

Resumen

Actualmente, el consumo de aceituna de mesa ha crecido significativamente paralelo al aumento de la producción. Como resultado se comercializan grandes volúmenes de aceituna de mesa de las variedades de los países productores de todo el mundo. Las empresas comercializadoras en ocasiones utilizan la denominación de aceituna española para introducir su producto en países importadores donde la aceituna de mesa tiene una imagen de calidad. Esta situación supone un claro perjuicio tanto para la industria de aceituna de mesa española, para el consumidor que recibe un producto no auténtico.

En el presente trabajo, se ha puesto a punto la extracción y amplificación de ADN a partir de pulpa de aceituna fresca y aderezada mediante dos protocolos estandarizados, rápidos y de fácil aplicación. Por una parte se analizó la pulpa de aceitunas frescas de las 47 variedades más utilizadas como aceituna de mesa a nivel mundial incluidas en el Banco Mundial de Germoplasma de Olivo de Córdoba. Los análisis para cada variedad se realizaron en tres estados de maduración del fruto (verde, envero y rojo-violeta) con el fin de comprobar su influencia en la cantidad y calidad del ADN extraído. El análisis de ADN de estas muestras se realizó mediante la aplicación de un conjunto de 12 marcadores tipo SSR. El protocolo 'DNeasy Mini' (Qiagen, Madrid) permitió extraer ADN de los frutos frescos en cantidad y calidad suficiente sin apreciarse influencia significativa del estado de maduración. Los perfiles genéticos SSR obtenidos a partir de ADN de la pulpa de frutos frescos fueron iguales a los obtenidos a partir de ADN de hojas de las mismas variedades. Se observó un alto nivel de polimorfismo en el conjunto de marcadores SSR seleccionados. El marcador más polimórfico fue DCA09 mientras que el marcador DCA05 resultó poco útil en la identificación varietal. Por otra parte, aplicando los protocolos de amplificación y extracción de ADN optimizados en este estudio se han autenticado 13 muestras comerciales de aceituna de mesa para las que se han obtenido los mismos perfiles SSR en pulpa de aceituna no aderezada y en tejido de hoja. Se ha obtenido amplificación para 7 marcadores SSRs de un total de 12 ensayados. Los 5 SSRs restantes requieren una mayor optimización en las condiciones de amplificación de PCR. Aunque el ADN extraído a partir de pulpa aderezada en negro artificial presenta menor calidad no impide su amplificación. La identificación molecular de las aceitunas aderezadas fue confirmada con el estudio de sus endocarpos permitiendo confirmar que la denominación comercial coincidía con su identidad varietal real.

Summary

Currently, table olive consumption has grown substantially parallel to the increase of olive production. As a result, large volumes of table olives of cultivars from the main producing countries are trade worldwide. Marketing companies sometimes use the name “Spanish Olives” to introduce their product into importing countries where Spanish table olives have a meaning of quality. This situation poses a clear damage for the Spanish table olive industry and also, for the consumer who receives a not authentic product.

In this work the extraction and amplification of DNA from fresh and pickled olive pulp has been optimized by means of two standard protocols characterized by their quick and easy application. On one hand DNA from the fresh olive pulp of 47 main table olive cultivars worldwide included in the WOGB of Cordoba, were analyzed. Each cultivar was analyzed at three stages of fruit ripening (green, colouring of ripening fruit and red-violet) in order to verify the influence of this characteristic on the quantity and quality of the extracted DNA. DNA analysis of the samples was performed by applying a set of 12 SSR markers. The application of the 'DNeasy Mini' protocol (Qiagen, Madrid) lead to sufficient quantity and quality DNA from fresh fruit in which any influence of the fruit ripening stage was observed. The SSR genetic profile obtained from fresh fruit pulp DNA was equal to those obtained from DNA from leaves of the same cultivars. The selected set of SSR markers produced a high level of polymorphism being DCA09 the most polymorphic marker and DCA05 the least useful one for olive cultivars identification. On the other hand, by using DNA extraction and amplification protocols optimized in this study, 13 commercial olive table samples were authenticated. SSR profiles from pickled olive pulp were equal to those obtained from tissue of leaves. Seven out of 12 SSR amplified, the five remaining SSRs require further optimization of their PCR amplification conditions. Although the DNA extracted from the pulp of black table olive has a lower quality it is possible the amplification of its DNA. Molecular identification of table olive cultivars was confirmed by the morphological study of their endocarps allowing us to confirm that the cultivar identity was in coincidence with the information indicated by their commercial labels.