



La biologia molecolare applicata alla melissopalinoologia

*Sviluppo di un metodo
per la caratterizzazione
dei mieli valdostani
attraverso il riconoscimento
dei pollini
con **Polymerase Chain Reaction (PCR)***



2° Focus group "Pollini simili: casi studio" – Università degli Studi di Perugia
17 Febbraio 2014

Dott.ssa Gyppez C.
Dott.ssa Borney F.



Obiettivo "Competitività Regionale
ed Occupazione" 2007-2013

PROGETTO DI SPECIALIZZAZIONE NEL SETTORE DELLA RICERCA E DELLO SVILUPPO TECNOLOGICO FINANZIATO CON BORSA DI RICERCA

Durata del progetto: 24 mesi

Ente ospitante:



Unità di ricerca

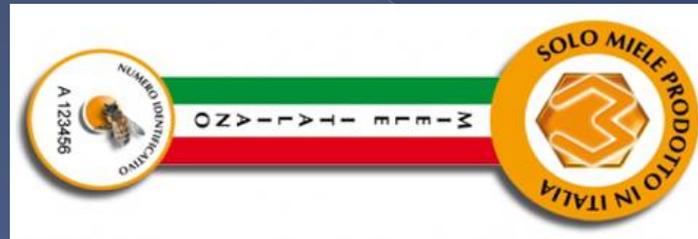
Ruolo nell'attività di ricerca	Dati anagrafici, ente di appartenenza	Denominazione dell'ente e ruolo della persona di riferimento all'interno dell'Unità di ricerca.
<i>Referente di struttura</i>	BORNEY Francesca , Responsabile del Laboratorio di Microbiologia di ARPA VdA.	Tutoraggio operativo della ricercatrice
<i>Responsabile scientifico</i>	PASCA Maria Rosalia , Ricercatrice e docente presso il Dipartimento di genetica e microbiologia dell'Università degli studi di Pavia.	Supervisione scientifica del progetto
<i>Partner analisi OGM e analisi sui mieli</i>	MARCHESI Ugo , Laureato in Scienze biologiche, è attualmente Dirigente biologo presso l'Ufficio di Staff Biotecnologie dell'IZSLT.	- Supporto all'analisi e all'elaborazione dei risultati per quanto riguarda ricerca OGM e accreditamento metodiche. - Supporto per l'esecuzione della melissopalinoologia in PCR.
<i>Partner progetto sui mieli</i>	FORMATO Giovanni , Responsabile della U.O. di Apicoltura presso l'Ufficio di Staff, Accettazione, Refertazione e Sportello dell'Utente dell'IZSLT.	Supporto per analisi melissopalinoologica tradizionale del miele e discussione dei risultati riguardo ai pollini.
<i>Fornitura dati e campioni per analisi mieli</i>	ADAMO Corrado , Direttore della Direzione Produzioni Vegetali, Agriturismo e Servizi Fitosanitari presso l'Assessorato Agricoltura e Risorse Naturali della Valle d'Aosta.	Fornitura e selezione dei campioni di miele e dei dati connessi nel caso studio.



Ricercatrice: GYPPAZ Cristina



Perché il miele?



- **L'Italia è il Paese del miele.** E' l'unico a offrire oltre **50 varietà** di miele, con una produzione che si attesta sui **20.000 quintali/anno**, (dati Nielsen).
- Ogni Regione è caratterizzata da alcune produzioni tipiche (ad es.):
 - Miele di **Eucalipto** → Lazio
 - Miele d'**Arancio** → Calabria
 - Miele di **Acacia** → Friuli Venezia Giulia
 - Miele di **Cardo** e Miele di **Corbezzolo** → Sardegna



- In **Valle d'Aosta** quest'attività si è sviluppata per lo più grazie alla passione dei privati.

Il lavoro degli apicoltori valdostani ha permesso la valorizzazione del miele della Valle:

- Miele di **Rododendro**;
- Miele di **Castagno**;
- Miele di **Tarassaco**;
- Miele di **Tiglio**.



inseriti nell'elenco dei **prodotti tradizionali della Valle d'Aosta** e aspettano ora di ottenere la **Denominazione di Origine Protetta (DOP)**, insieme ad altri tipi di miele (es. Melata, Miele millefiori di montagna, Acacia).



Attualmente:

- Il riconoscimento dei granuli pollinici nel miele è effettuato da un **esperto al microscopio ottico.**

- Metodica che **presenta dei limiti:**

- Elevata Specializzazione dell'operatore;**

- Impiego di molte ore/uomo**



Limitato numero di campioni analizzabili dal laboratorio

- Metodo operatore-dipendente** ➔ **poco standardizzato**

(accuratezza, sensibilità, specificità)



