de cebadores de variedades comerciales con datos de referencia

A los efectos de obtener estándares de amplificación de las variedades comerciales que se plantan actualmente en el país, se emplearon los diez pares de cebadores aplicados en la caracterización molecular a hojas frescas de Arbequina, Frantoio, Picual, Coratina, Arbosana y Barnea, provenientes del establecimiento Acción Forestal, situado en Casupá, Ruta 7 Km. 113 Dpto. de Florida, con un desarrollo vegetativo de ocho a diez años. En el mismo ensayo se incluyó una muestra de Arbequina procedente del Centro de Nacional de Scandicci, Firenze, Italia, proporcionada por el Ing. Agr. Jorge Peverelli de vivero Santa Rosa S.A.

Los diez pares de cebadores se aplicaron eficientemente obteniéndose en las seis variedades, perfiles de bandas, acordes a los descriptos en trabajos similares (Baldoni et al., 2009, cuadro 69, Figura 43)

Cuadro 69. Perfiles de bandas obtenidos en muestras de diferentes variedades del establecimiento Acción Forestal (Casupá- Florida) y el rango observado para cada cebador

Cebadores	Rango observado	ACCIÓN FORESTAL					
		Arbequina	Frantoio	Picual	Coratina	Barnea	Arbosana
UDO99-006	150/174	174	150/160	174	150/160	160/174	174
UDO99-007	94/141	94/141	94/141	94	94	94	94/141
UDO99-008	160/170	170	160	160	160	160	160
UDO99-009	83/119	100/119	100/119	83	83	83	100/119
UDO99-011	105/132	105/132	105/122	105	105/132	105	105
UDO99-014	100	100	100	100	100	100	100
UDO99-028	140/172	150	172	150	140	140/160	140
UDO99-031	114/155	114/147	147/155	114/147	114/151	114	114/147
UDO99-035	136/168	136	136/168	136/168	168	168	136
UDO99-043	179/219	179	179	179/219	179/219	179	179/219

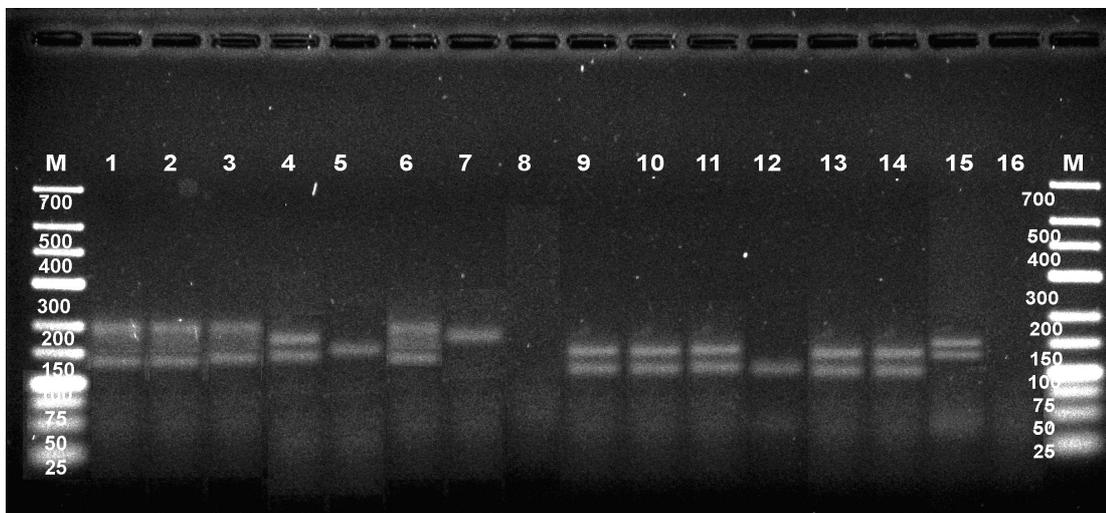


Figura 43. Patrones de bandas generados por el par de cebadores UD099-28 (1-8) y UD099-31 (9-16)

Referencias:

(M) Marcador de Peso Molecular 1Kb (1 y 9) Coratina (2 y 10) Arbequina (3 y 11) Arbequina \* (4 y 12) Barnea (5 y 13) Picual (6 y 14) Arbosana (7 y 15) Frantoio (8 y 16) controles negativos (\*) Arbequina procedente del Centro de Nacional de Scandicci Firenze- Italia

El polimorfismo hallado entre variedades, coincidió con resultados de estudios previos obtenidos sobre diferentes germoplasmas, utilizando marcadores SSR (Cipriani et al., 2002), RAPDs (Fabbri et al., citados por Cipriani et al., 2002) e Isoenzimas (Quazzani et al., Trujillo y Rallo, citados por Cipriani et al., 2002 y confirma que el olivo es una especie con una elevada variabilidad genética (Baldoni et al., 2009).

#### 4.4.14 Estimación de la distancia Jaccard para las diferentes variedades y sitios de colecta

En la Figura 44 se observa el agrupamiento obtenido mediante el método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method) a partir de la matriz de distancias de Jaccard (Índice de Similitud), calculadas con las combinaciones multiloci resultado de la aplicación de los diez pares de cebadores SSR a las 115 muestras de Olivos.

En el dendograma se formaron dos grupos con la mayor diferencia 0,419 (0,42). En el grupo 1 quedaron agrupadas las muestras de Viña Varela Zarranz (1, 3, 9 y 10), del establecimiento Los Ranchos (Arbequina, Manzanilla, Taggiasca, Leccino y Pendolino), Granja de Cohen (1, 3, 5 y 7), Q. del Castillo

(2 y 6), EFFAS (Razzo) y Q. de Tarallo (4 y 6). No estuvieron presentes tanto las muestras de los sitios de colecta del departamento de Montevideo, como las muestras de las variedades comerciales de uso actual, Arbequina, Arbosana, Frantoio, Picual, Barnea y Coratina procedentes de del Establecimiento Acción Forestal (A.F.), Arbequina de vivero Santa Rosa (Sta Rosa), Barnea y Manzanilla del vivero Olivos del Este (O.E.)

Dentro de este grupo se diferenciaron con una distancia de 0,394 las muestras 9,3 y 1 de Viña Varela Zarranz con la muestra 10 del mismo sitio y de la variedad Arbequina procedente del establecimiento Los Ranchos. Esta última variedad fue la que presentó un menor coeficiente de similitud con las variedades Manzanilla, Taggiasca, Leccino y Pendolino, las cuales se agruparon con una menor diferenciay en donde Leccino y Pendolino no se diferenciaron (fueron iguales). La variedad Razzo presentó una diferencia de 0,371 con las variedades del establecimiento Los Ranchos y Viña Varela Zarranz.

El grupo 2, fue más heterogéneo, subdividiéndose en varios subgrupos y en donde se presentaron agrupadas la mayoría de las variedades de uso actual (señalizadas en color rosado). Estas se separaron de las muestras de EEFAS (Santa Catalina, Arbequina, Moraiolo, Grosso Andrea, Corregiolo, S1M1 y S1M2), con una distancia de 0,34 y mostrando una mayor diferencia con los sitios de colecta del departamento de Montevideo

Las muestras de las variedades de Arbequina y Arbosana de Acción Forestal, se agruparon con una distancia de 0,16, presentando la mayor diferencia (0,36) con las demás variedades de uso actual. Le siguió Frantoio de Acción Forestal que se separó con una distancia de 0,32. Las variedades Picual, Coratina, Barnea de Acción Forestal, Arbequina de Sta. Rosa y Barnea, Manzanilla de O.E se agruparon con una menor diferencia (0,29). Las muestras de una misma variedad pero de diferentes sitios, como Arbequina de Acción Forestal y de Sta Rosa al igual que Barnea de Acción Forestal y Barnea de Olivos del Este no se agruparon juntas, presentando diferencias.

La ex Quinta de Canessa mostró variabilidad al distribuirse con mayores distancias las muestras 13, 12, 10 y 11, siendo esta última la mas diferente; mientras que nueve de sus muestras (de la uno a la nueve) fueron homogéneas. Comparando las muestras de la ex Quinta de Posse, calles Oliveras y Cnel Raíz, fueron las que se presentaron más similares que el resto de las ex Quintas. Unos de los sitios que presentó mas variabilidad fue la ex Quinta de Arteaga, al distribuirse sus muestras en tres subgrupos que se separaron entre sí con distancias de 0,29 y 0,33.

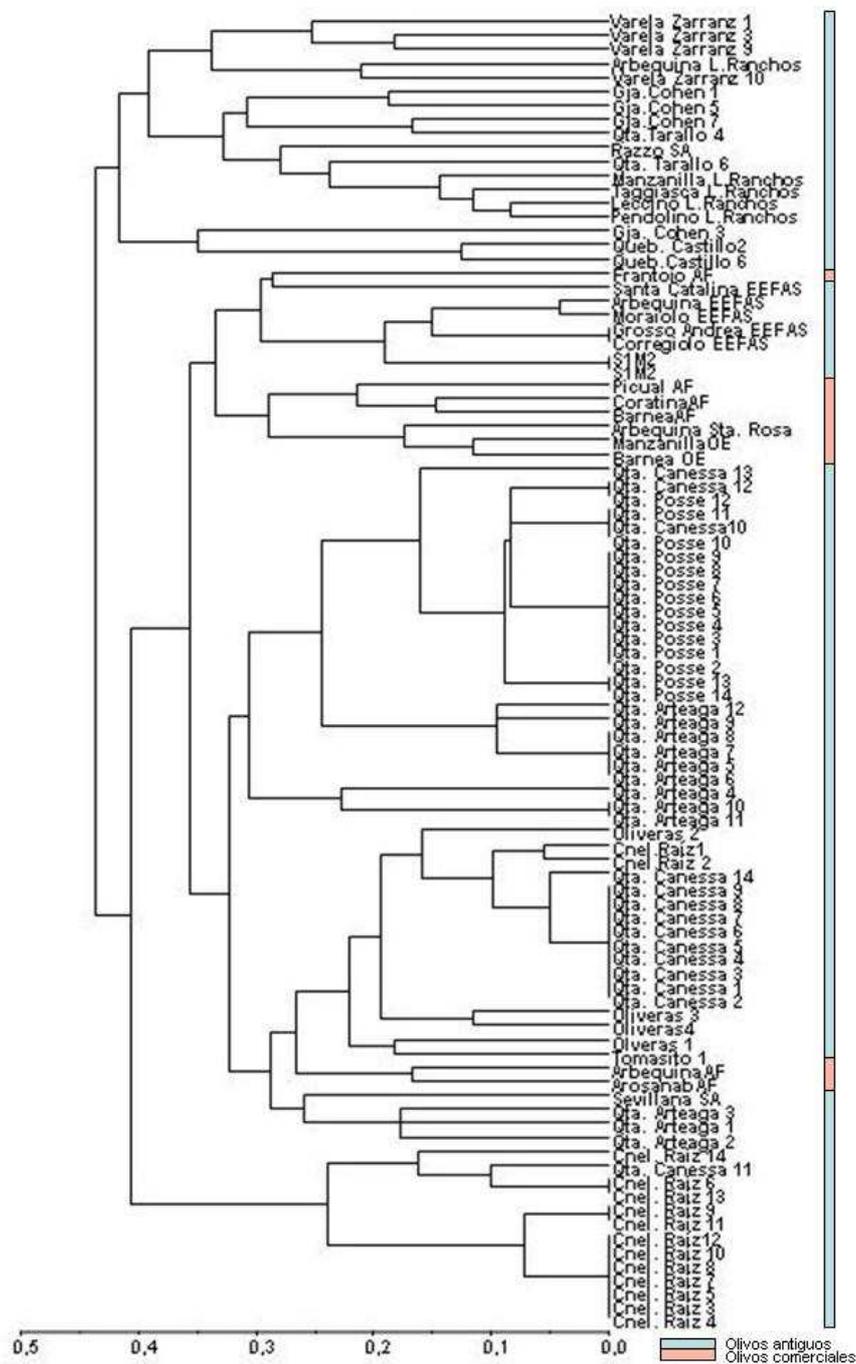


Figura 44. Dendrograma a partir de distancias de Jaccard aplicando el algoritmo UPGMA con diez pares de cebadores para los sitios de colecta

## 5. DISCUSIÓN

Las características utilizadas en este trabajo se pueden clasificar en tres categorías, morfológicas de variación cuantitativa, morfológicas de variación cualitativa y moleculares de variación discreta. Las morfológicas cuantitativas son fáciles de medir y analizar por el hecho de tener una escala de cuantificación numérica; por tales motivos los resultados del análisis de hoja han sido sumamente informativos en los materiales estudiados (Barranco et al., 2000).

