

IDENTIFICACIÓN Y CLASIFICACIÓN DEL OLIVAR MALAGUEÑO A TRAVÉS DEL ADN

Manuel-G. Claros, Remedios Crespillo, María L. Aguilar, Francisco M. Cánovas

Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, 29071 Málaga, España

INTRODUCCIÓN

El olivo fue introducido en la península ibérica por griegos y fenicios, los romanos expandieron su cultivo y mejoraron las técnicas de producción de aceite, y finalmente los árabes perfeccionaron las técnicas de obtención del aceite. Reflejo de este origen lo encontramos en la etimología de las palabras relacionadas con el mundo del olivo y el aceite: el vocablo "olivo" deriva del latín "olivum", un derivado de "olea" que a su vez deriva del vocablo griego "elaia". Por su parte aceite y aceituna derivan del árabe "az-zait" (jugo de aceituna) y "zaitum" que provienen del hebreo "zait". Durante la colonización de América fueron los españoles los que introdujeron su cultivo en zonas de California y Sudamérica.

En la actualidad España es el principal productor y exportador de aceite de oliva a nivel mundial si bien su producción sólo es el 30% de la producción mundial (Tardáguila y cols, 1996). Andalucía cuenta con el 60% de la superficie olivarera española y el 80% de la producción del país, lo que indica la alta productividad de los olivos andaluces. Dentro de Andalucía destaca la producción, por orden, de Jaén, Córdoba, Sevilla y Málaga. Es por tanto una fuente importante de recursos para la comunidad andaluza, y sin embargo son muy escasos los estudios realizados sobre la biología de este árbol. Botánicamente se la considera una única especie (*Olea europaea* L.) con dos subespecies: *sativa* correspondiente a los cultivados, y *sylvestris* (*oleaster* para otros autores) correspondiente a los silvestres (Green y Wickens, 1989; Rapoport, 1996). Por tanto no sería semánticamente correcto denominar "variedades" a los distintos tipos de olivos cultivados sino que debería usarse el término "cultivares", aunque durante este trabajo se seguirá utilizando el termino inicial. La diferenciación entre variedades se viene haciendo por características morfológicas y pomológicas únicamente (Barranco y Rallo, 1984). En general estas características son difíciles de evaluar puesto que están afectadas por interpretaciones subjetivas, el ambiente, y la etapa de desarrollo. Algunos intentos de caracterización se han apoyado en el análisis de isoenzimas, pero tampoco es una manera apropiada debido a que éstas son producto de una expresión génica influenciada por el ambiente,

la etapa del desarrollo y el tejido, por lo que hace su interpretación muy difícil. La introducción de los análisis basados en el ADN ha eliminado todos estos inconvenientes.

El ADN proporciona la oportunidad de comparar directamente el material genético independientemente de cualquier influencia, por lo que es una fuente ilimitada de marcadores moleculares. Esta idea ya la vio el gobierno israelí para proteger el comercio de la fresa y prevenir el contrabando de cepas desarrolladas en sus centros de investigación. Similares controles sobre las fresas se llevan a cabo por el gobierno británico para evitar la importación de fresas que hayan podido obtenerse a partir de cepas ilegales o de contrabando (Firon y cols, 1995). Por ahora no es posible elaborar marcadores de olivo de manera específica por dos razones: una es la ausencia de estudios moleculares sobre el olivo (con la única excepción del trabajo de Villaba y cols, 1994), y otra porque no existe una familia de árboles en la que estén perfectamente identificadas un mínimo de 3 generaciones para realizar análisis necesarios. Sin embargo en este trabajo se han sentado las bases que permitirán elaborar marcadores moleculares de olivo, además de conseguir la primera clasificación de parte del olivar andaluz.

RESULTADOS

Muestreo

La provincia de Málaga tiene una producción de aceite y aceituna de mesa importante basada principalmente en los cultivos de las variedades hojiblanca, aloreña y verdial de la Axarquía (figura 1)



Figura 1. Distribución de algunas de las principales variedades de olivo cultivadas en España.
Modificado de <http://www.ujaen.es/~fespino/>

Sin embargo, debido a sus características climáticas y orográficas, la provincia de Málaga presenta microclimas muy diversos que permiten el desarrollo de multitud de variedades distintas.

