



Confronto di efficacia tra acido formico e formulati commerciali a base di timolo nel controllo estivo di *Varroa destructor*.

Esperienze In Campania

ANTONIO CARRELLI

LUIGI IAFIGLIOLA

Introduzione

Varroa destructor (Anderson & Trueman) rimane, dopo oltre trent'anni dal suo ingresso nel nostro Paese, l'ectoparassita chiave per l'apicoltura italiana e mondiale. Da diversi anni, la ricerca si è orientata verso l'individuazione di metodi di lotta caratterizzati dall'impiego di sostanze acaricide dotate di elevata efficacia, facilità d'impiego e a basso impatto ambientale, in particolare oli essenziali ed acidi organici (Imdorf *et al.*, 1995; Nanetti e Stradi, 1997; Calderone, 1999). L'acido formico e il timolo hanno un'azione acaricida nota da tempo (Arculeo *et al.* 1993; Barbattini *et al.* 1994; Colombo, 1999), tanto da rappresentare, insieme all'acido ossalico, le sostanze naturali più studiate ed efficaci nel controllo della varroasi. Negli ultimi anni l'acido formico è stato oggetto di particolare considerazione in alcuni Stati (Canada ad esempio), tanto da essere riproposto e autorizzato in formulazione gel al fine di modularne l'evaporazione ed aumentarne la sicurezza di utilizzo per l'operatore, fattori che ne costituiscono le principali problematiche di utilizzazione (Underwood & Currie, 2003; Feldlaufer *et al.*, 1997, Eguaras *et al.*, 2003). Secondo alcuni autori, a differenza di altri acaricidi, l'acido formico è l'unico in grado di uccidere gli acari all'interno delle cellette opercolate, in particolare il maschio prima dell'accoppiamento (Fries, 1989; Fries, 1991; Dwayne & Vanderdussen, 2010).

Nella presente sperimentazione è stata valutata, nelle condizioni climatiche estive della Campania sub appenninica, l'efficacia acaricida e la tollerabilità di due semplici metodologie di utilizzo dell'acido formico (50 e 85%) saggiate, in via sperimentale da alcuni anni, da diversi apicoltori della regione. Sono stati valutati, inoltre, gli effetti di disturbo e mortalità sulle api e sulle regine.

L'attività acaricida dell'acido formico è stata confrontata con quella di altre strategie adottate per il controllo della varroa, ormai consolidate, e che prevedono l'utilizzo di formulati commerciali (Apilife Var®, Apiguard®) a base di timolo.

Materiali e metodi

La sperimentazione è stata realizzata durante i mesi di agosto-settembre 2011 in un apiario ubicato a 550 m s.l.m. Per le prove sono state scelte 25 colonie poste in arnie Dadant-Blatt con fondo mobile antivarroa e suddivise in 5 gruppi. L'apertura di volo costituiva l'unico punto di aerazione dell'alveare.

Un gruppo ha avuto funzione di controllo non trattato. Le prove sono state condotte dopo aver pareggiato le famiglie su 7 favi (2 di scorta e 5 di covata) allontanando quelli in eccesso. In questo modo le colonie (n=25) erano caratterizzate da forza sovrapponibile, presenza di covata, regina vitale e deponente e distribuzione omogenea della famiglia sui sette favi del nido. Le varroe cadute in seguito ai trattamenti sono state contate periodicamente per mezzo di fondi diagnostici ricoperti di olio vegetale.

I vari formulati sono stati preparati e somministrati come di seguito descritto.

Tesi 1:(Acido formico 50%)

Un tampone assorbente (10x20x0,2 cm; Cordenons, tipo MK70) è stato impregnato con 50 ml di una soluzione al 50% di acido formico (Carlo Erba, purezza $\geq 98\%$). Successivamente, dopo averlo sistemato su un supporto di cartone, sul quale erano state incollate cannucce da bibita per evitare il contatto tra tampone e cartone, è stato introdotto nell'alveare attraverso la porticina di volo (Fig. 1, 2). È stato eseguito un solo intervento della durata di tre giorni.

