

Monitoraggio della resistenza al fluvalinate e al cumafos in *Varroa destructor* in Italia

MARCO LODESANI^{1*}, NORBERTO MILANI², GIORGIO DELLA VEDOVA², SILVANO CALVARESE³,
ORLANDO CAMPOLO⁴, MARIO COLOMBO⁵, ROBERTO COLOMBO¹, GISELLA CREMONESI⁵,
VINCENZO LANGELLA³, ENZO MARINELLI⁶, SERGIO MASSI¹, ANTONIO NANETTI¹, VINCENZO PALMERI⁴,
ANNA GLORIA SABATINI¹, GIORGIA SERRA¹

¹ Istituto Nazionale di Apicoltura, via di Saliceto, 80 I-40128 Bologna

² Dipartimento di Biologia applicata alla Difesa delle Piante
Università di Udine, via delle Scienze, 208 I-33100 Udine

³ Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale"
via Campo Boario, I-64100 Teramo

⁴ Dipartimento di Agrochimica e Agrobiologia, Università di Reggio Calabria
Via S. Francesco Sales, 4 - 89061 Gallina (RC)

⁵ Istituto di Entomologia Agraria, Università di Milano, via Celoria, 2 I-20133 Milano

⁶ Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, sez. di Apicoltura, via L. Rech 36/42 I-00146 Roma

* Corresponding author: m.lodesani@stpa.unibo.it

SUMMARY

Monitoring of the presence of fluvalinate and coumaphos resistant strains of *Varroa destructor* in Italy

Resistance to acaricides is a serious problem in the chemotherapy of the mite *Varroa destructor* and can cause disastrous colony losses if the control of the mite relies on ineffective treatments. A national monitoring programme to determine the proportion of mites resistant to fluvalinate and coumaphos was carried out in 2003 in Italy. Fifty-four samples of mite were collected from eleven regions and assayed in the laboratory by using paraffin-coated capsules. With fluvalinate, survival at the diagnostic concentration expected to kill all susceptible mites (200 µg/g) exceeded 10% in 12% of the mite samples; with coumaphos (50 µg/g), it exceeded 10% in 44.4% of the samples. The proportion of resistant mites varied in different areas, probably depending on the use of these active ingredients in previous years; regarding fluvalinate, it was higher in Northern Italy, while the opposite was true for coumaphos. A significant positive correlation was found between the levels of coumaphos residues in the wax and the survival of the mites collected from the same colony ($n=30$, $R^2=0.39$, $P<0.05$) while no correlation was found for fluvalinate. The diffusion of resistant varroa populations highlights the importance and the urgent need for an integrated resistance management and for early detection of resistance through routine screening of varroa populations.

Key words: *Varroa destructor*, coumaphos, fluvalinate, resistance, acaricides, monitoring.

Introduzione

La diffusione di ceppi di *Varroa destructor* Anderson and Trueman resistenti al fluvalinate (Lodesani *et al.*, 1995) ha causato in Italia, nella prima metà degli anni '90, consistenti perdite di alveari (Astuti *et al.*, 1995).

Successivamente la resistenza è stata messa in evidenza anche in Francia (Faucon *et al.*, 1995), in Svizzera (Fluri, 1995), in altri Paesi dell'Europa occidentale (Trouiller, 1998) in Finlandia (Korpela *et al.*, 1999) e in Gran Bretagna (Thompson *et al.*,

2002). Analoghe segnalazioni del fenomeno sono pervenute anche dall'Argentina (Fernandez, 1998) e dagli Stati Uniti (Baxter *et al.*, 1998).

Nel meccanismo biochimico della resistenza di popolazioni europee di *V. destructor* è coinvolta l'attività di monoossigenasi capaci di metabolizzare rapidamente il fluvalinate (Hillesheim *et al.*, 1996; Mozes *et al.*, 2000).

La resistenza ad acaricidi è di solito associata ad una diminuzione della fitness; questo provoca una progressiva diminuzione della frequenza dei genotipi resistenti, quando la pressione

selettiva dovuta ai trattamenti viene a mancare. Il fenomeno viene chiamato, piuttosto impropriamente, reversione (Roush *et al.*, 1990; Denholm *et al.*, 1992).