### 5.1 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

Las características morfológicas cualitativas fueron variables en su poder discriminante ya que varias de ellas se basan en apreciaciones subjetivas. Así por ejemplo, el endocarpo de una variedad puede parecer “ligeramente asimétrico” o simétrico”, según el observador que realice el estudio. Esta falta de estandarización en el método para evaluar este tipo de caracteres, dificulta el aprovechamiento de información sobre clasificaciones varietales provenientes de otras regiones. Este aspecto es de particular importancia para los productores locales ya que muchas de las variedades fueron introducidas originalmente desde países de la cuenca Mediterránea y su verificación podría ayudar al ordenamiento local de ellas; así también se podrían aclarar problemas de sinonimia y homonimia que existen entre los cultivares de procedencias diferentes (Cavagnaro et al., 2001).

Se poseían diversos grados de información de las muestras analizadas en relación a su identificación varietal. Un grupo de ellas, las provenientes de EEFAS y el establecimiento “Los Ranchos”, estaban anotadas en planos o Listas de Introducción, por su nombre de variedad. Otras, como los olivares centenarios de zonas urbanas y sub-urbanas de Montevideo y restos de antiguas plantaciones que no se explotan actualmente, carecían de información alguna. En el caso de Viña Varela Zarranz, no se tenía certeza de la identidad varietal de los árboles allí presentes, pero según la tradición oral se les atribuía esa identidad a la variedad Frantoio<sup>1</sup>.

#### 5.1.1 Análisis de hoja

El tratamiento estadístico del coeficiente largo/ancho de hoja, ha sido diferente al aplicado hasta el momento, ya que la práctica usual era clasificar

las hojas según la variación del mismo en elíptica cuando era menor a 4, elíptica-lanceolada cuando estaba comprendido entre 4 y 6 y lanceolada cuando era mayor a 6. La transformación del parámetro de variación continua en discreta, le quitaba muchas posibilidades de discernimiento a la variabilidad de la hoja. Con los diferentes tratamientos estadísticos aplicados media, varianza, desvío estándar, valores máximos y mínimos, comparación entre medias y descomposición de la varianza, se logró una mayor información en comparación con el tratamiento anterior el cual era mucho mas limitado.

Las particularidades que presentaron las distribuciones de varianzas, son útiles en el momento de orientarnos en la composición varietal de los diversos sitios de colecta. En los sitios en los cuales las muestras pertenecían a diferentes variedades, como era de esperar, la mayor parte de la variabilidad estuvo entre grupo (entre árboles). En el caso de EEFAS, se analizaron hojas provenientes de diferentes variedades, pero de cada variedad se tomó una sola muestra distribuyéndose la varianza de modo mas proporcional dentro y entre las muestras (42,28 y 57,72 % respectivamente) (cuadro 9). Al analizar muestras que provenían en un número elevado de árboles de diversas variedades (establecimiento "Los Ranchos" y Viña Varela Zarranz), la varianza se distribuía mayormente entre grupos (84,29% entre árboles) (cuadro 6), resultado de que se estaba analizando hojas provenientes de variedades diferentes con una base genética diferente.

En los sitios que según informaciones previas se encontraban olivos de la misma variedad, que por antecedentes históricos se les atribuyeron orígenes comunes, sus muestras tuvieron una parte importante de su variabilidad dentro de grupos (cada árbol) y una menor proporción entre grupos (entre árboles). Estos resultados se observan en las muestras de la ex Quinta de Posse, en el cual una parte importante de su variabilidad estuvo dentro de grupos (cada árbol) 74,36% y una menor proporción entre grupos (entre árboles) 25,64% (cuadro 12).

Cuando este análisis se realizó con todas las muestras estudiadas, que provenían de sitios donde existía una sola variedad, sitios con múltiples variedades, representadas por uno o varios ejemplares, las varianzas se distribuyeron casi un 29,86% dentro de los grupos (cada árbol) y 70,14% entre los mismos (cada sitio de colecta) (cuadro 15). Estos resultados hacen posible afirmar que la colecta realizada y la metodología aplicada, consistente en obtener hojas de un número de árboles ( $\geq 10$ ) y en cada uno de ellos obtener una muestra de hojas ( $\geq 40$ ), nos permitió observar una gran proporción de variabilidad en el parámetro largo/ancho de hoja, que dada la naturaleza del material, mayormente de propagación vegetativa, tiene una estrecha base genética.

El test de comparación de medias del coeficiente ( $l/a$ ), calculado a partir de hojas, también estuvo de acuerdo a lo esperado según el origen de las muestras. Cuando se aplicó a las muestras provenientes de varios árboles de diferentes variedades, se logró distinguir cuatro de ellas entre sí, solamente no se pudo diferenciar Taggiasca de Leccino. El resto de las variedades pudieron ser distinguidas entre sí (cuadro 5). Al citado cuadro comparativo, al agregársele las muestras de “Viña Varela Zarranz” (S12M10), pudo ser distinguida con el mismo indicador de Arbequina y Manzanilla, pero no se logró diferenciarla de Taggiasca, Leccino y Pendolino.

Estos resultados son un avance primario en la consideración de este coeficiente largo/ancho de hoja (indicador de su forma) como variable continua y no discreta por categorías que consideraba tres grupos según el valor del cociente: elíptica, elíptica-lanceolada y lanceolada. La descomposición de categorías en valores del cociente y su análisis posterior a partir de estudios de su media, valor mínimo, valor máximo, varianza y comparación de medias, lo vuelve mucho más versátil y práctico para estudios primarios caracterización varietal. Además al considerar que se están tomando cuarenta medidas de largo y ancho y si en un sitio o variedad se estudian los datos de 15 a 20 olivos, los resultados obtenidos están sostenidos por un paquete de datos comprendido entre 600 y 800 medidas, valor que escapa a cualquier duda de su significación y validez.

### 5.1.2 Análisis de fruto

Los análisis basados en los caracteres de fruto y endocarpo aplicados, aportaron información muy valiosa, desde el punto de vista de la cantidad de aspectos que se observaban simultáneamente en todas las muestras obtenidas. Del total de sitios relevados, se obtuvieron muestras de fruto en siete de ellos (Quebrada del Castillo, Granja de Cohen, ex Quinta de Canessa, Quinta de Tarallo, ex Quinta de Posse, Calle Cnel. Raíz, Quinta de Arteaga). En cuanto a las variedades, se obtuvieron frutos para ser analizados morfológicamente del establecimiento “Los Ranchos”, además de Sevillana y Razzo de EFEFAS. Pero a los efectos del objetivo de este trabajo, en el que se pretende reconocer los distintos estados de los caracteres empleados para la caracterización de frutos en los viejos olivares de nuestro país, significan un aporte a considerar, ya que muchos de ellos llevan decenas de años sin ningún tipo de manejo agronómico e igualmente fue posible obtener frutos para su estudio con la metodología propuesta.

Los seis caracteres de fruto empleados, que mostraron 15 estados diferentes, (variando entre 2 y 3 por carácter) fué un indicador de la existencia

de variabilidad entre las muestras analizadas. Esa variabilidad tuvo particularidades dependiendo de las procedencias y composición de las muestras obtenidas. Según los antecedentes bibliográficos, los caracteres de fruto se esperaban que presentaran variabilidad al estar influenciados por el ambiente y considerarse menos conservados (Cavagnaro et al. 2001, Idrissi y Quazzani 2004).

Si nos orientamos por sitio de colecta, encontramos desde muestras que fueron altamente homogéneas, como las procedentes de: Chacra de Tarallo, ex Quinta de Posse y de la Calle Cnel. Raíz que presentaron un sólo estado en cinco de los seis caracteres estudiados. En el carácter pezón fue posible distinguir en la mayoría de los sitios de colecta (4/7) muestras con estados distintos (ausente y/o esbozado); en forma del fruto predominó la forma alargada en cinco de siete sitios (71,4%), la forma esférica y ovoidal solo presentaron mayoría en un solo sitio (14,3%). Finalmente en simetría el 57,1% fue mayoritariamente simétrico y 42,9% fueron mayoritariamente asimétricos, respectivamente en los sitios de Granja Cohen, ex Quinta de Canessa, Calle Cnel. Raíz y Quinta de Arteaga (cuadro 20).

En otro tipo de muestras ocurrió lo contrario, la gran mayoría de los caracteres del fruto entre cuatro y cinco de seis caracteres se mostraron variables (Quebrada del Castillo, Granja Cohen, ex Quinta de Canessa y Q. de Arteaga respectivamente). Este último sitio de colecta que fue analizado en diversas visitas, presentó un alto nivel de variabilidad en todos los niveles de caracterización que fueron empleados tanto morfológicos (cuadro 20) como moleculares (cuadro 64).

Las muestras de las variedades, colectadas en el establecimiento Los Ranchos (Pendolino y Manzanilla) presentaron un alto nivel de homogeneidad coincidiendo en 5 caracteres de los seis estudiados. Sin embargo, dentro de la variedad Taggiasca las diez muestras de fruto fueron clasificadas en cinco características diferentes, sólo coincidiendo en dos de los seis caracteres analizados (forma de fruto alargada y forma de base truncada) (cuadro 19).

Al compararse las características de los frutos de variedades conocidas (sitios de colecta Los Ranchos y EEFAS) con la información de Barranco et al. (2000) para cada variedad, no hubo una total coincidencia en las mismas. La forma de fruto y pezón fueron las características con menor coincidencia, salvo Sevillana que coincidió en la forma del fruto (cuadro 27) y Razzo en el pezón (cuadro 28). Las de mayor coincidencia fueron forma de la base (B) y forma del ápice (A), en tres variedades para los dos caracteres (cuadros 22-24) y en una variedad para uno de los dos caracteres indistintamente (cuadros 25- 26).

Esta falta de coincidencia puede ser debida a que la identificación a través de estos parámetros morfológicos como los de fruto, que están fuertemente influenciados por el ambiente, dificultando el uso de descriptores desarrollados por Barranco y Rallo en el año 1984 en España, para identificar variedades (Cavagnaro et al., 2001). Las condiciones ecológicas y de cultivo en nuestro país, diferentes a lo de los países de origen de esas variedades, pueden también explicar variaciones observadas respecto a las descripciones de catálogos internacionales, lo que hace necesario la validación de estos caracteres en las condiciones ambientales de Uruguay.

### 5.1.3 Análisis de endocarpo

El análisis de caracteres de elevado poder discriminante como los del endocarpo: forma, simetría, forma de base, forma de ápice, diámetro transversal máximo) (Cavagnaro et al., 2001), mostró variabilidad dentro y entre los sitios de colecta, permitiendo agrupar el material en 30 categorías de estados de caracteres (cuadros 35-42). Según los antecedentes bibliográficos, los caracteres de endocarpo se esperaban que fueran más útiles que los de fruto, al estar menos influenciados por el ambiente y considerarse más conservados (Cavagnaro et al. 2001, Idrissi y Quazzani 2004).

Del análisis de resultados por sitio de colecta se obtuvieron grupos de muestras que presentaron diferentes grados de variabilidad: observándose un sitio (Calle Oliveras) que mostró un estado en los seis caracteres analizados, otro en el que se encontraron tres caracteres monomórficos y tres variables y un máximo de dos estados en un tercio del total de características (ex Granja de Posse), la Quinta de Tarallo donde hubieron cuatro caracteres monomórficos y en la Calle Cnel Raíz se observaron cinco caracteres invariables. Otra distribución de resultados se observó en las muestras provenientes de la Quinta de Arteaga que presentaron una mayor variabilidad, en la que cinco de los seis caracteres estudiados fueron variables, con sólo un carácter monomórfico. En un grupo intermedio se encontraron los endocarpos de Quebrada del Castillo, Granja Cohen y ex Quinta de Canessa con dos y tres caracteres monomórficos y el resto variables (cuadro 33). Estas diferencias pueden ser atribuidas tanto a posibles orígenes diversos de las plantaciones, como a que en dichos sitios se encuentran plantados variedades diferentes.

Entre los sitios de colecta sin identificación varietal, los caracteres simetría (A) y forma de la base (B), presentaron dos estados cada uno de ellos en similares proporciones (entre un 45% y 49%), lo que los hace menos discriminantes. Los estados que resultaron ser más frecuentes entre los sitios, fueron: diámetro transversal máximo (B) centrado (63,25%), ápice (A)

redondeado (70,31%) y terminación del ápice con mucrón (72,06%), los que los ubica a nivel de sitios de muestreo como los más homogéneos y de mayor poder discriminante. La forma del endocarpo elíptica fue la más frecuente en el 75% de los sitios, diferenciándose la Granja de Cohen y Quinta de Arteaga, sitios donde exclusivamente aparece la forma ovoidal y la forma alargada respectivamente (cuadro 33). Este último carácter separó primariamente los endocarpos en tres categorías diferentes, pudiendo ser discriminativo entre los sitios y no estaría sujeto a errores por apreciaciones subjetivas, por ser un carácter cuantitativo.

Los resultados de los análisis de Quinta de Arteaga (S11) resultaron completamente diferentes a los demás sitios. Presentaron variabilidad en cinco de los seis caracteres estudiados, siendo sólo monomórfico para la terminación del ápice con mucrón. Este fue el único sitio donde se presentó la forma del endocarpo alargada y en el resto de los cuatro caracteres estuvieron presentes todos los estados posibles (2 y 3 según el carácter). Esta serie de parámetros convirtieron a este sitio en el de mayor diversidad a nivel de endocarpo (cuadro 33).