Tesi 2:(Acido formico 85%)

Sono stati preparati dischi di tamponi assorbenti (Cordenons, tipo MK70) del diametro di 85 mm (Fig. 3). Successivamente tre tamponi sono inseriti in una capsula Petri da 90 mm e impregnati con 35 ml di una soluzione all'85% di acido formico. Le capsule così preparate sono state poste sui favi centrali di ogni alveare (Fig. 4). È stato eseguito un unico intervento della durata di tre giorni.

Tesi 3:(Apiguard®, Vita Europe)

Apiguard® è un formulato commerciale costituito da vaschette di alluminio contenenti 50 g di un gel in cui sono contenuti 12,5 g di timolo. Dopo la rimozione del coperchio metallico, il prodotto è stato posizionato sui favi centrali dell'alveare. Complessivamente sono stati eseguiti 2 interventi.

Tesi 4:(Apilife Var®, Chemicals Life)

Apilife Var® è un formulato commerciale costituito da materiale minerale impregnato con una miscela di timolo (74,08%), estratto di eucalipto (16%), mentolo (3,7%) e canfora (3,7%). Prima della somministrazione, ogni tavoletta è stata suddivisa in quattro porzioni, ciascuna delle quali è stata disposta in corrispondenza di un angolo della zona sottostante il coprifavo dopo aver rimosso gli eventuali residui di quella precedente. Complessivamente sono stati eseguiti 3 interventi.



Fig. 1. Particolare del supporto di cartone con cannucce da bibita.



Fig. 2. Introduzione del tampone imbevuto con 50 ml di acido formico al 50%.



Fig. 3. Preparazione dei dischi di tampone assorbente.



Fig. 4. Assorbimento dell'acido formico all'85% sui dischi di tampone.

I trattamenti di controllo sono stati effettuati con acido ossalico biidrato (Carlo Erba, purezza $\geq 99\%$) in soluzione zuccherina nella proporzione 100:1000:1000 (acido ossalico, saccarosio e acqua distillata). La soluzione è stata somministrata, ad ogni famiglia, mediante una siringa, per gocciolamento diretto nell'interfavo, in ragione di 5 ml per favo coperto. I trattamenti di controllo sono stati effettuati in assenza di covata in quanto in ogni famiglia era stato indotto un blocco della stessa mediante ingabbiamento della regina.

Per verificare la quantità di varroa devitalizzata dall'acido formico all'interno delle cellette opercolate si è proceduto ad ingabbiare la regina (per le tesi 1 e 2) appena terminati i tre giorni di trattamento ed il conteggio della varroa è stato effettuato nei 19 giorni successivi, in concomitanza dell'emergenza delle api giovani.

L'applicazione dei trattamenti e l'ingabbiamento della regina sono riassunti in tabella 1.

Tab. 1. Calendario delle operazioni effettuate nel corso della sperimentazione (T = trattamento con acido formico o timolo; I = ingabbigliamento regina; C = trattamento di controllo con acido ossalico; V = conteggio caduta varroa).

Tesi	Tempo (giorni dall'inizio della sperimentazione)									
	1	4	8	12	15	23	25	30	50	54
Ac.formico 50%	T	I,V	V		V	V	C	V		
Ac.formico 85%	T	I,V	V		V	V	C	V		
Apiguard®	T			T			I		C	V
Apilife Var®	T		T		T		I		C	V
Gruppo Controllo							I		C	V

L'efficacia dei trattamenti è stata calcolata mediante la formula:

$$E\% = (VT \times 100) / (VT + VC),$$

in cui:

E% = efficacia

VT = numero varroe cadute con i trattamenti (acido formico o timolo).