Nel caso di *V. destructor*, la frequenza degli individui resistenti al fluvalinate diminuisce molto lentamente, riducendosi di un fattore 10 nel giro di tre anni (Milani e Della Vedova, 2002). Ciò indica che la riduzione della *fitness* è molto modesta, come accade di norma quando la resistenza dipende dall'attività di monoossigenasi.

Alcune popolazioni di *V. destructor* risultano resistenti anche al cumafos, estere fosforico largamente utilizzato come varroacida. Le prime segnalazioni riguardanti un modesto ma significativo incremento della tolleranza al cumafos in alcune aree dell'Emilia risalgono al 1997 (Dalla Vedova *et al.*, 1997); successivamente, la presenza di popolazioni resistenti a tale principio attivo è stata riscontrata in Lombardia (Spreafico *et al.*, 2001). Più recentemente, sono state segnalate popolazioni resistenti anche negli Stati Uniti (Pettis, 2004) dopo pochi anni dalla commercializzazione di un prodotto a base di cumafos, in strisce a lento rilascio.

Lo scopo della presente indagine è stato quello di valutare, per mezzo di saggi di laboratorio (Milani, 1995; Milani e Della Vedova, 1996; Trouiller, 1998), la percentuale di acari resistenti al fluvalinate e al cumafos in diverse regioni italiane. In particolare, per il fluvalinate, si è anche voluto verificare se, in seguito alla reversione, la percentuale di acari resistenti fosse divenuta abbastanza bassa da garantire l'efficacia dei trattamenti acaricidi con tale principio attivo (Milani *et al.*, 1996).

Materiali e metodi

Organizzazione del monitoraggio

La raccolta del materiale e l'esecuzione dei saggi biologici sono state condotte dai seguenti laboratori: sezione di Parassitologia dell'Istituto Nazionale di Apicoltura, Dipartimento di Biologia Applicata alla Difesa delle Piante dell'Università di Udine, Istituto di Entomologia Agraria dell'Università di Milano, Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise, Teramo, Dipartimento di Agrochimica e Agrobiologia dell'Università di Reggio Calabria.

La raccolta del materiale è stata condotta in collaborazione con referenti regionali, che hanno inoltre acquisito informazioni sui trattamenti effettuati nei tre anni precedenti.

La scelta delle aree e degli apiari in cui condurre i campionamenti è avvenuta sotto la responsabilità degli Istituti che hanno collaborato all'indagine. Da ogni apiario sono stati prelevati due o tre favi di covata opercolata evitando stadi posteriori a quello di pupa ad occhi neri. Il numero dei favi da prelevare è stato determinato in base alla quantità di covata presente e dal livello di infestazione presunto.

I risultati dei saggi sono stati trasmessi all'Istituto Nazionale di Apicoltura per l'elaborazione. I favi da cui erano state raccolte le varroe per il saggio biologico sono stati inviati all'Istituto

Nazionale di Apicoltura, per l'analisi dei residui di fluvalinate e cumafos.

Provenienza dei campioni

In totale sono stati prelevati 77 campioni di covata, di cui solo 54 sono risultati conformi al protocollo per numero di varroe, quantità e stadio della covata e stato di conservazione del favo (Tab.1).

Tabella 1 - Suddivisione per regione dei campioni raccolti e delle analisi effettuate.

Number of the collected and analysed samples for each region.

Regione	N. campioni	N. saggi
Lombardia	17	14
Piemonte	3	3
Veneto	1	1
Trentino-Alto Adige	4	4
Friuli Venezia Giulia	4	4
Emilia-Romagna	20	11
Marche	3	2
Abruzzo	4	3
Lazio	6	2
Calabria	13	9
Sicilia	2	1

Saggi biologici

Per il fluvalinate, è stato utilizzato il saggio biologico descritto da Milani (1995) e Trouiller (1998); per il cumafos, quello sviluppato da Milani e Della Vedova (1996). Come concentrazione diagnostica, per il fluvalinate è stata utilizzata la dose di 200 µg/g. In precedenti studi, la mortalità delle varroe suscettibili a tale concentrazione ha superato il 99%, mentre quella delle varroe resistenti è risultata compresa fra l'8% (Trouiller, 1998) e il 23% (Milani, 1995).