Con la idea de caracterizar las variedades de olivo a través del ADN, hemos rastreado 81 localidades de la provincia de Málaga. En cada localidad hemos elegido al azar 10 árboles de una variedad y tomado entre 4 y 10 hojas de cada árbol. Los árboles sueltos que no se sabe exactamente a qué pueden corresponder no se han considerado en el análisis. Aunque el rastreo fue muy exhaustivo, no podemos descartar que en algunas comarcas existan denominaciones distintas para estos mismos árboles o incluso que haya algunas variedades que no hayamos encontrado. Por ejemplo, hemos conocido denominaciones como carcacha o morcal de las que no hemos encontrado suficiente representación como para un muestreo representativo de la variedad, por lo que no sabemos si son sinónimos de otras variedades o bien nuevas variedades. Con ello esperamos ayudar a actualizar el último censo del olivar malagueño, que se realizó hace 23 años (Díaz Caffarena y cols, 1976).

Diferenciación de las variedades

Pusimos a punto un método fácil y rápido de extracción de ADN para el olivo, y también optimizamos para olivo la técnica de detección de ADN amplificados al azar (RAPD). Estamos trabajando para que en un futuro próximo este tipo de análisis esté disponible en cualquier tipo de laboratorio de cooperativa que lo desee, puesto que buscamos que el ensayo sea lo más sencillo, barato y repetitivo posible. Con esta técnica analizamos 62 marcadores arbitrarios de ADN, con lo que llegamos a determinar que en Málaga existen al menos 22 variedades de olivos distintas. Vamos a describir brevemente la terminología recomendada para estas variedades:

- *Acebuche de hoja chica*: es una la variedad silvestre de olivo que hemos encontrado tanto haciendo de patrones de aloreño o verdial, por ejemplo, o como árbol de porte arbustivo que crece esporádicamente en el campo. El nombre se lo hemos puesto porque sus hojas no son las típicas del olivo, sino más pequeñas y redonditas. En la serranía de Ronda es fácil encontrarlos. En algunas comarcas le llaman *bravío*.
- *Acebuche de hoja larga*: aparentemente idéntico al anterior, pero las hojas son más alargadas. También se puede encontrar en cultivos silvestre y como patrones
- *Arbequina*: variedad procedente de Lérida que se está introduciendo recientemente cada vez más en Málaga por la calidad del aceite, productividad y el rendimiento graso.
- *Blanqueta*: hemos encontrado una pequeña plantación en Periana. Aunque es procedente de Alicante, parece que se adapta muy bien a las condiciones de la Axarquía, sin tener nada que envidiar a las variedades locales. Ni esta variedad ni la anterior se encuentran en el último censo del olivar malagueño (Díaz Caffarena y cols, 1976).
- *Nevadillo blanco de la Axarquía*: variedad típicamente axarquense. Ya que en el libro de las variedades de Andalucía se utiliza este nombre para otra variedad, nosotros recomendamos el uso del modificador que lo diferencie claramente. En la Axarquía occidental se le conoce como *lechín* o *lechino*. Este sinónimo es el causante de un censo incorrecto del lechín de Granada en

la provincia de Málaga (Díaz Caffarena y cols, 1976). El nombre proviene porque cuando se carga de aceitunas, el envés de las hojas queda hacia arriba y el árbol, al reflejo del sol, parece nevado. El nombre de lechín es posible que tenga que ver con el color de sus aceitunas, más pequeñas y blancas que las de otras variedades. Quizá por esto en otras zonas de Málaga se le llama *blanquilla*.

- *Picudo de la Axarquía*: es una variedad estrechamente emparentada con el nevadillo blanco de la Axarquía. Se encuentra por la zona de El Borge y Almáchar, donde se denomina *picuillo*, aunque no descarta que su distribución pueda ser más amplia en la región.

- *Verdial de la Axarquía*: es la variedad emblemática de la Axarquía, donde se le conoce simplemente como *verdial* debido a que las aceitunas retienen más tiempo el color verde, incluso cuando ya están maduras. Pero dado que este nombre es corrientemente utilizado en otras localidades para otras variedades de similar comportamiento, aconsejamos el uso del calificativo “de la Axarquía” por ser más acorde con su distribución geográfica.