Al efectuar las comparaciones de los estados del endocarpo de las 47 muestras sin identificar analizadas, excluyendo el carácter simetría, un carácter cuyos estados presentan diferencia clasificada por algunos autores (Cavagnaro et al., 2001) como sumamente subjetiva, sólo nueve de ellas coincidieron con lo descrito por Barranco et al. (2000) para el COI, para alguna variedad comercial actual (cuadros 51-54). Según Cavagnaro et al. (2001), la identificación de plantas a través de los datos morfológicos ha sido difícil debido a que estos parámetros están fuertemente influenciados por el ambiente, lo cual también puede estar ejerciendo su influencia en los resultados obtenidos en este trabajo.

Cuando se analizaron los resultados de muestras caracterizadas varietalmente, procedentes del establecimiento Los Ranchos, EFFAS, los estados que aparecieron en mayor frecuencia fueron: forma ápice (A) redondeado (100% en Taggiasca, Arbequina, Manzanilla, Sevillana y Razzo), diámetro transversal máximo (B) centrado (100% en Pendolino, Arbequina, Manzanilla, Sevillana) y presencia de mucrón en la terminación del ápice (100% en Taggiasca, Leccino, Pendolino, Manzanilla), estados que no permitieron discriminar las variedades que los presentaron (cuadro 34).

Las variedades Sevillana y Razzo procedentes de EFFAS, presentaron mayores diferencias; los estados forma del endocarpo fueron ovoidal y esférica respectivamente y el diámetro transversal máximo hacia la base sólo apareció en la variedad Razzo, pudiendo ser estos estados discriminantes para separar

estas variedades del resto y entre ellas mismas (cuadro 34). Sin embargo, estos estados en ambas variedades no concuerdan totalmente con los datos del COI para dichos caracteres (cuadros 48-49).

Entre las variedades los estados de los caracteres forma del ápice (A) (redondeada) y diámetro transversal máximo (B) (centrado) resultaron los mayoritarios con una frecuencia de 71,23% y 62,3% respectivamente. Ambos estados fueron predominantes en cinco de las siete variedades estudiadas, siendo al igual que a nivel de localidades los más discriminantes. Terminación del ápice (con mucrón) y simetría (A) (ligeramente asimétrico), mostraron menor poder discriminante apareciendo promedialmente en un 57,14 % cada uno de ellos, siendo el estado prevalente en cuatro de siete variedades, pero ambos caracteres conjuntamente discriminaron las distintas variedades. Finalmente el carácter forma de la base (A) presentó los tres estados posibles, en proporciones comprendidas entre 25,97% y 38,31% (cuadro 34).

Cuando se compararon los seis caracteres del endocarpo de las muestras tipificadas varietalmente con los estándares de Barranco et al. (2000) para cada variedad, en ningún caso la coincidencia fue total, con un máximo de cinco coincidencias en el caso de Taggiasca (cuadro 43) y un mínimo de un sólo carácter para las muestras de Razzo y Sevillana, (cuadros 49 -50)) respectivamente. Al considerar los estados que estuvieron en mayor acuerdo con la citada clasificación, en el carácter terminación del ápice el estado con mucrón fue el de mayor coincidencia (cuadros 43-47), excepto para las variedades Razzo y Sevillana (cuadros 48-50). La poca coincidencia puede deberse a la variabilidad existente entre los árboles de una misma variedad, la existencia de homonimias (una misma denominación para diferentes variedades) y sinonimias (diferentes denominaciones para una misma variedad) (Mehri et al., Trigui et al., citados por Fendri, 2008), muy frecuentes en el olivo (Belaj et al., Khadari et al., Rallo et al., Noormohammadi et al., citados por Fendri, 2008), o como al cambio de denominaciones que han tenido las variedades comerciales actuales, a partir de procesos de selección originados en antiguas fuentes de germoplasma como las que originaron las plantas que se introdujeron al país en la época de instalación de este olivar.

Al considerar todos los caracteres del endocarpo en conjunto, a nivel de variedades se dieron combinaciones de estados que las diferenciaron (cuadro 34). Todas las variedades tuvieron por lo menos un carácter con estados diferentes, mientras que Razzo se diferenció por dos caracteres de un total de seis. Las muestras que presentaron similitud en los caracteres del endocarpo con las variedades, cuando se compararon con los caracteres de fruto no hubo una total coincidencia en la mayoría de los casos (cuadro 55).

## 5.2 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

### 5.2.1 Análisis molecular

Se analizaron mediante amplificación vía PCR de 10 pares de cebadores microsatélites, 115 muestras de olivos de diversas procedencias que no se pudieron amplificar en su totalidad. La dificultad de amplificación para algunas muestras pudo deberse a la baja calidad y cantidad del ADN extraído de las mismas.

Los fragmentos obtenidos estuvieron comprendidos entre 83-219 pb (cuadro 56) y los diez pares de cebadores en todos los materiales analizados produjeron 40 fragmentos diferentes (promedio de 4 bandas-alelos por locus-par de cebadores). El número de bandas por locus varió entre un mínimo de 2 bandas entre 160 y 170 pb para el UDO99-008 máximo de 6 bandas para los pares de cebadores UDO99-028 y UDO99-035, comprendidos entre 136-172 pb y 136-168 pb respectivamente (cuadro 57). Para los diez pares de cebadores se obtuvieron bandas polimórficas, variando entre un mínimo de 9,86% (UDO99-009) y un máximo de 78,02% (UDO99-007) (cuadro 58). Estos parámetros son similares a los obtenidos por Cipriani et al. (2002), aplicando 30 pares de cebadores SSR a 12 variedades de olivo, entre los cuales se encuentran los diez pares empleados en este trabajo.

Los porcentajes de amplificación para los pares de cebadores estuvieron comprendidos en términos relativos entre 76,19% (80/105 muestras-UDO99-043) y 93,51% (72/77 muestras-UDO99-031) con un promedio total de amplificación de 84,97 (cuadro 56). En términos absolutos el par de cebadores que fue mas eficiente en amplificar fragmentos fue el UDO99-014 (amplificó 101 de 111 muestras sometidas al proceso de PCR representando un 90,99%). Estos porcentajes, dado que era la primera vez estos materiales se analizaban en el laboratorio y con una técnica sumamente sensible a los factores de secuencias de SSR y trabajando con un sólo protocolo de amplificación, se consideran muy buenos. En una instancia de verificación de resultados, efectuada con las muestras provenientes de sitios de Montevideo, el porcentaje de amplificación estuvo cercano al 100%. Estos datos ponen en evidencia la total puesta a punto y funcionamiento de la técnica de microsatélites en olivos en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía.

Todos los productos de amplificación con los pares de primers SSR fueron acordes a los perfiles esperados, según lo descrito por los autores (Rallo et al. 2000, Cipriani et al. 2002, Baldoni et al. 2009, Figura 34, cuadro 56). Estos resultados nos permiten considerar con certeza las interpretaciones, que se han efectuado de los perfiles, obtenidos, aunque los productos de PCR se

separaron en geles de agarosa al 3% en buffer TAE 1X y los motivos de repetición que se han amplificado son de menos de 10 pares de bases. La separación de fragmentos es un punto fundamental para interpretar eficientemente los resultados dado que las diferentes fuentes de variabilidad genética (mutaciones en su amplio sentido) afectan el número y constitución de los motivos de repetición, lo cual se ve reflejado en el largo de los productos de amplificación, por lo que se requieren metodologías de análisis sumamente sensibles.

La identificación de variedades se logra con el uso de diferentes cebadores. Un ejemplo de estos casos lo observamos con el par UDO99-028 con el cual se pudo apreciar la variabilidad existente dentro de un mismo sitio de muestreo (Quinta de Arteaga (Figura 35)). Sin embargo, este mismo par de cebadores no fue suficiente para detectar polimorfismo dentro de las muestras provenientes de la ex Escuela Jackson (Figura 36).

Otra alternativa se observó con pares de cebadores que permitieron detectar variabilidad entre diferentes sitios de colecta. Cuando se compararon los productos de amplificación obtenidos a partir de muestras de Quebrada del Castillo, Granja Cohen, Quinta de Tarrallo, Calle Coronel Raíz, ex Escuela Jackson y Granja Tomasito, se observaron fragmentos de diferentes tamaños (alelos) entre sitios cuando se utilizó el par de cebadores UDO99-014 (Figura 37).

Con un mismo par de cebadores no siempre se logró diferenciar una variedad de otra. Las muestras identificadas a nivel varietal de los diferentes sitios de colecta se pudieron diferenciar mediante la combinación de diversos pares de cebadores. En la variedad Leccino del establecimiento Los Ranchos con los pares de cebadores UDO99-031, UDO99-043, se diferenció de las demás variedades del mismo sitio, por presentar un perfil de fragmentos de amplificación particular (cuadro 66). Con el par de cebador UDO99-006 se lograron distinguir entre sí Taggiasca (150/164 pb), Arbequina S13M31 de Los Ranchos (164 pb), Frantoio de Varela Zarranz (150/160 pb) (cuadro 66) y Santa Catalina de EEFAS (150 pb) (cuadro 59). Sin embargo, con este cebador, no se logró distinguir Arbequina de las variedades Sevillana, Grosso Andrea, Moraiollo y Corregiollo presentes en EEFAS, al amplificar los mismos pares de bases (150/174) (cuadro 59).

La capacidad diversa de identificación varietal de los pares de cebadores utilizados, se pudo confirmar cuando se emplearon para clones de la variedad Arbequina procedentes del vivero Olivos del Este y la muestra de estaca de Arbequina SRM3 (vivero Santa Rosa), en donde los patrones de bandas resultaron idénticos en los pares de cebadores analizados UDO099-014 y

UDO99-028 (Figuras 39-40). Con los mismos pares de cebadores, se pudo detectar variabilidad genética en una misma variedad de diferente procedencia, como ha sido el caso de la variedad Arbequina de los sitios de colecta EEFAS, Los Ranchos, Viveros del Este y Vivero Santa Rosa (cuadro 67).

Analizando los sitios de colecta, donde no se conocía la identidad varietal de sus muestras, todos los pares de cebadores amplificaron en la mayoría de los mismos. Así por ejemplo el cebador UDO99-006 se logró amplificar en todos los sitios de muestreo, el alelo de 174 pb se observó en todos ellos; en cambio el cebador UDO99-009 no amplificó en la Granja. de Cohen, Quinta de Tarallo y Villa Margarita. Los distintos cebadores mostraron alelos en común para los lugares donde se obtuvieron muestras y otros fueron poco frecuentes como el alelo 200 pb del cebador UDO99-043 presente sólo en la calle Oliveras y el 160 pb del cebador UDO99-028 en la Quinta de Arteaga y establecimiento Varela Zarranz (cuadro 65).

Comparando las bandas amplificadas por cebador en estos sitios de muestreo, se pudo detectar variabilidad existente dentro y entre los mismos. Esta variabilidad, fue menor en algunos sitios como en las ex Quinta de Canessa y ex Quinta de Posse donde más del 60% de los individuos presentaron los mismos patrones de bandas. Estos sitios sólo se diferenciaron en el número de alelos amplificados para los cebadores UDO99-011 y UDO99-031 (cuadros 61-62) El parecido entre los olivos existentes en dicho sitio puede deberse a un origen en común de los árboles allí plantados.

En cambio en otros sitios se observó mayor variabilidad en las muestras obtenidas, como fue el caso de la calle Crel. Raíz, Oliveras, Quinta de Tarallo, V. Margarita y Quinta de Arteaga. En esta última, según los perfiles de bandas obtenidos, se pudo identificar tres grupos de árboles que fueron un indicador de la variabilidad existente (cuadro 64, Figura 35). Esta mayor variabilidad presente en estos últimos sitios, podría sugerir que las plantaciones se efectuaron a partir de estacas de procedencias o variedades diferentes.

El polimorfismo hallado entre variedades coincide con resultados de estudios previos obtenidos sobre diferentes germoplasmas, utilizando marcadores SSR (Cipriani et al., 2002), RAPDs (Fabbri et al., citados por Cipriani et al., 2002) e Isoenzimas (Ouazzani et al., Trujillo y Rallo, citados por Cipriani et al., 2002) y confirma que el olivo es una especie con una elevada variabilidad genética (Baldoni et al., 2009). Esta variabilidad permite obtener un elevado número de fragmentos polimórficos con relativamente pocos iniciadores, permitiendo así selecciones más rigurosas de los marcadores considerados para la caracterización de cultivares.

Como forma de comprobar la sensibilidad y capacidad de discriminación de los diez pares de cebadores elegidos para este trabajo, se utilizaron muestras de las seis variedades de mayor uso en el cultivo de olivo en Uruguay (87% del área plantada) (Villamil, 2009, cuadro 69). En la Figura 44 se observa el agrupamiento obtenido mediante el método UPGMA a partir de la matriz de distancias de Jaccard, calculadas con las combinaciones multiloci resultado de la aplicación de los diez pares de cebadores SSR.