Perciò la sopravvivenza a 200 µg/g sottostima la percentuale di acari resistenti di circa 1/10 – 1/5. Per il cumafos la dose utilizzata è stata di 50 µg/g, alla quale tutte le varroe suscettibili muoiono; il tasso di mortalità degli acari resistenti a tale concentrazione non è ancora noto, ma i dati di Spreafico *et al.* (2002) suggeriscono che esso sia prossimo al 20%.

Preparazione delle capsule

Sono state preparate delle capsule costituite da due dischi di vetro di 60 mm di diametro, separati da due anelli in acciaio inox di 56 mm di diametro interno e 2-3 mm di altezza. L'interno delle capsule è stato ricoperto da un sottile ed uniforme strato di paraffina (Merck 7151, Mp 46-48°C), contenente una concentrazione nota di principio attivo, come descritto da Milani (1995) e Trouiller (1998). Nel caso del fluvalinate, a 40 g di paraffina fusa sono stati aggiunti 20 ml di esano (Sigma H9379) contenenti 8 mg di tale piretroide, in modo da ottenere la concentrazione di 200 µg/g; per ottenere le capsule testi-

mone, sono stati aggiunti 20 ml di solo esano. Nel caso del coumafos, a 10 g di paraffina fusa sono stati aggiunti 2,5 ml di acetone (Prolabo 20066.321) contenente 500 µg di principio attivo; al controllo è stato aggiunto il solo acetone.

Raccolta degli acari

Il saggio è stato condotto su varroe adulte raccolte da cellette opercolate, presso i laboratori che hanno collaborato all'indagine. Nel caso di campionamenti da alveari lontani dal luogo di analisi, i favi sono stati trasportati in scatole di materiale coibente; una volta giunti presso il laboratorio, sono stati conservati in camera termostatica a 34,5°C e 75% di U.R.. Le varroe sono state raccolte entro due giorni dal prelievo dei favi.

Gli acari raccolti sono stati posti insieme a larve di ape operaia in capsule Petri di vetro, con il fondo ricoperto da carta da filtro e mantenuti a 34,5°C e 75% di U.R.; il loro utilizzo nel saggio è avvenuto entro 3 ore dall'inizio del prelievo. Le varroe provenienti da cellette con covata a stadi diversi sono state saggiate insieme; tuttavia, sono state escluse quelle provenienti da stadi di covata più avanzati di quello di pupa ad occhi neri e torace chiaro, in quanto all'interno delle celle avrebbero potuto essere già presenti femmine adulte figlie che avrebbero potuto differire nella suscettibilità alle sostanze saggiate, in quanto provviste di tegumento scarsamente sclerificato.

Esecuzione del saggio

Il saggio è stato effettuato – quando possibile per numerosità – su circa 100 acari nel trattato e 20 nel controllo. Il controllo è stato utilizzato per verificare che la mortalità nel trattato fosse effettivamente dovuta al fluvalinate e non ad altri fattori estranei, piuttosto che per poter apportare correzioni alla mortalità riscontrata nei trattati. Nei campioni di dimensioni limitate, si è ridotto il numero di acari saggiati nel controllo a favore del trattato. In alcuni casi, non è stato possibile allestire un controllo. Quattro campioni in cui la mortalità nei controlli ha superato il 70%, probabilmente per cattiva conservazione del campione, sono stati scartati. Gli acari sono stati trasferiti nelle capsule paraffinate, in numero non superiore a 15 per capsula e mantenuti a 33°C, 75% U.R.. Dopo 6 ore per il fluvalinate e 4 ore per il coumafos, le varroe sono state trasferite in capsule Petri di 60 mm di diametro contenenti 2-3 larve di operaia, raccolte da celle opercolate da poco; in questo momento è stata condotta una prima osservazione al microscopio binoculare per valutare la vitalità (dati non riportati). Successivamente, le capsule Petri con le varroe sono state mantenute a 33°C, 75% U.R.. Un'ulteriore osservazione è stata condotta a 48 ore dall'inizio dell'esperimento.

Le varroe sono state classificate nelle seguenti categorie:

- 1) mobili: quando non dimostrano di aver risentito del trattamento, o sono comunque in grado di spostarsi se stimolate;
- 2) paralizzate: quando non si spostano neppure se stimolate, ma muovono le appendici;
- 3) morte: non reagiscono ad alcuno stimolo e per lo più sono

visibilmente disidratate.

