



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

20 Luglio 2021

Le attività di ricerca e i risultati del progetto **BEE-RER-2**



Luca Fontanesi
Dipartimento di Scienze e
Tecnologie Agro-alimentari
Università di Bologna

luca.fontanesi@unibo.it

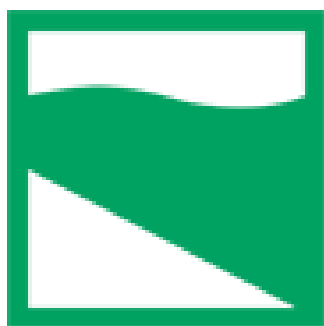


Unione Europea



mipaaf

ministero delle politiche
agricole alimentari e forestali



Progetto realizzato con il contributo del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali, Regolamento UE 1308/2013, Programma 2020/2021, sottoprogramma ministeriale Regione Emilia-Romagna, Misura F (DELIBERAZIONE DELLA GIUNTA REGIONALE 28 LUGLIO 2020, N. 939; Reg. (UE) 1308/2013 e L.R. 4 marzo 2019, n. 2. Programma regionale triennale 2020-2022. Miglioramento produzione e commercializzazione prodotti apicoltura. Approvazione avviso pubblico per la presentazione delle domande sulla seconda annualità 2020/2021 – OCM Apicoltura.



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

<https://site.unibo.it/bee-rer/it/>



PROGETTO DI RICERCA BEE-RER

HOME

IL CONTESTO

IL PROGETTO

LINEE GUIDA PER IL CAMPIONAMENTO

LE PERSONE

GLI EVENTI



<https://www.facebook.com/progettoBEERER/>

@progettoBEERER



<https://www.linkedin.com/company/bee-rer>



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-alimentari (DISTAL)

Samuele Bovo



Anisa Ribani



Giuseppina Schiavo



Valeria Taurisano



Valerio Joe Utzeri



Luca Fontanesi

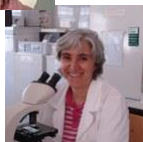


Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie (DIMEVET)

Gloria Isani



Roberta Galuppi



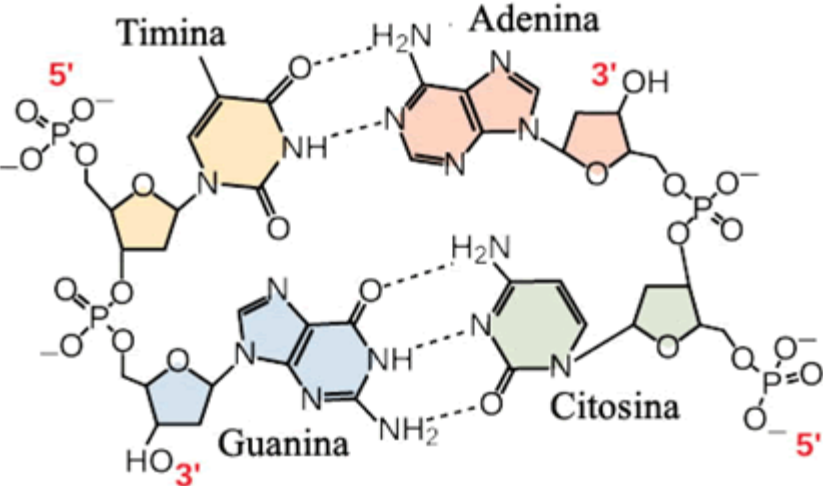
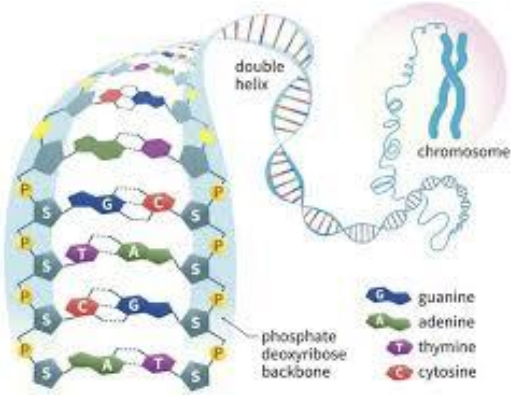
ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Titolo del progetto

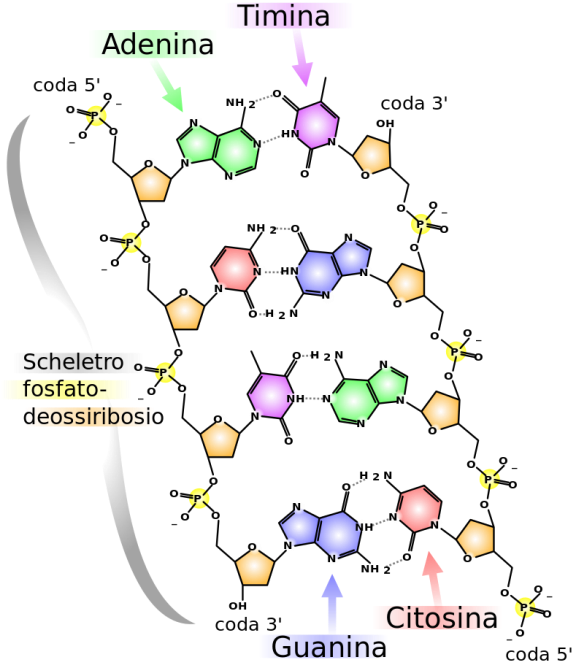
“L’analisi del DNA ambientale del miele e delle api e approcci per la valorizzazione e la difesa delle produzioni apistiche e per il monitoraggio degli aggressori dell’alveare in Emilia-Romagna (**BEE-RER-2**)”



Che cos'è il DNA



A T C G



Che cos'è il DNA

ATTTATATAGTTTAAAAAAACATTATATTTTCAATATAAAAAATAATTAAATTTAATTTATAAATATAAT
TAAGTCAAATTTAATTTAAATAACAAATAAATAACCTAAAAATTATTTATTAATAAAGAAATATCAATAA
ATAAAGCTTCTAACTTTAACTCTAGATTCGTAAATAATCTATATTTCTTATTATACAAATTTAAATAAATA
TTAATTTTAAAATAAAATTATATAATAAGCTAAATAAAGCTAACAGGTTTCATACCCTGTCGATAAATTAA
TAATTTTATATAAATTATTAAATTTATTTTAGTGTTTAAGCACATAAAATTTTGAATTTTATAGTATTA
ATTAATTAATAAATTGGATATTAGTTATAAATAATAACATTTAAATTGCATTTAAAAATTAATATTTTA
TATATTATATCTAAAAAGTAATATGTCTGATAAAAGAAATATTTTGATAAAATATTAATGTATAATTTTT
ATATATACTATTAATTATCTTCTTCATAAATTTTAAATACCACTGATTTATCTATCTTTTAAATTACTATC
TTTGTATTAATAATAAATCCAATAATATTTTTATTCAATGAATATTAATAGAATTTGGTACAATCATTAA
GAATTAGACTAATTAATATTAATCCACAAATAAAACCCCGAGATTAATTTATTATTTCAGTATCAGTAAT
TTCAAGAATTTTTTTTATTCTTTATAATTATTGTATACTTATCATCTATTAGATTTACTAAAACAGATACT
TTTAATTTTATAGTTCAAATAATATTTTTTTTTAAAATTGGAACTTTCCCTTTTCATTTTTTGAACAATTT
ATTCTTATGAAATAATAAATTGAAAGCAAATTTTTTTAATATCAACATTAATCAAATTTATTCCAATTTA
TATAATAGTTTCAATAACTAAAATTAATTCATGAACATTATATTTTTTTAATTACAAATAGATTATATATT
TCATTTTATGCTAATAAATTTTACACTCTAAAAAAATTACTAGCATGTTCAACAATTTTTAATTCATTCT
ATTTTATTTTTTATTTTAGAATTAATAAGGAATATATTTATTGCTATAAATTATTTTATATTCATTTAATTA
TTTTTTATTAATTAGATTCTTAAATAAATTTAATATTCAAATTTTAAATTTTATATTTTATAATAAATAT
CAAATATACACATTCTTAACATTAATATTTAATTATTCAATATATCCAATTTTTCTTTTCATTTGTAATTA
AATGAAATCTAATTTTTTATAATAGTAAGAGTTAAAGCTTATAATTGAATTTTATTTCTTTTAATAATTTT
TAGAATATTAATAATTTGAAATTATATTATTTTAAAACGTGTATTTTTAAAATAAATTTTTATAAAA
AATAATTTTATTGATGATAAAGATAATAAATATATATATCATAGATATTTTGCACCTTATACTTCTTTTCAT
TTAATGTTTCATTTTTTTATTACATTAAATTTTTTATAAATTATTATAATTATGATGTTAATAATTAATCT
TCAAATTTGCAATCTGATGTTTTATATTTTAAACTATAATAATTTATTTACCATGATATAGTATAGTATT
AGAAAAATTTAATTTTCAATTTTAAATTTACAATTTAACTCTTATTTAGATTTAATACTAAGTAAGAT



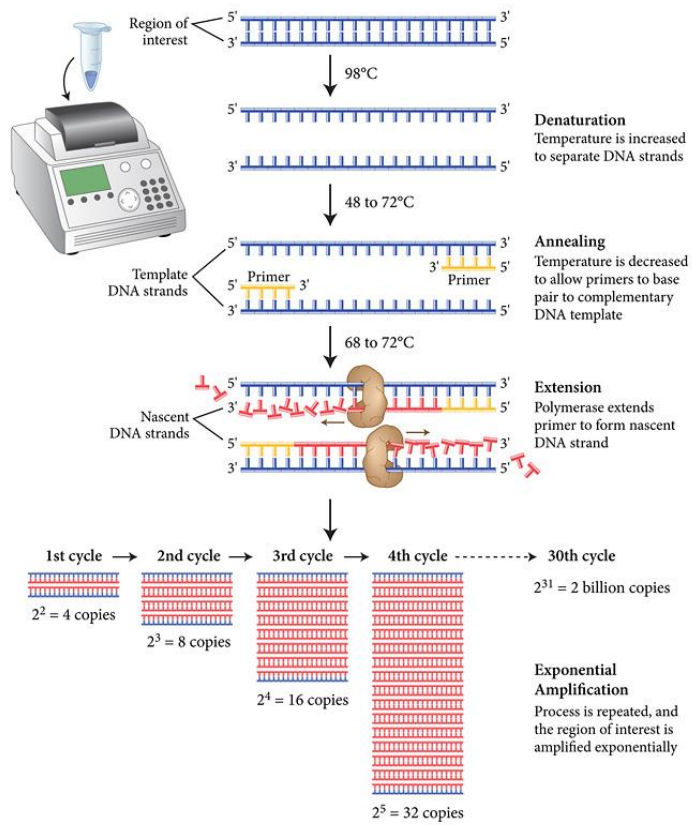
Che cos'è il DNA

ATTTATATAGTTTAAAAAAACATTATATTTTCAATATAAAAAATAATTAAATTTAATTTATAAATATAAT
TAAGTCAAATTTAATTTAAATAACAAATAAATAACCTAAAAATTATTTATTAATAAAGAAATATCAATAA
ATAAAGCTTCTAACTTTAACTCTAGATTCGTAAATAATCTATATTTCTTATTATAGCAATTTAAATAAATA
TTAATTTTAAAATAAAATTATATAATAAGCTAAATAAAGCTAACAGGTTTCATACCCTGTCGATAAATTAA
TAATTTTATATAAATTATTAAATTTATTTTAGTGTTTAAGCACATAAAATTTTGAATTTTATAGTATTA
ATTAATTAATAAATTGGATATTAGTTATAAATAATAACATTTAAATTGCATTTAAAAATTAATATTTTA
TATATTATATCTAAAAAGTAATATGTCTGATAAAAGAAATATTTTGATAAAATATTAATGTATAATTTTT
ATATATACTATTAATTTATCTTCTTCATAAATTTTAAATACCACTGATTTATCTATCTTTTAAATTACTATC
TTTGTATTAATAATAAATCCAATAATATTTTTATTCAATGAATATTAATAGAATTTGGTACAATCATTAA
GAATTAGACTAATTAATATTAATCCACAAATAAAACCCCGAGATTAATTTATTATTTCAGTATCAGTAAT
TTCAAGAATTTTTTTTATTCTTTATAATTATTGTATACTTATCATCTATTAGATTTACTAAAACAGATACT
TTTAATTTTATAGTTCAAATAATATTTTTTTTTAAAATTGGAACTTTCCCTTTTCATTTTTTGAACAATTT
ATTCTTATGAAATAATAAATTGAAAGCAAATTTTTTTAATATCAACATTAATCAAATTTATTCCAATTTA
TATAATAGTTTCAATAACTAAAATTAATTCATGAACATTATATTTTTTTAATTACAAATAGATTATATATT
TCATTTTATGCTAATAAATTTTACACTCTAAAAAAATTACTAGCATGTTCAACAATTTTTAATTCATTCT
ATTTTATTTTTTATTTTAGAATTAATAACAATATATTTATTGCTATAAATTATTTTATATTCATTTAATTA
TTTTTTATTAATTAGATTCTTAAATAAATTTAATATTCAAATTTTAAATTTTATATTTTATA----ATAT
CAAATATACACATTCTTAACATTAATATTTAATTATTCAATATATCCAATTTTTCTTTTCATTTGTAATTA
AATGAAATCTAATTTTTTATAATAGTAAGAGTTAAAGCTTATAATTGAATTTTATTTCTTTTAATAATTTT
TAGAATATTAATAATTTGAAATTATATTATTATTTTAAAACGTGTATTTTTAAAATAAATTTTTATAAA
AATAATTTTATTGATGATAAAGATAATAAATATATATATCATAGATATTTTGCACCTTATACTTCTTTTCAT
TTAATGTTTCATTTTTTTATTACATTAAATTTTTTATAAATTATTATAATTATGATGATAAATAATTAATCT
TCAAATTTGCAATCTGATGTTTTATATTTTAAACTATAATAATTTATTTACCATGATATAGTATAGTATT
AGAAAAATTTAATTTTCAATTTTAAATTTACAATTTAACTCTTATTTAGATTTAATACTAAGTAAGAT



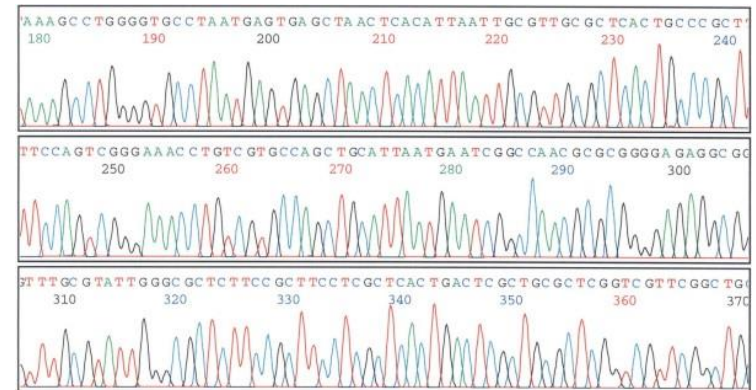
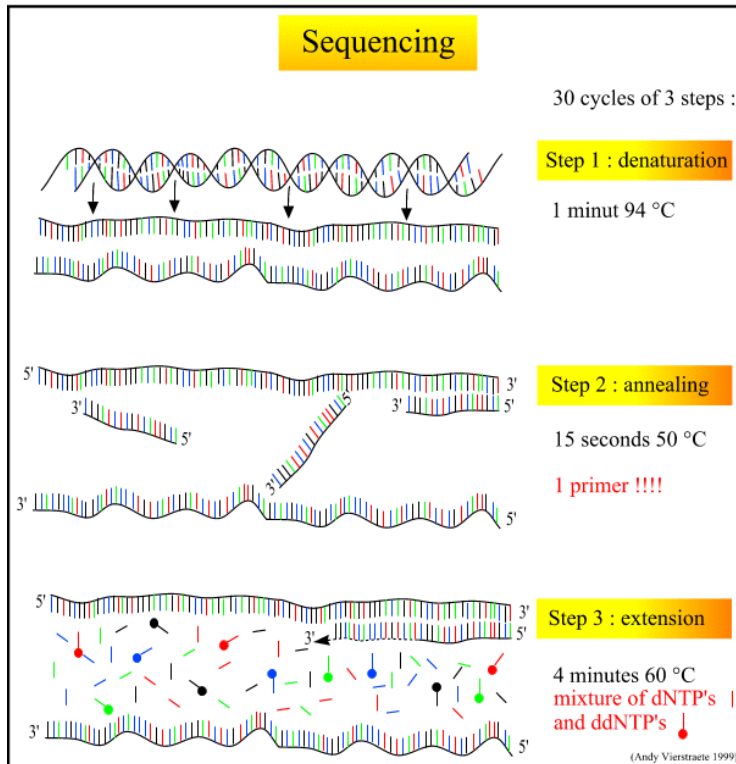
Come si analizza il DNA

Polymerase Chain Reaction (PCR)



Come si analizza il DNA

Sequenziamento – Metodo Sanger



Come si analizza il DNA

Sequenziamento – Next Generation Sequencing

ARTICLE

doi:10.1038/nature12042

An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing

Jourdain M. Rothberg¹, Wolfgang Hain¹, Todd M. Anzick¹, Jonathan Schukit¹, William Miller¹, Mel Dorer¹, John H. Leamon¹, Kim Johnson¹, Mark I. Mitrov¹, Matthew Kitzman¹, Steven Hoyer¹, Jan F. Drenth¹, David Karner¹, James W. Meyer¹, John P. Davidson¹, Anyika Huming¹, John E. Nobile¹, Bernard P. Du¹, David Ligei¹, Travis A. Clark¹, Martin Huber¹, Jeffrey J. Bruchez¹, Juan B. Serrano¹, Steven E. Caskey¹, Michael Dowse¹, Yuzuo Shi¹, Yuhua Li¹, Maria Soderqvist¹, Brian Koel¹, Jeffrey Sabnis¹, Erika Fokrennes¹, Michelle Schum¹, Mohammad Aljagary¹, Eileen Dondosova¹, Devin Drennon¹, Rachel Lumbard¹, Tanya Sotnikova¹, Josephine A. Haines¹, Eugene Sussmerov¹, Kersti Moerman¹, Alan Williams¹, G. Thomas Koch¹ & James Bonville¹

