

Uso de Marcadores Moleculares aplicados à rastreabilidade dos Azeites

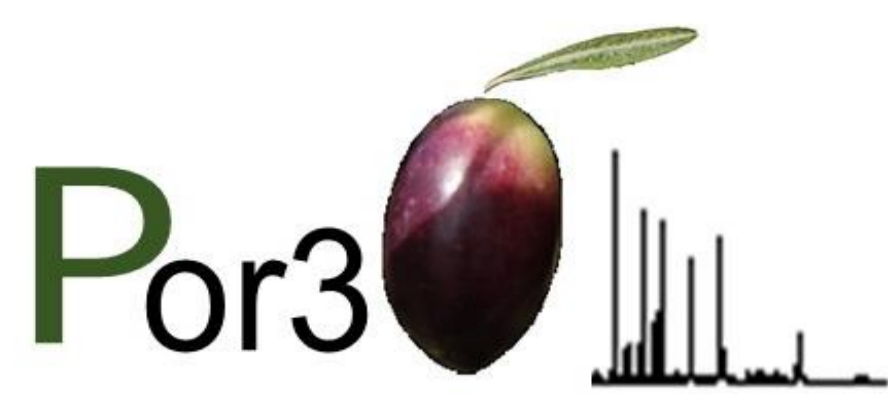
Ana Catarina Marques^{1&}, Andreia Dias^{1&}, Hélia Cardoso^{1*}, Isabel Velada¹, Teresa Carvalho², Tânia Nobre¹, Maria João Cabrita³

¹ICAAM- Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Universidade de Évora, Pólo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, Portugal.

²INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., UEIS Biotecnologia e Recursos Genéticos, Elvas, Portugal.

³Departamento de Fitotecnia, Escola de Ciências e Tecnologia, ICAAM, Universidade de Évora, Pólo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, Portugal.

*Estes autores contribuíram de igual forma para o trabalho apresentado. *Autor correspondente: hcardoso@uevora.pt



INTRODUÇÃO

A oliveira (*Olea europaea* L.) é uma das mais antigas culturas arbóreas da bacia do Mediterrânico [1], com uma importância económica, social e cultural inegável na região. A qualidade e características do azeite depende significativamente da escolha da variedade que lhe dá origem. Dado o seu impacto económico, estes produtos podem tornar-se alvo de fraudes e adulterações [2]. Neste contexto, várias Instituições Internacionais têm ativamente elaborado regulamentação de antifraude, exigindo um controlo mais rigoroso nos países produtores e importadores, impondo normas uniformes de