Per coerenza con quanto già indicato in precedenti studi (Milani, 1995; Milani e Della Vedova, 1996; Trouiller, 1998), sono state considerate come sopravvissute, nelle statistiche conclusive, le varroe mobili più quelle paralizzate.

Analisi della cera

L'analisi dei residui di fluvalinate e coumafos nella cera dei favi è stata effettuata mediante gascromatografia abbinata a spettrometria di massa. Tre grammi di cera sono stati sciolti in 20 ml di cicloesano in bagno ad ultrasuoni. Sono stati aggiunti 15 g di polvere di diatomee; la matrice è stata omogeneizzata mescolandola con una bacchetta di vetro, caricata all'interno di una colonna vuota da 70 ml e impaccata per leggera pressione di un pistone. Il contenuto della colonna è stato successivamente eluito con 80 ml di acetone nitrile. L'eluato raccolto in un pallone è stato portato a secco sottovuoto alla temperatura di 45°C, ripreso con 1 ml di isotano, filtrato e iniettato nel sistema gascromatografico abbinato a spettrometro di massa.

Le condizioni cromatografiche sono state le seguenti: colonna HP5 30 m, 0,25 mm, 0,25 µm; temperatura: 60°C per 1 min; incremento di 50°C/min fino a 120°C; incremento di 7°C/min fino a 300°C; isoterma per 20 min. L'analisi è stata eseguita in modalità SIM (selected ion monitoring): per il coumafos sono stati ricercati gli ioni 362 e 364, per il fluvalinate 250 e 252.

Risultati e discussione

Molti campioni hanno fornito un numero limitato di acari (cfr. Tab. 2). Si sono ottenute 50 o più varroe da trentasei campioni; solo undici campioni hanno fornito 100 o più acari. È pro-



Figura 1 - Distribuzione dei campioni con percentuali di sopravvivenza degli acari alla concentrazione diagnostica per il fluvalinate, compresa fra 5% e 10% (in bianco) e superiore al 10% (in nero). Location of the mite samples with survival rate at the diagnostic concentration, between 5% and 10% (white spots) and greater than 10% (black spots).

babile che i livelli di infestazione inaspettatamente bassi siano dovuti alle temperature eccezionalmente elevate dell'estate 2003, che potrebbero aver determinato una sorta di termotolleranza naturale (Schönebeck-Sych, 1987).

Mortalità nei controlli

La mortalità nei gruppi di controllo dei campioni considerati ha superato in soli 5 casi il 10%, come osservato da Milani (1995) e Milani e Della Vedova (2002).

Nei calcoli delle percentuali di acari sopravvissuti a 200 µg/g non è stata applicata la correzione di Abbott (Tattersfield e Morris, 1924), infatti, tale correzione avrebbe superato lo 0,6% per un solo campione, e pertanto sarebbe stata trascurabile rispetto all'incertezza determinata, fra l'altro, dalla limitata

numerosità dei campioni saggiati.

Fluvalinate

Alla concentrazione di 200 µg/g, la proporzione di acari ancora paralizzati a 48 ore dall'inizio del saggio è stata esigua, come del resto in Milani (1995), Trouiller (1998), Milani e Della Vedova (2002): non esiste, quindi, incertezza legata ad una condizione che non è sempre agevole classificare oggettivamente e la cui evoluzione non è determinata.

La sopravvivenza delle varroe a 200 µg/g non ha superato il 27% ed è stata inferiore al 10% nella grande maggioranza dei casi (44 su 50) (Tab. 2). Tuttavia, dato il numero limitato di acari in alcuni campioni, in molti casi l'intervallo di confidenza è risultato piuttosto ampio.

La distribuzione delle aree in cui la percentuale di acari resistenti è risultata più elevata è stata alquanto irregolare; la resistenza ha interessato soprattutto alcune aree della Lombardia, dell'Emilia-Romagna e del Friuli (Fig.1). Gli apiari in cui il fluvalinate era stato utilizzato negli anni precedenti (2000-2002) risultano fra quelli in cui la percentuale di varroe resistenti è più elevata. In Friuli, nell'anno 2002 era stato utilizzato l'Apistan nella maggior parte degli apiari; la percentuale di acari resistenti è risultata superiore alla media anche in tre apiari del Friuli che nel 2002 erano stati trattati con altri principi attivi. I dati relativi ai residui di principio attivo nella cera dei favi dai quali si sono prelevati gli acari mostrano un'elevata variabilità