Tipo di Miele:	CASTAGNO 2011				
Località:	Arnad	Arnad	Issogne	Chatillon	Pontey
	x (98,1%)	x (97%)	x (97,3%)	x (98,3%)	x (94,2%)
<i>Castanea</i>					
<i>Tilia</i>	x	x		x	x
<i>Taraxacum</i>			x		x
<i>Rhododendron</i>					
<i>Acer</i>			x		
<i>Achillea</i>	x			x	
<i>Aesculus</i>				x	
<i>Ailanthus</i>	x			x	
<i>Anthyllis</i>					
<i>Aster/Solidago</i>	x				x
<i>Borago</i>				x	
<i>Buxus</i>					
<i>Campanulacea</i>					
<i>Centaurea j.</i>		x		x	
<i>Clematis</i>	x	x		x	
<i>Compositae S. (Cardus, Cirsium)</i>					
<i>Compositae T. (Taraxacum, Crepis, Hieracium)</i>					
<i>Cornus sanguinea</i>			x	x	
<i>Coronilla/Hippocrepis</i>					
<i>Crocus</i>					
<i>Cruciferae</i>	x				
<i>Echium</i>	x	x			x
<i>Epilobium</i>					
<i>Ericaceae (Erica f., Vaccinium)</i>	x	x	x	x	x
<i>Gleditsia</i>	x		x		
<i>Hedera</i>		x			x
<i>Helianthus Topinambur</i>					
<i>Hypericum f.</i>		x		x	
<i>Ilex aquifolium</i>					
<i>Lamium f.</i>					
<i>Ligustrum</i>		x		x	
<i>Liriodendron</i>			x		
<i>Lonicera</i>					
<i>Lotus alpinus</i>					
<i>Lotus corniculatus</i>			x	x	x
<i>Malus/Pyrus</i>					
<i>Malva f.</i>					
<i>Melilotus</i>	x	x		x	
<i>Myosotis</i>		x	x		
<i>Onobrychis</i>		x	x		x
<i>Oxalis</i>					
<i>Parthenocissus</i>		x	x	x	x
<i>Pedicularis</i>					
<i>Pyrus/Malus</i>					
<i>Polygonum bistorta</i>	x				x

<i>Potentilla/Fragaria</i>	x		x		
<i>Primulaceae</i>					
<i>Prunus</i>					
<i>Rhamnus</i>					
<i>Ranunculaceae</i>					
<i>Robinia acacia</i>	x	x	x	x	x
<i>Rosa canina</i>				x	
<i>Rubus</i>	x	x	x	x	x
<i>Salix</i>	x	x		x	
<i>Salvia f.</i>					
<i>Saxifraga</i>					
<i>Sedum</i>		x		x	
<i>Silene f.</i>					
<i>Sorbus f.</i>		x	x	x	x
<i>Thymus</i>				x	x
<i>Trifolium pratenses</i>				x	
<i>Trifolium repens</i>		x	x	x	
<i>Umbelliferae</i>		x		x	
<i>Veronica f.</i>					
Non nettarifere:					
<i>Actinidia</i>					
<i>Artemisia</i>			x		x
<i>Carex</i>					
<i>Chamaerops</i>					x
<i>Chelidonium</i>					
<i>Cheno/amarantaceae</i>					
<i>Corylus</i>				x	
<i>Cupressaceae</i>					
<i>Filipendula</i>				x	
<i>Fraxinus</i>					x
<i>Graminaceae</i>	x	x	x	x	x
<i>Helianthemum</i>			x	x	x
<i>Juglans</i>					
<i>Juniperus</i>					
<i>Luzula</i>					
<i>Papaver</i>					
<i>Pinaceae</i>				x	
<i>Plantago</i>	x			x	x
<i>Quercus</i>		x	x	x	x
<i>Rhamnaceae</i>					
<i>Rumex</i>	x				
<i>Sambucus</i>					
<i>Thalictrum</i>					
<i>Urticaceae/moraceae</i>					
<i>Vitis</i>	x				



Il progetto si propone di:

- ⦿ **mettere a punto una metodica per l'identificazione a livello di genere o specie dei pollini presenti all'interno del miele avvalendosi di metodi biomolecolari**, con la guida e il supporto dell'IZSLT, che sta già conducendo un progetto sul biomonitoraggio ambientale, attraverso lo studio dei mieli e dei pollini, all'interno del territorio del *Parco Nazionale della Majella*;
- ⦿ Proporre un protocollo analitico **standardizzato e validato**, applicabile in un laboratorio come metodo di routine;
- ⦿ **aumentare il numero di campioni esaminabili** dal laboratorio e **garantire un risparmio di tempo d'analisi e di "ore uomo"** in quanto lo strumento consente l'analisi di più campioni contemporaneamente;
- ⦿ Costruire una **"carta d'identità molecolare"** identificativa dei mieli della Valle d'Aosta.