VC = numero varroe cadute con il trattamento di controllo (acido ossalico)

Lo schema sperimentale adottato si è attenuto alle linee guida dell'“*European Group of Integrated Varroa Control*” (Anonymous, 1999). I dati sull'efficacia dei trattamenti sono stati sottoposti ad analisi della varianza (ANOVA) e le medie sono state successivamente confrontate mediante test della minima differenza significativa (LSD test) e *t* di Student (*t test*). Nel corso delle sperimentazioni sono state registrate la temperatura e l'umidità relativa mediante un termoigrografo elettronico posto nelle immediate vicinanze.

Risultati e discussione

Le temperature e l'umidità relativa medie, registrate nel periodo della sperimentazione, sono state rispettivamente di 24,5°C (min.:14,6°C-Max.: 28,1°C) e del 51,5% (min.: 41,7%-Max.:72,0%). Tali condizioni climatiche risultano idonee per l'utilizzo di prodotti evaporanti quali acido formico e timolo. In particolare, l'acido formico, in seguito alla misurazione del peso dei tamponi, è risultato completamente evaporato dopo tre giorni dall'inserimento nell'arnia. Ad ogni controllo l'Apilife Var® è stato quasi completamente rimosso dalla maggior parte degli alveari e le vaschette di Apiguard® sono risultate vuote al termine di ciascun periodo di trattamento.

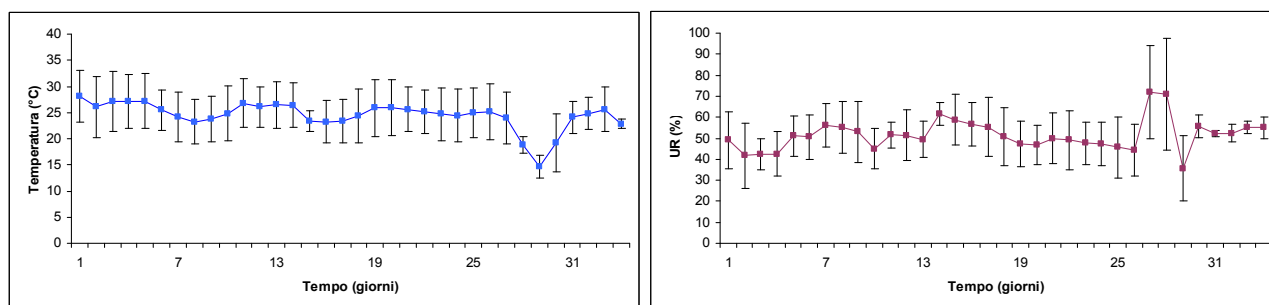


Fig. 5. Temperatura e umidità relativa determinate durante il periodo di trattamento mediante “HOBO” data logger.

La tabella 2 e la figura 6 mostrano i risultati dei trattamenti. La sperimentazione ha evidenziato differenze significative tra i prodotti a base di timolo e acido formico; in particolare l'efficacia del timolo è risultata significativamente superiore a quella dell'acido formico (LSD test).

Tab. 2. Numero totale di acari morti e percentuale di mortalità nelle diverse tesi

Tesi	Mortalità		Mortalità %	
	media \pm dev. st.	min-Max	media \pm dev.st	min-Max
Acido formico (50%)	733 \pm 79	625-835	54,7 \pm 4,4	49,9-61,0
Acido formico (85%)	377 \pm 209	242-748	61,6 \pm 4,2	55,8-65,5
Apiguard®	416 \pm 55	98-750	98,2 \pm 1,7	95,1-99,3
Api Life Var®	1029 \pm 294	812-1461	96,2 \pm 2,1	93,3-98,2
Controllo	150 \pm 26	123-185	15,6 \pm 1,6	13,0-17,0