- *Aloreño*: variedad típicamente malagueña utilizada para las aceitunas machacadas tan típicas de Málaga. Es el árbol predominante de la provincia, que en muchas zonas recibe el indeterminado nombre de *manzanillo*.

- *Gordal de Archidona*: es una de las variedades típicas de la campiña antequerana, pero que el análisis de ADN no distingue claramente de otras. El árbol se caracteriza por el aspecto de “viejo”.

- *Verdial de Ronda*: variedad encontrada en Ronda que probablemente corresponda con el verdial de Huérvar por su localización geográfica, aunque las características del árbol no coinciden exactamente. Por eso lleva un nombre distinto en este trabajo.

- *Picudo de Ronda*: ésta es otra de las denominaciones que recibe en la comarca el nombre de picudo, a secas. No hemos encontrado ninguna variedad a la que puedan corresponder estos árboles y por eso llevan un nombre nuevo.

- *Picudo de El Burgo*: otro de los picudos de la provincia de Málaga. No hemos podido comprobar si se trata de una nueva variedad o un sinónimo de otra ya existente.

- *Hojiblanca*: abundatísimo en los cultivos intensivos de la vega antequerana, con uso para aceite y también para mesa. En otras comarcas de la provincia se le llama *campiñés* e incluso picudo en Ojén.

- *Hojiblanca de fruto gigante*: subvariedad de hojiblanca que se caracteriza por formar aceitunas al menos tan grandes como las gordales. Aunque es un árbol muy poco abundante, sería el adecuado para estudiar los mecanismos que provocan el crecimiento del fruto.

- *Zorzaleño*: árbol que llega a ser de gran porte que podría corresponder al que en otras partes de Andalucía se llama *pajarero*, pero no lo hemos comprobado.

- *Lechín de Granada*: se encuentran unos pocos ejemplares por la zona de Villanueva de Tapia a Alfarate, por la linde de la provincia de Granada.

- *Lechín de Sevilla*: variedad muy extendida por la parte occidental de la provincia, donde también recibe el nombre de *lechín de Écija*.
- *Manzanillo sevillano*: variedad introducida en Málaga para cultivo intensivo con el objeto de proporcionar aceituna de mesa.
- *Picual*: esta variedad originaria de Jaén se está utilizando, al igual que arbequina, en nuevas plantaciones en la provincia. A pesar de su productividad, rendimiento y facilidad de cultivo, no es un árbol que en general esté funcionando bien en Málaga. También se le encuentra bajo la denominación de *martelño*.
- *Morisco*: esta variedad se encuentra en Ronda y tiene un aspecto muy característico. Según el libro de las variedades de Andalucía, el nombre es incorrecto y debería utilizarse el de *manzanilla prieta*.
- *Picudo de Baena*: salvo en alguna finca de Cuevas de San Marcos, este árbol se suele encontrar aislado entre otros en la provincia de Málaga. Por su aspecto es inconfundible y en algunas localidades lo denominan *carrasqueño*. El nombre recogido en el libro de variedades es simplemente picudo, pero al igual que ocurre con la terminología “manzanilla”, es muy inespecífica y conviene añadirle un calificativo para diferenciarlo claramente de otros. De hecho en el último censo de olivar malagueño existe una confusión en los nombres entre martelño, picual y picudo.
- *Chorrúo*: éstos árboles raramente los hemos encontrado en Málaga en grandes extensiones, sino como árboles aislados dentro de otra plantación. Aunque se le suele denominar *llorones* por su aspecto, sus características morfológicas indican claramente que se trata de la variedad *chorrúo* o *faldúo* originaria de Córdoba.