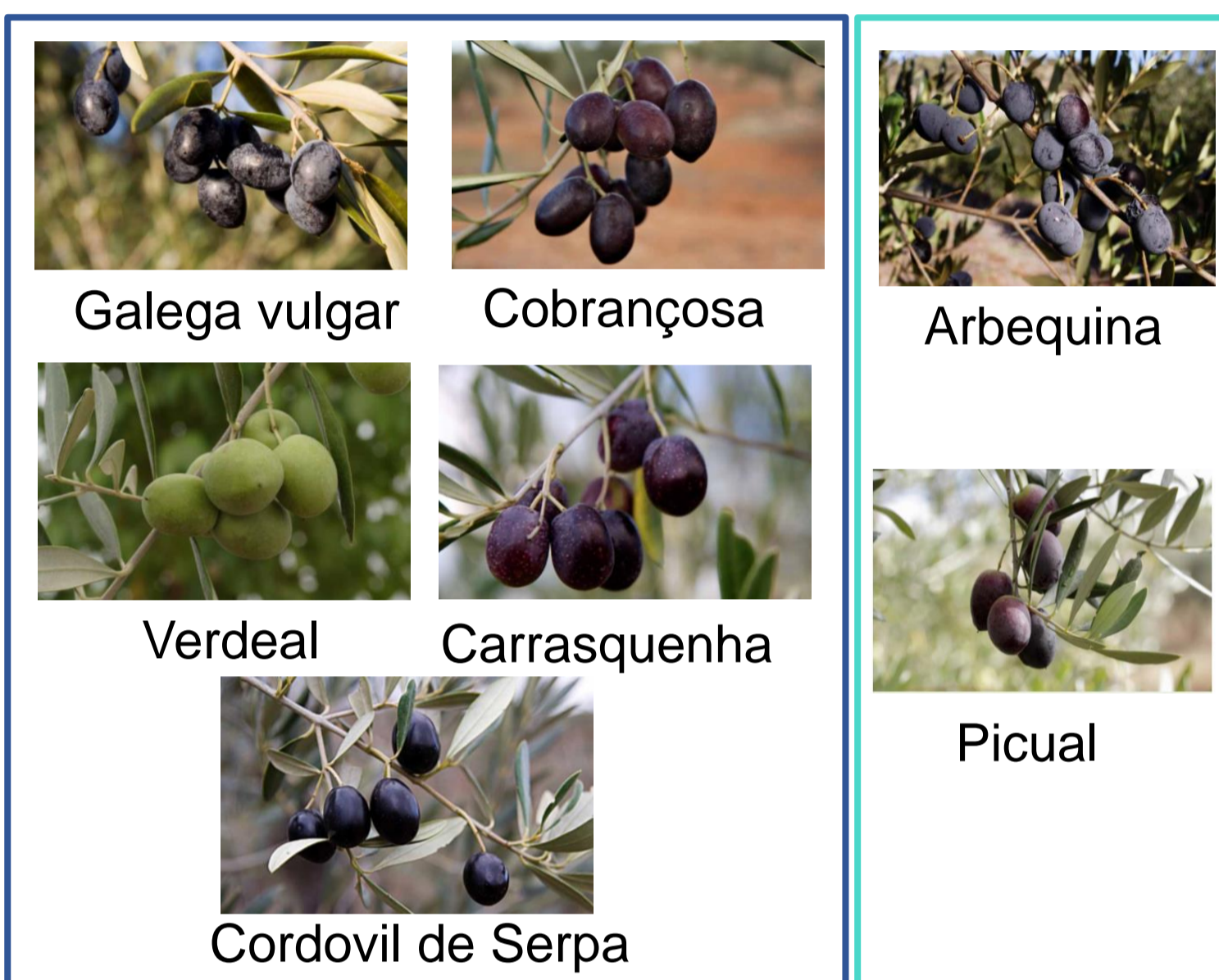
rotulagem e técnicas instrumentais precisas na rastreabilidade do azeite [2]. Urge o desenvolvimento de métodos que permitam a identificação com precisão das variedades de oliveira, permitindo proteger a tipicidades destes produtos.

Objetivo:

Desenvolvimento de uma ferramenta molecular que permita a identificação varietal presente num determinado azeite. Idealmente, essa ferramenta a demonstrar-se robusta, poderá ser proposta para a deteção de fraudes e apoio à certificação do azeite.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Seleção de variedades