Scelta dei mieli

- Sulla base delle indicazioni dell'Assessorato Agricoltura della Regione Valle d'Aosta, sono stati selezionati i pollini su cui lavorare:

- Rododendro



- Tarassaco



- Tiglio



- Castagno



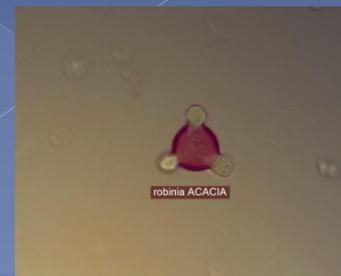
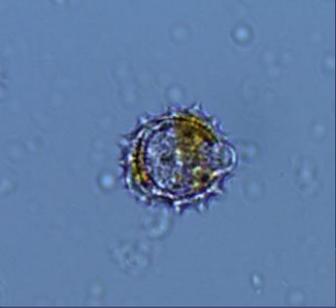
Mieli Uniflorali

Campionamento

- 5 campioni di miele per ogni tipologia
- Due anni di produzione (2011-2012)
- Totale: 40 campioni

Tutti i mieli campionati sono accompagnati da:

- **Scheda di analisi palinologica** qualitativa, effettuata al microscopio ottico presso il laboratorio apistico della *Fondazione Fojanini (Sondrio)*;
- **Valutazione organolettica**, effettuata da esperti assaggiatori dell'*Assessorato all'Agricoltura* della Regione Valle d'Aosta;
- **Dichiarazione del Luogo di Produzione.**





Protocollo di lavoro:

- a) *Ricerca bibliografica e costruzione dei primers d'interesse;*
- b) *Estrazione del DNA;*
- c) *Lettura spettrofotometrica delle quantità di DNA estratto;*
- d) *PCR end-point;*
- e) *Rivelazione elettroforetica.*



Costruzione dei primers d'interesse

1. Reperire la sequenza dei primers su **articoli di riferimento** (es. I. Laube, 2010. Development of primer and probe sets for the detection of plant species in honey. *Food Chemistry*);
2. *Disegnare il primer dopo aver trovato la sequenza del gene d'interesse in **pubmed_nucleotide**.*

- Scelta di un gene altamente conservato;
- Lunghezza primers: 18-22 bp;
- Percentuale di G+C: 50-60% del tot;
- Temp. Annealing: 50-60°C;
- No lunghi tratti di polinucleotidi.



TARASSACO

Seq. Scelta: **Taraxacum officinale ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcl) gene, partial cds; chloroplast** GenBank: AY395562.1

ORIGIN

```

1 taaagcaagt gttggattca aagctggtgt taaagattat aaattgactt attatactcc
61 tgactatgaa accaaggata ctgatatttt ggcagcattt cgagtaa ctc ctcaacctgg
121 agttccg cct gaagaagcag gggccgcagt agctgccgaa tcttctactg gtacat ggac
181 aactgtgtgg accgat ggac ttacgagcct tgatcgttac aaagggcgat gctatggat
241 tgagcctggt cctggagaag aaagtcaatt tattgcttat gtagcttacc cattagacct
301 ttttgaagaa ggttctgtta ctaacatggt tacttccatt gtaggtaatg tatttggggt
361 caaagccctg cgtgctctac gtctggaaga tttgcgaatc cctggtgcgt atgttaaaac
421 tttccaaggt ccgcctcacg gcatccaagt tgagagagat aaattgaaca agtatggctg
481 tcctctgttg ggatgtacta ttaaacctaa attgggggta tccgctaaaa actacggtag
541 agctgtttat gaatgtcttc gtgggtggcct tgattttact aaagatgatg agaacgtgaa
601 ctcccaacca tttatgcggt ggagagaccg tttcttattt tgtgccgaag ctatttttaa
661 atcacaagct gaaacaggtg aaatcaaagg gcattacttg aatgctactg cgggtacatg
721 cgaagaaatg atgaaaaggg ctatatattg cagagaattg ggagttccta tcgtaatgca
781 tgactaccta acaggtggat tcaactgcaa tactaccttg gctcattatt gccgagataa
841 tggcctactt cttcacatcc accgcgcaat gcatgcagtt attgatagac agaagaatca
901 tggatacac tttcgtgtac tagctaaagc gttacgtatg tctgggtggag atcatattca
961 ttccggtacc gtagtaggta aacttgaagg ggaaagagaa atcactttgg gctttgttga
1021 tttactgcgt gatgatttta ttgaaaaaga tagaagtcgc ggtatttatt tcaccaaga
1081 ttgggtctct ctaccaggty ttctgctgt agcttcgggc ggtattcacg tttggcatat
1141 gctgctctg accgagatct ttggagatga ttccgtacta cagttcggty gaggaactt
1201 agggcaccct tgggt aatg caccgggtgc cgta cctaat egagtgcgc tagaagcatg
1261 tgtacaagct cgtaatgagg gacgtgatct tgctactgag ggtaatcaaa ttatccgtg
1321 ggtaccaaa tggagtcctg aactagctgc tgctttgtgaa gtatggaaag agatcgtatt
1381 taattttgca gcagtggacg ttttggat

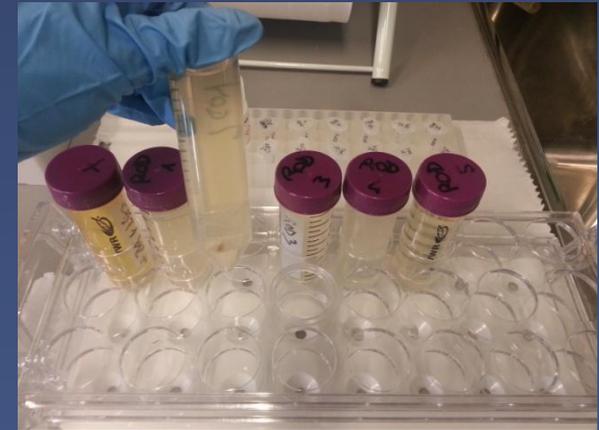
```