El dendrograma con las seis variedades comparadas y la referencia de Arbequina obtenida del CNR (Consiglio Nazionale delle Ricerche) de Italia, al igual que otras variedades comerciales de orígenes diferentes, se agruparon conjuntamente (barras rosadas en el dendrograma), siendo un indicador de la utilidad de los marcadores SSR como herramienta para el ordenamiento de las variedades locales, tanto en jardines de colecciones varietales, viveros comerciales y certificación varietal del material que se comercialice.

En el citado dendrograma se observa que las muestras de olivos procedentes de antiguas plantaciones de diferentes épocas, desde la introducción de la olivicultura al país hasta la actualidad, se agruparon mayormente en forma conjunta. Este agrupamiento se produjo primariamente por sitio de colecta, en los cuales los olivos en su mayoría eran similares entre si; por otro lado la variedad Frantoio (barra rosada superior) llamativamente se situó entre ellos, lo que estaría sugiriendo una similitud genética, fruto de un posible origen en común (Figura 44).

Los niveles de polimorfismo detectado en dichas muestras fue variable y se detectaron diferentes patrones moleculares en los sitios estudiados. Respecto a los olivares existentes en las calles de Montevideo y a los materiales tomados como referencia, los resultados obtenidos a partir de caracteres de endocarpo, habían permitido observar algunas similitudes con variedades (cuadros 51-54). Al considerar los resultados de marcadores microsatélites, dicha similitud no fue posible de confirmar, pese a que dentro y entre los diferentes sitios se lograron productos de amplificación con todos los pares de cebadores, con niveles de polimorfismo variables y promedio comprendidos entre 2 y 16% (cuadros 61-64). Estas dos características genéticas y el modo de propagación vegetativa por estacas de esta especie, sugieren la ocurrencia de múltiples eventos de introducción. En los olivares de la calle Cnel. Raíz se detectaron varios genotipos diferentes, principalmente con los pares de cebadores UD099-028 y UD099-31, pero los niveles promedio de polimorfismo no superaron el 14,4% de las muestras analizadas (cuadro 63).

Una situación diferente se encontró en la zona rural de Montevideo (Paso de la Arena) en la Quinta de Arteaga, cuyos orígenes se remontan a fines del

siglo XIX. En dicho predio se encuentran varias especies frutales y una fila de olivares (21), de gran frondosidad y con abundantes frutos. En todas las muestras, que amplificaron para los diez pares de cebadores, se detectó un elevado nivel promedio de polimorfismo (16%), encontrándose pares de cebadores con niveles de polimorfismo comprendidos entre 17% y 45% (cuadro 64). La naturaleza del predio, tipo de suelo y ausencia total de manejo de los olivos, contrastó con el estado sanitario y frondosidad de los mismos, a los que se le agregó el alto nivel de variabilidad detectado tanto a nivel de caracteres morfológicos (hoja y endocarpo) como moleculares.

Estos resultados moleculares, tanto los provenientes de las viejas chacras de orillas del Arroyo Miguelete de la época colonial, como las de la zona Rural (ej. Quinta de Arteaga), nos permitieron identificar la existencia de un reservorio genético de *Olea europaea* L, adaptado a las condiciones edáficas y climáticas del sur del país, que han superado el paso de los siglos.

Las técnicas moleculares desarrolladas recientemente permiten obtener marcadores más consistentes y que detectan un mayor grado de polimorfismo que los marcadores RAPD. La técnica de AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) (Bessera y Paredes, 2000) permite aumentar varias veces el número de fragmentos amplificados y además es más confiable que los RAPD. Los microsatélites han sido utilizados con éxito para diferenciar variedades en cultivos (Thomas y Scott, 1993), sin embargo el desarrollo de estos marcadores es muy costoso y en olivos fueron por ejemplo aplicados por Cipiriani et al. (2002).

La particularidad de los resultados obtenidos entre las muestras analizadas, puede explicarse por la época histórica en las cuales fueron plantadas. Los olivares más antiguos son fruto de un proceso de selección de genotipos realizado sobre la base genética existente en la época que fueron obtenidos. Con el pasaje del tiempo, las nuevas variedades se obtuvieron sobre una base genética cada vez más estrecha, lo que ha llevado a la homogeneidad a la que han tendido las variedades. El continuo proceso de elección de características fenotípicas diferenciales sobre los genotipos existentes y la propagación por estacas de las variedades obtenidas, las han hecho diferenciarse en forma progresiva desde el punto de vista genético. Esto ha sido observado en comparaciones realizadas entre variedades comerciales y los olivares silvestres de la zona en la cual fueron obtenidas (Díez et al., 2011). Esto fue detectado en el dendrograma de agrupamiento obtenido a partir de marcadores microsatélites que presentó la misma estructura que el obtenido con las muestras analizadas en este trabajo.

## 6. CONCLUSIONES

El análisis estadístico de los datos del coeficiente largo/ancho de hoja procedentes de las distintas muestras, considerándolo como una variable continua, permitió distinguir variabilidad con medias estadísticamente diferentes, constituyendo un análisis primario de caracterización varietal.

Los análisis morfológicos basados en los caracteres de fruto y endocarpo, aportaron información desde el punto de vista de la variabilidad encontrada, permitiendo agrupar los genotipos en diferentes categorías sin llegar a una identificación varietal. A nivel de variedades se dieron combinaciones de estados que las diferenciaron, sin embargo, estos estados de caracteres presentaron diferencias con los datos de referencia de COI.

Las muestras que presentaron similitud en los caracteres del endocarpo con las variedades, no coincidieron con la mayoría de los caracteres de fruto. Al considerar los resultados de marcadores microsatélites, dicha similitud no fue posible de confirmar.

Se logró la puesta a punto y funcionamiento de la técnica de microsatélites en olivos en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía. Todos los productos de amplificación con los pares de primers SSR estuvieron dentro de los rangos esperados, según lo descrito por los autores.

Las variedades se identificaron con el uso de diferentes cebadores y se logró detectar variabilidad genética en una misma variedad de diferente procedencia. Sin embargo, los materiales no identificados no fue posible clasificarlos a nivel varietal.

La particularidad de los resultados obtenidos entre las muestras analizadas, puede explicarse en base a que los olivares más antiguos son fruto de un proceso de selección de genotipos realizado sobre la base genética existente en la época que fueron obtenidos. Con el pasaje del tiempo, las variedades han tenido un proceso de mejora sobre una base genética cada vez más estrecha, lo que ha llevado a la homogeneidad a la que han tendido las variedades. El continuo proceso de elección de características fenotípicas diferenciales sobre los genotipos existentes y la propagación por estacas de las variedades obtenidas, las han hecho diferenciarse en forma progresiva desde el punto de vista genético.

Tampoco es descartable que algunas de las formas variables observadas en difersos sitios de muestreo, pueda haberse debido a semillas provenientes de los antiguos árboles, que fructificaron y originaron nuevas formas genóticas, con frutos, endocarpos e informaciones genéticas diferentes del resto.

El relevamiento primario de los olivares establecidos en nuestro territorio desde la época del proceso fundacional de Montevideo a la actualidad, constituye una fuente de germoplasma valiosa tanto por la variabilidad detectada en este trabajo, como por el proceso de adaptación y sobrevivencia que ha soportado lo que la convierte en un material mercedor de ser estudiado en mayor profundidad, en todos sus aspectos con fines de clasificación más precisa y recuperacion del mismo.

Estas perspectivas han sido evaluadas a nivel internacional por diferentes especialistas que han examinado este texto y constituyen una tarea imprescindible para aportar elementos a la nueva olivicultura de nuestro país, que a diario encuentra dificultadas por la manera exponencial en que se ha desarrollado y por las falta de respuestas disponibles por ausencia de investigación básica sobre el tema.

## 7. RESUMEN

El creciente interés por el olivo (*Olea europaea* L) en Uruguay, refuerza la necesidad de estudiar la adaptación de esta especie exótica a nuestras condiciones. Este trabajo es el primer antecedente a nivel nacional de historia del cultivo, su caracterización morfológica y molecular de olivares centenarios ubicados al sur del país, los cuales se han adaptado a las condiciones edafoclimáticas. Utilizando descriptores para los caracteres morfológicos, se caracterizaron diferentes muestras de hojas, fruto y endocarpo de árboles centenarios de los sitios de colecta seleccionados. A su vez se analizó desde el punto de vista molecular la variabilidad genética de las muestras centenarias y de variedades comerciales certificadas. Se utilizaron diez microsatélites (SSRs) previamente descritos para el estudio de variedades de olivos. La metodología de extracción del ADN y condiciones de amplificación por PCR, fue perfeccionada a partir de protocolos utilizados en trabajos anteriores. Los resultados morfológicos permitieron detectar variabilidad entre y dentro de los sitios de colecta. Los caracteres más conservados del endocarpo, permitieron agrupar las muestras en 30 categorías, sin embargo no se logró confirmar la identificación de las muestras a nivel varietal. A su vez se encontraron diferencias con la referencia bibliográfica de las variedades analizadas. El porcentaje promedio de amplificación para los pares de cebadores fue de un 84,97%. Los productos de amplificación con los pares de cebadores SSRs fueron acordes a los perfiles esperados, según lo descrito por los autores. La combinación de diferentes cebadores permitió identificar variedades, detectar variabilidad genética entre variedades y dentro de una misma variedad de diferente procedencia. Entre y dentro de sitios de colecta, se manifestaron diferentes niveles de variabilidad genética, que no permitió llegar a una identificación varietal de cada muestra. La variabilidad observada en los caracteres morfológicos de endocarpo, se confirmó con los resultados obtenidos a nivel molecular. Por lo que ambas metodologías fueron complementarias y aportaron mayor certeza a los datos obtenidos. Los resultados en la variabilidad genética y morfológica encontrada pudo deberse a que en el país existen diversos materiales (introducidos con los inmigrantes), procedentes de semilla o estacas. Estos genotipos se han diferenciado de los nuevos materiales que son producto de un proceso de mejora genética a partir de la selección en olivares antiguos. Estos árboles centenarios de olivos, adaptados a nuestras condiciones ambientales constituyen un reservorio genético, los cuales pueden aportar a la nueva olivicultura.

Palabras clave: *Olea europaea*; Historia; Caracteres morfológicos; Microsatélites.

## 8. SUMMARY

Increasing interest in olive (*Olea europaea* L) cultivation in Uruguay emphasizes the need to study the adaptation of this exotic species to our conditions. This work is the first record of olive cultivation history in Uruguay, as well as a morphological and molecular characterization of centennial olive groves located in various parts of the country and adapted to diverse soil and climate conditions. Using descriptors for different morphological characters, multiple categories for leaf, fruit and endocarp samples from selected sampling sites were obtained. Simultaneously, genetic variability was determined through molecular markers in the samples and in certified commercial varieties used as reference material for comparison. Ten pairs of SSR primers previously described in the study of olive varieties were used. DNA isolation and PCR amplification methods were optimized from different protocols. Morphological results detected variation within and among sampling sites. Endocarp characters, more conserved and less sensitive to environmental effects, allowed grouping of samples in 30 different categories. Varietal identification of these samples through comparison with standard characters published by the International Oil Council (COI) was not possible. Average amplification percentage for the ten SSR primer pairs was high, obtaining amplification products with all primer pairs in 84,97% of the samples. Fragment sizes were in agreement with the expected profiles found in the literature. SSR profiles using the ten primer pairs allowed variety identification and detected genetic variability among and within varieties. Different levels of genetic diversity within and among sampling sites were detected, which allowed varietal identification of some of the samples. Variability observed in endocarp morphological characters was confirmed by molecular markers results. Therefore, both methods are complementary and gave more accuracy to our results. The levels of morphological and genetic variability detected might be due to the fact that olive germoplasm from many varieties was introduced in the form of cuttings in different events into our country, mainly by European immigrants. Genotype differences among these materials and new varieties may be the result of breeding through selection in old olive groves. These ancient olive trees, which are adapted to our environment, represent a genetic reservoir that will constitute an important input for modern olive cultivation, both because of its diverse origins or because of coming from seeds produced by the very first olive trees, contributing to the morphological and genetic diversity found in this study.