The seminal importance of DNA sequencing to the life sciences, biotechnology and medicine has driven the search for more scalable and lower-cost solutions. Here we describe a DNA sequencing technology in which scalable, low-cost semiconductor manufacturing techniques are used to make an integrated silicon device that directly performs non-optical DNA sequencing of genomes. Sequence data are obtained by directly sensing the ions produced by template-directed DNA polymerase extension using all-natural nucleotides on fully monolithically parallel semiconductor sensing blocks on one chip. The ion chip contains ion-sensitive, field-effect transistor-based sensors in perfect register with 1.2 million wells, which provide confinement and allow parallel, simultaneous detection of independent sequencing reactions. Use of the most widely used technology for constructing integrated circuits, the complementary metal-oxide semiconductor (CMOS) process, allows for low-cost, large-scale production and scaling of the device to higher densities and larger array sizes. We show the performance of the system by sequencing three human genomes, its robustness and scalability by producing ion chips with up to 10 times as many sensors and sequencing a human genome.

ion torrent

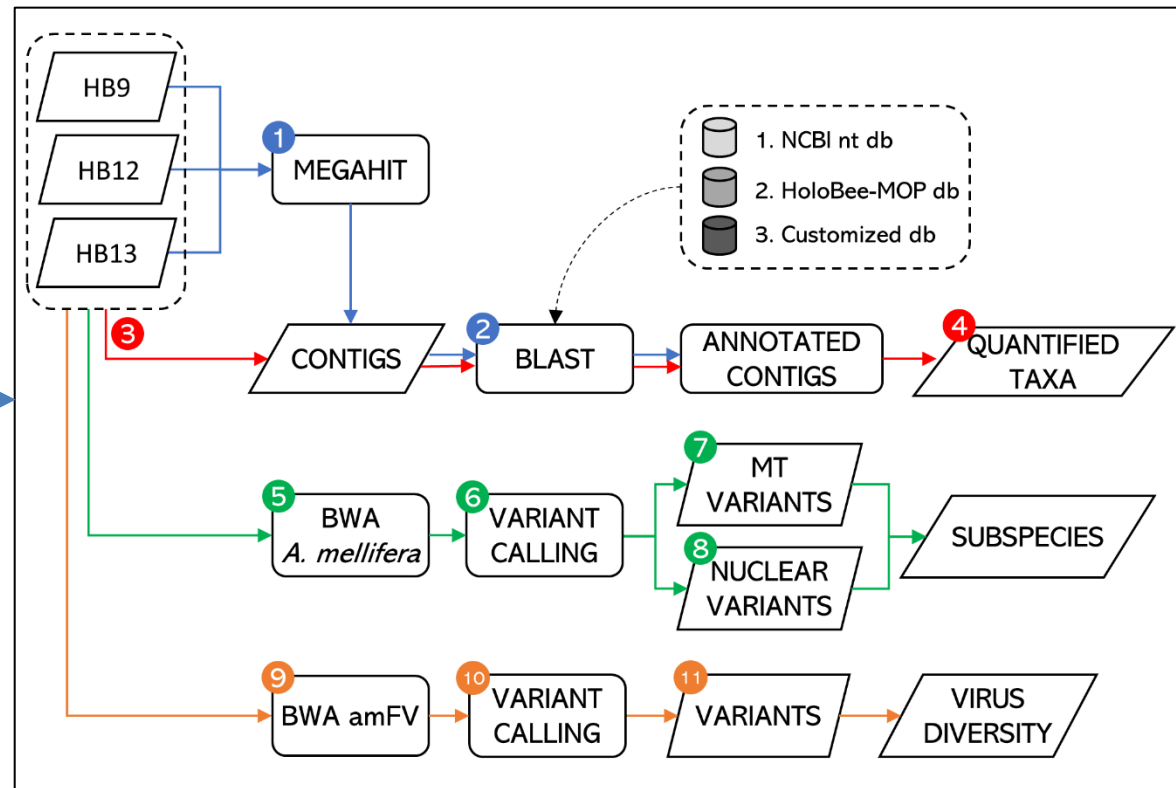
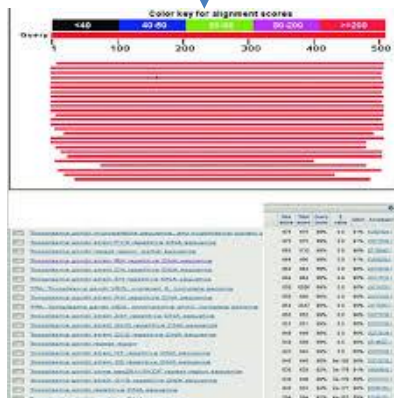


ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Come si analizza il DNA

Analisi bioinformatica dei dati

```
ATCTCTGGGTCAGCATCGATGAAGACGCA
TCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAAACAGGT
GACGTGTCARAACITTTAACACGATCTCTT
TGTTCCTTGGCGGCGCCGCAAGGTGCCCG
GGCCTGCCGTGGCAGATCCCAACGCCGGCC
TCTTGGCTCCAGCATCGATGAAGACGCGAT
CAGCATCGATGAAGACGCGAGCAACCGGAT
CGATACTCTGAGTGTCTTAGCGAAGTGTCA
CGGATCTCTGGCTCCAGCATCGATGAAGAC
ACACGGATCTCTGGCTCCAGCATCGATGA
CGGATCTCTGGCTCCAGCATCGATGAAGAC
GATGAAGACGCGAGCAACCGATATGTAAT
```



f1+f2

Attività 1
(campionamento, ecc.)

Attività 2
(analisi e elaborazioni)

Tematiche

1 Miglioramento e ottimizzazione dei sistemi per identificare le sottospecie di *Apis mellifera* direttamente analizzando il DNA delle api e del miele e valutazione della distribuzione delle sottospecie nella Regione Emilia-Romagna con i nuovi approcci

2 Messa a punto di metodi per valutare il patrimonio genetico dell'ape in funzione del livello di consanguineità delle famiglie mediante analisi diretta del DNA delle api e, indirettamente, attraverso l'analisi del DNA delle api che è presente nel miele

3 Miglioramento dei sistemi per l'identificazione dell'origine botanica del miele della Regione Emilia-Romagna

4 Valutazione di alcuni aspetti qualitativi del miele attraverso l'analisi del DNA ambientale e l'utilizzo di informazioni su possibili contaminanti

5 Analisi dei possibili fattori che determinano il collasso delle famiglie attraverso la caratterizzazione del DNA del miele e la valutazione di fattori biotici e abiotici

6 Impostazione di una prova per valutare, nella pratica del blocco della covata estiva, l'effetto di diverse metodologie di confinamento della regina sulla possibile diffusione di patologie alla famiglia

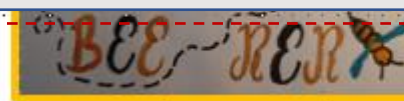
7 Monitoraggio della distribuzione di alcuni patogeni sul territorio regionale mediante l'analisi del DNA del miele

Biodiversità e
genetica delle api

Autenticazione e
qualità del miele

Patologia delle
api

Macro-tematiche



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Macro-tematiche

- 1) Biodiversità e genetica delle api
- 2) Autenticazione e qualità del miele
- 3) Patologia delle api



Macro-tematiche

- 1) Biodiversità e genetica delle api
- 2) Autenticazione e qualità del miele
- 3) Patologia delle api



1 Biodiversità e genetica delle api

Miglioramento e ottimizzazione dei sistemi per identificare le sottospecie di *Apis mellifera* direttamente analizzando il DNA delle api e del miele e valutazione della distribuzione delle sottospecie nella Regione Emilia-Romagna con i nuovi approcci:

- 1) **Analisi del DNA mitocondriale**
- 2) **Analisi del DNA nucleare**



1

Biodiversità e genetica delle api

1) Analisi del DNA mitocondriale

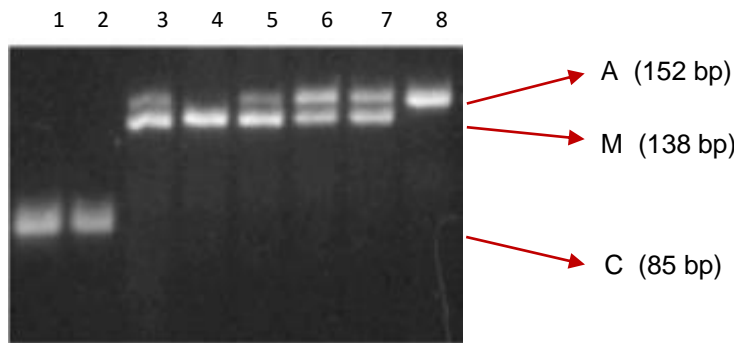
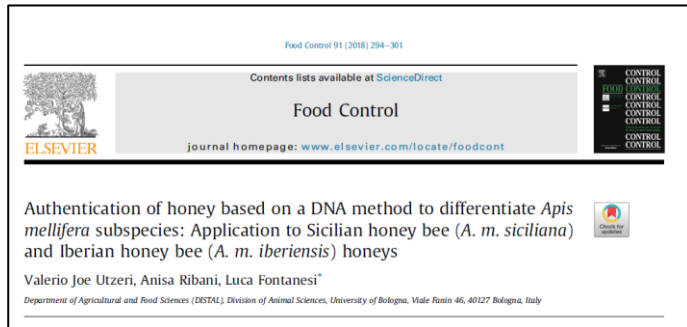
- Ulteriori informazioni sulla distribuzione delle principali linee mitocondriali utilizzando il DNA del miele
- Messa a punto di un metodo che distingue i mitotipi C1 e C2 dal DNA del miele
- Identificazione dei mitotipi mediante analisi del DNA delle api



1

Biodiversità e genetica delle api

1) Analisi del DNA mitocondriale: Ulteriori informazioni sulla distribuzione delle principali linee mitocondriali utilizzando il DNA del miele



1

Biodiversità e genetica delle api



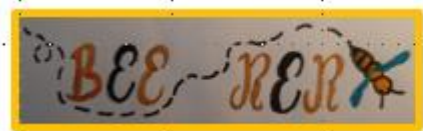
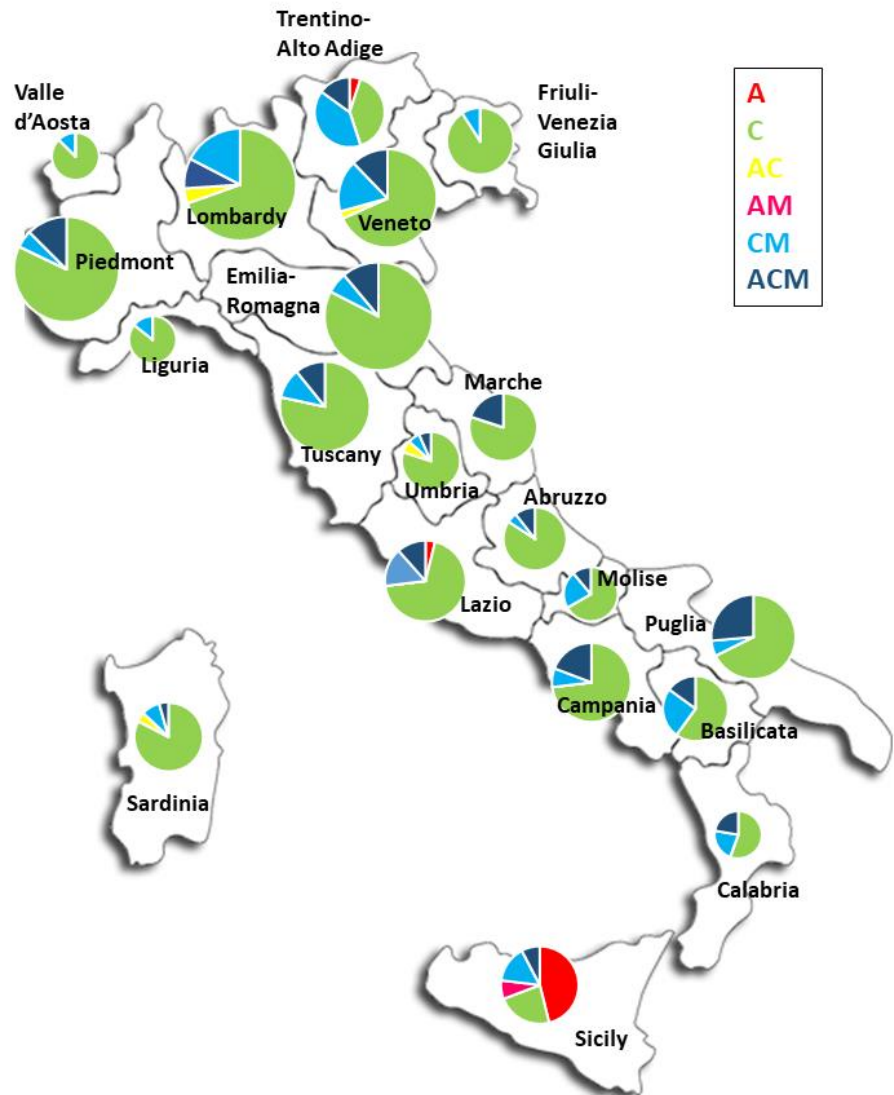
Article
Distribution of the Main *Apis mellifera* Mitochondrial DNA Lineages in Italy Assessed Using an Environmental DNA Approach

Valerio Joe Utzeri , Anisa Ribani, Valeria Taurisano, Carles Hernández i Banqué and Luca Fontanesi

Department of Agricultural and Food Sciences, University of Bologna, Viale Giuseppe Fanin 46, 40127 Bologna, Italy; valeriojoe.utzeri2@unibo.it (V.J.U.); anisa.ribani2@unibo.it (A.R.); valeria.taurisano2@unibo.it (V.T.); carles.hernandez.banque@gmail.com (C.H.I.B.)
* Correspondence: luca.fontanesi@unibo.it; Tel: +39-051-2096535

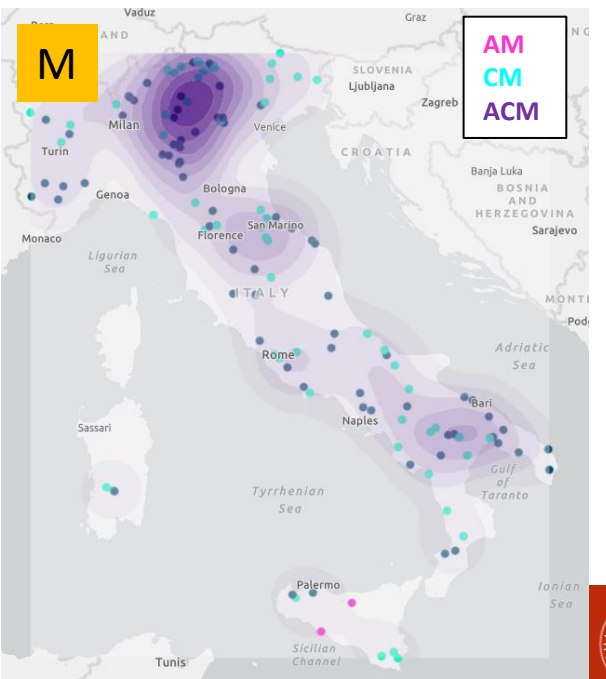
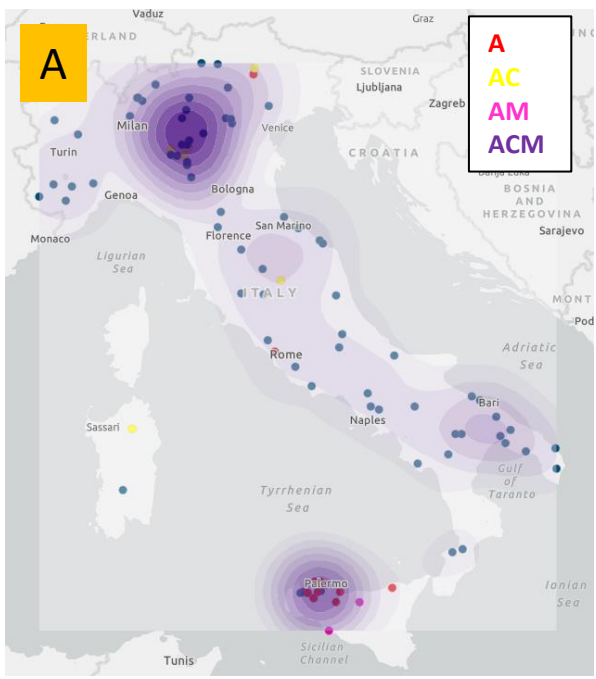
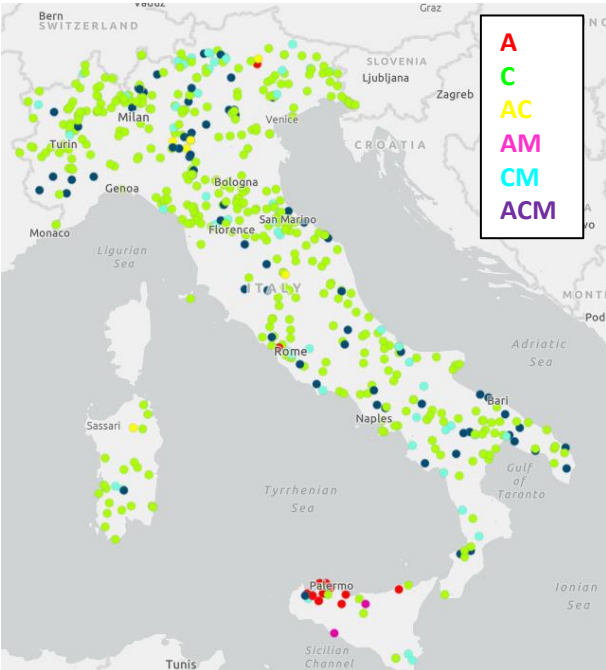