Regione	Provincia	fluvalinate				cumafos			
		Vive	Totali	% Sopravv.	Lim. Sup. int.conf. 20%	Vive	Totali	% Sopravv.	Lim. Sup. int.conf. 20%
Calabria	RC	10	63	12	15,1	0	90	0,0	1,8
Calabria	RC	0	70	0	2,3	19	67	28,4	34
Calabria	RC	0	30	0	5,2	14	54	25,9	32,2
Calabria	RC	0	41	0	3,8	6	24	25,0	35,4
Calabria	RC	0	30	0	5,2	18	100	18,0	22
Calabria	RC	0	87	0	1,8	13	78	16,7	21,2
Calabria	RC	0	51	0	3,1	5	75	6,7	10,3
Calabria	RC	0	65	0	2,4	15	68	22,1	27,4
Calabria	RC	0	82	0	1,9				
Emilia-R	BO					4	96	4,2	6,9
Emilia-R	FO					5	29	17,2	25,9
Emilia-R	PR					5	75	6,6	10,2
Emilia-R	FO	2	99	2	4,3				
Emilia-R	MO	5	69	7,2	11,2	12	78	15,4	19,9
Emilia-R	MO	2	58	3,6	7,5	0	32	0,0	4,9
Emilia-R	PC	25	95	26,3	30,9	23	100	23,0	27,3
Emilia-R	PR	0	90	0	1,8	0	96	0,0	1,7
Emilia-R	PR	4	73	5,5	9	0	67	0,0	2,6
Emilia-R	PR	0	58	0	2,7	14	78	18,0	22,6
Emilia-R	RE	0	74	0	2,2	2	77	2,6	5,5
Emilia-R	RE	2	71	2,8	5,9	21	63	33,3	39,3
Friuli V.G.	PN	8	47	17	23,3	0	67	0,0	2,6
Friuli V.G.	UD	4	89	4,5	7,4	0	85	0,0	1,9
Friuli V.G.	UD	3	59	5,1	9,1	2	65	3,1	6,5
Friuli V.G.	UD	6	80	7,5	11,1	0	89	0,0	1,8
Lazio	Roma	2	100	2	4,2	0	100	0,0	1,6
Lazio	Roma					2	70	28,6	38,1
Lazio	VT	0	12	0	12,6				
Lombardia	BO	0	4	0	33,1				
Lombardia	BG	0	15	0	10,2				
Lombardia	BG	0	3	0	41,5				
Lombardia	BG	0	29	0	5,4				
Lombardia	BG	7	114	6,1	8,8				
Lombardia	BG	1	11	9,1	24,9				
Lombardia	BG	3	26	11,5	20,2				
Lombardia	BG	1	5	20	40				
Lombardia	BG					3	17	17,7	30,1
Lombardia	CO	9	72	12,5	17				
Lombardia	LC	4	60	6,3	10,4	58	119	48,7	53
Lombardia	LO	0	14	0	10,9				
Lombardia	MI	0	30	0	5,2	9	45	20,0	26,7
Lombardia	PV	0	45	0	3,5				
Lombardia	SO	0	59	0	2,7	4	56	7,3	11,9
Lombardia	VA					3	14	21,4	35,9
Marche	AN	0	100	0	1,6	1	100	1,0	3
Marche	MC	4	50	8	13,1				
Piemonte	AT	0	101	0	1,6	0	100	0,0	1,6
Piemonte	NO	3	80	3,8	6,8	26	80	32,5	37,7
Piemonte	VB	0	40	0	3,9	3	20	15,0	25,9
Sicilia	PA	4	45	8,9	14,5	0	57	0,0	2,8
Trentino	TN	0	168	0	1	3	57	5,3	9,5
Trentino	TN	0	122	0	1,3	15	108	13,9	17,5
Trentino	TN	0	144	0	1,1	4	95	4,2	7
Trentino	TN	2	136	1,5	3,1	12	126	9,6	13
Veneto	PD	7	81	8,6	12,4	0	67	0,0	2,6

Tabella 2 - Riepilogo dei dati relativi ai saggi biologici, in ordine alfabetico per regione; i risultati sono espressi come percentuali di sopravvivenza delle varroe alle dosi diagnostiche di fluvalinate e di cumafos e relativo limite superiore dell'intervallo di confidenza al 20% (ad una coda). Nella tabella non sono riportati i campioni scartati per eccessiva mortalità nei controlli.