Keywords: *Olea europaea*; History; Morphological characters; Microsatellite.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. ALBA, J. 2008. Elaboración del aceite de oliva virgen. In: Barranco, D.; Fernández-Escobar, R.; Rallo, L. eds. El cultivo del olivo. 6ª ed. Madrid, Junta de Andalucía/Mundi-Prensa. cap. 16, pp. 657-697.
2. ANGIOLILLO, A.; MENCUCCINI, M.; BALDONI, L. 1999. Olive genetic diversity assessed using amplifield fragment length polymorphisms. (en línea). *Theoretical and Applied Genetics*. 98 (3-4): 411-421. Consultado 17 oct. 2011. Disponible en <http://www.springerlink.com/content/0mth7e1kp97mnm9e/fulltext.pdf>
3. ARROYO, J.; CARRIÓN, J.S.; HAMPE, A.; JORDANO, P. 2004. La distribución de las especies a diferentes escalas espacio-temporales. (en línea). In: Valladares, F. ed. *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. Madrid, Ministerio de Medio Ambiente. EGRAF. cap. 2, pp. 27-67. Consultado 29 oct. 2001. Disponible en [http://www.ieg.ebd.csic.es/pdfs/Cap02-La distribución de las especies a diferentes escalas espacio-temporales.pdf](http://www.ieg.ebd.csic.es/pdfs/Cap02-La%20distribucion%20de%20las%20especies%20a%20diferentes%20escalas%20espacio-temporales.pdf)
4. ASOCIACIÓN OLIVÍCOLA DEL URUGUAY. 2011. Información. (en línea). Montevideo. Consultado 19 oct. 2011. Disponible en <http://www.asolur.org.uy/info.html>
5. ÁVILA, J. 2000. Enciclopedia del aceite de oliva. Historia y leyendas del aceite y la aceituna. Barcelona, Planeta. 416 p.
6. BALDONI, L.; CULTRERA, N.G.; MARIOTT, R.; RICCIOLINI, C.; ARCIONI, S.; VENDRAMIN, G.G.; BUONAMICI, A.; PORCEDDU, A.; SARRI, V.; OJEDA, M. A.; TRUJILLO, I.; RALLO, L.; BELAJ, A.; PERRI, E.; SALIMONTI, A.; MUZZALUPO, I.; CASAGRANDE, A.; LAIN, O.; Messina, R.; Testolin, R. 2009. A consensus list of microsatellite markers for olive genotyping. (en línea). *Molecular Breeding*. 24 (3): 213–231. Consultado 16 nov. 2011. Disponible en <http://www.springerlink.com/content/x43158051n444112/fulltext.pdf>
7. BAPTISTA, M.B. 2003. La temprana vitivinicultura en el Uruguay (1875-1930); algunos indicadores de su desarrollo. (en línea). In: Congreso de Historia Vitivinícola Uruguaya. Uruguay en el Contexto Regional;

1850-1870 (2º., 2003, Colonia del Sacramento, Uruguay). Trabajos presentados. s.n.t. Consultado 8 nov. 2011. Disponible en <http://www.ceil.fhuce.edu.uy/Descargas/2do%20Congreso%20vino.pdf>

8. BARRANCO, D.; DE TORO, C.; RALLO, L. 1998. Épocas de maduración de cultivares de olivo en Córdoba. (en línea). Investigación agraria; Producción y protección vegetales. 3 (13): 359-368. Consultado 19 oct. 2011. Disponible en [http://www.inia.es/gcontrec/pub/08-D.BARRANCO\\_1047644092553.pdf](http://www.inia.es/gcontrec/pub/08-D.BARRANCO_1047644092553.pdf)
9. \_\_\_\_\_.; CIMATO, A.; FIORINO, P.; RALLO, L.; TOUZANI, A.; CASTAÑEDA.; C.; SERAFINI, F.; TRUJILLO, I. 2000. Catálogo Mundial de Variedades de Olivo. Madrid, Consejo Oleícola Internacional. 360 p.
10. BASSO, D. 1907. Del olivo y su producto. Instrucciones generales, respecto a su cultivo y producción. L' Italia al Plata. no. 55.16 p.
11. BELAJ, A.; SATOVIC, Z.; CIPRIANI, G.; BALDONI, L.; TESTOLIN, R.; RALLO, L.; TRUJILLO, I. 2003. Comparative study of the discriminating capacity of RAPD, AFLP and SSR markers and of their effectiveness in establishing genetic relationships in olive. (en línea). Theoretical and Applied Genetics. 107 (4): 736–744. Consultado 11 nov. 2011. Disponible en <http://www.barleyworld.org/620%20series/620/Belaj-et-al-2003.pdf>
12. \_\_\_\_\_.; CIPRIANI, G.; TESTOLIN, R.; RALLO, L.; TRUJILLO, I. 2004. Characterization and identification of the main spanish and italian olive cultivars by simple-sequence-repeat markers. (en línea). Hortscience. 39 (7): 1557-1561. Consultado 25 oct. 2011. Disponible en <http://hortsci.ashspublications.org/content/39/7/1557.full.pdf+html>
13. \_\_\_\_\_.; MUÑOZ-DIEZ, C.; BALDONI, L.; PORCEDDU, A.; BARRANCO, D.; SATOVIC, Z. 2007. Genetic diversity and population structure of wild olives from the north-western Mediterranean assessed by SSR markers. (en línea). Annals of Botany. 100 (3): 449-458. Consultado 14 oct. 2011. Disponible en <http://www.aob.oxfordjournals.org/content/early/2007/07/05/aob.mcm132.full.pdf+html>

14. BELTRÁN, E.M.; MIRALLES DE IMPERIAL, R.; PORCEL, M. A.; MARTÍN, J. V.; BERINGOLA, M. L.; CALVO, R.; DELGADO, M. M. 2005. Influencia de la fertilización con lodos de depuradora compostados en las propiedades químicas del suelo de dos olivares. (en línea). *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 21 (3): 143-150. Consultado 9 oct. 2011. Disponible en <http://www.redalyc.uaemex.mx/pdf/370/37021305.pdf>
15. BELTRÁN, G.; UCEDA, M.; HERMOSO, M.; FRÍAS, L. 2008. Maduración. In: Barranco, D.; Fernández-Escobar, R.; Rallo, L. eds. *El cultivo del olivo*. 6ª ed. Madrid, Junta de Andalucía/Mundi-Prensa. cap. 6, pp.163-187.
16. BERETTA, A. 2003a. La acción de una elite empresarial desde la Asociación Rural del Uruguay; el caso de la vitivinicultura (1871/1900). (en línea). In: Congreso de Historia Vitivinícola Uruguay. Uruguay en el Contexto Regional; 1850-1870 (2º., 2003, Colonia del Sacramento, Uruguay). Trabajos presentados. s.n.t. Consultado 8 nov. 2011. Disponible en <http://www.ceil.fhuce.edu.uy/Descargas/2do%20Congreso%20vino.pdf>
17. \_\_\_\_\_.; BEYHAUT, E. 2003b. Pioneros, conocimientos y experiencias en los inicios del sector vitivinícola uruguayo (1870/1890); un abordaje interdisciplinario a propósito de D Francisco Vidiella. (en línea). In: Congreso de Historia Vitivinícola Uruguay. Uruguay en el Contexto Regional; 1850-1870 (2º., 2003, Colonia del Sacramento, Uruguay). Trabajos presentados. s.n.t. Consultado 8 nov. 2011. Disponible en <http://www.ceil.fhuce.edu.uy/Descargas/2do%20Congreso%20vino.pdf>
18. \_\_\_\_\_. 2008. Vitivinicultura y elite; el rol de la Asociación Rural del Uruguay (1871-1900). (en línea). In: Bentancor, A.; Bonfanti, D.; Bouret, D.; Viera, M.; Beretta, A. eds. *Del nacimiento de la viticultura a las organizaciones gremiales. El nacimiento del Centro de Bodegueros*. Montevideo, Trilce. pp. 99-127. Consultado 15 nov. 2011. Disponible en <http://www.trilce.com.uy/pdf/centro-de-bodegueros-r.pdf>
19. BERVILLÉ, A.; BRETON, C.; CUNLIFFE, K.; DARMENCY, H.; GOOD, A.G.; GRESSEL, J.; HALL, L.M.; MCPHERSON, M.A.; MÉDAIL, F.; PINATEL, C.; VAUGHAN, D.A.; WARWICK, S.I. 2005. Issues of

ferality or potential for ferality in oats, olives, the pigeon-pea group, ryegrass species, safflower, and sugarcane. (en línea). In: Gressel, J. ed. Crop ferality and volunteerism. Boca Ratón, FL, CRC. cap. 15, pp. 231-255. Consultado 29 oct. 2011. Disponible en <http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/9781420037999.ch15>

20. BESNARD, G.; BARADAT, P.; CHEVALIER, D.; TAGMOUNT, A.; BERVILLÉ, A. 2001a. Genetic differentiation in the olive complex (*Olea europaea* L.) revealed by RAPDs and RFLPs in the rRNA genes. (en línea). Genetic Resources and Crop Evolution. 48 (2): 165–182. Consultado 1 nov. 2011. Disponible en <https://www.springerlink3.metapress.com/content/tn6v4x172734tg70/resource-secured/?target=fulltext.pdf>
21. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; BERVILLÉ, A. 2001b. Genetic relationships in the olive (*Olea europaea* L.) reflect multilocal selection of cultivars. (en línea). Theoretical and Applied Genetics. 102 (2-3): 251-258. Consultado 26 oct. 2011. Disponible en <https://www.springerlink3.metapress.com/content/jwqy4jglk59l7gdu/resource-secured/?target=fulltext.pdf>
22. \_\_\_\_\_.; KHADARI, B.; BARADAT, P.; BERVILLÉ, A. 2002. *Olea europaea* (Oleaceae) phylogeography based on chloroplast DNA polymorphism. (en línea). Theoretical and Applied Genetics. 104 (8): 1353-1361. Consultado 18 oct. 2011. Disponible en <http://www.springerlink.com.proxy.timbo.org.uy:443/content/72g2fxknk4kq7mtx/fulltext.pdf>
23. BESSERRA, V.; PAREDES, M. 2000. Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética. (en línea). Agricultura Técnica. 60 (3): 270-281. Consultado 5 nov. 2011. Disponible en [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0365-28072000000300007](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-28072000000300007)
24. BRACCI, T.; BUSCONI, M.; FOGHER, C.; SEBASTIANI, L. 2011. Molecular studies in olive (*Olea europaea* L.); overview on DNA markers applications and recent advances in genome analysis. (en línea). Plant Cell Reports. 30 (4): 449–462. Consultado 12 oct. 2011. Disponible en <http://www.springerlink.com/content/>
25. BRETON, C.; MÉDAIL, F.; PINATEL, C.; BERVILLÉ, A. 2006a. De l'olivier à l'oléastre; origine et domestication de l' *Olea europaea* L. dans le

- Bassin méditerranéen. (en línea). Cahiers Agricultures. 15 (4): 329-336. Consultado 10 oct. 2011. Disponible en [http://www.prodinra.inra.fr/prodinra/pinra/data/2008/12/PROD2008418dacc0\\_20081208051218242.pdf](http://www.prodinra.inra.fr/prodinra/pinra/data/2008/12/PROD2008418dacc0_20081208051218242.pdf)
26. \_\_\_\_\_.; BESNARD, G.; BERVILLÉ, A. 2006b. Using multiple types of molecular markers to understand olive phylogeography. (en línea). In: Zeder, M.A.; Bradley, D.G.; Emshwillr, E.; Smith, B.D. eds. Documenting domestication; newgenetic and archaeological paradigms. Berkeley, University of California. pp. 143-152. Consultado 27 oct. 2011. Disponible en <http://www.books.google.com/books?hl=es&lr=&id=EaVTxjrblFQC&oi=fnd&pg=PA143&dq=breton+using+multiple++types&ots=vwag1Rd8zG&sig=0qUuv>
27. BRONZINI DE CARAFFA, V.; MAURY, J.; GAMBOTTI, C.; BRETON, C.; BERVILLÉ, A.; GIANNETTINI, J. 2002. Mitochondrial DNA variation and RAPD mark oleasters, olive and feral olive from western and eastern Mediterranean. (en línea). Theoretical and Applied Genetics. 104 (6-7): 1209-1216. Consultado 30 oct. 2011. Disponible en <http://www.springerlink.com/content/cbv1jq9tra8eg40l/fulltext.pdf>
28. BUSCONI, M.; SEBASTIANI, L.; FOGHER, C. 2006. Development of SCAR markers for germplasm characterisation in olive tree (*Olea europea* L.). (en línea). Molecular Breeding. 17 (1): 59–68. Consultado 9 nov. 2011. Disponible en <http://www.springerlink.com/content/21445tku21313w33/fulltext.pdf>
29. CARRIERO, F.; FONTANAZZA, G.; CELLINI, F.; GIORIO, G. 2002. Identification of simple sequence repeats (SSRs) in olive (*Olea europaea* L.). (en línea). Theoretical and Applied Genetics. 104 (2-3): 301–307. Consultado 29 oct. 2011. Disponible en <http://www.springerlink.com/content/v7vl2h8tqvuuubl7/fulltext.pdf>
30. CAUBARRÈRE, D.; MONZÓN, F. 1996. El prado y sus antiguas costas del Miguelete; 1860-1930. Montevideo, Caubarrère-Monzón. 312 p.
31. CAVAGNARO, P.; JUÁREZ, J.; BAUZA, M.; MASUELLI, R.W. 2001. Discriminación de variedades de olivo a través del uso de caracteres morfológicos y de marcadores moleculares. (en línea). Agriscientia. 18: 27-35. Consultado 9 oct. 2011. Disponible en <http://www.agriscientia.unc.edu.ar/volumenes/pdf/v18n01a04.pdf>