Mieli del 2018






1

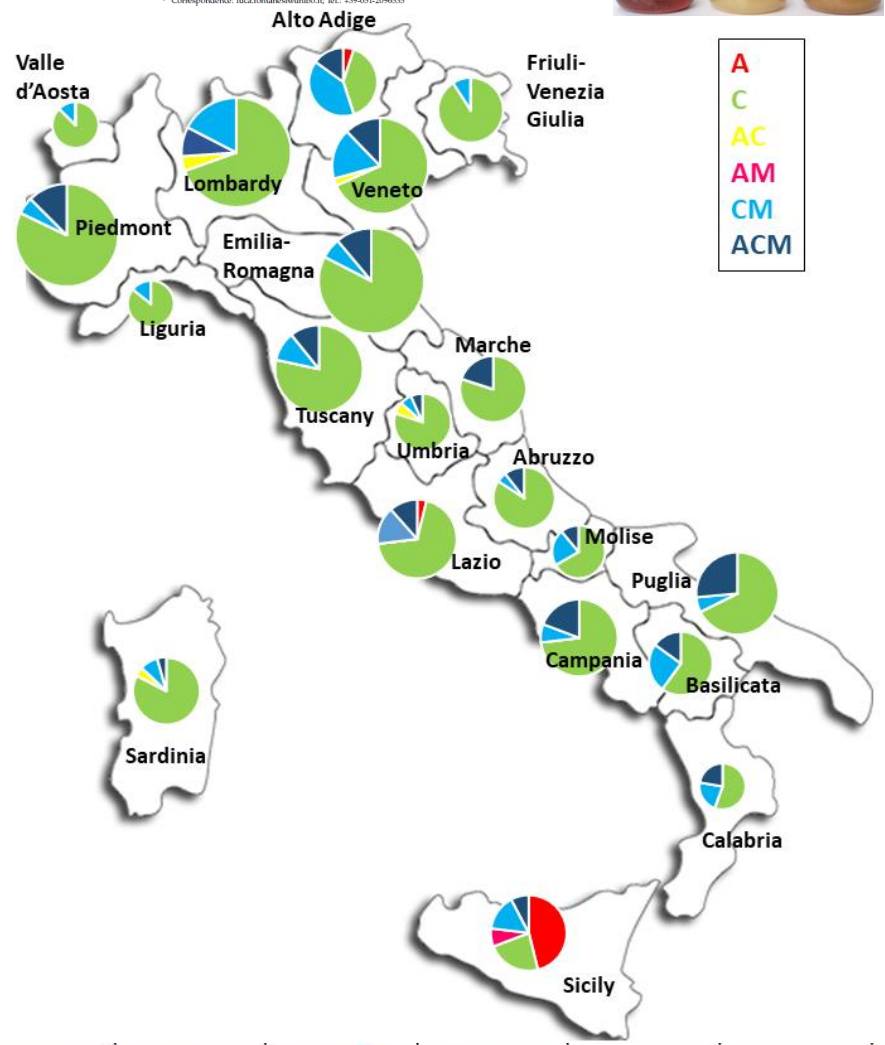
Biodiversità e genetica delle api



Article
Distribution of the Main *Apis mellifera* Mitochondrial DNA Lineages in Italy Assessed Using an Environmental DNA Approach

Valerio Joe Utzeri , Anisa Ribani, Valeria Taurisano, Carles Hernández i Banque  and Luca Fontanesi 

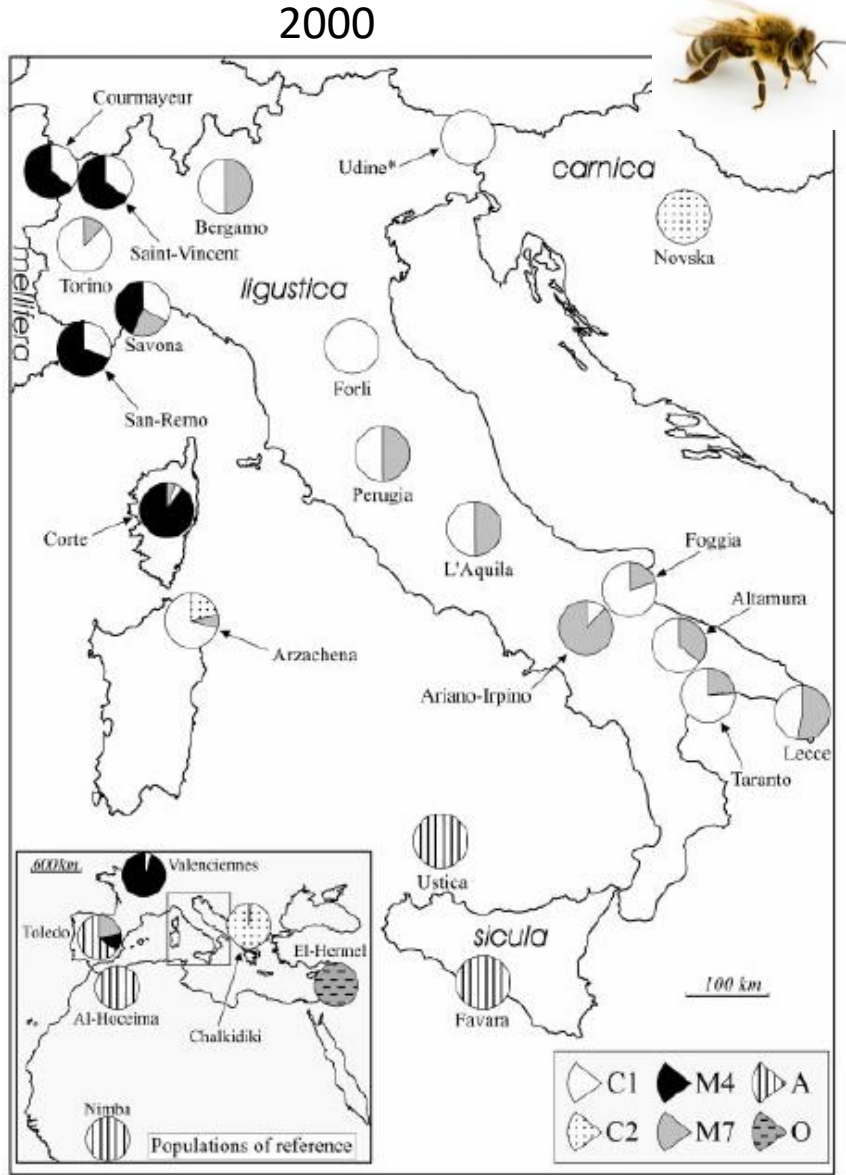
Department of Agricultural and Food Sciences, University of Bologna, Viale Giuseppe Farini 46,
40127 Bologna, Italy; valerio.joe.utzeri@unibo.it (V.J.U.); anisa.ribani2@unibo.it (A.R.);
valeria.taurisano2@unibo.it (V.T.); carles.hernandez.banque@gmail.com (C.H.B.)
* Correspondence: luca.fontanesi@unibo.it; Tel.: +39-051-209633



1

Hybrid origins of honeybees from Italy (*Apis mellifera ligustica*) and Sicily (*A. m. sicula*)

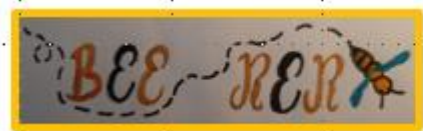
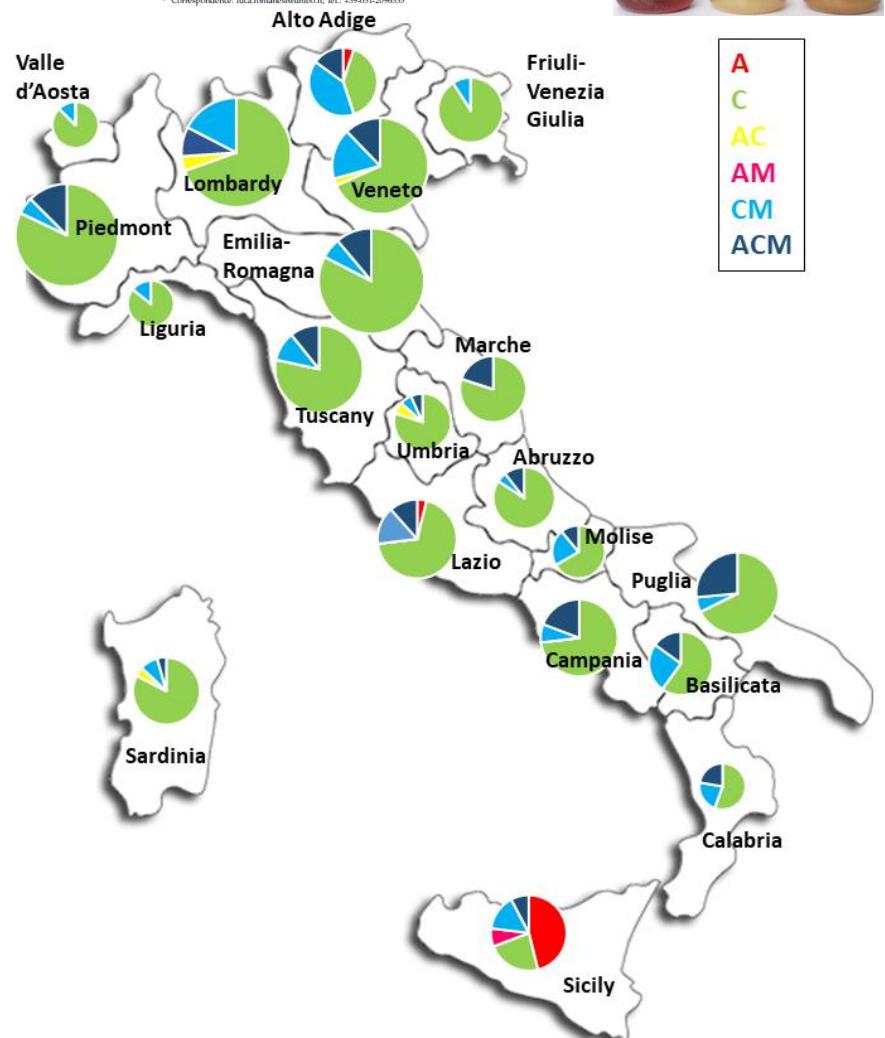
P. FRANCK*, L. GARNERY,† G. CELEBRANO,‡ M. SOLIGNAC† and J.-M. CORNUET*
 *Centre de Biologie et de Gestion des Populations, Campus International de Baillarguet, 34980 Montpellier-sur-Léz, France,
 †Laboratoire Populations, Génétique et Evolution, CNRS, Avenue de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette cedex, France,
 ‡Dipartimento di Biologia Animale, 17 via Accademia Albertina, 10123 Torino, Italy



Article Distribution of the Main *Apis mellifera* Mitochondrial DNA Lineages in Italy Assessed Using an Environmental DNA Approach

Valerio Joe Utzeri, Anisa Ribani, Valeria Taurisano, Carles Hernández i Banqué and Luca Fontanesi

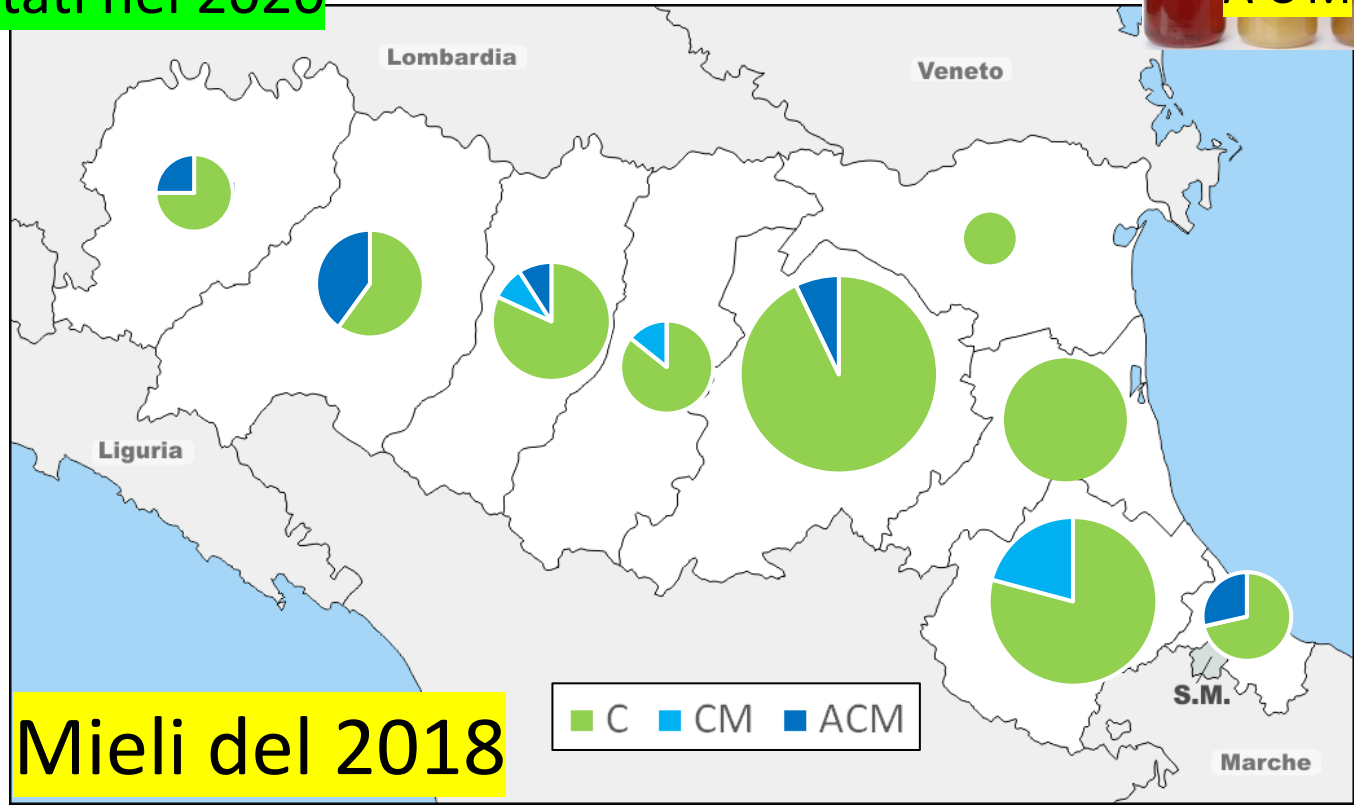
Department of Agricultural and Food Sciences, University of Bologna, Viale Giuseppe Farini 46, 40127 Bologna, Italy; valeriojoe.utzeri@unibo.it (V.J.U.); anisa.ribani2@unibo.it (A.R.); valeria.taurisano2@unibo.it (V.T.); carles.hernandez@unibo.it (C.H.B.)
 * Correspondence: luca.fontanesi@unibo.it; Tel.: +39-051-209633



1

Biodiversità e genetica delle api

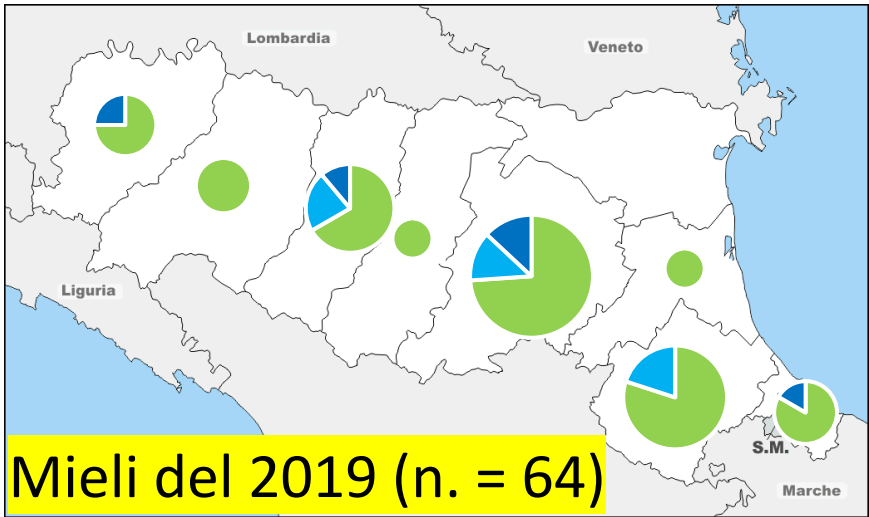
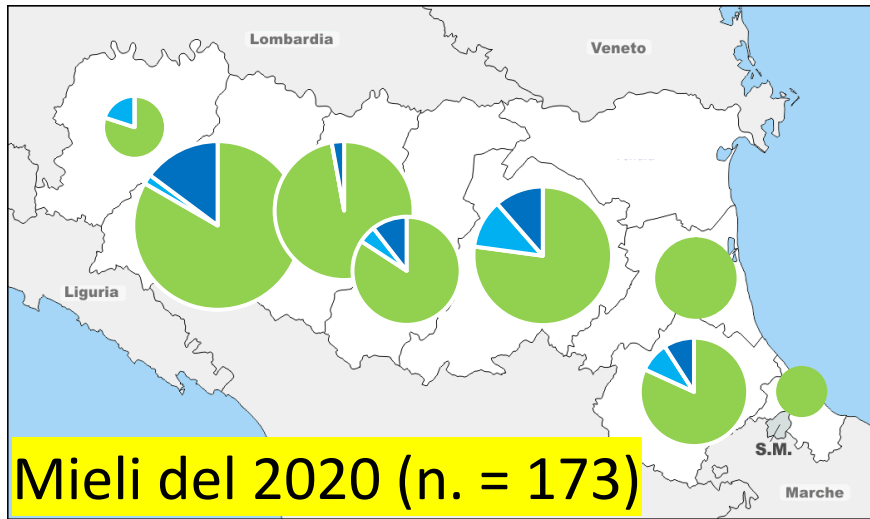
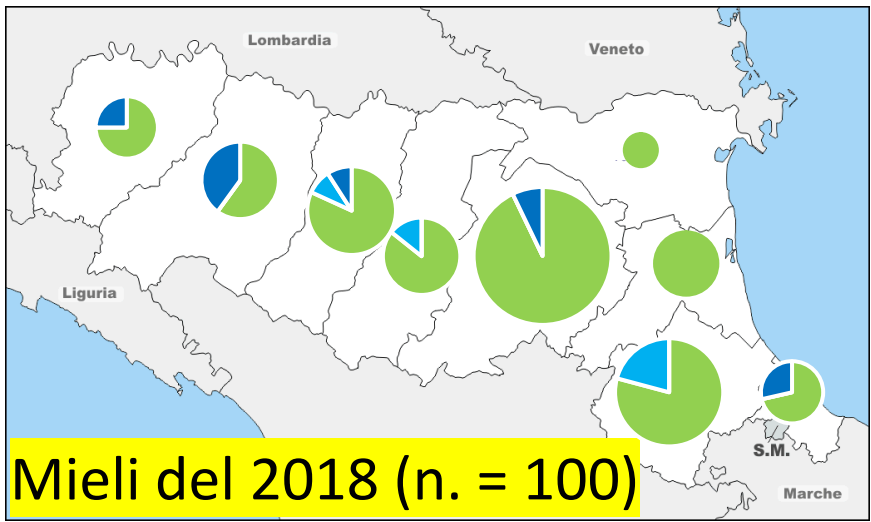
Dati presentati nel 2020