Estas variedades tienen un fondo genético bastante homogéneo. La excepción la encontramos, como hemos podido ver, en los *picudos*: bajo esta denominación se recogen en Málaga una serie muy heterogénea de árboles. Por eso, de las 8 muestras de picudo tomadas, sólo hemos considerado 3 muestras distintas y bien caracterizadas que son las de Ronda (que es el más claramente distinto), de El Burgo y de El Borge (Axarquía) como muestras fiables. No conviene olvidar que estos picudos pueden corresponder tanto a variedades nuevas como a variedades ya identificadas en otra localidad no malagueña, y que precisamente por recibir el nombre de picudo se desconocía que estuvieran en nuestra provincia. La ventaja de realizar los análisis a través del ADN radica en que no es dependiente de las condiciones medioambientales ni del criterio subjetivo del investigador para identificar cada variedad con exactitud y facilidad. Esperamos así conocer en el futuro si los distintos picudos malagueños analizados en este trabajo son variedades nuevas o ya estaban identificadas en otra localidad.

Clasificación de las variedades

Hasta ahora no se había realizado ninguna clasificación de los olivos por sus características morfológicas, sino que simplemente se habían diferenciado unos de otros con estos criterios.

Mediante la presencia/ausencia de los 62 marcadores utilizados hemos logrado establecer una primera clasificación de las 22 variedades (Figura 2). El uso de distintos algoritmos matemáticos para hacer la clasificación no ha cambiado esencialmente los tres grandes grupos que surgen claramente.

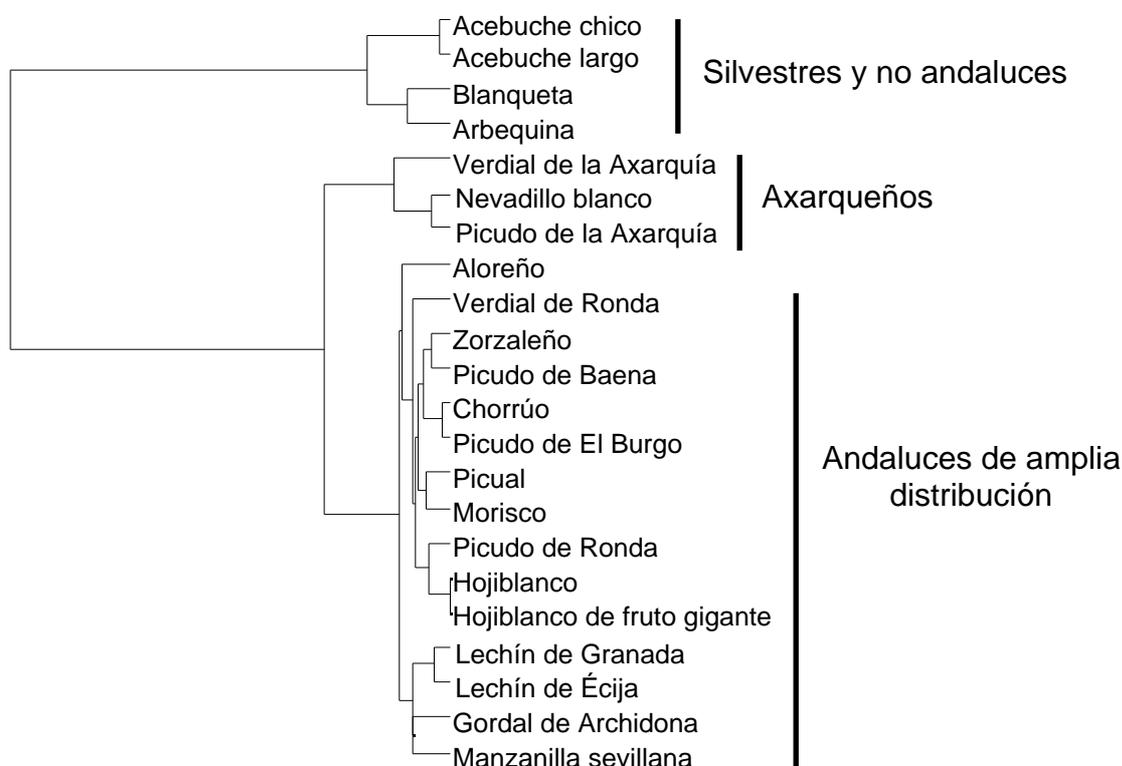


Figura 2. Clasificación de las 22 variedades identificadas en Málaga donde se distinguen los 3 grupos principales.

Los 3 grandes grupos que se pueden hacer con las variedades encontradas en Málaga son los siguientes:

1/ Olivos silvestres y olivos no andaluces.