Estrazione del DNA dai campioni di miele

○ Protocollo di estrazione:

1. Pesare 10 gr di miele,
2. Sciogliere con 45 ml d'acqua in bagno termostatico a 65°C per 40 min.;
3. Centrifugare a 4000 rpm per 30 min. ;
4. Risospendere il pellet nel Buffer di lisi;
5. Proseguire secondo le indicazioni del kit scelto
(*Invisorb® Spin Food Kit II - Stratecoo molecular - Invitex*).





Verifica dell'estrazione di materiale vegetale

PCR end-point



- Plant nes-2-f (tRNA-Leu Fw)* 5'-ATTGAGCCTTGGTATGGAAACCT-3'
- Plant nes-2-r (tRNA-Leu Rw)* 5'-GGATTGGCTCAGGATTGCC-3'

- Act-f (Actina Fw)* 5'-CAAGCAGCATGAAGATCAAGGT-3'
- Act-r (Actina Rw)* 5'-CACATCTGTTGGAAAGTGCTGAG-3'

*I. Laube, 2010. Development of primer and probe sets for the detection of plant species in honey. *Food Chemistry*



Ricerca delle sequenze specifiche dei pollini caratterizzanti

PCR end-point



- Cas-all-nes f: 5'-GAGTGCTGAAATCATTGAAGGAAAT-3'
- Cas-all-nes r: 5'-AATGATGTGTTGGAGATGAGAATAGAAG-3'
- Til_nr-f: 5'-GGGCATCGAACATGAGCTTT-3'
- Til_nr-r: 5'TTCAACGAGTTTGCATGGGA-3'
- Tarassaco Forward 5'-AATGCACCCGGTGCCGTA-3'
- Tarassaco Reverse 5'-TTCACAAGCAGCAGCTAGTT-3'
- Rododendro Forward 5'-TAATATCCCACCCCATCCA-3'
- Rododendro Reverse 5'-ATTCAAATAGGATACTCGTGT-3'
- TAR BIS Forward 5'-CTCCTCAACCTGGAGTCCG-3'
- TAR BIS Reverse 5'-ATCGGTCCACACAGTTGTCC-3'
- ROD BIS Forward 5'-CCCTCGACTTTCTGGGCTAT-3'
- ROD BIS Reverse 5'-AATCGGATAAAGCGGCCAG-3'

Da articolo*

*I. Laube, 2010. Development of primer and probe sets for the detection of plant species in honey. *Food Chemistry*



PCR end-point



Protocollo termico

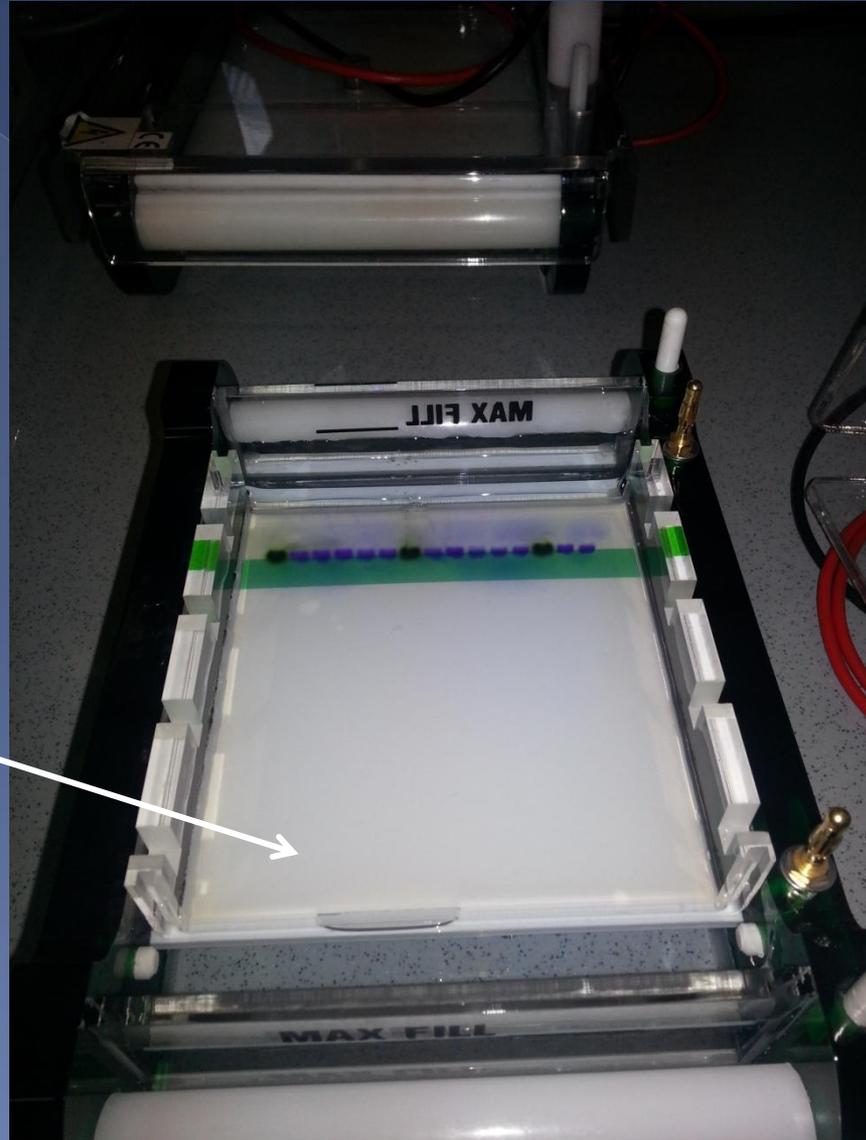
Denaturazione: 95°C x 10min.