32. CIMATO, A.; CANTINI, C.; GRAZIANO, SANI. 2001. L'olivo in Toscana il germoplasma autoctono. (en línea). Firenze, s.e. Consultado 2 dic. 2011. Disponible en [http://www.ivalsa.cnr.it/fileadmin/ivalsa/files/documenti/pubblicazioni/cimato/L\\_olivo\\_in\\_Toscana - Il germoplasma autoctono III Volume formato piu piccolo.pdf](http://www.ivalsa.cnr.it/fileadmin/ivalsa/files/documenti/pubblicazioni/cimato/L_olivo_in_Toscana_-_Il_germoplasma_autoctono_III_Volume_formato_piu_piccolo.pdf)
33. CIPRIANI, G.; MARRAZZO, M.T.; MARCONI, R.; CIMATO, A.; TESTOLIN, R. 2002. Microsatellite markers isolated in olive (*Olea europaea* L.) are suitable for individual fingerprinting and reveal polymorphism within ancient cultivars. (en línea). Theoretical and Applied Genetics. 104 (2-3): 223–228. Consultado 9 oct. 2011. Disponible en <http://www.springerlink.com/content/3exu3yjb1967489g/>
34. CIVANTOS, L. 2008. La olivicultura en el mundo y en España. In: Barranco, D.; Fernández-Escobar, R.; Rallo, L. eds. El cultivo del olivo. 6ª ed. Madrid, Junta de Andalucía/Mundi-Prensa. cap. 1, pp. 17-35.
35. COMISIÓN DE VECINOS DEL BARRIO ATAHUALPA. 2007. El Arroyo Miguelete; su protagonismo durante los siglos XVIII y XIX. (en línea). Montevideo. Consultado 3 jul. 2011. Disponible en [http://www.barrioatahualpa.com/seccion\\_historia/1\\_miguelete.html](http://www.barrioatahualpa.com/seccion_historia/1_miguelete.html)
36. CONNELL, J.H. 1994. The olive indutstre. In: Ferguson, L.; Steven, G.; Martín, G. eds. Olive production manual. Oakland, WC, División of Agriculture and Natural Resources. pp. 1-9.
37. CONSEJO OLEÍCOLA INTERNACIONAL. 2011a. Área de actividad. Economía. Cifras aceite de oliva. (en línea). Madrid. Consultado 19 oct. 2011. Disponible en <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures>
38. \_\_\_\_\_. 2011b. La institución. COI. Función. (en línea). Madrid. Consultado 19 oct. 2011. Disponible en <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/100-mission-statement>
39. COTELO, E. 2002. Aceite extra virgen de oliva desde el Rincón de las Gallinas al mundo. (en línea). Montevideo, s.e. Consultado 4 jul. 2009. Disponible en <http://www.espectador.com/uruguayos/regale/reg2002-12-15-1.htm>

40. Crónica de Piriápolis. (en línea). 2009. Infopiriápolis, Maldonado, UY, jun. 1: s.p. Consultado 2 nov. 2011. Disponible en <http://www.infopiriapolis.com.uy/cronica-de-piriapolis.html>
41. CHARAFI, J.; EL MEZIANE, A.; MOUKHLI, A.; BOULOUHA, B. EL MODAFAR, C.; KHADARI, B. 2008. Menara gardens; a moroccan olive germplasm collection identified by a SSR locus-based genetic study. (en línea). Genetic Resources and Crop Evolution. 55 (6): 893–900. Consultado 30 oct. 2011. Disponible en <http://www.springerlink.com/content/h11u5638h1h42g42/fulltext.pdf>
42. DE LA ROSA, R.; ANGIOLILLO, A.; GUERRERO, C.; PELLEGRINI, M.; RALLO, L.; BESNARD, G.; BERVILLÉ, A.; MARTIN, A.; BALDONI, L. 2003. A first linkage map of olive (*Olea europaea* L.) cultivars using RAPD, AFLP, RFLP and SSR markers. (en línea). Theoretical and Applied Genetics. 106 (7): 1273–1282. Consultado 9 nov. 2011. Disponible en <http://www.springerlink.com/content/qaeaygcbd7ke0bxi/>
43. DE VICENTE, M.C.; FULTON, T. 2003. Tecnologías de marcadores moleculares para estudios de diversidad genética de plantas; módulo de aprendizaje. (en línea). International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI). 1:1–52. Consultado 26 jul. 2009. Disponible en [http://www2.bioversityinternational.org/Publications/Molecular\\_Markers\\_Volume\\_1\\_es/PDF/I.introduccion.pdf](http://www2.bioversityinternational.org/Publications/Molecular_Markers_Volume_1_es/PDF/I.introduccion.pdf)
44. DÍEZ, C.M.; TRUJILLO, I.; BARRIO, E.; BELAJ, A.; BARRANCO, D.; RALLO, L. 2011. Centennial olive trees as a reservoir of genetic diversity. (en línea). Annals of Botany. 108 (5): 797-807. Consultado 2 dic. 2011. Disponible en <http://www.aob.oxfordjournals.org/content/108/5/797.short>
45. DOMINGO BASSO. 2009. Trayectoria y breve reseña histórica. (en línea). Montevideo. Consultado 15 nov. 2011. Disponible en [http://www.domingobasso.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=88&Itemid=74](http://www.domingobasso.com/index.php?option=com_content&view=article&id=88&Itemid=74)
46. ELLIS, R. 1978. Bocetos bibliográficos. Segunda Parte de Rescatándolo del Olvido. Montevideo, Mercar. 197 p.
47. Una empresa a la vanguardia del progreso. (en línea). 2007. Diario Cambio, Salto, UY, jul.1: s.p. Consultado 7 ene. 2011. Disponible en <http://www.diariocambio.com.uy/html>

48. ESPADA, J. L.; ABÓS, F.; GRACIA, M.S. 2009. Variedades de olivo cultivadas en el Somontano de Barbastro y características de sus aceites. (en línea). Informaciones Técnicas. no. 212: 1137-1730. Consultado 2 nov. 2011. Disponible en [http://www.aragon.es/estaticos/GobiernoAragon/Departamentos/AgriculturaAlimentacion/Areas/07\\_Formacion\\_Inovacion\\_Sector\\_Agrario/02\\_Centro\\_Transferencia\\_Agroalimentaria/212-09.pdf](http://www.aragon.es/estaticos/GobiernoAragon/Departamentos/AgriculturaAlimentacion/Areas/07_Formacion_Inovacion_Sector_Agrario/02_Centro_Transferencia_Agroalimentaria/212-09.pdf)
49. ESPEJO, J. 2005. Estudio analítico comparado entre el aceite de acebuchina y el aceite de oliva virgen. (en línea). Tesis PhD. Sevilla, España. Facultad de Química. 338 p. Consultado 29 oct. 2011. Disponible en [http://www.fondosdigitales.us.es/media/thesis/340/Original\\_IT1240.pdf](http://www.fondosdigitales.us.es/media/thesis/340/Original_IT1240.pdf)
50. FENDRI, M. 2008. Uso de marcadores microsatélites (SSRs) para el análisis de la variabilidad molecular y la identificación de las variedades de olivo del Banco de Germoplasma de Boughrara (Sfax, Túnez). Tesis MSc. en Olivicultura y Elaiotecnia. Córdoba, España. Universidad de Córdoba. Departamento de Agronomía. 99 p. Consultado 2 dic. 2011. Disponible en [http://www.abhatoo.net.ma/index.php/fre/.../Thesis\\_Mr\\_FENDRI.pdf](http://www.abhatoo.net.ma/index.php/fre/.../Thesis_Mr_FENDRI.pdf)
51. FERNÁNDEZ, I. 2011. El aceite de oliva uruguayo es una realidad en crecimiento. (en línea). El Observador, Montevideo, UY, set. 30: s.p. Consultado 25 oct. 2011. Disponible en <http://www.uruguaysustentable.com.uy/portada/el-aceite-de-oliva-uruguayo-es-una-realidad-en-crecimiento/>
52. FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. 1996. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 2ª ed. Brasília, EMBRAPA-CENARGEN. 220 p.
53. FURTADO, C.; QUAGLIOTTI, M. 2008. Cadena oleícola uruguaya; análisis de mercado, competitividad y perspectivas. (en línea). Tesis Cr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Ciencias Económicas y de Administración. 201 p. Consultado 26 oct. 2011. Disponible en [http://www.ccee.edu.uy/ensenian/catecap/docs/monograf/mong%20008/monog\\_olivos%20FINAL%20140308.pdf](http://www.ccee.edu.uy/ensenian/catecap/docs/monograf/mong%20008/monog_olivos%20FINAL%20140308.pdf)
54. GARCÍA-LIMONES, C.; BENÍTEZ, Y.; HERNÁNDEZ, P.; MARTÍN, A.; DEL RÍO RINCÓN, C.; CABALLERO, J.; RAPOPORT, H.; CABALLERO, J.L.; MUÑOZ-BLANCO, J.; DORADO, G. 2007. La floración del olivo;

clonación, cuantificación de la expresión génica y análisis del polimorfismo entre cultivares de los genes *leafy* y *apetala*. (en línea). In: Congreso de la Cultura del Olivo (1º, 2007, s.l.). Trabajos presentados. Jaen, Instituto de Estudios Giennenses. pp. 603-610. Consultado 17 oct. 2011. Disponible en <http://www.dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2523765>

55. HERNÁNDEZ, E.; LÓPEZ, F.; ALONSO, F.; CONESA, C.; ÁLVAREZ, Y. 2004. La huella ecológica del cultivo del olivo en España y su aplicabilidad como indicador de agricultura sostenible. (en línea). Papeles de Geografía. no. 39: 141-155. Consultado 14 oct. 2011. Disponible en <http://www.digitum.um.es/xmlui/bitstream/10201/2906/1/07-HUELLA.pdf>
56. HIDALGO, R. 2003. Variabilidad genética y caracterización de especies vegetales. (en línea). In: Franco, T. L.; Hidalgo, R. eds. Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. pp. 2-26 (IPGRI Boletín Técnico no. 8). Consultado 26 oct. 2011. Disponible en <http://www.sinarefi.org.mx/ANALISIS%20ESTADISTICO%20DE%20DATOS%20MORFOLOGIA.pdf>
57. Historia del Barrio Manga. (en línea). 2011. Revista Raíces, Montevideo, UY, s.f. s.p. Consultado 1 nov. 2011. Disponible en [http://www.raicesuruguay.com/raices/barrio\\_manga.html](http://www.raicesuruguay.com/raices/barrio_manga.html)
58. La historia de Piriápolis y Francisco Piria; dos relatos Inseparables. (en línea). 2009. Maldonado al día, Maldonado, UY, may. 31: s.p. Consultado 4 jun. 2009. Disponible en <http://www.maldonadoaldia.com/vivir.asp?ref=22>
59. HOPP, E. 2010. Marcadores moleculares. Agrobiotecnología. Curso 2010. (en línea). Buenos Aires, UBA. Consultado 9 nov. 2011. Disponible en [http://www.fbmc.fcen.uba.ar/materias/agbt/teoricos/2011\\_12%20Marcadores%20Moleculares.pdf](http://www.fbmc.fcen.uba.ar/materias/agbt/teoricos/2011_12%20Marcadores%20Moleculares.pdf)
60. Hurgando en la web; el Uruguay que no conocemos. (en línea). 2003. Informe Uruguay, Fray Marcos, UY, dic. 26: s.p. Consultado 28 ene. 2008. Disponible en <http://www.uruguayinforme.com/articulos/26122003hurgando.htm>

61. IDRISSE, A.; OUAZZANI, N. 2004. Apport des descripteurs morphologiques à l'inventaire et à l'identification des variétés d'olivier (*Olea europaea* L.) (en línea). Plant Genetic Resources Newsletter. no. 136: 1-10. Consultado 2 nov. 2011. Disponible en [http://www2.bioversityinternational.org/publications/pgnewsletter/article.asp?id\\_article=1&id\\_issue=136](http://www2.bioversityinternational.org/publications/pgnewsletter/article.asp?id_article=1&id_issue=136)
62. INTENDENCIA MUNICIPAL DE MONTEVIDEO. UNIDAD DE ÁREAS VERDES. 2006a. Sistema de Áreas Verdes. Base de Oracle. Montevideo. s.p.
63. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. 2006b. Sistema de información Geográfico Municipal. Montevideo. s.p.
64. JACKSON, D.A.; SOMERS, K.M.; HARVEY, H.H. 1989. Similarity coefficients; measures of co-occurrence and association or simply measures of occurrence?. (en línea). American Naturalist. 133 (3): 436-453. Consultado 8 nov. 2011. Disponible en <http://www.labs.eeb.utoronto.ca/jackson/amnat133.pdf>
65. JIMENEZ, P.; COLLADA, C. 2000. Técnicas para la evaluación de la diversidad genética y su uso en los programas de conservación. (en línea). Investigación agraria; Sistemas y recursos forestales. 9(2): 237-248. Consultado 30 oct. 2011. Disponible en [http://www.inia.es/gcontrec/pub/jime2\\_1049103835935.pdf](http://www.inia.es/gcontrec/pub/jime2_1049103835935.pdf)
66. JURY, F.C. 2001a. La actividad olivícola en Argentina. (en línea). s.l., Consejo Federal de Inversiones. Consultado 10 set. 2008. <http://www.documentos.cfired-negocios.org.ar/listdocs.php?action=tipoprod&fField=9&fValue=26375>
67. \_\_\_\_\_. 2001b. La actividad olivícola Argentina. Provincias de Mendoza, San Juan, La Rioja y Catamarca. (en línea). s.l., Consejo Federal de Inversiones. Consultado 10 set. 2008. Disponible en <http://www.documentos.cfired-negocios.org.ar/listdocs.php?action=tipoprod&fField=9&fValue=26375>
68. KALIA, R.K.; RAI, M.; KALIA, S.; SINGH, R.; DHAWAN, A. 2011. Microsatellite markers; an overview of the recent progress in plants. (en línea). Euphytica. 177 (3): 309-334. Consultado 3 dic. 2011. Disponible en <http://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10681-010-0286-9>