El acebuche, olivo silvestre (bravío en algunas comarcas) aparece muy distinto al resto de las variedades a pesar de que se supone que todos los olivos cultivados derivan de él. Conviene recordar aquí algo que ya señalaron los griegos: el cruce de dos variedades distintas produce árboles generalmente no aptos para el cultivo y que “parecen” acebuches, aunque no lo son realmente. En este mismo grupo aparecen dos variedades no andaluzas de reciente implantación, lo que puede ser debido a que comparten con el acebuche muchas características silvestres, o a que todos ellos son muy distintos al tipo de olivo que ha sido seleccionado a lo largo de los siglos en Andalucía en general, y en Málaga en particular.

2/ Olivos malagueños.

Las variedades típicamente malagueñas (verdial, nevadillo y picudo axarqueños) aparecen claramente diferenciados del resto. Hay que señalar que este nevadillo blanco no es el mismo

que se recoge en el libro de las variedades de Andalucía Barranco y Rallo, 1984), sino una nueva variedad. El picudo axarqueño es probablemente una variante del nevadillo blanco según se puede deducir de la poca distancia genética que los separa. En cambio hay que destacar que tanto el verdial como el nevadillo, si bien son árboles de distinto porte y fruto (lo que les hubiera clasificado lejos en un agrupamiento por criterios morfológicos), se encuentran muy relacionados genéticamente, lo que puede explicar que sean capaces de producir un aceite muy similar. Durante el muestreo pudimos comprobar que hay verdial de la Axarquía en la zona de San Pedro de Alcántara, pero los árboles no presentan un aspecto muy saludable, quizá porque el clima y el suelo no sean adecuados. Lo mismo se puede decir del nevadillo blanco localizado en la campiña de Antequera, donde su producción es baja en cantidad y calidad, según nos aseguraron los agricultores. Por tanto puede pensarse que ambas variedades son muy características de la Axarquía y que posiblemente en otro entorno no darían ni la misma productividad ni la misma calidad.

En cambio el aloreño, otra variedad típica de Málaga que se utiliza esencialmente para aceituna de aliño, unos análisis lo integran entre los de amplia distribución (Figura 2), y otros análisis lo acercan a los olivos malagueños (Figura 3). El gordal de archidona sí queda más claramente integrado entre las de amplia distribución, aunque más cerca del aloreño que de los lechines (observese el punto de la rama de donde sale esta variedad). Todos estos resultados sugieren que la selección ejercida sobre estas dos variedades es diferente a la sufrida por los olivos axarqueños, lo que no resultaría extraño dadas las diferentes condiciones climáticas y orográficas de ambas localidades.

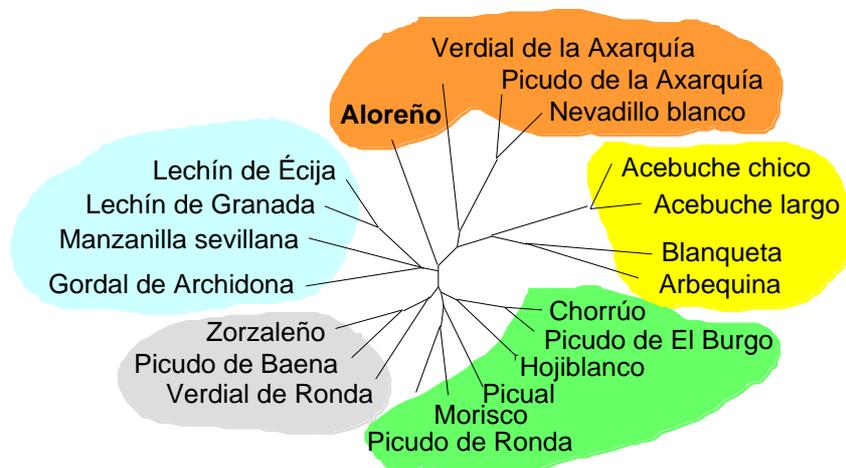


Figura 3. Clasificación de los olivos de la provincia de Málaga con distinto criterio al utilizado en la figura 2. Puede observarse cómo ahora la variedad aloreña se encuentra entre las axarqueñas (marrón) y las de amplia distribución (celeste, gris y verde).