Annealing: 95°C x 1min.
 T_a x 1min.
 72°C x 1min. } x 35 cicli

Estensione: 72°C x 10min.

Totale circa 2.40 ore

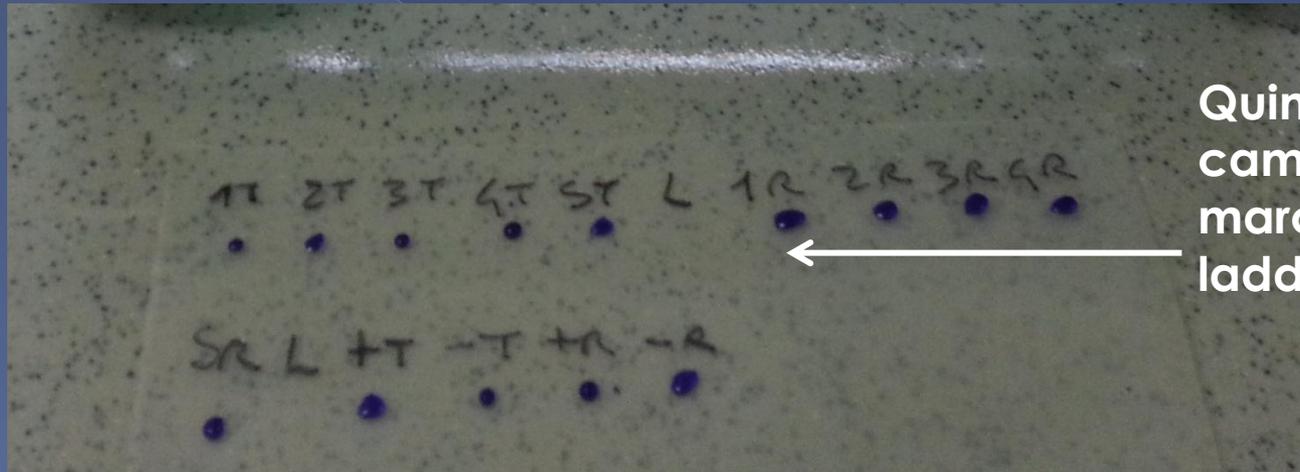
Rivelazione elettroforetica



Immergere il gel, precedentemente colato e lasciato solidificare, in tampone TBE 0.5X



Rivelazione elettroforetica



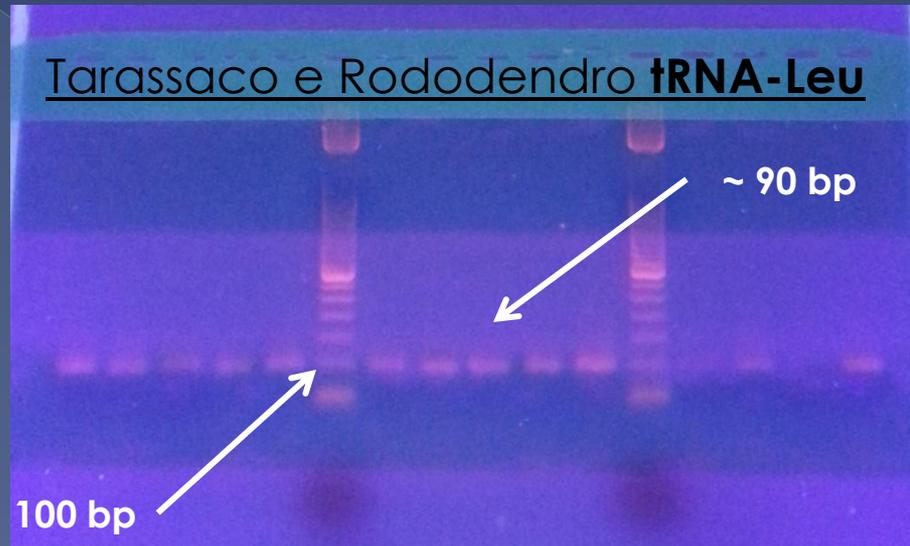
Quindi caricare
campione e
marcatori
ladder di 50 bp