I trattamenti con acido formico, in particolare, non hanno garantito livelli adeguati e sufficienti di efficacia. L'utilizzo di acido formico alla diluizione del 50% ha raggiunto un'efficacia variabile tra il 49,9 ed il 61% (media =54,7%), quello con acido formico diluito all'85% tra il 55,8 ed il 65,5% (media =61,6%). I due trattamenti con acido formico non sono risultati statisticamente differenti. L'efficacia, sebbene insoddisfacente per il contenimento estivo dell'infestazione di varroa, è stata simile a quella indicata da altri autori (Feldlaufer, M. F *et al.*, 1997, Calderone, 1999, Marinelli *et al.*, 2008) che hanno utilizzato dosi più elevate e modalità di somministrazione più onerose per l'apicoltore. Percentuali di efficacia superiori al 90% (Calderone, 2000, Satta *et al.* 2005) sono state invece raggiunte con metodologie che prevedono l'impiego di quantità maggiori di acido formico, un'evaporazione lenta dello stesso (ad esempio in formulazione gel) per alcune settimane e due interventi distanziati di due settimane.

L'utilizzo dell'acido formico con un solo intervento e ai dosaggi sperimentati ha dimostrato di essere ben tollerato dalle colonie e non ha causato mortalità delle api regine.

Entrambi i trattamenti, in linea con altre esperienze (Fries, 1991, Pietropaoli *et al.*, 2011), hanno evidenziato efficacia sulle varroe presenti all'interno delle celle opercolate per il fatto che, durante tutto il periodo successivo ai primi 3 giorni e con l'ingabbiamento della regina, è stata osservata una continua caduta di acari, molti dei quali di colore chiaro. L'acido formico al 50% (Fig. 7) sul totale di acari caduti, ha mostrato un'efficacia del 79,6% sulle varroe all'interno delle celle opercolate significativamente superiore rispetto all'acido formico all'85% la cui efficacia è stata del 62,7% (test *t* di Student). La diluizione al 50%, rispetto alle diluizioni meno spinte, ha reso l'acido formico, durante la sua evaporazione, più simile ad un gas conferendogli la capacità di saturare il nido e penetrare l'opercolo uccidendo la varroa all'interno della celletta (Amrine *et al.*, 2006).

I formulati commerciali a base di timolo hanno mostrato un'elevata efficacia anche nelle condizioni climatiche dell'areale. L'Apilife Var® ha mostrato un'efficacia i cui livelli si sono attestati tra il 93,3 ed il 98,2 % (media=96,2%) mentre per l'Apiguard® tali valori hanno oscillato tra il 95,1 ed il 99,3% (media=98,2%); entrambi i formulati hanno confermato di avere un'adeguata efficacia acaricida così come dimostrato da altri autori (Baggio *et al.*, 2004, Nanetti *et al.*, 2005).