3/ Olivos de amplia distribución

El último grupo correspondería a las variedades cuya distribución no es tan dependiente del clima o los suelos. La mayoría de las variedades, con excepción quizá de los picudos, que

se encuentran en este grupo, aunque sean predominantes de una zona, se pueden encontrar ampliamente distribuidas por Andalucía y algunas hasta fuera de ella. Sería necesario analizar más marcadores moleculares para intentar buscar algún tipo de sesgo entre ellas, aunque no deja de ser significativo que los resultados presentados puedan distinguir las variedades foráneas y malagueñas del resto de las variedades.

En definitiva, la gran evidencia que surge al estudiar esta clasificación es que los olivos no parecen estar agrupados por similitudes morfológicas sino que parece predominar la localización geográfica. Este fenómeno es fácilmente explicable porque el olivo no ha sufrido sólo una selección natural, sino que también ha soportado una intensa selección artificial para priorizar las variedades de alto rendimiento y de aceites consumibles.

REPERCUSIONES SOCIOECONÓMICAS

Los resultados obtenidos tienen una aplicación práctica que se puede resumir de la siguiente forma:

- Censo fiable de las variedades de olivos, estableciendo los sinónimos y los homónimos correspondientes. Posible establecimiento de relaciones filogenéticas entre ellos. Esto equivale a llevar un control exacto sobre las variedades que se están cultivando en cada finca.
- Creación de patentes sobre los métodos de análisis varietal que permitan realizar los análisis mencionados en el párrafo anterior.
- Apoyo de las peticiones de denominación de origen con una huella dactilar de los olivos implicados en la misma.
- Expedición de certificados varietales que permitan asegurar las variedades que se han utilizado en la elaboración del aceite, especialmente en aceites con denominación de origen. Sería análogo al “DNI” de los olivos, como se ha recogido recientemente en la prensa escrita.
- Evitar que en compras masivas de plántulas de olivo se puedan incluir pies que no son lo que se asegura, puesto que el análisis de una sola hoja de una plántula permitiría identificar la variedad.
- Simplificar las técnicas de mejora genética del olivo puesto que permitiría seleccionar sólo aquellas aceitunas que contengan los marcadores que interesen.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren agradecer a Luis Martín González, Perito Agrícola de la delegación

de Málaga de la Consejería de Agricultura y Pesca, su colaboración a la hora de la identificación y recolección de muestras de olivo de la provincia de Málaga.

BIBLIOGRAFÍA

- Barranco, D. and Rallo, L. (1984). Las variedades de olivo cultivadas en Andalucía. Madrid, Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía e Instituto de Estudios Agrarios, Pesqueros y Alimentarios.
- Díaz Caffarena, M., López Santos, P., de la Puerta Castelló, C., Vasserot Fuentes, A. and González Pérez, M.G. (1976). Inventario agronómico del olivar. IV: Provincia de Málaga. Madrid, Ministerio de Agricultura.
- Firon, N., Soferman, O., Izhar, S. (1995) DNA fingerprinting for identification of strawberry varieties: guarding intellectual property rights, prevention of variety smuggling and quality control. *Hassadeh Int.* pp 11-14
- Green, P.S. and Wickens, G.E. (1989) The *Olea europaea* complex. In K. Tan (ed), *The Davis and Hedge Festschrift*. Edinburgh University Press, Edinburgh, pp.287-299.
- Rapoport, H. F. (1996) Botánica y Morfología. En D. Barranco, R. Fernández-Excoabar, L. Rallo (eds), *El cultivo del Olivo* . Junta de Andalucía - Mundi-Prensa, Madrid, pp. 35-60
- Tardáguila J., Montero F., Olmeda M., Alba J., Bernabéu R. (1996) Análisis del sector del aceite de oliva. Alimentación Equipos y Tecnología. <http://www1.ujaen.es/~fespino/javier/paper.htm>
- Villalba, M., Batanero, E., Monsalve, R.I., Delapena, M.A.G., Lahoz, C. and Rodriguez, R. (1994). Cloning and Expression of Ole-E-I, the Major Allergen from Olive Tree Pollen - Polymorphism Analysis and Tissue-Specificity. *J Biol Chem*, 269, 15217-15222.