Mieli del 2018



1

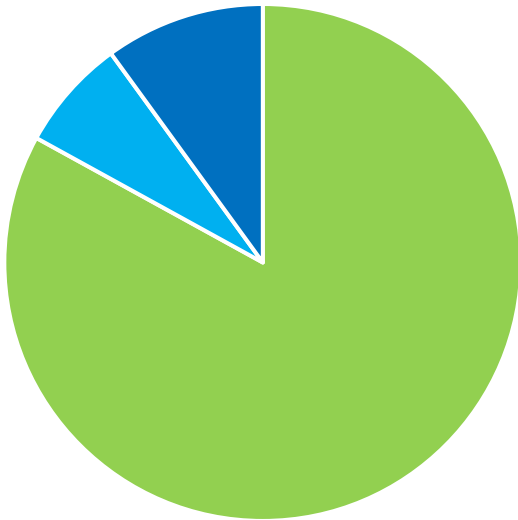


1

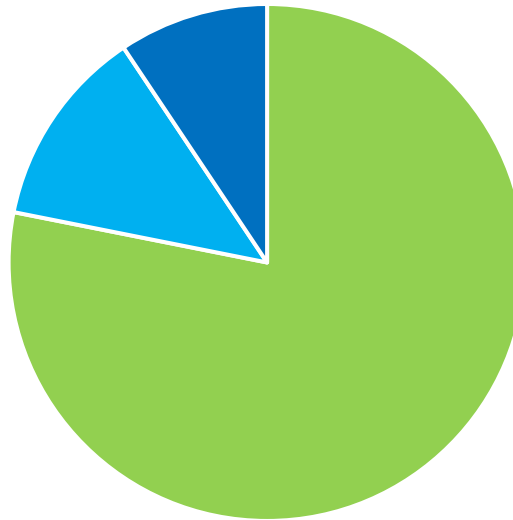
Biodiversità e genetica delle api



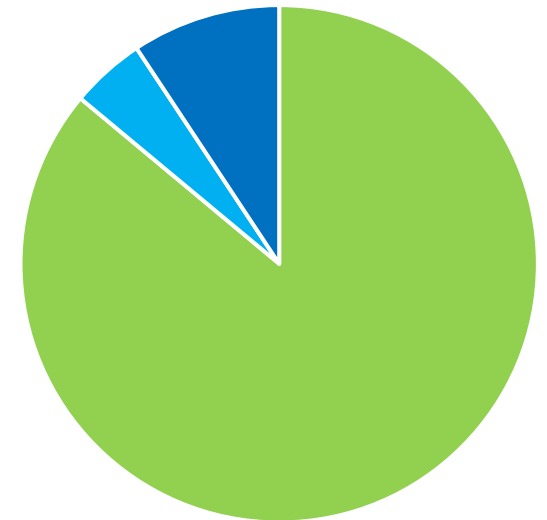
2018



2019



2020



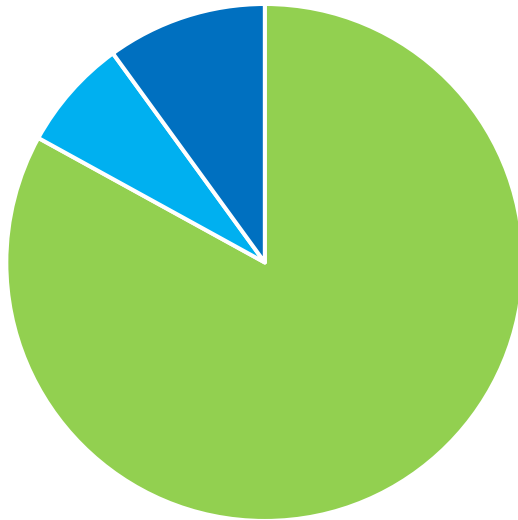
ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

1

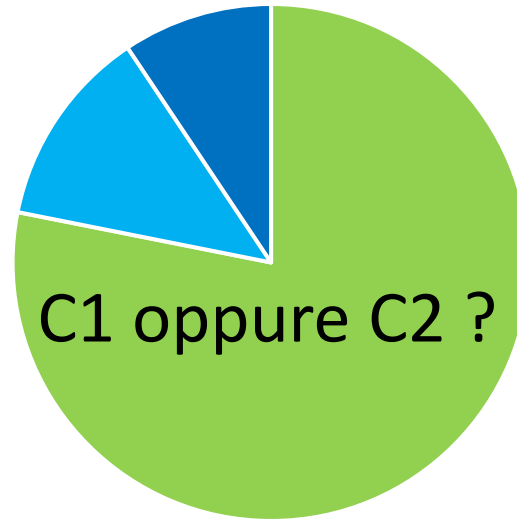
Biodiversità e genetica delle api



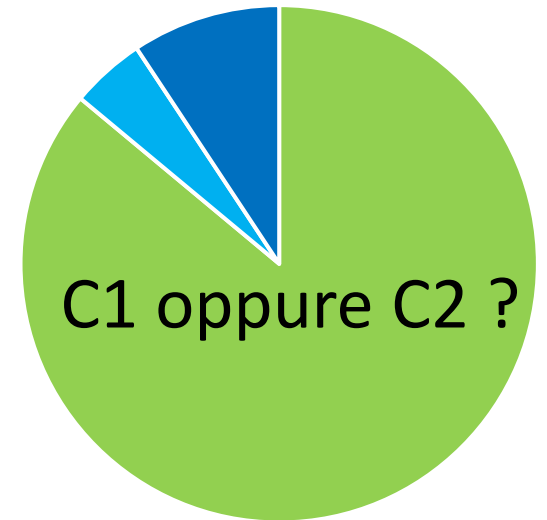
2018



2019



2020



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

1

Biodiversità e genetica delle api

- 1) **Analisi del DNA mitocondriale:** Messa a punto di un metodo che distingue i mitotipi C1 e C2 dal DNA del miele



C1 = *Apis mellifera ligustica*

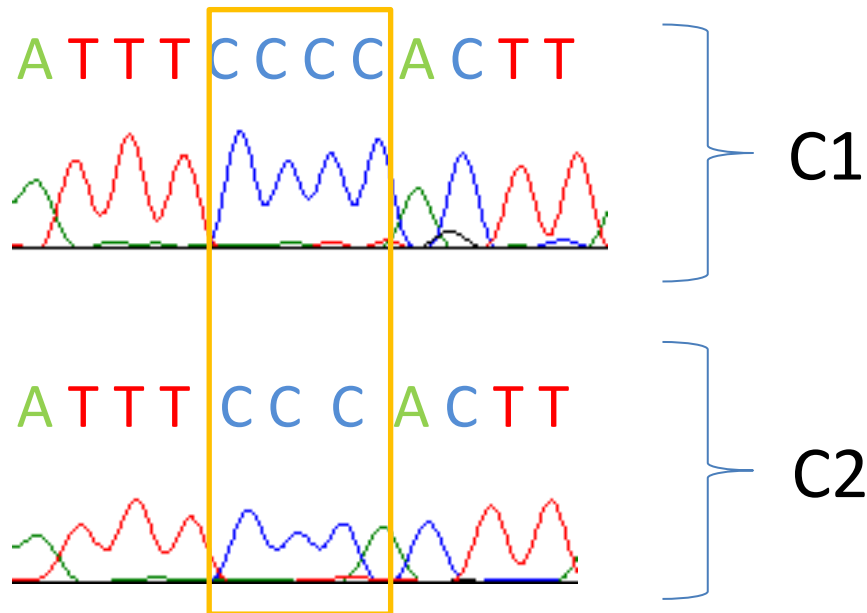
C2 = *Apis mellifera carnica*



1

Biodiversità e genetica delle api

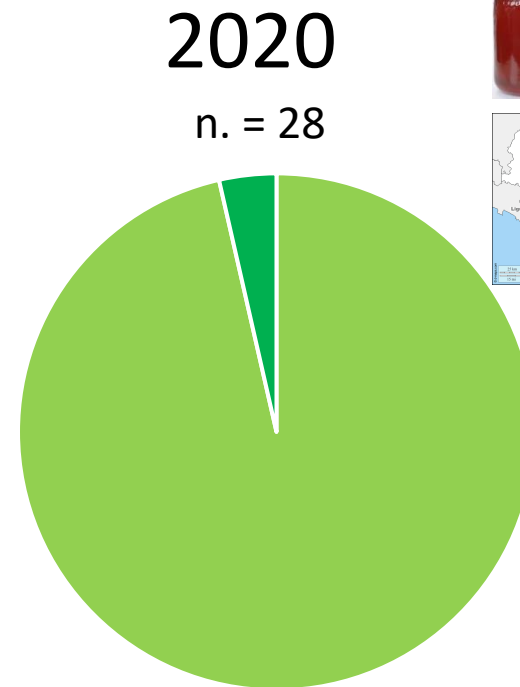
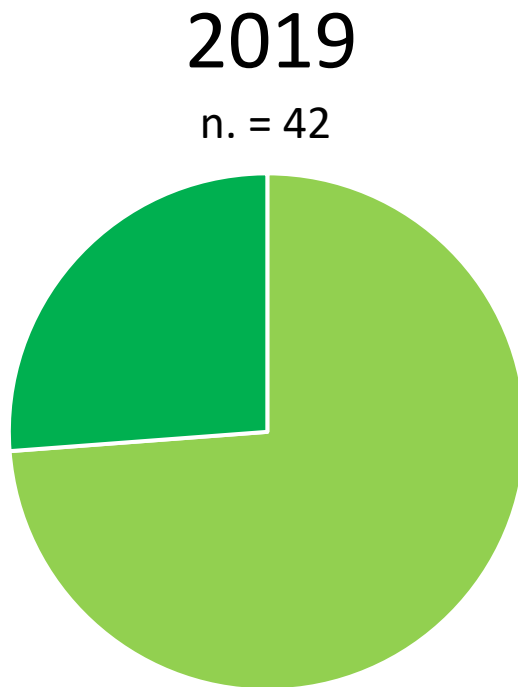
- 1) **Analisi del DNA mitocondriale:** Messa a punto di un metodo che distingue i mitotipi C1 e C2 dal DNA del miele



1

Biodiversità e genetica delle api

- 1) **Analisi del DNA mitocondriale: Messa a punto di un metodo che distingue i mitotipi C1 e C2 dal DNA del miele**



■ C1 ■ C2



1 Biodiversità e genetica delle api

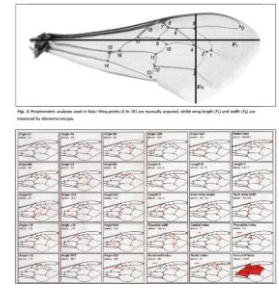
1) Analisi del DNA mitocondriale: Identificazione dei mitotipi mediante analisi del DNA delle api



- a Ulteriori analisi del DNA mitocondriale su api di colonie con informazioni ottenute nel 2020 (Analisi della regione intergenica tRNA_{Leu}-cox2)
- b Inizio del primo monitoraggio regionale globale con analisi della regione intergenica tRNA_{Leu}-cox2

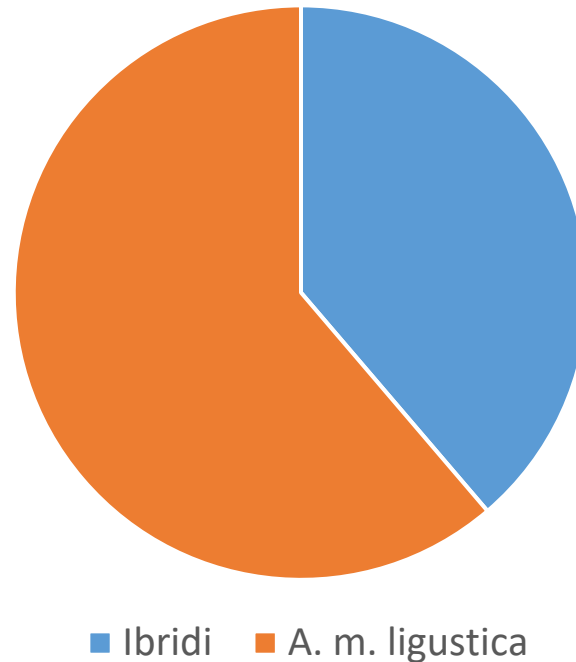


Dati presentati nel 2020



Risultati dell'analisi morfometrica (n. = 80)

[effettuata in collaborazione con l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana]



Soglia per definire
Ligustica: 90%
di rispondenza



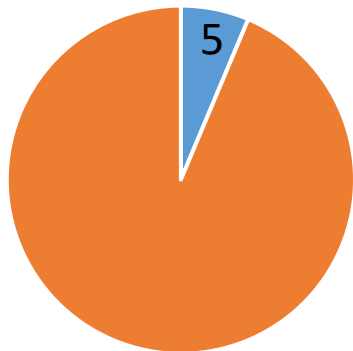
ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Dati presentati nel 2020

DNA mitocondriale



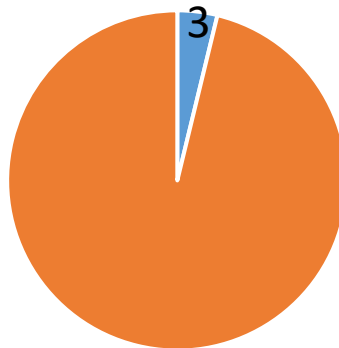
Miele da favo (n. 80)



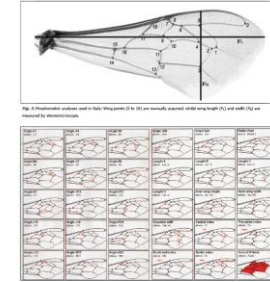
■ A+C+M ■ C



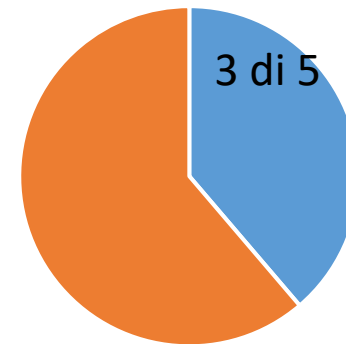
1 ape per famiglia (n. 80)



■ A/M ■ C



Da analisi morfometriche (n. 80)



■ Ibridi ■ A. m. ligustica



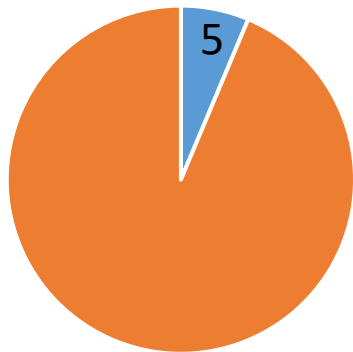
ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Dati presentati nel 2020

DNA mitocondriale



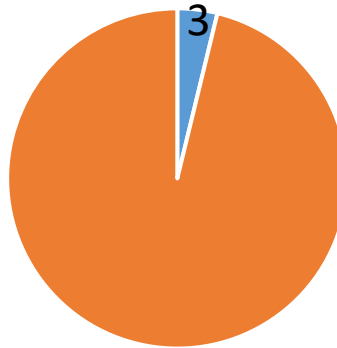
Miele da favo (n. 80)



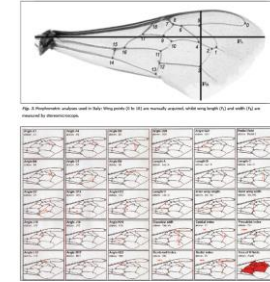
■ A+C+M ■ C



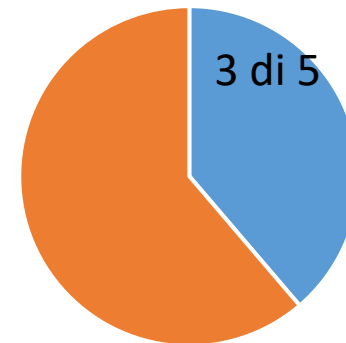
1 ape per famiglia (n. 80)



■ A/M ■ C



Da analisi morfometriche (n. 80)



■ Ibridi ■ A. m. ligustica



2021: Ulteriori analisi DNA mitocondriale su api



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

1 Biodiversità e genetica delle api

1) Analisi del DNA mitocondriale: Identificazione dei mitotipi mediante analisi del DNA delle api



a

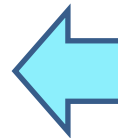
1) Costruzione del database di sequenze mitocondriali



2) Analisi della regione intergenica tRNA_{leu}-cox2 (PCR primers E2-H2; Garnery et al., 1991)



4) Confronto con i risultati delle analisi A C M



3) Amplificazione e sequenziamento da 10-20 api per colonia



.....