69. KAPELLAKIS, I.E.; TSAGARAKIS K.P.; CROWTHER, J.C. 2008. Olive oil history, production and by-product management. (en línea). *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*. 7 (1): 1–26. Consultado 9 oct. 2011. Disponible en <http://www.springerlink.com/content/t16v20u2l7mmn837/>
70. LAGUNA, J.T. 2007. Antecedentes relacionados con la botánica. Antecedentes del olivo. (en línea). s.n.t. Consultado 8 ago. 2008. Disponible en <http://www.ansararagon.com/ArticulosBotanica.html>
71. LEVANTE MEDITERRÁNEO. 2009. (en línea). s.l. Consultado 28 set. 2009. Disponible en [http://www.es.wikipedia.org/wiki/Levante\\_mediterr%C3%A1neo](http://www.es.wikipedia.org/wiki/Levante_mediterr%C3%A1neo)
72. LOPES, M.; MENDONÇA, D.; SEFC, K.; GIL, F.; DA CAMARA, A. 2004. Genetic evidence of intra-cultivar variability within Iberian olive cultivars. (en línea). *Hortscience*. 39 (7): 1562-1565. Consultado 20 oct. 2011. Disponible en <http://hortsci.ashspublications.org/content/39/7/1562.full.pdf+html>
73. LUMARET, R.; OUAZZANI, N.; MICHAUD, H.; VIVIER, G.; DEGUILLOUX, M.F.; DI GIUSTO, F. 2004. Allozyme variation of oleaster populations (wild olive tree) (*Olea europaea* L.) in the Mediterranean Basin. (en línea). *Heredity*. 92 (4): 343–351. Consultado 8 nov. 2011. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14985782>
74. LUNA, M.C.; BENÍTEZ, J.L.; ANDRADA, C.A.; MATÍAS, A.C.; DALLA-LASTA, F. 2006. Evaluación de la composición en ácidos grasos de aceite de oliva vírgenes de Catamarca (República Argentina). (en línea). *Revista del CIZAS*. 7 (1-2): 71-79. Consultado 19 ago. 2011. Disponible en <http://www.editorial.unca.edu.ar/Publicacione%20on%20line/CIZAS/imagenes/pdf/V1y2/8.%20Luna.71-80.pdf>
75. LLERENA, J.L. 2008. Estudio del sector olivarero y de transformación de la aceituna de Extremadura. (en línea). Tesis PhD. s.l., España. Universidad de Extremadura. Facultad de Ciencias. pp. 12-13. (Boletín de la Sociedad Española de Fisiología Vegetal no. 49). Consultado 3 nov. 2011. Disponible en [http://www.sefv.net/files/sd\\_publicaciones/38.pdf](http://www.sefv.net/files/sd_publicaciones/38.pdf)

76. MARTÍNEZ, C. P. 2006. Progreso en el mejoramiento genético asistido por marcadores moleculares. (en línea). In: Curso de Capacitación en Mejoramiento Genético en Arroz. (1º, 2006, Sancti, Spiritu, Cuba). Capacitación en fitomejoramiento genético e intercambio de germoplasma para utilizar los recursos genéticos del arroz en América Latina y el Caribe. s.n.t. 48 diapositivas. Consultado 11 nov. 2011. Disponible en <http://www.agr.unne.edu.ar/fao/Cuba-ppt/P14MEJORAMIENTO%20GENETICO%20%20ASISTIDO%20MARCADORES%20MOLECULARES.pdf>
77. MARTÍNEZ, J.R.; VILLARINO, A.; SERRANO, L.; LEZCANO, C.; URRIALDE DE ANDRÉS, R.; SÁNCHEZ, F.J.; CASTRO, M.J.; CAO, M.J. 2005. El aceite de oliva en España; una breve historia. (en línea). In: Pinto, J.A.; Martínez, J.R. eds. Nutrición y salud. El aceite de oliva y la dieta mediterránea. Madrid, España. cap. 7, pp. 7-24. Consultado 22 oct. 2011. Disponible en [http://www.nutricion.org/publicaciones/pdf/aceite\\_de\\_oliva.pdf](http://www.nutricion.org/publicaciones/pdf/aceite_de_oliva.pdf)
78. MARTÍNEZ DE VICTORIA, E.; MAÑAS, M. 2008. El aceite de oliva en la dieta y salud humanas. In: Barranco, D.; Fernández-Escobar, R.; Rallo, L. eds. El cultivo del olivo. 6ª ed. Madrid, Junta de Andalucía/Mundi-Prensa. cap. 19, pp. 777-798.
79. MATAIX, J.; BARBACHO, F.J. 2006. Olive oil in mediterranean food. (en línea). In: Quilmes, J. L.; Ramírez-Tortosa, M.C.; Yaqoop, P. eds. Olive oil and health. Cambridge, USA, CAB International. cap. 1, pp. 1-44. Consultado 27 oct. 2011. Disponible en <http://www.bookshop.cabi.org/Uploads/Books/PDF/9781845930684/9781845930684.pdf>
80. MATÍAS, C.; MOYANO, P.; GÓMEZ, P.; ALDERETE, S.; LUNA, M. C.; MONTALVÁN, D.; BENÍTEZ, J.; DALLA, F. 2003. Calidad de aceites de Arbequinas en relación a la madurez de las aceitunas. (en línea). In: Congreso Regional de Ciencias y Tecnología (2003, San Fernando del Valle de Catamarca, Argentina). Resúmenes. San Fernando del Valle de Catamarca, Universidad Nacional de Catamarca. pp. 1-10. Consultado 5 nov. 2011. Disponible en <http://www.orton.catie.ac.cr/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=INTA2...> –
81. MERCADO OLIVARERO DEL URUGUAY SOCIEDAD ANÓNIMA. 1950. La industria olivarera. Montevideo, Talleres Gráfico Sur. 104 p.

82. MOLINA, E.L.; MARINO, A.P. 2002. G-Stat. Student versión 2.0. Madrid, GlaxoSmithKline. 230 p.
83. MONTAÑÉS, V. s.f. Industria olivarera en el Uruguay. Montevideo, Compañía Agrícola Olivarera del Uruguay. 16 p.
84. MORA, F.; RODOVALHO, M.-A.; DEITOS, A.; ASTORGA, M. 2007. Estratégias fundamentais para o desenvolvimento da cultura da oliveira no Brasil. (en línea). Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas. 1 (1): 66-75. Consultado 10 oct. 2011. Disponible en [http://www.ccaa.ufma.br/revistatropica/Artigos\\_nr1/agronomia/EstrategiasElementalesParaDesarrolloDeCultivares\\_agro\\_RE.pdf](http://www.ccaa.ufma.br/revistatropica/Artigos_nr1/agronomia/EstrategiasElementalesParaDesarrolloDeCultivares_agro_RE.pdf)
85. MOUTIER, N.; KHADARI, B.; BERTI, L.; MAURY, J.; GAMBOTTI, C.; GIANNETTINI, J.; PANIGHI, J.; BRONZINI DE CARAFFA, V.; LORENZI, V.; PALMIERI, C.; BRETON, C.; BESNARD, G.; BERVILLÉ, A. 2006. L'olivier; histoire et recherches, les ressources génétiques. INRA Mensuel no. 128: 14-21.
86. MUÑOZ, J.E. 1992. Monumentos verdes de la ciudad de Montevideo. Montevideo, IMM. 304 p.
87. NORTH, M. s.f. The olive trail - mediterranean olive oil tree history expansion. Some have travelled a part of this route and discovered a little but there is more... (en línea). s.n.t. Consultado 2 nov. 2011. Disponible en <http://www.mikpens.com/mediterraneanolivehistory.html>
88. OJEDA, M. A.; BARRANCO, D.; TRUJILLO, I. 2006. Identificación varietal en el programa de obtención y control de plantas certificadas de olivo en Andalucía. (en línea). Córdoba, s.e. Consultado 5 nov. 2011. Disponible en <http://www.ivia.es/mejora2006/apdf/OLIVO/083OLIVO%20ojeda%20et%20al.pdf>
89. PALMETTI, N. s.f. Aceite de oliva. Base de la salud mediterránea. (en línea). s.n.t. Consultado 23 oct. 2011. Disponible en [http://www.prama.com.ar/alimentos\\_saludables/aceite\\_oliva.htm](http://www.prama.com.ar/alimentos_saludables/aceite_oliva.htm)
90. PELLEGRINO, G.; OLVEIRA, A. 2007. Viña Varela Zarranz. Bodegas del Uruguay. (en línea). Nuestros Vinos, Nuestra Historia. no.11: 3-6.

91. PEREIRA J.; SILVEIRA A.; LÓPEZ S.; GÁNDARA J.; PAGLIANO G.; PEVERELLI J. 2007. Caracterización genética y morfológica de olivos plantados desde la época colonial a la actualidad, en producción en Uruguay. *In*: Simposio de Recursos Genéticos para América Latina y el Caribe. Por la valoración de los Recursos Genéticos para el Desarrollo Sustentable en América Latina y el Caribe (6º., 2007, México). Resúmenes. México, Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. p. 73.
92. PÉREZ CASTELLANOS, J.M.1914. Olivos. *In*: Observaciones sobre agricultura. Montevideo, Barreiro y Ramos. pp. 206-225.
93. PEVERELLI, A. 2008. Aceite y aceituna. El boom del olivo. Crónicas. (en línea). s.n.t. Consultado 20 oct. 2011. Disponible en <http://www.cronicas.com.uy/HNImprimir.cgi?13473,0>
94. \_\_\_\_\_. 2009. El cultivo del olivo INIA Treinta y Tres. (en línea). *In*: Jornada de Divulgación de Rubros Alternativos; Arándanos y Olivos (2009, Treinta y Tres). Memorias. Treinta y Tres, INIA. s.p. Consultado 7 may. 2009. Disponible en <http://www.inia.org.uy/estaciones/ttres/actividades/Peverelly.pdf> -
95. La quinta de la fantasía. (en línea). 2010. Galería, Montevideo, UY, oct. 7: 58-59. Consultado 25 nov. 2011. Disponible en <http://www.laquintadearteaga.com.uy/pdf/galeria-09-2010.pdf>
96. RALLO, P.; DORADO, G.; MARTIN, A. 2000. Development of simple sequence repeats (SSRs) in olive tree (*Olea europaea* L.). (en línea). Theoretical and Applied Genetics. 101 (5-6): 984-989. Consultado 20 oct. 2011. Disponible en <http://www.springerlink.com/content/4v59367j4haa6139/>
97. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_. 2002. Application of microsatellite markers in olive breeding. (en línea). Acta Horticulturae. no. 586: 69-72. Consultado 13 nov. 2011. Disponible en [http://www.actahort.org/books/586/586\\_5.htm](http://www.actahort.org/books/586/586_5.htm)
98. \_\_\_\_\_.; TENZER, I.; GESSLER, C.; BALDONI, L.; DORADO, G.; MARTIN, A. 2003. Transferability of olive microsatellite loci across the genus *Olea*. (en línea). Theoretical and Applied Genetics. 107 (5): 940-946. Consultado 10 oct. 2011. Disponible en <http://www.springerlink.com/content/2lxawky5enw5wydx/>