Percentage of *V. destructor* mites surviving after exposure to fluvalinate and coumaphos and upper limit at the 20% confidence interval (one tailed). The samples discarded for excessive mite mortality in the control

(Tab. 3) conseguente alle diverse strategie di lotta condotte nelle diverse località oggetto di campionamento. La correlazione tra i livelli residuali del principio attivo nella cera e il tasso di sopravvivenza degli acari prelevati dagli stessi favi è risultata non significativa ($R^2 = 0,0047$, $P > 0,05$).

Del resto, concentrazioni di fluvalinate nella cera sino a 10 µg/g hanno dimostrato scarsa tossicità sulla varroa (Fries *et al.*, 1998). I dati confermano che in Italia ha avuto luogo una diminuzione della frequenza degli acari resistenti (reversione). Tuttavia, la situazione che emerge è alquanto diversa da quella osservata in Friuli, dove prodotti a base di fluvalinate non furono utilizzati affatto fra il 1996 e il 2000, anno in cui la percentuale di acari resistenti variava fra l'1,3% e il 7,8% (Milani e Della Vedova, 2002): in questo studio si sono trovati spesso valori più elevati. Si ritiene che questa situazione possa riflettere episodi di impiego di prodotti a base di tale piretroide, anche in seguito alla diffusione della notizia riguardante il successo di trattamenti con Apistan in Friuli nel 2002; ciò avrebbe comportato di nuovo una rapida selezione di varroe resistenti e potrebbe spiegare la distribuzione irregolare dei campioni in cui si è osservata una elevata percentuale di varroe resistenti. La reinfestazione da parte di varroe provenienti da altri apiari (Sakofski e Koeniger, 1990; Greatti *et al.*, 1992) può spiegare l'aumento della percentuale di varroe resistenti in apiari trattati esclusivamente con altri principi attivi.

Cumafos

Anche per il cumafos i dati ottenuti a 48 ore dall'inizio del saggio sono risultati affidabili perché il numero di varroe paralizzate è stato assai limitato. La sopravvivenza delle varroe a 50 µg/g è risultata superiore al 10% in 20 campioni (44,4%) ed ha superato il 20% in 11 (24,4%) (Tab. 3). A causa del numero limitato di acari in alcuni campioni, l'intervallo di confidenza al 20% (ad una coda) è risultato piuttosto ampio e il limite superiore piuttosto elevato. Tale limite ha superato il 5% in 29 campioni (64% dei casi) e il 10% in 23 campioni (51% dei casi) (Fig. 3).

Dei 20 campioni di varroa la cui sopravvivenza è risultata superiore al 10%, 9 (45%) provenivano da apiari in cui negli ultimi due anni per il controllo della parassitosi era stato utilizzato, impropriamente, un prodotto non registrato per uso

Tabella 3 - Parametri statistici relativi alle analisi della cera dei favi da cui sono state prelevate le varroe utilizzate nel saggio biologico. I dati residuali sono espressi in µg/kg.

Residue levels (µg/kg) of fluvalinate and coumaphos in the wax of the sampled combs.

	Fluvalinate	Cumafos
N	30	30
Media	1131,5	1676,6
Dev. standard	4833	2508
Min	0	0
Max	26900	9780

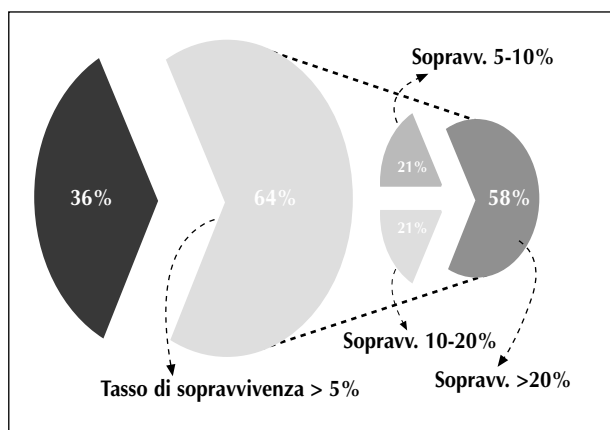


Figura 2 - Percentuali di campioni e relativi tassi di sopravvivenza degli acari alla concentrazione diagnostica (50 µg/g) di cumafos, espressi come limite superiore dell'intervallo di confidenza (20% - ad una coda).