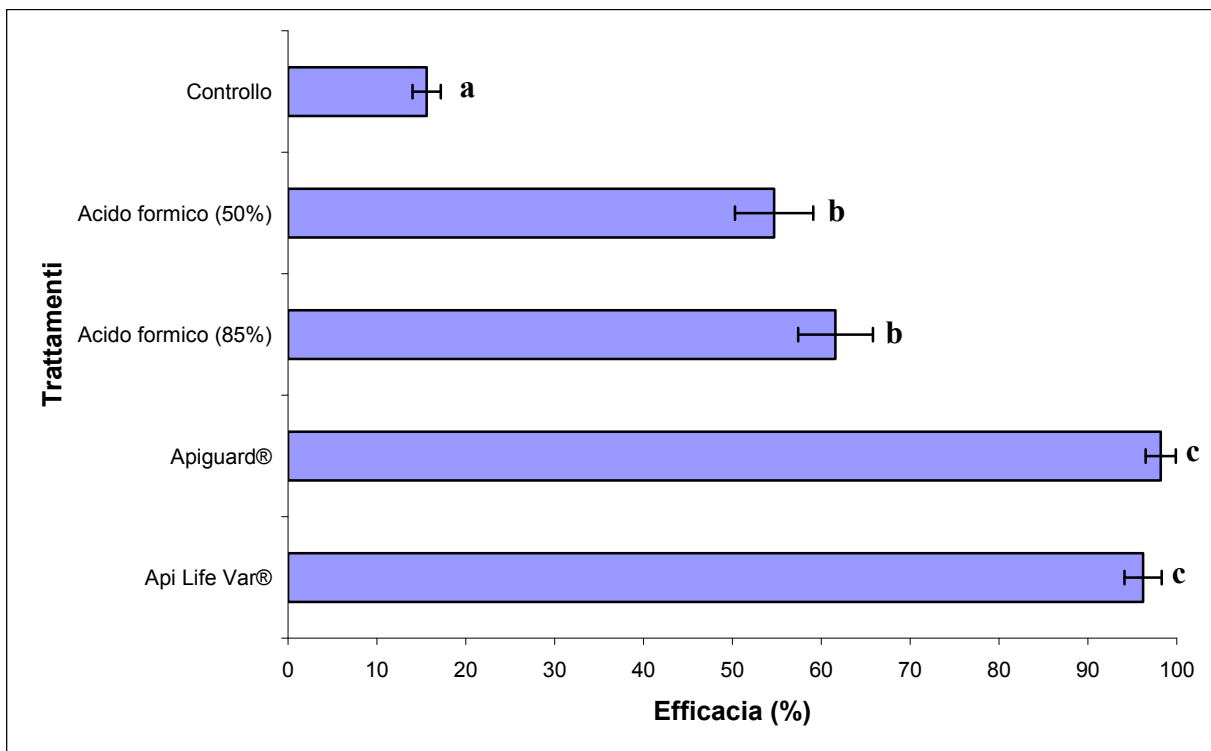


Fig. 6. Confronto dell'efficacia dei diversi trattamenti. Lettere diverse indicano differenze significative (LSD test, $P=0,05$).