Miscelare

10 μ l di DNA campione amplificato + 2 μ l di Loading Buffer (Blu di Bromofenolo)



Rivelazione elettroforetica



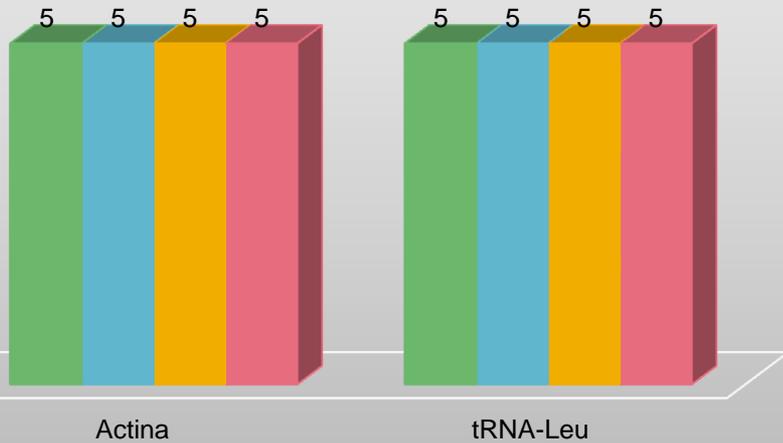
Dopo la migrazione,
 esporre il gel alla lampada UV per evidenziare le bande
 (marcatore intercalante GelRED)



RISULTATI mieli 2011

2011

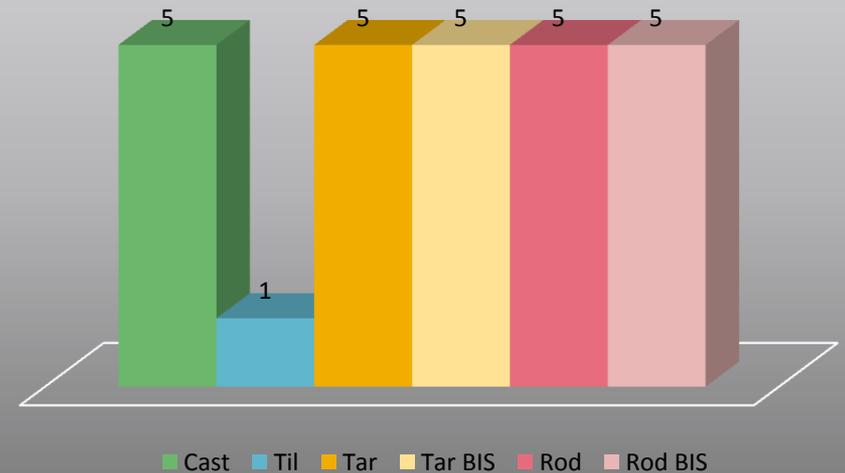
■ Castagno ■ Tiglio ■ Tarassaco ■ Rododendro



In tutti i campioni è presente materiale vegetale (polline)

Nel TIGLIO un solo campione è risultato positivo alla sequenza target (Soglia di rilevabilità?)