Percentage of samples with different mite survival rates expressed as the upper limit of the 20% confidence intervals (one tail).

apistico che produce un'elevata residualità nella cera dei favi trattati a causa dell'elevato dosaggio e della particolare formulazione.

I residui di cumafos riscontrati nella cera dei favi campionati, sono risultati mediamente superiori a quelli del fluvalinate (Tab. 3). La correlazione tra i residui del principio attivo nella cera degli stessi favi da cui gli acari erano stati prelevati e il tasso di sopravvivenza degli stessi nel saggio biologico, è risultata significativa ($y = 3,034x^2 + 2,1182x + 704,69$, $R^2 = 0,3886$, $P < 0,05$). La presenza di elevate concentrazioni di residui nella cera da un lato testimonia il ripetuto utilizzo di questo principio attivo e quindi l'intensa selezione per la resistenza, dall'altro potrebbe esercitare – nel caso del cumafos – un'ulteriore, costante pressione selettiva (Fries *et al.*, 1998).

Implicazioni per i trattamenti in apiario

Nonostante sia stata individuata una correlazione fra i risultati dei saggi di laboratorio e quelli ottenibili in campo in seguito ai trattamenti con Apistan (Trouiller, 1998), è difficile fare delle previsioni quantitative sul successo dei trattamenti con tale prodotto, vista la notevole dispersione dei dati.

Nei casi in cui la sopravvivenza a 200 µg/g supera il 10% (sei casi su 50), il solo trattamento con Apistan risulterebbe probabilmente inadeguato per il controllo della varroa sino all'anno successivo, mentre ci si aspetta che sia sufficiente quando la percentuale di sopravvivenza risulta inferiore al 5% (34 casi su 50). Tuttavia, occorre tener conto che, a causa delle dimensioni limitate di molti campioni, l'intervallo di confidenza è spesso molto ampio; il limite superiore dell'intervallo di confidenza al 20% (ad una coda) supera il 5% in 29 campioni (58% dei casi). Ciò significa che i dati ottenuti per mezzo del monitoraggio non consentono di garantire che il solo trattamento con Apistan è sufficientemente efficace (entro il margine di rischio del 20%) in oltre la metà degli apiari. Pertanto si ritiene di poter

suggerire di eseguire un ulteriore trattamento al momento del ritiro delle strisce, per abbattere la popolazione di varroa sopravvissuta. Dato che questa risulterà composta in massima parte da individui resistenti, tale trattamento supplementare avrà anche un effetto sulla selezione di ceppi resistenti, rendendola più lenta. Relativamente al cumafos, il monitoraggio ha evidenziato un'ampia diffusione della resistenza. In quasi la metà dei campioni, la percentuale di varroa resistenti è risultata superiore al 10%; in tali situazioni, l'uso di prodotti a base di cumafos non risulterebbe sufficiente ad assicurare il controllo della parassitosi. Solo in 18 casi su 45 la percentuale di individui resistenti è risultata inferiore al 5%. Inoltre, l'intervallo fiduciale al 20% si estende ben oltre tali limiti nel 64% dei casi, imponendo comunque ulteriori interventi acaricidi nella maggior parte delle situazioni. Il monitoraggio ha evidenziato come la presenza di popolazioni resistenti agli acaricidi più ampiamente utilizzati interessa ampie aree del territorio nazionale e suggerisce di utilizzare questo strumento per impostare piani di lotta contro la varroa, tenendo conto che si richiedono campioni di adeguata numerosità e opportuna distribuzione sul territorio.