1 Biodiversità e genetica delle api

1) Analisi del DNA mitocondriale: Identificazione dei mitotipi mediante analisi del DNA delle api



a 4) Confronto con i risultati delle analisi A C M

3) Amplificazione e sequenziamento da 10-12 api per colonia

RISULTATI:

- Nuovi mitotipi (linee A e M)
- A1a + C1 + C2
- C2
- C1
- M7
- M4



1 Biodiversità e genetica delle api

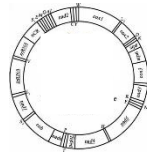
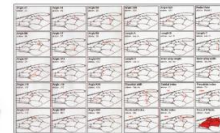
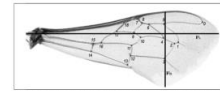
1) Analisi del DNA mitocondriale: Identificazione dei mitotipi mediante analisi del DNA delle api



a

4) Confronto con i risultati delle analisi A C M

Identificazione e sequenziamento dei mitotipi per colonia



RISULTATI:

- Nuovi mitotipi
- A1a + C1 + C2
- C2
- C1
- M7
- M4



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

1 Biodiversità e genetica delle api

1) Analisi del DNA mitocondriale: Identificazione dei mitotipi mediante analisi del DNA delle api



- a Ulteriori analisi del DNA mitocondriale su api di colonie con informazioni ottenute nel 2020 (Analisi della regione intergenica tRNA_{Leu}-cox2)
- b Inizio del primo monitoraggio regionale globale con analisi della regione intergenica tRNA_{Leu}-cox2



1 Biodiversità e genetica delle api

1) Analisi del DNA mitocondriale: Identificazione dei mitotipi mediante analisi del DNA delle api



b

Associazioni	N. larve/pupe
PC	59
PR-RE	79
RA	53
FC	115
Totale	306



Analisi della regione intergenica $tRNA_{leu}$ - $cox2$ (PCR primers E2-H2; Garnery et al., 1991)

1

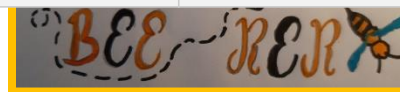
Biodiversità e genetica delle api

1) Analisi del DNA mitocondriale: Identificazione dei mitotipi mediante analisi del DNA delle api



b

Province	N. larve/pupe	N. sequenziati
PC	59	38
PR		42
RE	79	14
MO		15
BO	-	-
FE	-	-
FC	115	In progress
RA	53	In progress
RN	115	In progress
Totale	306	109



1 Biodiversità e genetica delle api

- 1) **Analisi del DNA mitocondriale: Identificazione dei mitotipi mediante analisi del DNA delle api**



b

$$C1 + M3/M7 = 84\%$$



1 Biodiversità e genetica delle api

Miglioramento e ottimizzazione dei sistemi per identificare le sottospecie di *Apis mellifera* direttamente analizzando il DNA delle api e del miele e valutazione della distribuzione delle sottospecie nella Regione Emilia-Romagna con i nuovi approcci:

- 1) **Analisi del DNA mitocondriale**
- 2) **Analisi del DNA nucleare**



1 Biodiversità e genetica delle api

1) Analisi del DNA nucleare



- a Messa a punto di un metodo per identificare la sottospecie utilizzando il DNA nucleare di ape che si ritrova nel miele
- b Analisi del gene *complementary sex determiner* (*csd*) di ape per la valutazione della consanguineità delle popolazioni di ape

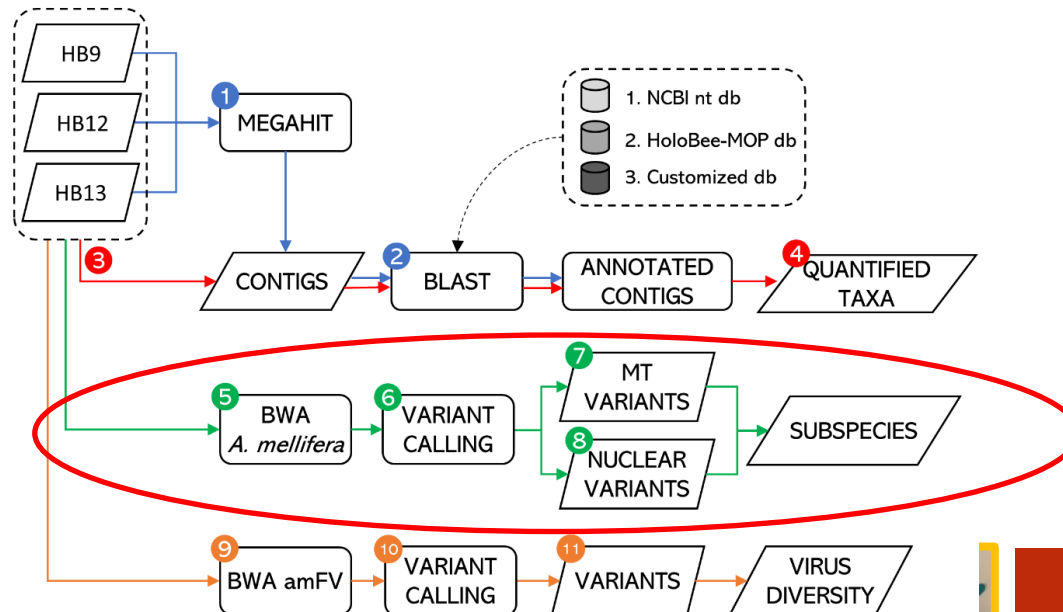


1 Biodiversità e genetica delle api

1) Analisi del DNA nucleare



a

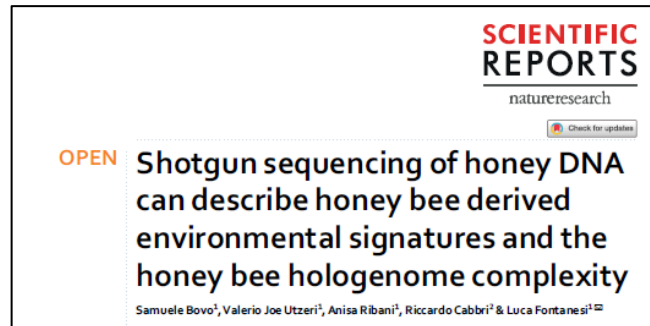


1 Biodiversità e genetica delle api

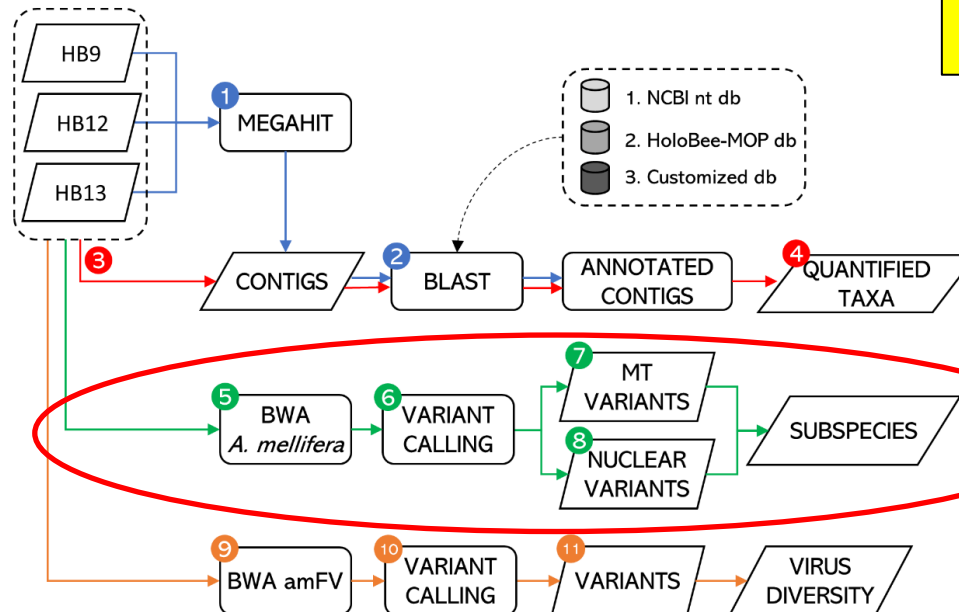
1) Analisi del DNA nucleare



a



Selezionati circa 140 marcatori del genoma di ape (SNP)



1 Biodiversità e genetica delle api

1) Analisi del DNA nucleare



a

Selezionati circa
140 marcatori del
genoma di ape
(SNP)

Disegno del
pannello AmpliSeq
per analisi con
piattaforma di
sequenziamento
S5 (Ion Torrent)



1 Biodiversità e genetica delle api

1) Analisi del DNA nucleare

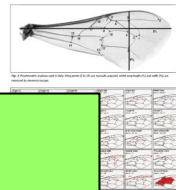


a

Selezionati circa
140 marcatori del
genoma di ape
(SNP)

Disegno del
pannello AmpliSeq
per analisi con
piattaforma di
sequenziamento
S5 (Ion Torrent)

Test su campioni di
miele da favi di *Apis
mellifera ligustica*:
100% corretta
assegnazione



1 Biodiversità e genetica delle api

1) Analisi del DNA nucleare



a Messa a punto di un metodo per identificare la sottospecie utilizzando il DNA nucleare di ape che si ritrova nel miele

b Analisi del gene *complementary sex determiner* (*csd*) di ape per la valutazione della consanguineità delle popolazioni di ape

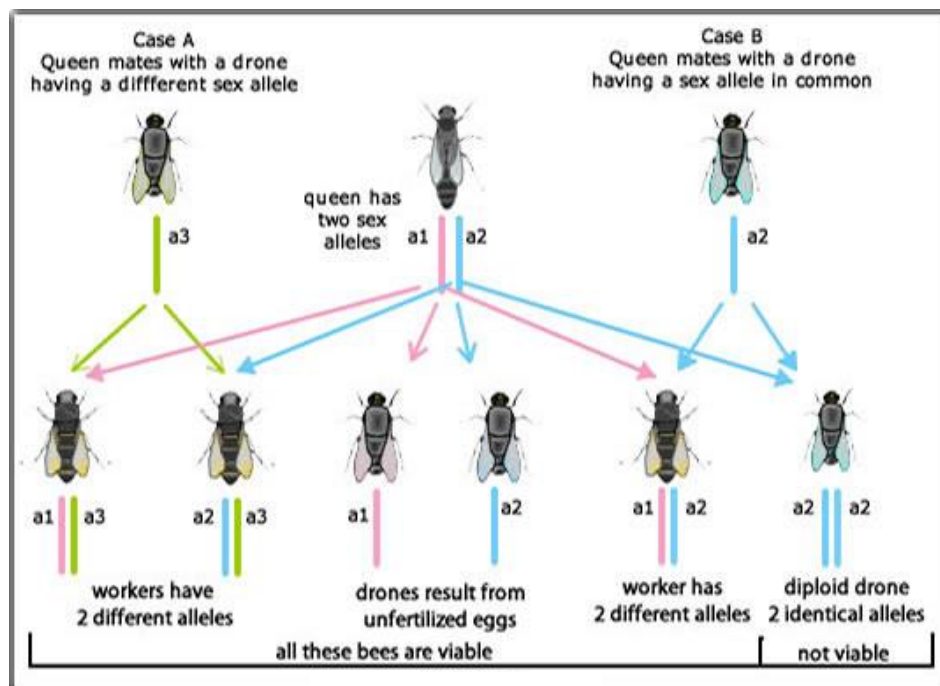


1 Biodiversità e genetica delle api

1) Analisi del DNA nucleare



b *complementary sex determiner (csd)* di ape

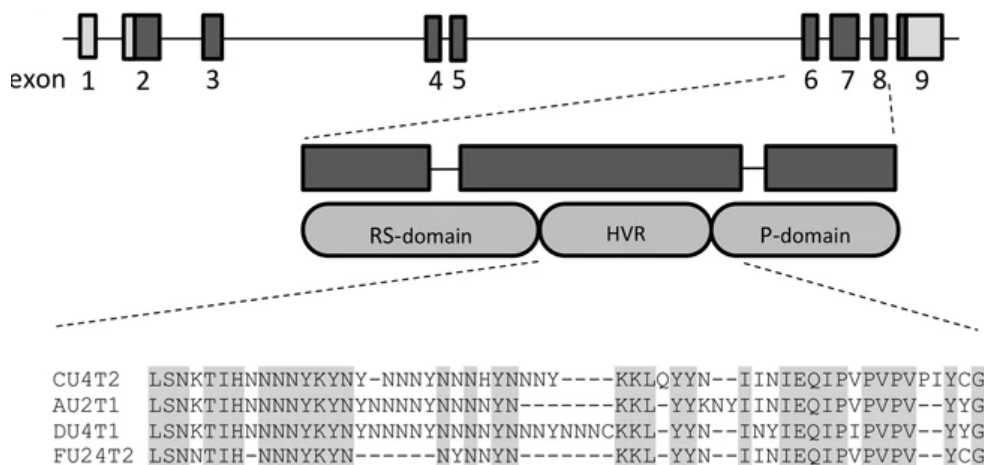


1 Biodiversità e genetica delle api

1) Analisi del DNA nucleare



b *complementary sex determiner (csd)* di ape

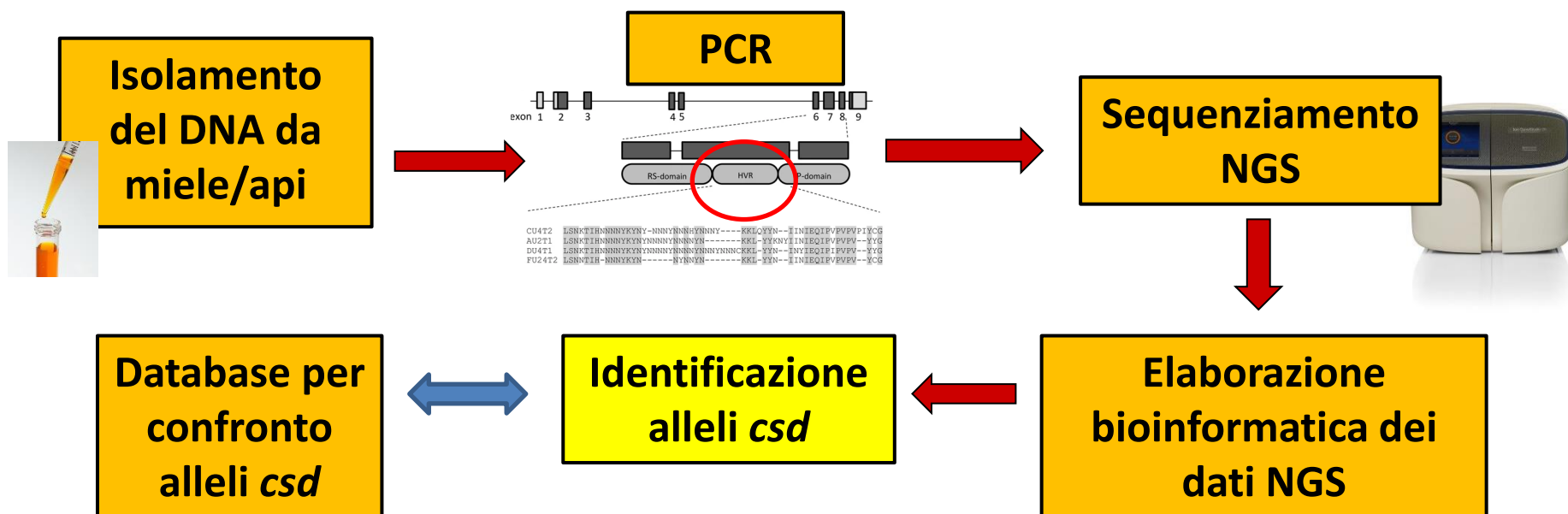


1 Biodiversità e genetica delle api

1) Analisi del DNA nucleare



b) *complementary sex determiner (csd)* di ape



1

Biodiversità e genetica delle api

1) Analisi del DNA nucleare



b) *complementary sex determiner (csd)* di ape

Allele	N. di reads	N. di aminoacidi
KISSLNKTIHNNNNYPYYNINYIEQIP	13913	27
KISSLSSNYNSNNYNNYNNYKQLCYNINYIEQIP	10814	32
KITSSLSNNYNSNNYNNKYNNNSKKLYYNINYIEQIP	5520	34
KISSLNKTIHNNNNYKYNYNNNNYKNYNNYKKLYYNINYIEQIP	2419	43
KISSLNKTIHNNNNYKYNYNNNCKKLYYNINYIEQIP	1963	36
KISSLSSNYNSNNYNNYSTNYKQLQYCYNINYIEQIP	728	35
KISSLSNNYNYNNCNYKHKLYYNIINIEQIP	591	29
KISSLSNNYNYNSYNNNNNNYNNYKQLCYNINYIEQIP	515	36
.....		
.....		
.....		