2011

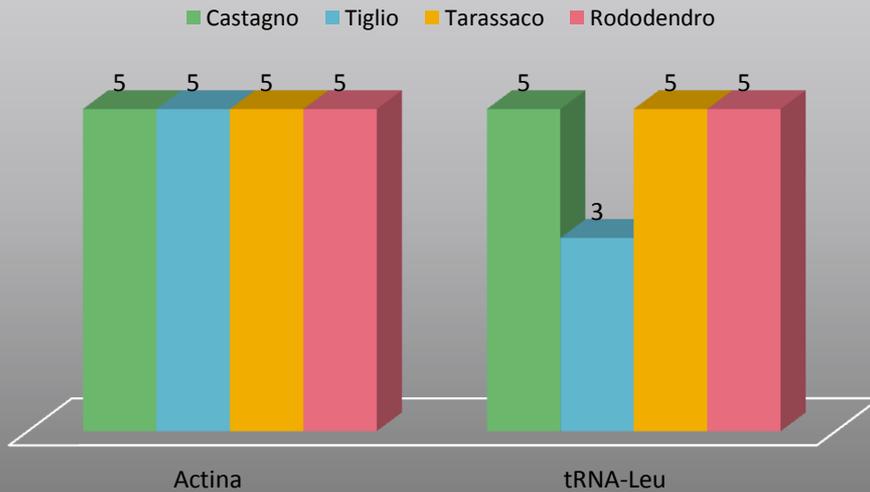


■ Cast ■ Til ■ Tar ■ Tar BIS ■ Rod ■ Rod BIS



RISULTATI mieli 2012

2012

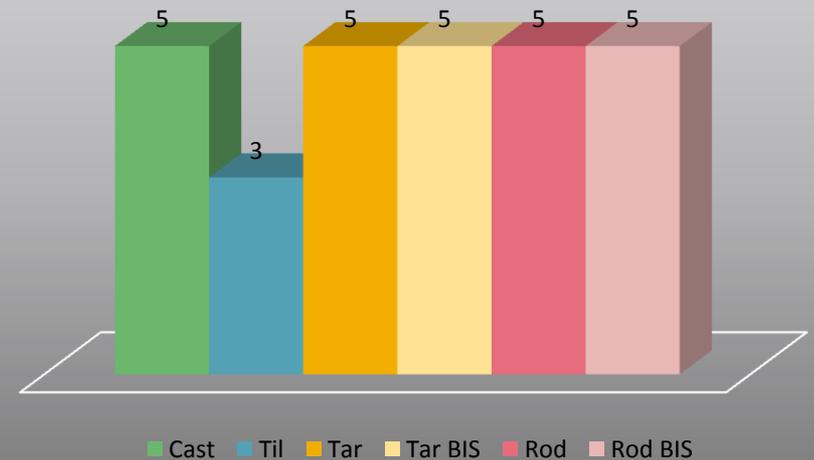


Nel TIGLIO tutti i campioni presentano positività per Actina, mentre solo 3 campioni per tRNA-Leu

(problema estrazione o seq. aspecifiche per i nostri pollini?)

Nel TIGLIO tre campioni su cinque risultano positivi alla sequenza target

2012





Discussione dei dati ottenuti

MIELI VdA 2011	n° campione	risultati PCR	Concentrazione polline tipologia di miele da analisi melissopalinoologica (%)	Pollini più frequenti e di accompagnamento da melissopalinoologia
CASTAGNO	1	+	97%	Non siamo in possesso dei dati ottenuti escludendo il castagno dal conteggio
	2	+	98,3%	Non siamo in possesso dei dati ottenuti escludendo il castagno dal conteggio
	3	+	98,1%	Non siamo in possesso dei dati ottenuti escludendo il castagno dal conteggio
	4	+	97,3%	Non siamo in possesso dei dati ottenuti escludendo il castagno dal conteggio
	5	+	94,2%	Non siamo in possesso dei dati ottenuti escludendo il castagno dal conteggio
RODODENDRO	1	+	76,6%	Rubus (10,1%)
	2	+	81,0%	Rubus (5,7%), Polygonum bistorta (4,2%), Onobrychis (3,4%)
	3	+	68,2%	Trifolium repens (12,3%)
	4	+	65,9%	Rubus (16,1%), Lotus alpinus (4,1%)
	5	+	85,5%	Rubus (8,8%), Polygonum bistorta (2,9%)
TARASSACO	1	+	9,3%	Lotus corniculatus (27,9%), Salix (23,2%), Prunus (10,2%), Acer (6,5%)
	2	+	24,9%	Onobrychis (27,4%), Prunus (13,7%), Salix (8,6%)
	3	+	8,0%	Ericaceae (21,2%), Rhamnus (17,5%), Pyrus/Malus (11,7%), Lotus corniculatus (9,5%), Onobrychis (7,3%)
	4	+	5,2%	Pyrus/Malus (30,5%), Salix (13,7%), Acer (10,5%), Trifolium repens (10,5%), Umbelliferae (6,3%), Prunus (6,3%)
	5	+	7,2%	Pyrus/Malus (27,9%), Prunus (24%), Acer (8,9%), Umbelliferae (6,1%), Lotus corniculatus (6,1%), Onobrychis (5%)
TIGLIO	1	-	< 5%	Robinia (22%), Trifolium repens (18,5%), Cruciferae (10,5%), Gleditsia (8,1%), Ailanthus (7%), Rubus (6%), Parthenocissus (5,8%)
	2	-	37,30%	Ericaceae (10,6%), Robinia (10,6%), Coronilla/Hippocrepis (10,6%)
	3	+	15,70%	Pyrus f. Sorbus, Pyrus/Malus (28,4%), Acer (12,6%), Onobrychis (7,4%), Robinia (7,4%)
	4	-	9,40%	Rhododendro (63,1%), Rubus (6%),
	5	-	30%	Ericaceae (28%), Trifolium repens (14%), Polygonum bistorta (6%)