Bibliografia

- ASTUTI M., SPREAFICO M., COLOMBO M., 1995 - Indagine sull'efficacia degli interventi di controllo di *Varroa jacobsoni* attuati nel 1993 in Lombardia. Presented at the meeting Apilombardia, Minoprio (Como) 8-9 October 1994. La selezione veterinaria, 11: 935-944.
- BAXTER J., EISCHEN F., PETTIS J., WILSON W.T., SHIMANUKI H., 1998 - Detection of fluvalinate resistant varroa mites in US honey bees. Am. Bee J., 138: 291.
- DELLA VEDOVA G., LODESANI M., MILANI N., 1997 - Sviluppo di resistenza ai fosfororganici in *Varroa jacobsoni*. L'Ape nostra amica, 1: 6-10.
- ELZEN D., WESTERVELT D., 2002 - Detection of coumaphos resistance in *Varroa destructor* in Florida. Am. Bee J., 142: 291-292.
- FAUCON J.P., DRAJNUDEL P., FLÉCHÉ C., 1995 - Mise en évidence d'une diminution de l'efficacité de l'Apistan utilisé contre la varroose de l'abeille (*Apis mellifera*). Apidologie, 26: 291-296.
- FAUCON J.P., DRAJNUDEL P., FLÉCHÉ C., 1996 - Varroose: mise en évidence de la résistance du parasite aux acaricides par la méthode de "détermination du temps létal moyen". Apidologie, 27: 105-110.
- FERNANDEZ N.A., GARCIA O., 1998 - Fluvalinato, Disminución de la eficacia en el control de la varroatosis en Argentina. Vida Apic. 91: 17-27.
- FLURI P., 1995 - Tessin: efficacité de l'Apistan et du Bayvarol en régression. J. Suisse Apic., 6: 198-199.
- FRIES I., WALLNER K., ROSENKRANZ P., 1998 - Effects on *Varroa jacobsoni* from acaricides in beeswax. Journal of Apicultural Research, 37, 2: 85-90.
- GREATTI M., MILANI N., NAZZI F., 1992 - Reinfestation of an acaricide-treated apiary by *Varroa jacobsoni*. Exp. Appl. Acarol., 16: 279-286.
- KORPELA S., 1999 - Varroapunkin resistenssiä Apistanille Suomessa - haaste mehiläishoitajille, neuvonnalle ja tutkimukselle [Resistance towards Apistan in varroa mites detected in Finland - a challenge for beekeepers, extensions and research]. Mehiläinen, 16: 42-46.
- LODESANI M., COLOMBO M., SPREAFICO M., 1995 - Ineffectiveness of Apistan treatment against the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in several districts of Lombardy (Italy). Apidologie, 26: 67-72.
- MILANI N., 1995 - The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to pyrethroids: a laboratory assay. Apidologie, 26 (5): 415-429.
- MILANI N., 2001 - The resistance to chemotherapy in parasites and pathogens of the honeybee. Proceedings of the Euroconference on Momedito, 17-19 October 2000, Kralupy (Prague): 117-131.
- MILANI N., DELLA VEDOVA G., 2002 - Decline in the proportion of mites resistant to fluvalinate in a population of *Varroa destructor* not treated with pyrethroids. Apidologie, 33: 417-422.
- PETTIS J.F., 2004 - A scientific note on *Varroa destructor* resistance to coumaphos in the United States. Apidologie, 35: 91-92.
- SAKOFSKI F., KOENIGER N., FUCHS S., 1990 - Seasonality of honey bee colony invasion by *Varroa jacobsoni* Oud.. Apidologie, 21: 547-550.
- SCHÖNEBECK-SYCH A., 1987 - Wie es dazu kommt, daß in Griechenland die Mittagshitze die Varroen in den Brutzellen tötet, und wie ich daraus eine Wärmebehandlung ableitete. Biene, 123: 57-61.
- SPREAFICO M., EÖRDEGH F.R., BERNARDINELLI I., COLOMBO M., 2001 - First detection of strains of *Varroa destructor* resistant to coumaphos. Results of laboratory tests and field trials. Apidologie, 32: 49-55.
- TATTERSFIELD F., MORRIS H.M., 1924 - An apparatus for testing the toxic values of contact insecticides under controlled conditions. Bull. Ent. Res., 14: 223-233.
- THOMPSON M., BROWN M.A., BALL R.F., BEW M.H., 2002 - First report of *Varroa destructor* resistance to pyrethroids in the UK. Apidologie, 33: 357-366.
- TROUILLER J., 1998 - Monitoring *Varroa jacobsoni* resistance to pyrethroids in western Europe. Apidologie, 29: 537-546.
- WATKINS M., 1997 - Resistance and its relevance to beekeeping. Bee World, 78: 15-22.