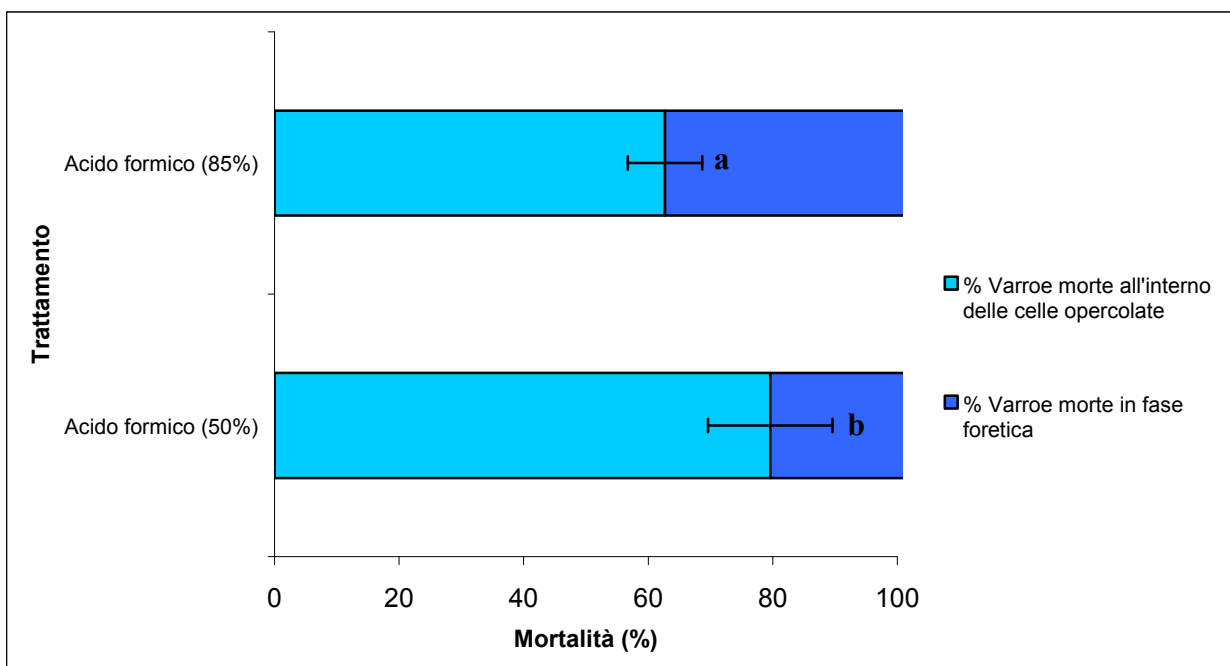


Fig. 7. Confronto dell'efficacia dei trattamenti con acido formico sulla varroa all'interno delle celle opercolate. Lettere diverse indicano differenze significative (test- t di Student, $P=0,05$).

Conclusioni

Le prove condotte hanno fornito indicazioni utili sull'uso dell'acido formico e confermato l'efficacia dei formulati a base di timolo nel periodo estivo.

L'ApilifeVar® e l'Apiguard® hanno evidenziato, alle condizioni climatiche rilevate, di mostrare un'azione acaricida elevata ed adeguata per il contenimento dell'infestazione nel periodo estivo, garantendo un'efficacia superiore al 96%.

L'acido formico, invece, nelle modalità analizzate, non ha raggiunto livelli di efficacia da ritenere sufficienti in quanto non ha mai indotto mortalità superiori al 61%. Considerando, però, la capacità di uccidere gli acari nelle celle opercolate, la buona compatibilità con le api, la facilità di impiego e l'economicità del trattamento rispetto ai prodotti contenenti timolo, l'utilità dell'acido formico, applicato con i metodi proposti, non è da trascurare.

Ulteriori prove saranno effettuate per determinare l'efficacia di un secondo trattamento a distanza di 15 giorni dal primo e l'eventuale effetto sulle api.

Un ulteriore aspetto da evidenziare nella presente sperimentazione è il rapporto tra dose di acido formico somministrata ed azione acaricida in quanto, anche con l'impiego di dosi più basse si è comunque registrata una buona efficacia relativa.

A tal proposito importante è la maggiore sicurezza per l'operatore durante la manipolazione dell'acido formico a dosi ridotte pur rimanendo comunque una sostanza che richiede l'utilizzo di idonei dispositivi di protezione individuale, quali maschera per vapori organici, guanti e occhiali.

Infine, l'acido formico ed il timolo, grazie alla semplicità di applicazione ed efficacia, devono essere considerate valide alternative a formulati contenenti principi attivi di sintesi, il cui ripetuto e continuo utilizzo comporta diversi svantaggi, fra cui l'esposizione al rischio di sviluppo di popolazioni di acari farmacoresistenti e di contaminazione delle produzioni apistiche con i residui chimici dei trattamenti.

Bibliografia

Amrine J. W., Noel R., 2006. Formic acid fumigator for controlling varroa mites in honey bee hives. *Internat. J. Acarol.* 32(2): 115-124.

Anonymous, 1999. Recommendations from the CA3686. The evaluation of treatment against *Varroa jacobsoni*. Concerted Action "Coordination in Europe of Research on integrated control of varroa mites in honeybees colonies". Meeting Merelbeke, Belgio, 13-14 novembre 1999.

Arculeo P.; Vitale F.; Caracappa S., 1993. Efficacia dei trattamenti con acido formico e fluvalinate contro *Varroa jacobsoni* Oud. *Apicoltore Moderno* 84 (5): 185-192.

Baggio A.; Arculeo P.; Nanetti A.; Marinelli E.; Mutinelli F. 2004. Field Trials with Different Thymol-based Products for the Control of Varroosis. *Am. Bee J.*,5: 395-400.