Variedades Portuguesas

Variedades Estrangeiras

2. Amostragem

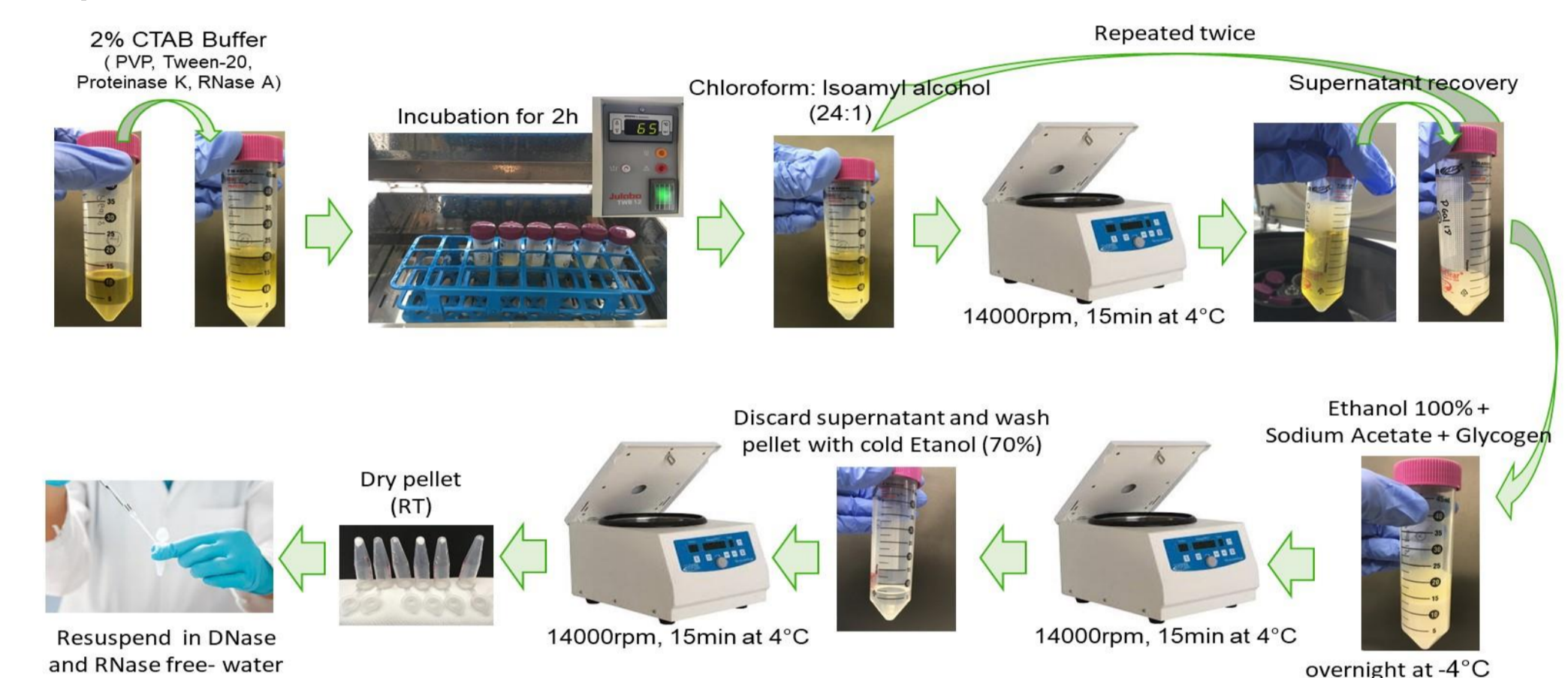
Folhas recolhidas de árvores de:

- 5 olivais do Alentejo (1 campo INIAV - Elvas)
- 3 árvores por olival



3. Extração de DNA de material vegetal e de azeite

- Extração de DNA das folhas:** folhas previamente homogeneizadas em azoto líquido foram utilizadas para extração com o kit *Tissue DNA SEV Purification*, adaptado ao equipamento *Maxwell* (Promega).
- Extração de DNA dos azeites:** seguiu-se um protocolo baseado em CTAB [1] abaixo esquematizado.