1 Biodiversità e genetica delle api

1) Analisi del DNA nucleare



b *complementary sex determiner (csd)* di ape

Applicazioni:

- Selezione/miglioramento genetico/produzione di regine – verifica compatibilità alleli
- Monitoraggio biodiversità delle popolazioni



1 Biodiversità e genetica delle api



Conclusioni (1)

- Stiamo affrontando diversi aspetti tecnico-scientifici per poter arrivare ad identificare *A. m. ligustica*
- Abbiamo messo a punto diverse metodologie e approcci
- Stiamo refinendo alcuni metodi per poter testarli su larga scala



Macro-tematiche

1) Biodiversità e genetica delle api

2) Autenticazione e qualità del miele

3) Patologia delle api



2 Autenticazione e qualità del miele



Analisi del DNA del miele per definire:

- a Origine botanica del miele
- b Origine entomologica del miele
- c Caratteristiche microbiologiche del miele



Autenticazione e qualità del miele



Food Control 86 (2018) 342–349

Contents lists available at ScienceDirect

Food Control

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodcont



Application of next generation semiconductor based sequencing to detect the botanical composition of monofloral, polyfloral and honeydew honey

Valerio Joe Utzeri^a, Anisa Ribani^a, Giuseppina Schiavo^a, Francesca Bertolini^{a, b}, Samuele Bovo^{a, c}, Luca Fontanesi^{a, *}

^a Department of Agricultural and Food Sciences (DISTAL), University of Bologna, Viale Fanin 46, 40127 Bologna, Italy

^b Department of Animal Science, Iowa State University, 2255 Kildee Hall, 50011 Ames, Iowa, USA

^c Biocomputing Group, Department of Biological, Geological, and Environmental Sciences (BiGeA), University of Bologna, Via San Giacomo 9/2, 40126 Bologna, Italy



SCIENTIFIC REPORTS

OPEN Entomological signatures in honey: an environmental DNA metabarcoding approach can disclose information on plant-sucking insects in agricultural and forest landscapes

Received: 3 July 2017
Accepted: 11 June 2018
Published online: 03 July 2018

Valerio Joe Utzeri¹, Giuseppina Schiavo¹, Anisa Ribani¹, Silvia Tinarelli¹, Francesca Bertolini¹, Samuele Bovo¹ & Luca Fontanesi^{1, *}

Honeydew produced from the excretions of plant-sucking insects (order Hemiptera) is a carbohydrate-rich material that is foraged by honey bees to integrate their diets. In this study, we used DNA extracted from honey as a source of environmental DNA to disclose its entomological signature determined by honeydew-producing Hemiptera that was recovered not only from honeydew honey but also from blossom honey. We designed PCR primers that amplified a fragment of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) gene of Hemiptera species using DNA isolated from unifloral, polyfloral and honeydew honeys. Ion Torrent next generation sequencing metabarcoding data analysis assigned Hemiptera species using a customised bioinformatic pipeline. The forest honeydew honey reported the presence of high abundance of *Cimex pictus* DNA, confirming their silver fir forest origin. In all other honeys, most of the sequenced reads were from the plant-hopper *Melanoplus* sp. for which it was possible to evaluate the frequency of different mitotypes. Aphids of other species were identified from honeys of different geographical and botanical origins. This unique entomological signature derived by environmental DNA contained in honey opens new applications for honey authentication and to disclose and monitor the ecology of plant-sucking insects in agricultural and forest landscapes.

Approccio target:
Metabarcoding



RESEARCH ARTICLE

Shotgun metagenomics of honey DNA: Evaluation of a methodological approach to describe a multi-kingdom honey bee derived environmental DNA signature

Samuele Bovo¹, Anisa Ribani¹, Valerio Joe Utzeri¹, Giuseppina Schiavo¹, Francesca Bertolini¹, Luca Fontanesi^{1, *}

¹ Department of Agricultural and Food Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy, ² Department of Bio and Health Informatics, Technical University of Denmark, Kongens Lyngby, Denmark

* luca.fontanesi@unibo.it



Approccio non target:
Shot-gun sequencing



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Autenticazione e qualità del miele



Food Control 86 (2018) 342–349

Contents lists available at ScienceDirect

Food Control

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodcont



ELSEVIER



Application of next generation semiconductor based sequencing to detect the botanical composition of monofloral, polyfloral and honeydew honey

Valerio Joe Utzeri^a, Anisa Ribani^a, Giuseppina Schiavo^a, Francesca Bertolini^{a, b}, Samuele Bovo^{a, c}, Luca Fontanesi^{a, *}

^a Department of Agricultural and Food Sciences (DISTAL), University of Bologna, Viale Fanin 46, 40127 Bologna, Italy

^b Department of Animal Science, Iowa State University, 2255 Kildee Hall, 50011 Ames, Iowa, USA

^c Biocomputing Group, Department of Biological, Geological, and Environmental Sciences (BiGeA), University of Bologna, Via San Giacomo 9/2, 40126 Bologna, Italy



SCIENTIFIC REPORTS

OPEN Entomological signatures in honey: an environmental DNA metabarcoding approach can disclose information on plant-sucking insects in agricultural and forest landscapes

Received: 3 July 2017
Accepted: 11 June 2018
Published online: 03 July 2018

Valerio Joe Utzeri¹, Giuseppina Schiavo¹, Anisa Ribani¹, Silvia Tinarelli¹, Francesca Bertolini¹, Samuele Bovo¹ & Luca Fontanesi^{1, *}

Honeydew produced from the excretion of plant-sucking insects (order Hemiptera) is a carbohydrate-rich material that is foraged by honey bees to integrate their diets. In this study, we used DNA extracted from honey as a source of environmental DNA to disclose its entomological signature determined by honeydew-producing Hemiptera that was recovered not only from honeydew honey but also from blossom honey. We designed PCR primers that amplified a fragment of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) gene of Hemiptera species using DNA isolated from unifloral, polyfloral and honeydew honeys. Ion Torrent next generation sequencing metabarcoding data analysis assigned Hemiptera species using a customised bioinformatic pipeline. The forest honeydew honey reported the presence of high abundance of *Cimex lectularius* DNA, confirming their silver fir forest origin. In all other honeys, most of the sequenced reads were from the plant hopper *Melanoplus praecox* for which it was possible to evaluate the frequency of different mitotypes. Aphids of other species were identified from honeys of different geographical and botanical origins. This unique entomological signature derived by environmental DNA contained in honey opens new applications for honey authentication and to disclose and monitor the ecology of plant-sucking insects in agricultural and forest landscapes.

Approccio target:
Metabarcoding
per origine
botanica



RESEARCH ARTICLE

Shotgun metagenomics of honey DNA: Evaluation of a methodological approach to describe a multi-kingdom honey bee derived environmental DNA signature

Samuele Bovo¹, Anisa Ribani¹, Valerio Joe Utzeri¹, Giuseppina Schiavo¹, Francesca Bertolini¹, Luca Fontanesi^{1, *}

¹ Department of Agricultural and Food Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy, ² Department of Bio and Health Informatics, Technical University of Denmark, Kongens Lyngby, Denmark

* luca.fontanesi@unibo.it



Approccio non
target:
Shot-gun
sequencing



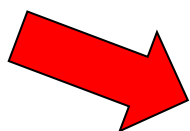
ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

2

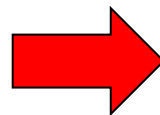
Autenticazione e qualità del miele



Approccio target:
Metabarcoding per origine botanica

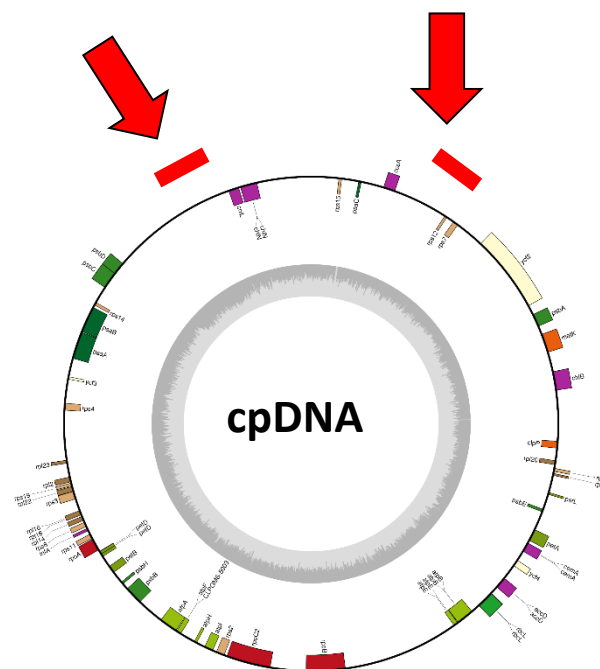


**DNA delle piante
(DNA cloroplastico)**



rbcl

trnL



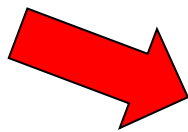
ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

2

Autenticazione e qualità del miele



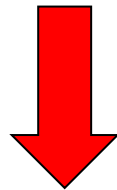
Approccio target:
Metabarcoding per origine botanica



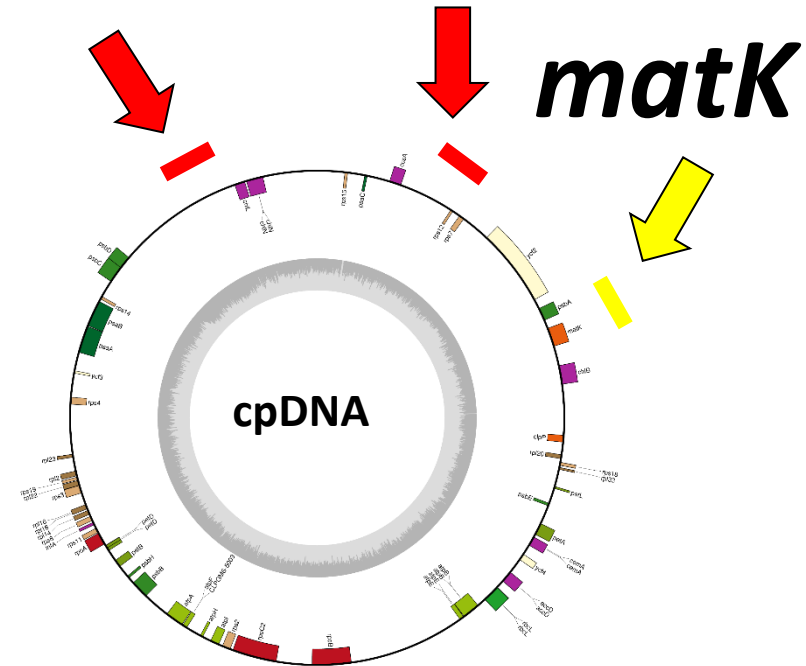
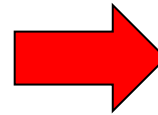
rbcl

trnL

matK



**DNA delle piante
(DNA cloroplastico)**



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

2

Autenticazione e qualità del miele



Approccio target:
Metabarcoding per origine botanica

Isolamento
del DNA da
miele

PCR
con primer
universali

rbcL, trnL, matK

Sequenziamento
NGS



3 database di
riferimento con
sequenze delle
regioni target

ACAACGGATCTCTTGGCTCCAGCATCGATGAA
CGGATCTTTGGCTCCAGCATCGATGAAGAAC
GATGAAGAACGCGAAGAAACGCGATATGTAAT



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

2

Autenticazione e qualità del miele



Approccio target:
Metabarcoding per origine botanica

Isolamento
del DNA da
miele

PCR
con primer
universali

rbcL, trnL, matK

Sequenziamento
NGS

Elaborazione
bioinformatica dei
dati NGS

3 database di
riferimento con
sequenze delle
regioni target

ACAACGGATCTCTTGGCTCCAGCATCGATGAA
CGGATCTTTGGCTCCAGCATCGATGAAGAAC
GATGAAGAACGACGGAACCGGATATGTAAT



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

2

Autenticazione e qualità del miele



Approccio target:
Metabarcoding per origine botanica

Isolamento
del DNA da
miele

PCR
con primer
universali

rbcL, *trnL*, *matK*

Sequenziamento
NGS

Elaborazione
bioinformatica dei
dati NGS

Identificazione
dell'origine
botanica

Numero di read
assegnate a
taxa

3 database di
riferimento con
sequenze delle
regioni target

ACAACGGATCTCTTGGCTCCAGCATCGATGAA
CGGATCTCTTGGCTCCAGCATCGATGAAGAAC
GATGAAGAACGCAGCGAAACCGGATATGTAAT



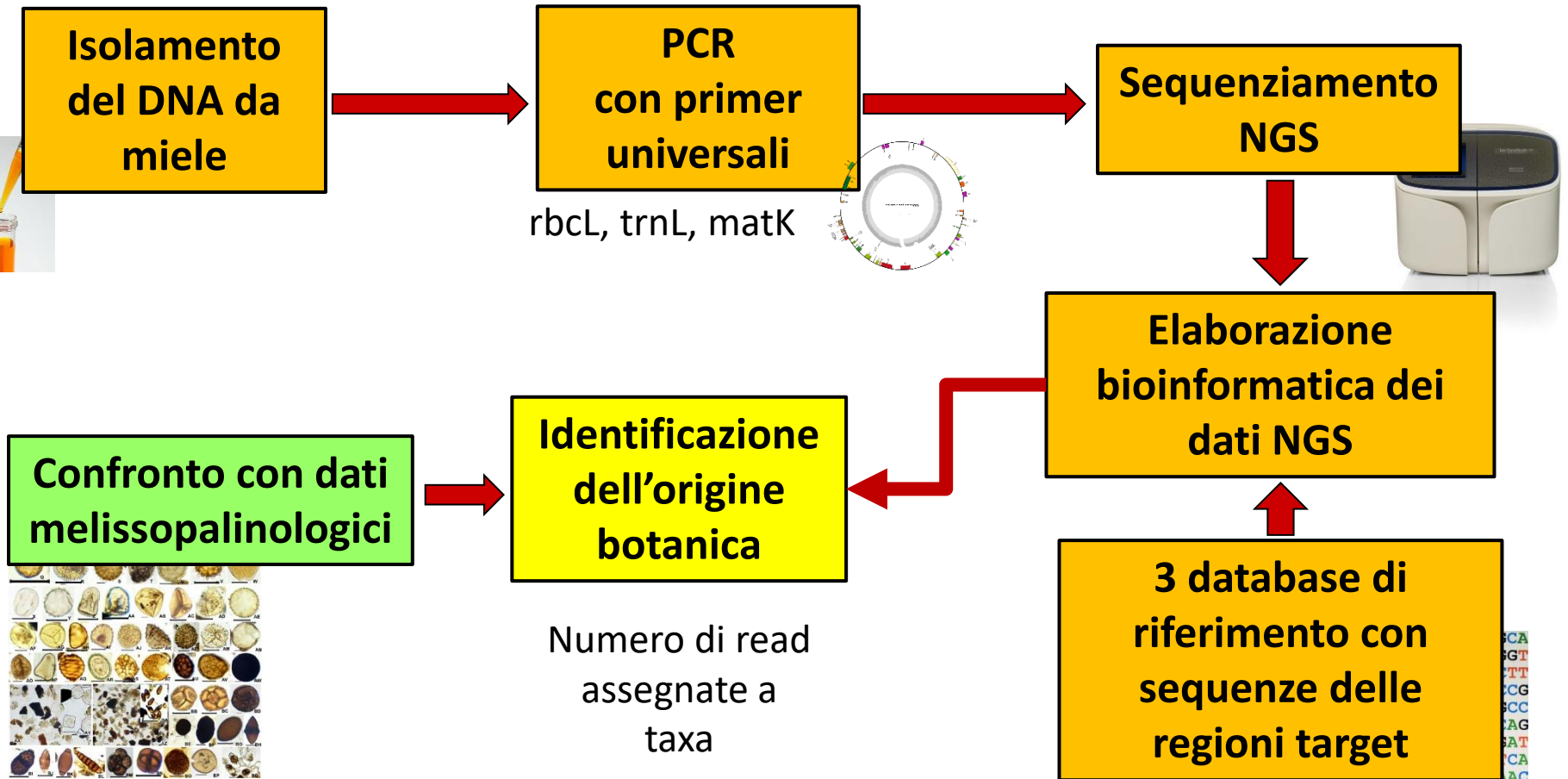
ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

2

Autenticazione e qualità del miele



Approccio target:
Metabarcoding per origine botanica



ACAACGGATCTCTTGGCTCCAGCATCGATGAA
CGGATCTCTTGGCTCCAGCATCGATGAAGAAC
GATGAAGAACGCAGCGAAACCGGATATGTAAT

Autenticazione e qualità del miele



Food Control 86 (2018) 342–349

Contents lists available at ScienceDirect

Food Control

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodcont



ELSEVIER



Application of next generation semiconductor based sequencing to detect the botanical composition of monofloral, polyfloral and honeydew honey

Valerio Joe Utzeri^a, Anisa Ribani^a, Giuseppina Schiavo^a, Francesca Bertolini^{a, b}, Samuele Bovo^{a, c}, Luca Fontanesi^{a, *}

^a Department of Agricultural and Food Sciences (DISTAL), University of Bologna, Viale Fanin 46, 40127 Bologna, Italy

^b Department of Animal Science, Iowa State University, 2255 Kildee Hall, 50011 Ames, Iowa, USA

^c Biocomputing Group, Department of Biological, Geological, and Environmental Sciences (BiGeA), University of Bologna, Via San Giacomo 9/2, 40126 Bologna, Italy



SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

Entomological signatures in honey: an environmental DNA metabarcoding approach can disclose information on plant-sucking insects in agricultural and forest landscapes

Received: 3 July 2017
Accepted: 11 June 2018
Published online: 03 July 2018

Valerio Joe Utzeri¹, Giuseppina Schiavo¹, Anisa Ribani¹, Silvia Tinarelli¹, Francesca Bertolini¹, Samuele Bovo¹ & Luca Fontanesi¹✉

Honeydew produced from the excretions of plant-sucking insects (order Hemiptera) is a carbohydrate-rich material that is foraged by honey bees to integrate their diets. In this study, we used DNA extracted from honey as a source of environmental DNA to disclose its entomological signature determined by honeydew-producing Hemiptera that was recovered not only from honeydew honey but also from blossom honey. We designed PCR primers that amplified a fragment of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) gene of Hemiptera species using DNA isolated from unifloral, polyfloral and honeydew honeys. Ion Torrent next generation sequencing metabarcoding data analysis assigned Hemiptera species using a customised bioinformatic pipeline. The forest honeydew honey reported the presence of high abundance of *Cimex pictus* DNA, confirming their silver fir forest origin. In all other honeys, most of the sequenced reads were from the planthopper *Melanoplus praecox* for which it was possible to evaluate the frequency of different mitotypes. Aphids of other species were identified from honeys of different geographical and botanical origins. This unique entomological signature derived by environmental DNA contained in honey opens new applications for honey authentication and to disclose and monitor the ecology of plant-sucking insects in agricultural and forest landscapes.