99. RAMÍREZ, H. 2003. Uso de isoenzimas en la caracterización de germoplasma vegetal. (en línea). Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial . 1 (1): 80-82. Consultado 10 nov. 2011. Disponible en <http://www.unicauca.edu.co/biotecnologia/ediciones/vol1/Art22.pdf>
100. RAMIREZ, R.; BANDRES, L.; ANDRADE, L. 1978. Nutrición del maíz en Venezuela III. Respuesta del maíz al nitrógeno, fósforo y potasio en la región de Nirgua, Colonia Baraure y Guama del edo. Yaracuy. (en línea). Agronomía Tropical. 28 (5): 435-447. Consultado 6 nov. 2005. Disponible en [http://www.redpav-fpolar.info.ve/agrotrop/v28\\_5/v285a002.html](http://www.redpav-fpolar.info.ve/agrotrop/v28_5/v285a002.html)
101. LOS RANCHOS. 2011. Historia de Los Ranchos. (en línea). Fray Bentos. Consultado 5 nov. 2011. Disponible en <http://www.losranchos.com.uy/es/1-historia/index.htm>
102. RAPOPORT, H.F. 2008. Botánica y morfología. In: Barranco, D. Fernández-Escobar, R. Rallo, L. eds. El cultivo del olivo. 6ª ed. Madrid, Junta de Andalucía/Mundi-Prensa. cap. 2, pp. 37-62.
103. REJANO, L.; GARRIDO, A. 2008. El aderezo de las aceitunas. In: Barranco, D.; Fernández-Escobar, R.; Rallo, L. eds. El cultivo del olivo. 6ª ed. Madrid, Junta de Andalucía/Mundi-Prensa. cap. 18, pp. 728- 776.
104. RENTARÍA, M. 2007. Breve revisión de los marcadores moleculares. Variación morfológica y variación molecular. (en línea). In: Erguiarte, L.E.; Souza, V.; Aguirre, X. eds. Ecología molecular. México, s.e. cap. 18, pp. 541-566. Consultado 5 nov. 2011. Disponible en <http://www2.ine.gob.mx/publicaciones/libros/530/cap18.pdf>
105. RINCÓN, W. s.f. El olivo en el arte español. (en línea). s.n.t. Consultado 5 nov. 2011. Disponible en <http://digital.csic.es/bitstream/10261/16882/1/2523410.pdf>
106. ROMERO, C.; MEDINA, E.; VARGAS, J.; BRENES, M.; DE CASTRO, A. 2007. In vitro activity of olive oil polyphenols against *Helicobacter pylori*. (en línea). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55 (3): 680-686. Consultado 25 oct. 2011. Disponible en <http://www.pubs.acs.org/doi/pdfplus/10.1021/jf0630217>

107. ROHLF, F. J. 1994. Numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 1. 80; applied biostatistics. New York, Stauket. s.p.
108. RUBIO DE CASAS, R.; BESNARD, G.; SCHÖNSWETTER, P.; L.; P. 2006. Extensive gene flow blurs phylogeographic but not phylogenetic signal in *Olea europaea* L. (en línea). Theoretical and Applied Genetics. 113 (4): 575-583. Consultado 10 oct. 2011. Disponible en <http://www.springerlink.com/content/f23qk37503434072/>
109. SAMIERI, C.; FÉART, C.; PROUST-LIMA, C.; PEUCHANT, E.; TZOURIO, C.; STAPF, C.; BERR, C.; BARBERGER-GATEAU, P. 2011. Olive oil consumption, plasma oleic acid, and stroke incidence. The Three-City study. (en línea). Neurology. 77 (5): 412-413. Consultado 24 oct. 2011. Disponible en <http://www.neurology.org/content/early/2011/06/15/WNL.0b013e318220abeb>
110. SCHEEPENS, J.; EXCURSION, S. 2008. Genetic structure of wild and domesticated olive. (en línea). s.n.t. Consultado 7 jul. 2009. Disponible en <http://www.s1276441.fmnsedu.rug.nl/SamosScheepens.pdf>
111. SEFC, K.M.; LOPES, M.S.; MENDONÇA, D; RODRIGUES DOS SANTOS, M.; LAIMER DA CÂMARA MACHADO M; DA CÂMARA MACHADO, A. 2000 Identification of microsatellite loci in olive (*Olea europaea*) and their characterization in Italian and Iberian olive trees. (en línea). Molecular Ecology. 9(8): 1171–1173. Consultado 14 oct. 2011 Disponible en <http://www.zoo.utas.edu.au/cb/pdfs/PrimerNote.pdf>
112. SHER, E.M.; WEBER, A. 2009. Floral ontogeny of Oleaceae and its systematic implications. (en línea). International Journal of Plant Sciences. 170 (7): 845-859. Consultado 5 set. 2011. Disponible en <http://www.jstor.org/stable/10.1086/599074>
113. SOLÍS, L. Y.; ANDRADE, A. 2005. ¿Qué son los marcadores moleculares?. (en línea). Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Universidad Veracruzana. 8 (1): s.p. Consultado 26 jul. 2009. Disponible en <http://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol18num1/articulos/moleculares/index.htm>
114. SOTO, R.; JORQUERA, R.; ROJAS, C.; ASTORGA, A.; GUERRA, E.

2010. Informe Centro de Competitividad del Maule Aceite de Oliva. (en línea). Talca, Centro de Competitividad del Maule Aceite de Oliva. Consultado 19 oct. 2011. Disponible en [http://www.centrodecompetitividaddelmaule.cl/pdf/cluster\\_potenciales/aceite\\_oliva.pdf](http://www.centrodecompetitividaddelmaule.cl/pdf/cluster_potenciales/aceite_oliva.pdf)
115. STATSOFT. 1995. Statistica for Windows; computer program manual, versión 5.0. Tulsa, Oklahoma. s.p.
116. SWISSLATIN. 2009. El extracto de hoja de olivo reduciría la presión y el colesterol. (en línea). Ginebra. Consultado 6 ago. 2009. Disponible en <http://www.swisslatin.ch/ciencias-0850.htm>
117. TAAMALLI, W.; GEUNA, F.; BANTH, R.; BASSI D.; DAOUD, D.; ZARROUK, M. 2006. Agronomic and molecular analyses for the characterization of accessions in tunisian olive germplasm collections. *Electronic Journal of Biotechnology*. 9 (5): 467-481. Consultado 6 nov. 2011. Disponible en <http://www.ejbiotechnology.info/content/vol9/issue5/full/12/index.html>
118. TABORDA, R.J.; TORRES, L.; CONCI, L.R.; RIVATA, R.S. 2006. Avances en la identificación de genotipos del olivar de la Provincia de Córdoba mediante microsatelites (SSR). (en línea). In: Simposio Internacional de Olivicultura (1º, 2006, s.l.) Abstracts. Horticultura Argentina. 25 (59): 135. Consultado 7 nov. 2011. Disponible en [http://www.infofrut.com.ar/index2.php?option=com\\_content&do\\_pdf=1&id=557](http://www.infofrut.com.ar/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=557)
119. TERRAL, J. F.; ALONSO, N.; CAPDEVILA, R. B. I.; CHATTI, N.; FABRE, L.; FIORENTINO, G.; MARINVAL, P.; JORDÁ, G. P.; PRADAT, B.; ROVIRA, N.; ALIBERT, P. 2004. Historical biogeography of olive domestication (*Olea europaea* L.) as revealed by geometrical morphometry applied to biological and archaeological material. (en línea). *Journal of Biogeography*. 31 (1): 63-67. Consultado 9 nov. 2011. Disponible en <http://www.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.0305-0270.2003.01019.x/full>
120. THOMAS, M.R.; SCOTT, N.S. 1993. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analysed as sequence-tagged sites (STSs). (en línea). *Theoretical and Applied Genetics*. 86 (8): 985-990. Consultado 31 nov. 2011. Disponible en <http://www.ukpmc.ac.uk/abstract/AGR/IND20377538>

121. TOMMASINO, H. 2009. Situación actual y perspectivas de la cadena oleícola en Uruguay. (en línea). Anuario OPYPA 2009: 211 - 221. Consultado 15 ago. 2011. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/opypa/ANUARIOS/Anuario2009/material/pdf/19.pdf>
122. TOUS, J.; VILLAMIL, J.; HERMOSO, J.F.; ALBIN, A. 2005. El olivo en Uruguay. *Olivae*; Revista Oficial del Consejo Oleícola Internacional. no.103: 56-61.
123. TRENTACOSTE, E.; PUERTAS, C. 2002. Catálogo de variedades presentes en la colección de germoplasma de la EEA Junín, INTA. Caracteres agronómicos, morfológicos, tecnológicos y oleotécnicos. (en línea). Junín, INTA. Consultado 15 nov. 2011. Disponible en <http://www.inta.gov.ar/junin/info/documentos/agricultura/olivicultura/Pr esentaci%C3%B3n%20e%20Instructivo.pdf>
124. TRUJILLO, I.; BARRANCO, D. 2004. Botánica. (en línea). Córdoba, Universidad de Córdoba. Departamento de Agronomía. 14p. Consultado 8 jun. 2011. Disponible en <http://www.museoaceite.com/docum/docs/3-botanica%20.doc>
125. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; BELAJ, A.; RALLO, L. 2005. Identificación y catalogación del banco de germoplasma mundial de olivo de Córdoba mediante marcadores morfológicos y moleculares. (en línea). Córdoba, Universidad de Córdoba. Departamento de Agronomía. s.p. Consultado 26 jul. 2009. Disponible en [http://www.inia.es/qcontrec/pub/98001C301\\_1065007358343.pdf](http://www.inia.es/qcontrec/pub/98001C301_1065007358343.pdf)
126. \_\_\_\_\_.; OJEDA, M.A.; BELAJ, A. 2006. Uso de marcadores microsatélites para el estudio de los recursos genéticos en olivo. (en línea). Córdoba, Universidad de Córdoba. Departamento de Agronomía. 2 p. Consultado 23 oct. 2009. Disponible en <http://www.ivia.es/mejora2006/apdf/OLIVO/082OLIVOtrujillo%20VALENCIA%20.pdf>
127. URBINA, H. A.1938. Cartilla del cultivo del olivo y Ley de Fomento Olivícola. Montevideo, MGAP. 16 p.
128. URUGUAY. MINISTERIO DE VIVIENDA ORDENAMIENTO TERRITORIAL Y MEDIO AMBIENTE. DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDIO AMBIENTE. s.f. Resumen 1. Identificación del proyecto. (en línea). Montevideo. 32 p. Consultado 16 ago. 2009. Disponible en

[http://www.dinama.gub.uy/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_download&gid=105&Itemid=372](http://www.dinama.gub.uy/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=105&Itemid=372)

129. VALADEZ, E; KAHL, G. 2000. Huellas de ADN en genomas de plantas (teoría y protocolos de laboratorio). México, Mundi-Prensa. 147 p.
130. VILAR, J.; VELASCO, M.M.; PUENTES, R. 2010. Información. Incidencia del modo de explotación del olivo sobre la renta neta del olivicultor. Estrategias para el cultivo extensivo en el contexto de la posible ausencia de subvenciones. (en línea). Grasas y Aceites. 61 (4): 430-440. Consultado 12 oct. 2011. Disponible en <http://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/viewPDFInterstitial/1320/1318>
131. VILLAMIL, J.; ALBÍN, A. 2006. Rubros alternativos de producción; olivos y aceite de oliva. Uruguay. (en línea). Revista INIA. no. 7: 31-34. Consultado 20 oct. 2011. Disponible en [http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/ara/ara\\_178.pdf](http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/ara/ara_178.pdf)
132. \_\_\_\_\_. 2009. La Olivicultura en el Uruguay.(en línea). In: Jornada de Divulgación de Rubros Alternativos; Arándanos y Olivos (2009, Treinta y Tres). Memorias. Treinta y Tres, INIA. s.p. Consultado 7 may. 2009. Disponible en <http://www.inia.org.uy/estaciones/ttres/actividades/Villamil.pdf>
133. \_\_\_\_\_.; CONDE, P.; VILLAMIL, J. J.; CABRERA, D.; RODRÍGUEZ, P. 2010. Evaluación de variedades de olivos en Uruguay. In: Congreso Nacional de Horti-Fruticultura (12º., 2010, Montevideo, Uruguay). Resúmenes. Montevideo, Facultad de Agronomía. pp. 108.
134. VILLAMIL, J.J.; PEREIRA, C.; KLISICH, A.; CONDE, P. 2007. Evaluación de variedades de olivo en Uruguay. In: Jornada de Divulgación (2007, Las Brujas, Canelones). Resultados experimentales en olivos. Montevideo, INIA. pp. 1-8.
135. VILLEMUR, P.; MOUTIER, N.; COUR, P.; CALLEJA, M. 2006. L'olivier; histoire et recherches; La pollinisation. INRA Mensuel. no.128: 24-29.
136. WU, S.-B.; COLLINS, G.; SEDGLEY, M. 2004. A molecular linkage map of olive (*Olea europaea* L.) based on RAPD, microsatellite, and SCAR markers. (en línea). Genome. 47: (1) 26–35. Consultado 9 oct. 2011. Disponible en <http://www.nrcresearchpress.com/doi/pdf/10.1139/g03-087>

137. YÁNEZ, V.O. 2002. Aislamiento y caracterización de marcadores moleculares microsatélites a partir de la construcción de librerías genómicas enriquecidas de Camote (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) Tesis para optar por el Título Profesional de Biólogo con Mención en Genética. Lima, Perú. Facultad de Ciencias Biológicas. 108 p. Consultado 5 nov. 2011. Disponible en [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/basic/ya%C3%B1ez\\_a\\_v/t\\_completo.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/basic/ya%C3%B1ez_a_v/t_completo.pdf)
138. ZAMUDIO, T. 2005. Bienes vivos. Biodiversidad. Diversidad genética. (en línea). Buenos Aires, UBA. Derecho. Consultado 25 oct. 2011. Disponible en <http://www.biotech.bioetica.org/clase3-7.htm>