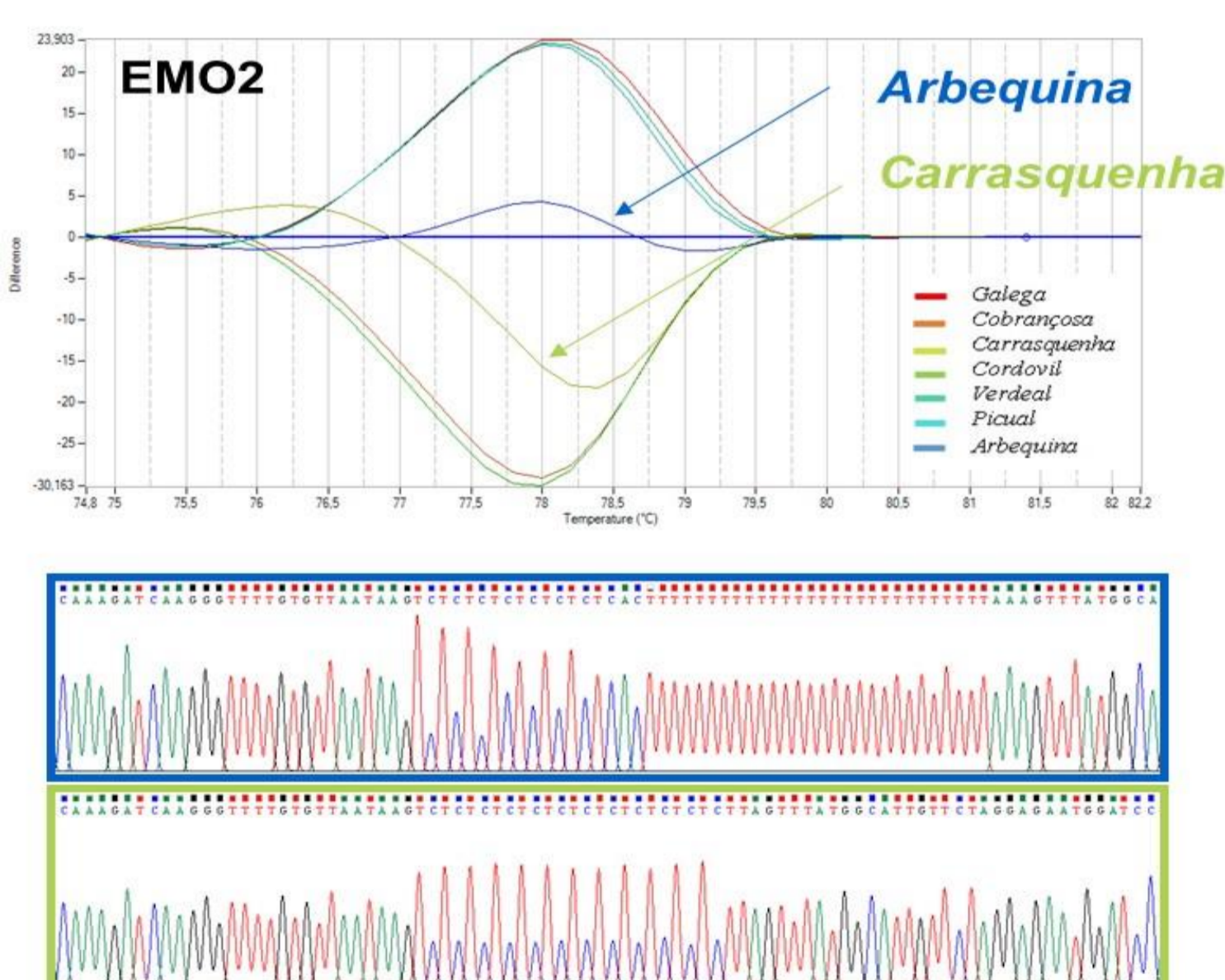


RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estabelecimento da metodologia – Seleção dos SSRs

Inicialmente selecionaram-se 31 microssatélites (*Simple Sequence Repeats*, SSRs) tendo em conta estudos de genotipagem realizados em oliveira.

Para a fase de estabelecimento das metodologias de HRM e análise de fragmentos utilizou-se o DNA extraído das folhas.



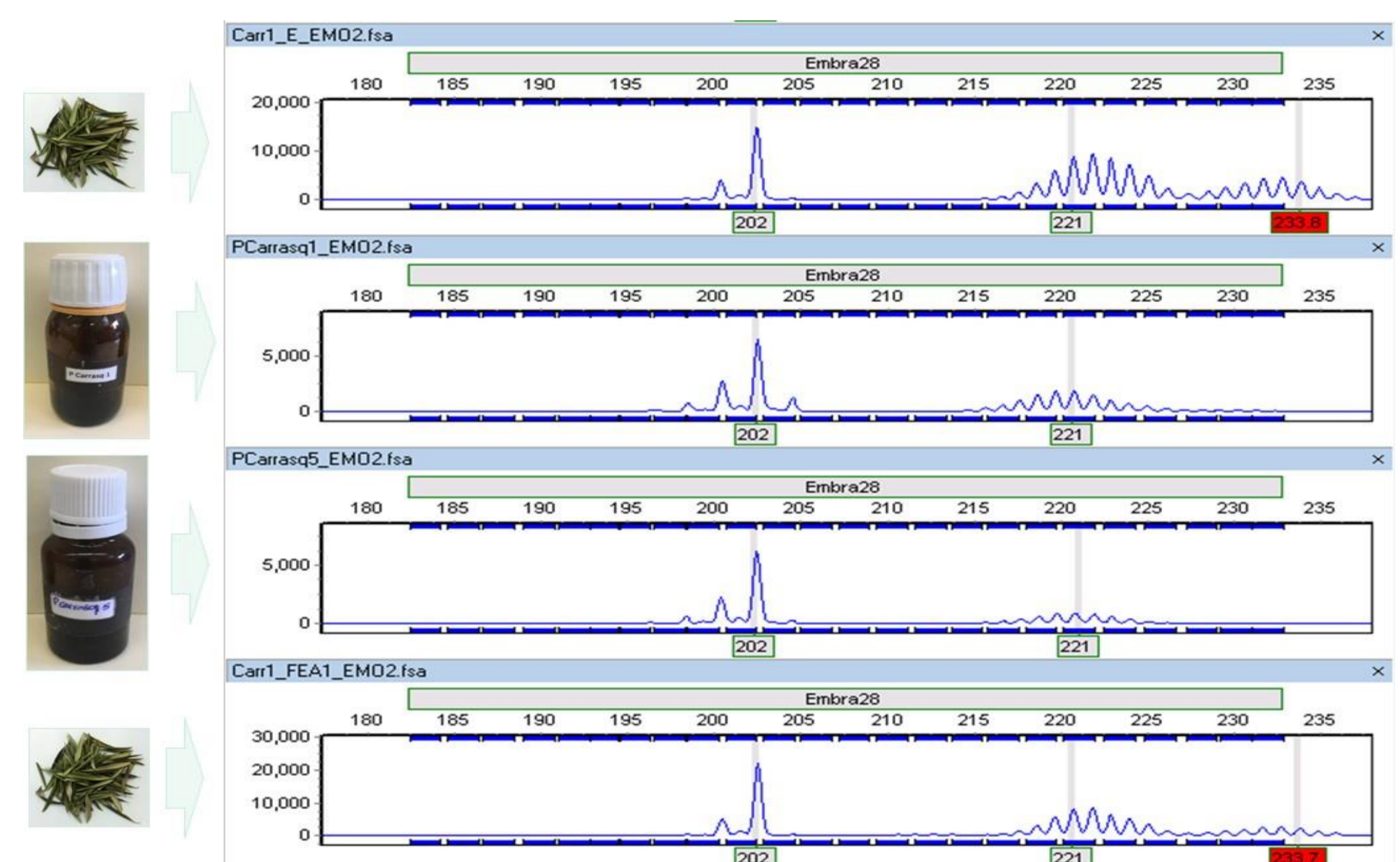
Equipamento gentilmente cedido pela Doutora Joana Reis (Dep. Veterinária da Universidade de Évora)

Com a técnica de HRM, que permite analisar a composição de uma sequência amplificada, foi possível selecionar um conjunto mais restrito de marcadores com capacidade de discriminar as 7 variedades de oliveira.

A validação dos SSRs por análise do padrão alélico (análise de fragmentos por electroforese capilar) permitiu estabelecer quais os 3 SSRs que seriam suficiente para discriminar as variedades em estudo.

Validação da metodologia na rastreabilidade de azeites

A aplicabilidade dos 3 SSRs na rastreabilidade de azeites foi avaliada em azeites monovarietais (extraídos de frutos recolhidos de árvores da coleção Nacional de Variedades de oliveira – INIAV, utilizando o sistema Abencor).



O padrão alélico obtido por amplificação dos SSRs a partir do DNA isolado das folhas foi idêntico ao obtido utilizando o DNA isolado do azeite, o que nos permite identificar a variedade utilizada na produção desse azeite.

CONCLUSÕES

- ▶ O procedimento experimental estabelecido poderá futuramente ser empregue como uma ferramenta eficiente para identificação de variedades de oliveira utilizadas na produção de azeites monovarietais.
- ▶ A mesma abordagem poderá ser testada para a análise de azeites *blend* resultantes de uma mistura das variedades consideradas neste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Katia Raieta, Livio Muccillo and Vittorio Colantuono. A novel reliable method of DNA extraction from olive oil suitable for molecular traceability. *Food Chemistry*, 172, 2015, 596–602; [2] Ramón Aparicio, María T. Morales, Ramón Aparicio-Ruiz, Noelia Tena, Diego L. García-González. Authenticity of olive oil: Mapping and comparing official methods and promising alternatives. *Food Research International* 54, 2013, 2025–2038.

AGRADECIMENTOS

Este Trabalho foi financiado pela FCT (Fundação para a Ciência e a Tecnologia) no âmbito do Projeto Por3O – “Portuguese Olive Oil Omics for traceability and authenticity” (PTDC/AGRPRO/2003/2014) e por fundos nacionais através do UID / AGR / 00115/2019.