Approccio target:
Metabarcoding
per origine
botanica +
origine
entomologica



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

2 Autenticazione e qualità del miele



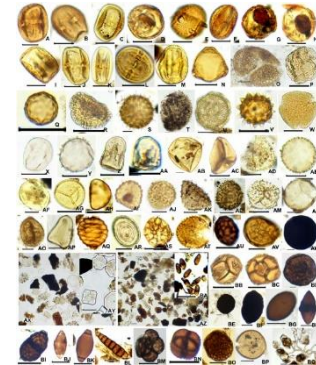
Approccio target:
Metabarcoding per:
origine botanica + origine entomologica

72 mieli di diversa origine (70% da Emilia Romagna)

di cui

33 mieli con dati melissopalnologici:

- Osservatorio Nazionale Miele
- Lucia Piana



2 Autenticazione e qualità del miele



Approccio target:
Metabarcoding per:
origine botanica + origine entomologica



Esempio 1: tre mieli di coriandolo
Famiglia: Apiaceae

Miele A: Provincia Bologna:

- melissopalinochimica = 37% (non conforme)

Miele B: Provincia Forlì-Cesena

- melissopalinochimica = 68% (conforme)

Miele C: Provincia Rimini

- melissopalinochimica = 64% (conforme)



2

Autenticazione e qualità del miele



Approccio target:
Metabarcoding per:
origine botanica + origine entomologica

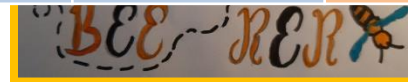


Esempio 1: tre mieli di coriandolo

Famiglia: Apiaceae – sottofamiglia Apioideae

rbcl

Miele A: coriandolo non conforme			Miele B: coriandolo conforme			Miele C: coriandolo conforme		
N. di reads	Livello	Nome	N. di reads	Livello	Nome	N. di reads	Livello	Nome
13119	subfamily	Caesalpinioideae	4928	species	Papaver rhoeas	7973	subfamily	Apioideae
3042	genus	Amorpha	3874	subfamily	Apioideae	7317	genus	Rubus
2896	genus	Adenantha	3628	genus	Rubus	5141	family	Asteraceae
1951	subfamily	Apioideae	3112	genus	Adenantha	4500	species	Punica granatum
1248	tribe	Maleae	1711	subspecies	Brassica rapa subsp. oleifera	3807	subfamily	Allioideae
1064	species	Papaver rhoeas	1500	species	Punica granatum	1306	order	Brassicales
841	subfamily	Amygdaloideae	1070	genus	Prunus	1235	subspecies	Brassica rapa subsp. oleifera



2

Autenticazione e qualità del miele



Approccio target:

Metabarcoding per:

origine botanica + origine entomologica

Esempio 2:

Cinque mieli con varie indicazioni di frode



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

2

Autenticazione e qualità del miele



Approccio target:
Metabarcoding per:
origine botanica + origine entomologica

Esempio 2: Cinque mieli con varie indicazioni di frode

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN Entomological signatures in honey: an environmental DNA metabarcoding approach can disclose information on plant-sucking insects in agricultural and forest landscapes

Received: 7 July 2017
Accepted: 11 June 2018
Published online: 03 July 2018

Valerio Joe Utzeri¹, Giuseppina Schiavo¹, Anisa Ribani¹, Silvia Tinarelli¹, Francesca Bertolini¹, Samuele Bovo¹ & Luca Fontanaelli²

Honeydew produced from the excretion of plant-sucking insects (order Hemiptera) is a carbohydrate-rich material that is foraged by honey bees to integrate their diets. In this study, we used DNA extracted from honey as a source of environmental DNA to disclose its entomological signature determined by honeydew-producing Hemiptera that was received not only from honeydew honey but also from blossom honey. We designed PCR primers that amplified a fragment of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) gene of Hemiptera species using DNA isolated from unifloral, polyfloral and honeydew honeys. Ion Torrent next-generation sequencing metabarcoding data analysis assigned *Hemiptera* species using a customized bioinformatic pipeline. The forest honeydew honey reported the presence of high abundance of *C. corni* greenish COI, confirming their origin for forest origin. In all other honeys, most of the sequenced reads were from the planthopper *Melanoplus* species for which it was possible to evaluate the frequency of different genotypes. Aphids of other species were identified from honeys of different geographical and botanical origins. This unique entomological signature derived by environmental DNA contained in honey opens new applications for honey authentication and to disclose and monitor the ecology of plant-sucking insects in agricultural and forest landscapes.

Mancanza del DNA di insetti produttori di melata



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Autenticazione e qualità del miele



Food Control 86 (2018) 342–349

Contents lists available at ScienceDirect

Food Control

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodcont



ELSEVIER



Application of next generation semiconductor based sequencing to detect the botanical composition of monofloral, polyfloral and honeydew honey

Valerio Joe Utzeri^a, Anisa Ribani^a, Giuseppina Schiavo^a, Francesca Bertolini^{a, b}, Samuele Bovo^{a, c}, Luca Fontanesi^{a, *}

^a Department of Agricultural and Food Sciences (DISTAL), University of Bologna, Viale Fanin 46, 40127 Bologna, Italy

^b Department of Animal Science, Iowa State University, 2255 Kildee Hall, 50011 Ames, Iowa, USA

^c Biocomputing Group, Department of Biological, Geological, and Environmental Sciences (BiGeA), University of Bologna, Via San Giacomo 9/2, 40126 Bologna, Italy



SCIENTIFIC REPORTS

OPEN Entomological signatures in honey: an environmental DNA metabarcoding approach can disclose information on plant-sucking insects in agricultural and forest landscapes

Received: 3 July 2017
Accepted: 11 June 2018
Published online: 03 July 2018

Valerio Joe Utzeri¹, Giuseppina Schiavo¹, Anisa Ribani¹, Silvia Tinarelli¹, Francesca Bertolini¹, Samuele Bovo¹ & Luca Fontanesi^{1, *}

Honeydew produced from the excretion of plant-sucking insects (order Hemiptera) is a carbohydrate-rich material that is foraged by honey bees to integrate their diets. In this study, we used DNA extracted from honey as a source of environmental DNA to disclose its entomological signature determined by honeydew-producing Hemiptera that was recovered not only from honeydew honey but also from blossom honey. We designed PCR primers that amplified a fragment of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) gene of Hemiptera species using DNA isolated from unifloral, polyfloral and honeydew honeys. Ion Torrent next generation sequencing metabarcoding data analysis assigned Hemiptera species using a customised bioinformatic pipeline. The forest honeydew honey reported the presence of high abundance of *Cimex pictus* DNA, confirming their silver fir forest origin. In all other honeys, most of the sequenced reads were from the plant hopper *Melanoplus praecox* for which it was possible to evaluate the frequency of different mitotypes. Aphids of other species were identified from honeys of different geographical and botanical origins. This unique entomological signature derived by environmental DNA contained in honey opens new applications for honey authentication and to disclose and monitor the ecology of plant-sucking insects in agricultural and forest landscapes.

Approccio target:
Metabarcoding

20 mieli

PLOS ONE

RESEARCH ARTICLE

Shotgun metagenomics of honey DNA: Evaluation of a methodological approach to describe a multi-kingdom honey bee derived environmental DNA signature

Samuele Bovo¹, Anisa Ribani¹, Valerio Joe Utzeri¹, Giuseppina Schiavo¹, Francesca Bertolini^{1, 2}, Luca Fontanesi^{1, *}

¹ Department of Agricultural and Food Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy, ² Department of Bio and Health Informatics, Technical University of Denmark, Kongens Lyngby, Denmark

* luca.fontanesi@unibo.it



Approccio non target:
Shot-gun sequencing – caratteristiche microbiologiche del miele



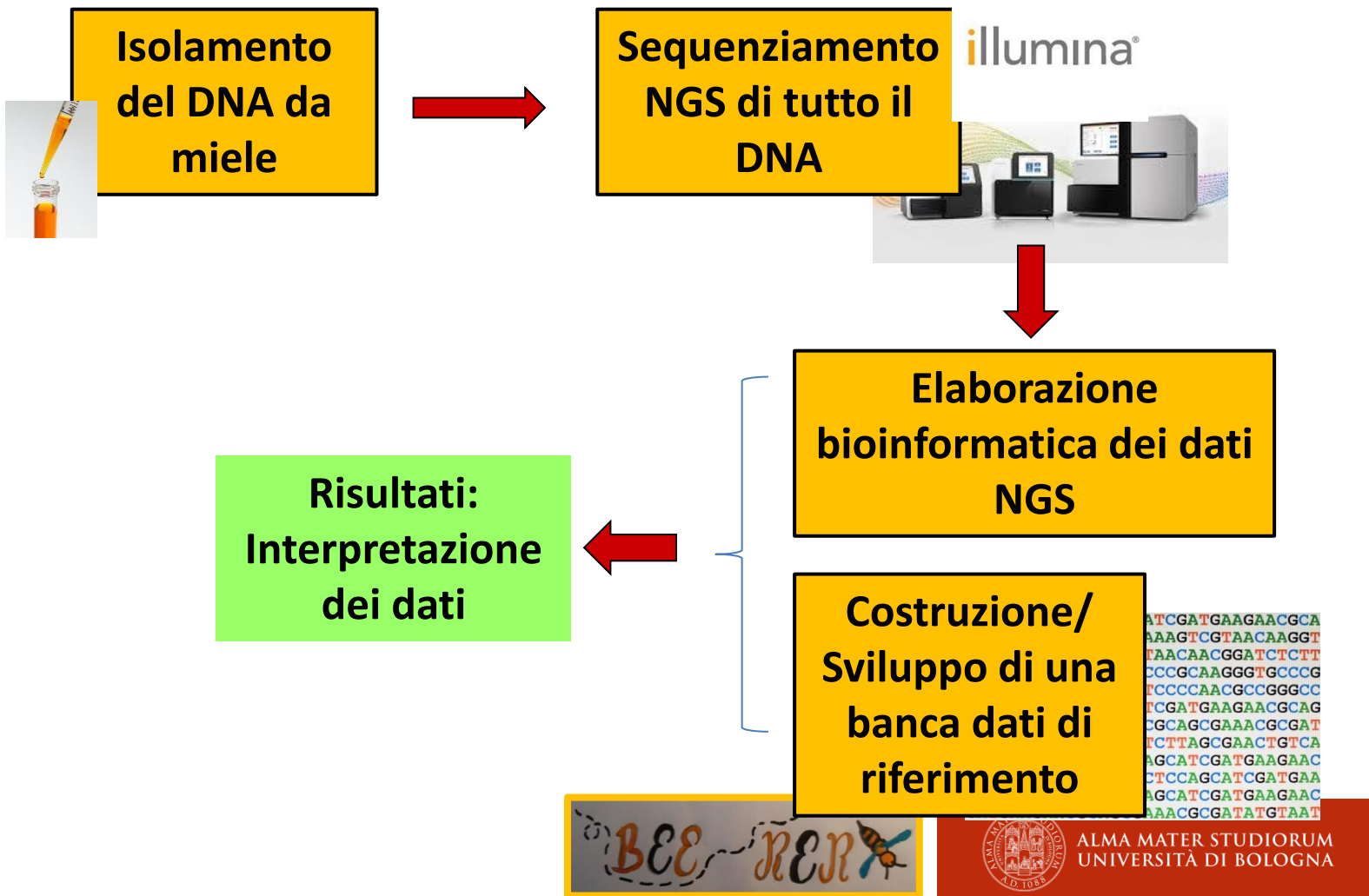
ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

2

Autenticazione e qualità del miele



Approccio non target: Shot-gun sequencing



2

Autenticazione e qualità del miele



Approccio non target:

Shot-gun sequencing – caratteristiche microbiologiche del miele

Organism	No. contigs	Sequence Identity	Sequence Coverage	N. reads	% on total n. of sequenced reads
Lactobacillus_kunkeei	85263	95,72367176	97,95678078	252432	12,94
Parasaccharibacter_apium	1679	96,20091245	97,80166766	1911	0,10
Melissococcus_plutonium	119	84,99955462	78,31092437	1536	0,08
Neoasaia_chiangmaiensis	118	83,05714407	82,77118644	1429	0,07
Kozakia_baliensis	140	81,73227857	82,08571429	1116	0,06
Lactobacillus_sp._BHW4	535	83,96006916	90,85233645	886	0,05
Bartonella_apis	496	95,60480645	98,30645161	524	0,03
Acidibrevibacterium_fodinaquatile	18	82,42922222	81,22222222	456	0,02
Gilliamella_apicola	365	95,20624384	97,94520548	392	0,02
Acetobacter_sp._KACC_21233	28	80,74546429	77,57142857	353	0,02
Neokomagataea_sp._Ha5	37	82,35405405	83,78378378	347	0,02
Komagataeibacter_saccharivorans	17	79,32582353	78,41176471	325	0,02
Gluconobacter_albidus	49	80,98073469	79,53061224	320	0,02
Pantoea_agglomerans	231	98,1004026	99,04761905	236	0,01
Acetobacter_aceti	36	80,61655556	79,97222222	209	0,01
Serratia_symbiotica	185	96,03800541	96,36216216	206	0,01
Swingsia_samuiensis	25	81,80812	74,64	203	0,01
Frischella_perrara	192	97,16048958	98,13020833	197	0,01
Lactobacillus_apis	189	96,47309524	98,28042328	193	0,01

2 Autenticazione e qualità del miele



Conclusioni (2)

- ❑ Le metodologie di analisi del DNA del miele possono:
 - determinare l'origine botanica del miele
 - identificare possibili frodi

- ❑ Stiamo lavorando per aumentare le informazioni delle varie tipologie di miele e migliorare l'interpretazione dei risultati



Macro-tematiche

- 1) Biodiversità e genetica delle api
- 2) Autenticazione e qualità del miele
- 3) Patologia delle api



3

Patologia delle api



a

Analisi dei possibili fattori che determinano il collasso delle famiglie attraverso la caratterizzazione del DNA del miele e la valutazione di fattori biotici e abiotici

b

Impostazione di una prova per valutare, nella pratica del blocco della covata estiva, l'effetto di diverse metodologie di confinamento della regina sulla possibile diffusione di patologie alla famiglia

c

Monitoraggio della distribuzione di alcuni patogeni sul territorio regionale mediante l'analisi del DNA del miele



3

Patologia delle api



a

Analisi dei possibili fattori che determinano il collasso delle famiglie attraverso la caratterizzazione del DNA del miele e la valutazione di fattori biotici e abiotici

Disegno sperimentale:

Case and control

9 vs 8

Aumentato il numero dei case e dei control

Aumento delle tipologie di analisi



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

3

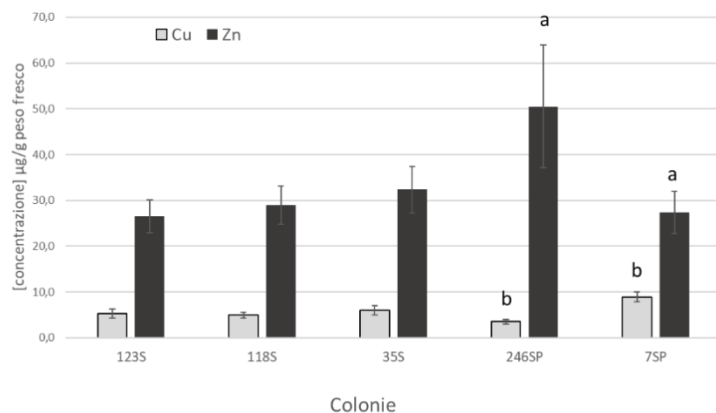
Patologia delle api



a

Case and control

- Analisi del DNA da favo: shot-gun sequencing
- Valutazione presenza *Nosema* su api
- Valutazione presenza *Lotmaria passim* su api
- Presenza lieviti intestini di api
- Analisi di metalli pesanti su api
- Determinazione glifosate su miele
- ...