MIELI VdA 2012	n° campione	risultati PCR	Concentrazione polline tipologia di miele da analisi melissopalinoologica (%)	Pollini più frequenti e di accompagnamento da melissopalinoologia
CASTAGNO	1	+	99,30%	Rubus (22%), Tilia (escludendo Castanea dal conteggio)
	2	+	97,3%	Erica f. (27,3%), tilia, Rubus (escludendo Castanea dal conteggio)
	3	+	98,0%	Rubus (41,3%), Rhamnus (32%), Tilia (12,7%) (escludendo Castanea dal conteggio)
	4	+	95,0%	Rubus(18,6%), robinia (16,1%), Trifolium repens (13,5%), Erica f. (escludendo Castanea dal conteggio)
	5	+	97,0%	Rubus (20%), Erica (12,2%) (escludendo Castanea dal conteggio)
RODODENDRO	1	+	74,3%	Myosotis, Lotus alpinus (5,1%), Onobrychis
	2	+	61,4%	Rubus (21,6%)
	3	+	85,5%	Rubus (5,6%), Trifolium repens (4,8%)
	4	+	73,0%	Rubus (7,1%), Trifolium repens (6,5%), Onobrychis (5,5%), Coronilla/Hippocrepis (4,9%)
	5	+	50,7%	Myosotis, Salix (22,4%), Onobrychis (8%), Coronilla/Hippocrepis (7%)
TARASSACO	1	+	30,7%	Myosotis, Salix (30,7%), Prunus (11,7%)
	2	+	26,8%	Prunus (36,6%), Salix (12,3%), Lotus corniculatus (16,2%)
	3	+	24,6%	Castanea (escluso dal conteggio), Onobrychis (11,5%), Acer (10,3%), Prunus (8,2%), Robinia (9,3%)
	4	+	47,9%	Salix (25,7%)
	5	+	22,1%	Salix (34,6%), Prunus (24,2%), Lotus corniculatus (7,9%)
TIGLIO	1	-	42,30%	Onobrychis (18,9%), Trifolium repens (8,5%), Rubus (8,8%)
	2	+	39,00%	Castanea (escluso dal conteggio), Rubus (15,7%), Erica f. (13,7%)
	3	-	13,30%	Castanea (escluso dal conteggio), Onobrychis (18,5%), Ericaceae (17%), Trifolium repens (8,1%), Rubus (9,6%), Coronilla/Hippocrepis (5,1%)
	4	+	21,20%	Castanea (escluso dal conteggio), Onobrychis (39,9%), Coronilla/Hippocrepis (21,2%), Trifolium repens (6,5%)
	5	+	52%	Onobrychis (24,2%)



CONCLUSIONI

- ◉ Applicabilità del protocollo analitico utilizzato su tutti i mieli testati ;
- ◉ Verifica del funzionamento dei primers pubblicati per CASTAGNO anche sui mieli valdostani;
- ◉ Idoneità per le sequenze specifiche disegnate durante lo studio sia per TARASSACO che per RODODENDRO a rilevare il target;
- ◉ Ricontrate criticità per il TIGLIO, pertanto è necessario eseguire ulteriori prove:
 - a) lavorare sul protocollo di estrazione per ottenere una concentrazione maggiore,
 - b) disegnare nuovi primers più specifici per la realtà regionale,
 - c) modificare il protocollo termico per la PCR.

La caratterizzazione molecolare può essere utilizzata **in appoggio** alla melissopalinoologia classica come **un complemento per la valorizzazione dei prodotti contenenti pollini**.

Particolarmente importante per la **verifica della corretta etichettatura** del miele. In particolare, quando si vuole riportare nell'etichetta l'origine botanica.

Origine botanica (secondo il Reg. UE 1169/2011):

“si può fare riferimento all'origine botanica se il miele proviene dall'origine indicata e ne possiede le caratteristiche organolettiche, fisicochimiche e microscopiche”.

Inoltre, quando nell'etichetta si vogliono riportare i **criteri di qualità** (Reg. UE 1169/2011) : DOP, IGP, Apicoltura Biologica.

In questo caso, infatti, occorre **specificare sia i fiori e/o i vegetali a cui appartengono i pollini presenti nel miele che l'origine geografica degli stessi pollini**.



Sviluppi Futuri

- 1) Definire i **pollini d'accompagnamento** caratteristici dello spettro pollinico dei mieli valdostani e disegnare le **sequenze specifiche** per ciascun polline d'interesse



Denominazione d'origine geografica

- 2) Passare da **PCR end-point a PCR Real-time**



Analisi
melissopalinologica
quantitativa
e
definizione d'origine
botanica

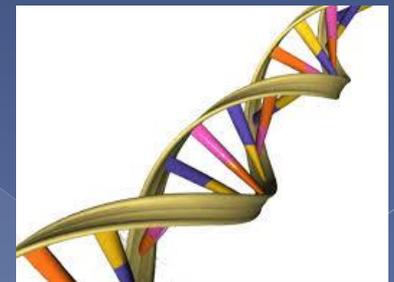


Ottimizzazione della specificità e sensibilità
dell'analisi, nonché dei tempi di risposta
e dei costi

- 3) Sequenziare il DNA estratto da piante collocate sul territorio Regionale, per determinare **sequenze caratterizzanti il polline valdostano**

Prospettive future per l'ARPA:

- Analisi melissopalnologica tradizionale dei mieli valdostani;
- Analisi molecolare in appoggio alla melissopalnologica tradizionale;
- Germoteca dei mieli analizzati per studi futuri.
- Analisi degli inquinanti ambientali attraverso lo studio dei mieli del territorio.



GRAZIE per l'ATTENZIONE!



"If the bee disappeared of the surface of the globe then man would only have four years of life left. No more bees, no more pollination, no more plants, no more animals, no more man."

(Albert Einstein)