Barbattini R.; Greatti M.; D'Agaro M.; Sabatini A. G.; Colombo R.; Marcazzan G. L., 1994. Utilizzo dell'acido formico nella lotta contro *Varroa jacobsoni*: verifica dell'efficacia e dei residui nel miele. *Ape Nostra Amica* 16 (4):4-9.

Calderone N.W., 1999. Evaluation of formic acid and a thymol-based blend of natural products for the fall control of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *J. Econ. Entomol.* 92: 253-260.

Calderone N.W., Nasr M.E., 1999. Evaluation of formic acid formulation for the fall control of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in colonies of the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in a temperate climate. *J. Econ. Entomol.* 92: 526-533.

Calderone N.W., 2000. Effective Fall Treatment of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) with a New Formulation of Formic Acid in Colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in the Northeastern United States *J. Econ. Entomol.*, Volume 93(4):1065-1075.

Colombo M., Spreafico M., 1999 - Esperienze di lotta a *Varroa jacobsoni* Oud. con un nuovo formulato a base di timolo. *La Selezione Veterinaria* 7: 473-478.

Dwayne M., Vanderdussen D., 2010. Mite-Away Quick Strip mid honey flow efficacy trial. *Am. Bee J.*, 139: 487-489.

Eguaras M., Palacio A., Faverin, C., Del Hoyo M.L., Velis G., Bedascarrasbure E., 2003. Efficacy of formic acid in gel for *Varroa* control in *Apis mellifera* L.: importance of the dispenser position inside the hive. *Vet. Parasitol.*, 111: 241-245.

Feldlaufer M. F., Pettis J.S., Kochansky J.P., Shimanuki H., 1997. A gel formulation of formic acid for the control of parasitic mites of honey bees. *Am. Bee J.*, 137: 661- 663.

Fries I, 1989. Short-interval treatments with formic acid for control of *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies in cold climates *Swedish Journal of Agricultural Research*, 19(4): 213-216

Fries I., 1991. Treatment of sealed honey-bee brood with formic-acid for control of *Varroa jacobsoni*. *Am. Bee J.*, 131: 313-314.

Imdorf A., Bogdanov S., Kilchenmann V., Maquelin C., 1995 - Apilife-VAR - a new varroacide with thymol as the main ingredient. *Bee World* 76 (2): 77-83.

Marinelli E. 2008. -Utilizzo di formulati a base di timolo e degli acidi organici per il controllo della *Varroa* nel Lazio - Esperienze nel biennio 2005-06. In "Attività di sperimentazione in apicoltura nella Regione Lazio, anni 2005-2006" 7-13. **Nanetti A., Stradi G., 1997** - Varroasi: trattamento chimico con acido ossalico in sciroppo zuccherino. *L'Ape Nostra Amica* 5: 6-14.

Nanetti A., Bacandritsos N., Papanastasiou I., Saitanis C.,

Pietropaoli M., Macrì S., Purificato I., Giacomelli A., Comini A., Longo F., Spinaci L., Scholl F., Ragionieri F., Cocentini M., Mari M., Aggravi G., Volterrani A., Ferrari C., Formato G., 2001. Verifica dell'efficacia acaricida di trattamenti estivi con acido formico in gel (Mite Away Quick Strips®). *L'apis*,(4): 8-12.

Papadoulis G., 2005. Studio comparativo su sei formulati contenenti timolo nel controllo di *Varroa destructor* (Anderson & Trueman) in Grecia. *Apoidea*, 2: 126-133.

Satta A.; Garau V.L.; Melis M.; Cabras P.; Floris I.; Eguaras M. 2005. Formic acid-based treatments for control of *Varroa destructor* in a Mediterranean area. *J. Econ. Entomol.*, Apr., 98 (2): 267-273. •

Underwood R.M., Currie R.W., 2003. The effects of temperature and dose of formic acid on treatment efficacy against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) a parasite of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Exp. Appl. Acarol.*, 29:303-313.