3

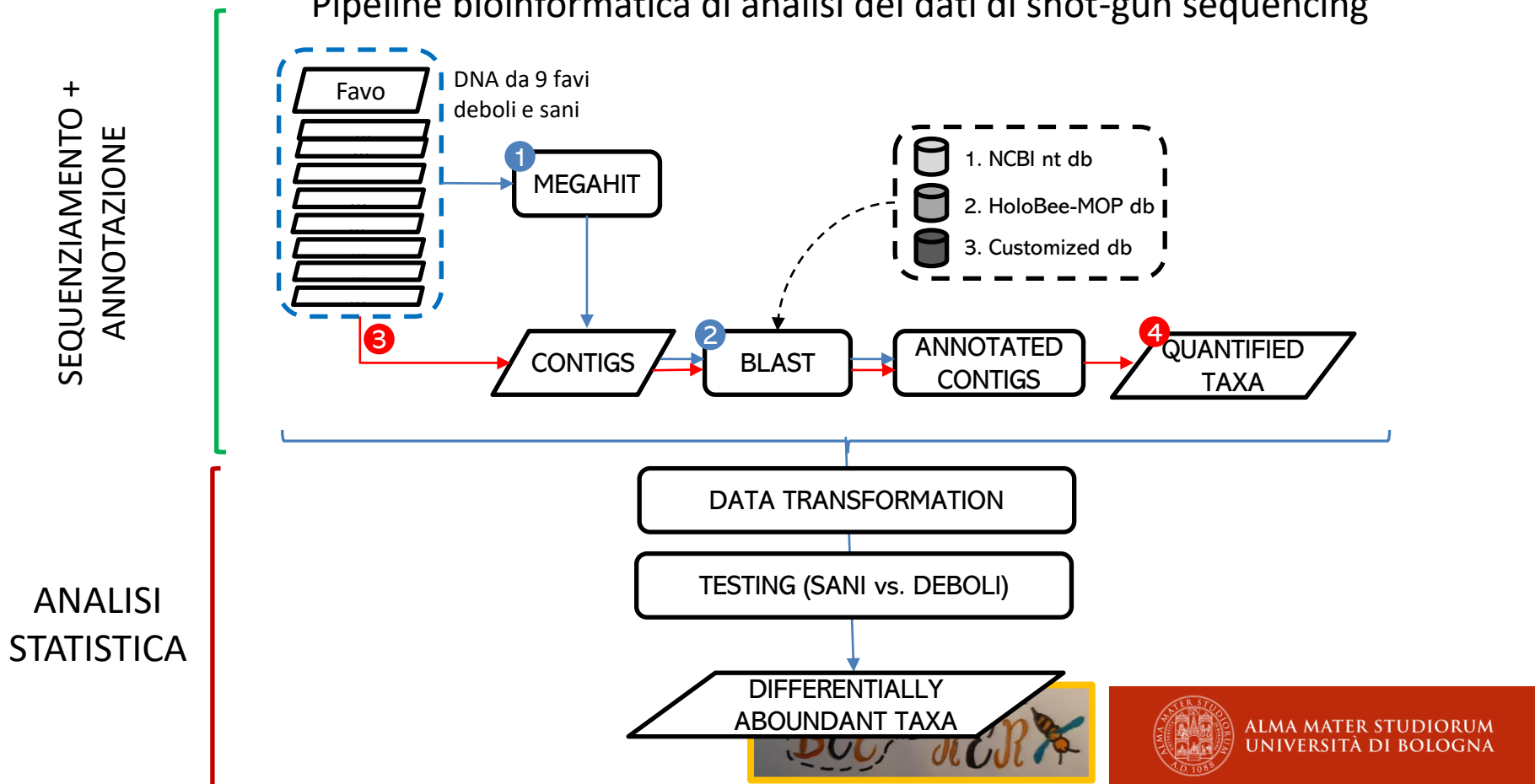
Patologia delle api



a

Case and control **Analisi del DNA da favo: shot-gun sequencing**

Pipeline bioinformatica di analisi dei dati di shot-gun sequencing



3

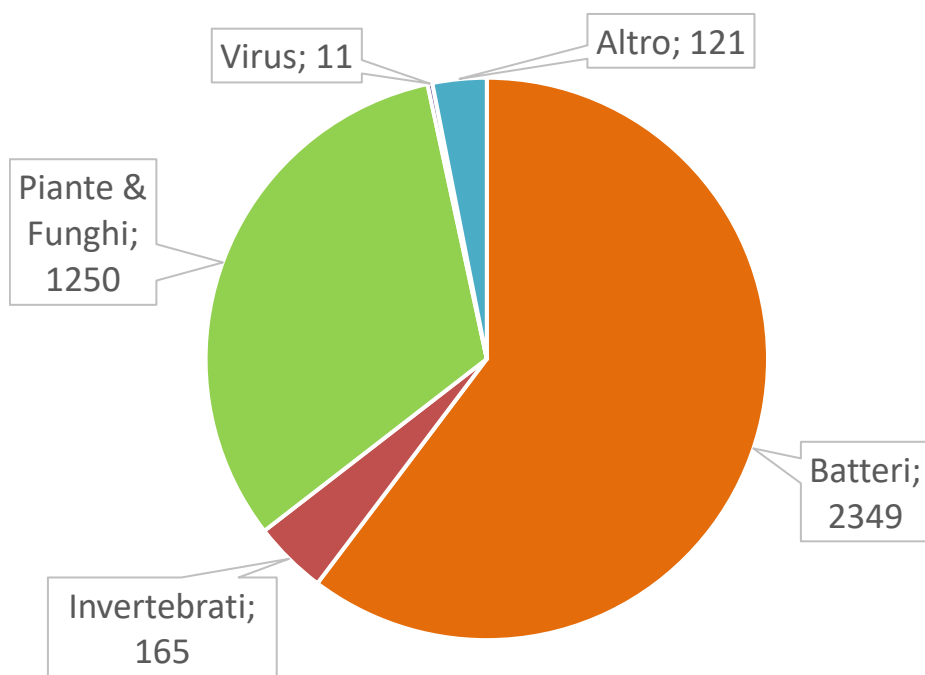
Patologia delle api



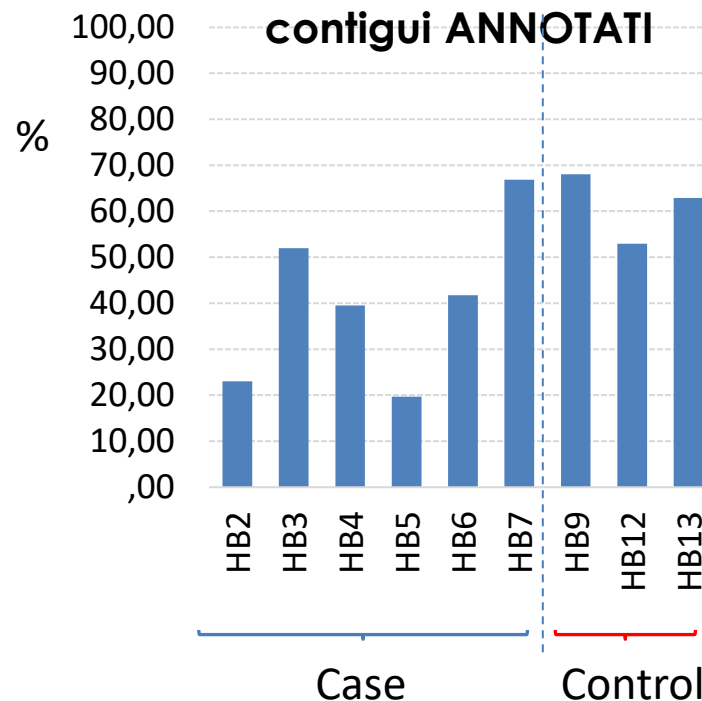
a

Case and control Analisi del DNA da favo: shot-gun sequencing

No. taxa identificati



Reads mappate su contigui ANNOTATI



3

Patologia delle api



b

Impostazione di una prova per valutare, nella pratica del blocco della covata estiva, l'effetto di diverse metodologie di confinamento della regina sulla possibile diffusione di patologie alla famiglia

ANNO I della prova (pilot)

In 4 apiari – 4 colonie per ciascuna modalità

A = classico confinamento con gabbietta senza covata

B = confinamento con telaio normale

C = confinamento con telaio tripartito



3

Patologia delle api



b

Impostazione di una prova per valutare, nella pratica del blocco della covata estiva, l'effetto di diverse metodologie di confinamento della regina sulla possibile diffusione di patologie alla famiglia

- Campionamento di api ogni 15 – 25 gg
- Congelamento api a -80°C
- Analisi virosi



3

Patologia delle api




C

Monitoraggio della distribuzione di alcuni patogeni sul territorio regionale mediante l'analisi del DNA del miele



Article

Honey as a Source of Environmental DNA for the Detection and Monitoring of Honey Bee Pathogens and Parasites

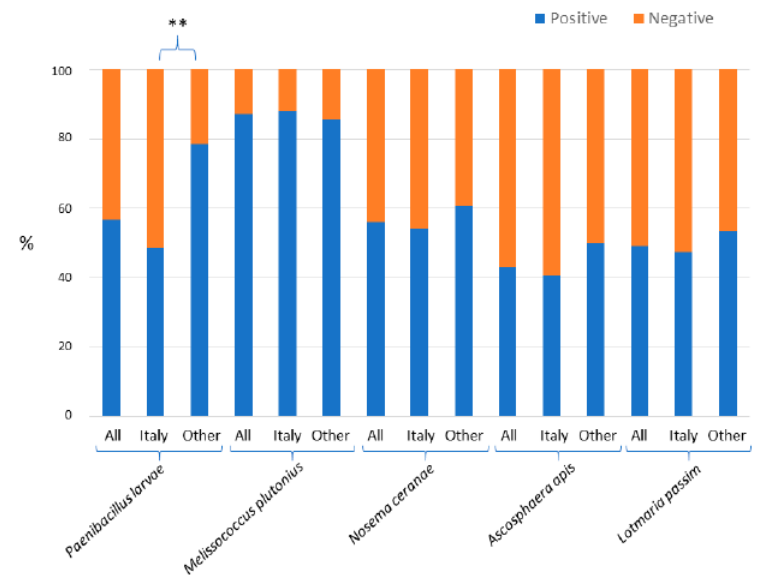
Anisa Ribani ^{1,2}, Valerio Joe Utzeri ^{1,2}, Valeria Taurisano ¹ and Luca Fontanesi ^{1,*} 

¹ Department of Agricultural and Food Sciences, University of Bologna, Viale Giuseppe Fanin 46, 40127 Bologna, Italy; anisa.ribani2@unibo.it (A.R.); valeriojoe.utzeri2@unibo.it (V.J.U.); valeria.taurisano2@unibo.it (V.T.)

² GRIFFA s.r.l., Viale Giuseppe Fanin 48, 40127 Bologna, Italy

* Correspondence: luca.fontanesi@unibo.it; Tel.: +39-051-2096535

Received: 29 July 2020; Accepted: 13 August 2020; Published: 15 August 2020



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

3

Patologia delle api



C

Monitoraggio della distribuzione di alcuni patogeni sul territorio regionale mediante l'analisi del DNA del miele



Varroa destructor



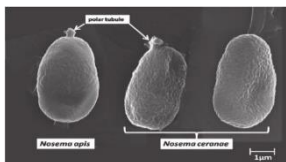
Aschospaera apis



Acarapis woodi



Paenibacillus larvae



Nosema ceranae
Nosema apis



Melissococcus plutonius



Tropilaelaps spp.
(*T. clarae*, *T. mercedesae*)



3

Patologia delle api



C

Monitoraggio della distribuzione di alcuni patogeni sul territorio regionale mediante l'analisi del DNA del miele

ARTICLE IN PRESS

Journal of Invertebrate Pathology xxx (xxxx) xxx



ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Journal of Invertebrate Pathology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jip



Analysis of honey environmental DNA indicates that the honey bee (*Apis mellifera* L.) trypanosome parasite *Lotmaria passim* is widespread in the apiaries of the North of Italy

Anisa Ribani^a, Valerio Joe Utzeri^a, Valeria Taurisano^a, Roberta Galuppi^b, Luca Fontanesi^{a,*}

^a Department of Agricultural and Food Sciences, University of Bologna, Viale Giuseppe Fanin 46, 40127 Bologna, Italy

^b Department of Veterinary Medical Sciences, University of Bologna, Via Tolara di Sopra 50, 40064 Ozzano Emilia, Bologna, Italy



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

3

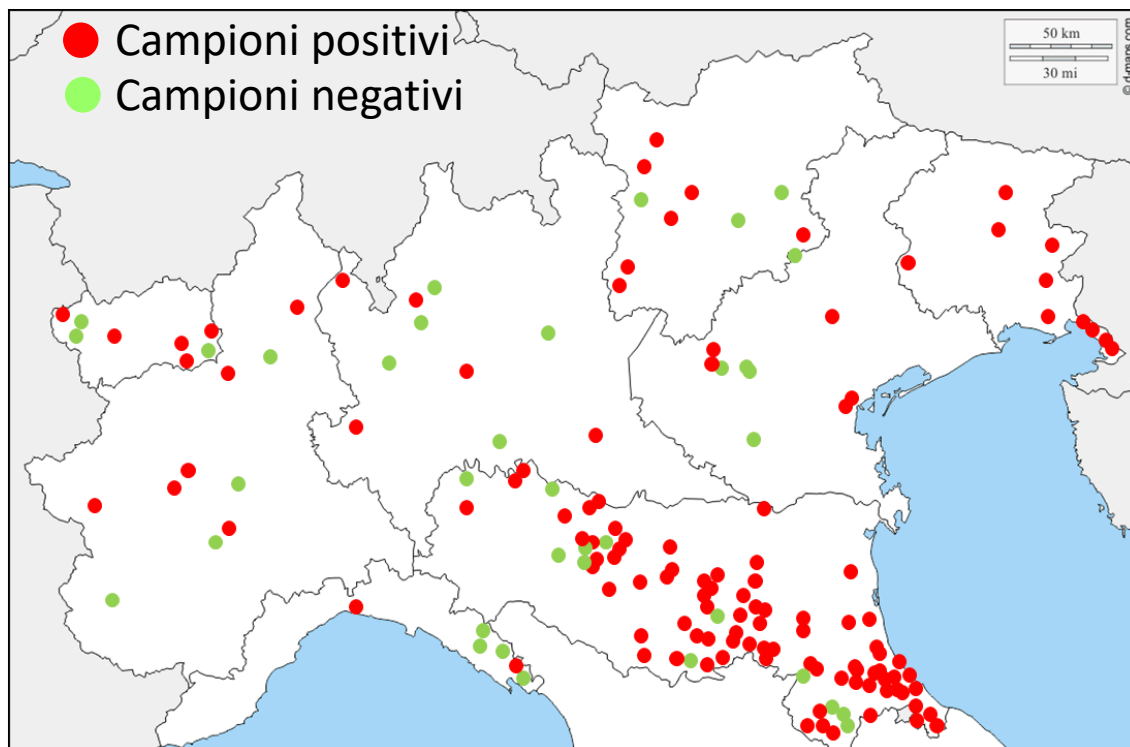
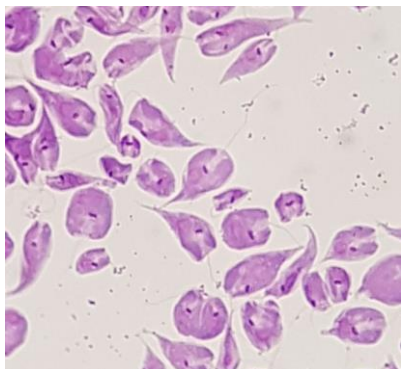
Patologia delle api



C

Monitoraggio della distribuzione di alcuni patogeni sul territorio regionale mediante l'analisi del DNA del miele

Lotmaria passim



3

Patologia delle api



C

Monitoraggio della distribuzione di alcuni patogeni sul territorio regionale mediante l'analisi del DNA del miele

Honey environmental DNA can be used to detect and monitor honey bee pests: development of methods useful to identify *Aethina tumida* and *Galleria mellonella* infestations

Anisa Ribani ¹, Valeria Taurisano ¹, Valerio Joe Utzeri ¹ and Luca Fontanesi ^{1,*}

In preparazione



Aethina tumida



Galleria mellonella



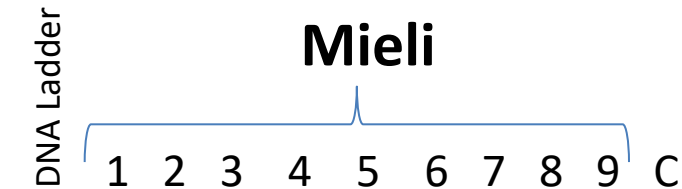
3

Patologia delle api



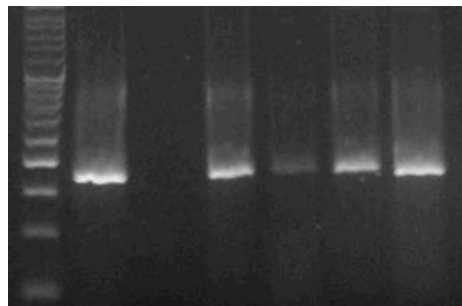
C

Monitoraggio della distribuzione di alcuni patogeni sul territorio regionale mediante l'analisi del DNA del miele



Aethina tumida

1 2 3 4 5 C



Galleria mellonella





Conclusioni (3)

- L'argomento è particolarmente complesso e può essere affrontato con diversi approcci
- Abbiamo sviluppato alcune metodologie utili per il monitoraggio
- Altre indagini sono necessarie per completare il percorso iniziato



Conclusioni generali

- **BEE-RER-2** è stato strutturato in diverse azioni per cercare di contribuire alla soluzione di diversi problemi del settore apistico regionale – come da bando
- Abbiamo ottenuto risultati che aprono nuove possibilità applicative
- Il coinvolgimento e la collaborazione delle Associazioni e Organizzazioni apistiche regionali, fondamentali per l'ottenimento dei risultati, lo saranno ancora di più per il loro trasferimento applicativo



<https://site.unibo.it/bee-rer/it/>



PROGETTO DI RICERCA BEE-RER

HOME

IL CONTESTO

IL PROGETTO

LINEE GUIDA PER IL CAMPIONAMENTO

LE PERSONE

GLI EVENTI



<https://www.facebook.com/progettoBEERER/>

@progettoBEERER



<https://www.linkedin.com/company/bee-rer>



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-alimentari (DISTAL)

Samuele Bovo



Anisa Ribani



Giuseppina Schiavo



Valeria Taurisano



Valerio Joe Utzeri



Luca Fontanesi

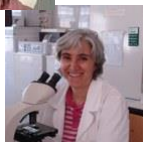


Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie (DIMEVET)

Gloria Isani



Roberta Galuppi



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

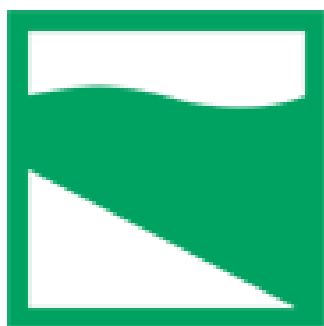


Unione Europea



mipaaf

ministero delle politiche
agricole alimentari e forestali



Progetto realizzato con il contributo del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali, Regolamento UE 1308/2013, Programma 2020/2021, sottoprogramma ministeriale Regione Emilia-Romagna, Misura F (DELIBERAZIONE DELLA GIUNTA REGIONALE 28 LUGLIO 2020, N. 939; Reg. (UE) 1308/2013 e L.R. 4 marzo 2019, n. 2. Programma regionale triennale 2020-2022. Miglioramento produzione e commercializzazione prodotti apicoltura. Approvazione avviso pubblico per la presentazione delle domande sulla seconda annualità 2020/2021 – OCM Apicoltura.



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Ringraziamenti

- L'Osservatorio Nazionale Miele (Alberto Contessi e Giancarlo Naldi)
- Tutte le Associazioni di Apicoltori della Regione
- Lucia Piana
- Molti apicoltori
- Giovanni Guido e UNAAPI
- L'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana



Regione Emilia-Romagna



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA