

UTILIZZO DI APEDIN VAPOR® NEL CONTROLLO DELLA VARROASI E NELL'ALIMENTAZIONE DELLE API

A.Nanetti¹, S.Massi¹ & A.Conti²

¹ Istituto Nazionale di Apicoltura, Via di Saliceto 80, Bologna - Italia

² Associazione produttori Agripiemonte Miele, Corso Giulio Cesare 267, Torino - Italia

RIASSUNTO

Il nuovo formulato «naturale» denominato Apedin Vapor® (acqua, etanolo 19%, lattosio ed estratti vegetali: Echinacea angustifolia, Thuya occidentalis, Spiraea ulmaria, Oxalis acetosella) è stato considerato sotto i profili nutrizionale per le api e acaricida nei confronti di Varroa destructor. In accordo con le indicazioni del produttore, soluzioni 1:2 sono state distribuite ad alveari per spruzzatura. Sette somministrazioni a intervalli di 19-28 giorni (24 maggio - 5 ottobre 2002) hanno dato luogo ad una efficacia complessiva del 19,8%. Tre somministrazioni effettuate a intervalli di tre settimane a partire dal 18 maggio hanno prodotto una mortalità di varroe del 54,1% (22,6% nei controlli). In entrambe le prove al termine dei trattamenti le colonie erano ancora infestate da un numero considerevole di parassiti. I controlli eseguiti sugli alveari non hanno messo in evidenza problemi di tollerabilità del prodotto da parte delle api. In una prova di alimentazione eseguita su piccoli gruppi di api, il consumo del formulato è stato simile a quello di sostanze non alimentari come l'acqua o una soluzione di etanolo avente la stessa concentrazione alcolica di Apedin Vapor® (19%). L'aggiunta di etanolo sembra aver ridotto considerevolmente l'appetibilità dello sciroppo zuccherino concentrato. Viene discussa la possibilità che il lattosio contenuto nel prodotto rappresenti un componente indesiderabile

PAROLE CHIAVE

Acaricida - Apis mellifera - Controllo - Efficacia - Varroa destructor

Introduzione

Uno degli aspetti principali su cui la ricerca nel campo dell'apicoltura è impegnata da tempo riguarda il tentativo di porre definitivamente sotto controllo la varroa, *Varroa destructor* Anderson & Trueman. Decenni di lavoro che nei vari paesi hanno visto impegnati Istituti di ricerca e apicoltori, spesso in collaborazione, hanno tuttavia portato, nei casi migliori, ad una più accettabile convivenza con il parassita, mentre si è andata via via accrescendo la convinzione che l'eradicazione sia un obiettivo lontanissimo.

Notevoli progressi sono stati compiuti più recentemente utilizzando sostanze, chimicamente anche molto diverse, che ricadono sotto la definizione di "acaricidi naturali". I problemi che riguardavano la loro efficacia e la

loro praticabilità sono ora in gran parte risolti e, contemporaneamente, molti apicoltori hanno potuto adottare metodi produttivi più rispettosi dell'ambiente e del miele. Ma la storia del controllo "naturale" della varroasi ha visto spesso affiancarsi metodi di lotta studiati in modo approfondito ad altri, talvolta di un certo successo commerciale, che non sembrano essere stati sottoposti a controlli altrettanto attenti. I pochi e contraddittori riscontri pubblicati quasi esclusivamente su riviste destinate ad apicoltori paiono collocare Apedin Vapor®, prodotto dall'Istituto Fitofarmaceutico Euganeo Srl di Rubano, Padova, e facilmente reperibile in commercio, in questo secondo gruppo (Figura 1).

L'etichetta del prodotto riporta la composizione qualitativa (acqua, alcol etilico, lattosio, estratti idroalcolici di *Echinacea angustifolia*, *Thuya occidentalis*,

USING APEDIN VAPOR® IN THE CONTROL OF VARROA MITES AND IN THE HONEYBEE FEEDING

Summary

A new natural formula, Apedin Vapor® (water, ethanol 19%, lactose and plant extracts: *Echinacea angustifolia*, *Thuya occidentalis*, *Spiraea ulmaria* and *Oxalis acetosella*) is considered a honeybee feed and an acaricide against *Varroa* mites. Colonies in apiaries in Northern Italy were sprayed with 50 ml of a 1:2 solution. After seven administrations at 19-28 day intervals (24 May-5 October 2002), acaricide efficacy reached 19.8%. In another trial, three doses at three-week intervals (the first on 18 May) were administered. Mite mortality was 54.1% and 22.6% in treated colonies and controls, respectively. A noticeable amount of parasites survived the treatment in both trials.

The number of adult honeybees and



Figura 1: Flacone di Apedin Vapor®.
Figure 1: The Apedin Vapor® bottle.

Spiraea ulmaria e *Oxalis acetosella*) ma, a parte la concentrazione alcolica (19% vol.), non riferisce quella quantitativa. Inoltre, le confezioni (flaconi da 200 ml) non riportano le modalità d'impiego, che possono essere evinte soltanto dal materiale informativo distribuito a parte dal produttore stesso.

Pur classificandolo fra gli alimenti, questa documentazione sottolinea l'azione di Apedin Vapor® contro l'acaro parassita *Varroa destructor*, responsabile della varroasi delle api, ricordando che il prodotto "corroborando e coadiuvando nel trattamento della varroasi" e che "l'efficacia risulta essere massima circa due settimane dopo il secondo trattamento e si protrae per almeno un mese". La descrizione del prodotto viene completata aggiungendo che "non presenta tossicità; non destabilizza lo sciame; non influisce sulla fecondità della regina; non lascia residui né altera la qualità del miele; si può usare in presenza di melario e covata".

Le notizie pubblicate in proposito (a volte si tratta più di impressioni sull'impiego pratico che di vere e proprie sperimentazioni) riguardano

esclusivamente l'eventuale applicazione di Apedin Vapor® nel controllo della varroasi, mentre mancano riferimenti all'utilizzo nutrizionale.

Con le prove qui proposte, gli autori intendono portare un contributo ad una migliore conoscenza di questo formulato, avendolo considerato come acaricida e come alimento nel rispetto delle modalità di somministrazione suggerite dal produttore.

Materiali e metodi

Prove di campo

Sono stati considerati due diversi schemi di intervento con Apedin Vapor®. In un caso il trattamento ha riguardato la maggior parte della stagione attiva, nell'altro un periodo di circa due mesi. Il preparato apparteneva al lotto C02/APV, con scadenza a marzo 2004.

L'efficacia e la tollerabilità dei trattamenti sono state valutate confrontando colonie trattate con altre di controllo, appartenenti allo stesso apiario, che corrispondentemente ricevevano soltanto acqua. Le colonie erano tutte in condizioni simili e regolari in rapporto alla stagione. La loro attribuzione all'uno o all'altro gruppo è avvenuta per estrazione a sorte. Per tutto il periodo della sperimentazione gli alveari sono stati seguiti secondo criteri di buona pratica apistica.

Le soluzioni di Apedin Vapor® sono state preparate di volta in volta diluendo il prodotto puro con acqua in rapporto 1:2 (volume). Dopo un'agitazione molto energica, ripetuta per dieci volte allo scopo di eseguire l'operazione indicata dal produttore con il termine "dinamizzazione", 25 ml di soluzione sono stati distribuiti con uno spruzzatore per due

brood cells in each colony were estimated according to the Liebfeld method (modified) before and after the treatment periods. No significant differences were recorded between treated and control groups in each trial. No external reaction to the treatment was detected.

Small groups of bees were fed 60% sugar syrup, 60% sugar syrup and ethanol (19%), ethanol (19%), water, Apedin and a 1:2 solution of Apedin. The 60% syrup uptake was 81.5 mg/bee over a period of 28 h. The presence of ethanol seemed to considerably decrease the syrup palatability (the uptake was only 19.4 mg). 2.3 mg, 2.9 mg, 2.7 mg and 2.7 mg of water, ethanol, pure and diluted Apedin were removed, respectively and 84.6%, 80.0%, 71.4%, 74.5% of the bees were found dead or showed clear symptoms of starvation. Furthermore, respectively 0% and 37.5% of the bees in the groups fed plain syrup and syrup to which ethanol had added were dead or non-reactively lying on the bottom of the cages because of the insufficient feeding.

The possible side effects of lactose as an Apedin Vapor® component are discussed.

Keywords

Acaricide – *Apis mellifera* – Control – Efficacy – *Varroa jacobsoni*.

Introduction

Considerable research has been devoted to the control of the mite *Varroa destructor* Anderson & Trueman for many years. Surveys have been conducted for decades in several countries by researchers, often collaborating with beekeeper associations. The efforts made several control concepts being set-up but at the moment the parasite eradication still remains an unreachable objective. Remarkable progress has been achieved recently using 'natural' active ingredients belonging to very different chemical groups. Problems with efficacy and practical application of these chemicals have been solved, making possible environment- and product-safe techniques being adopted by several beekeepers. Some

volte, con un intervallo di alcuni minuti, sulle api presenti al di sopra dei favi al momento della rimozione del coprifavo.

Le varroe cadute sono state recuperate attraverso fogli adesivi collocati nel fondo diagnostico e rinnovati generalmente una o due volte la settimana. Il trattamento di controllo, necessario per recuperare le varroe sopravvissute è stato eseguito con acido ossalico.

Trattamento prolungato

In un apiario di trenta alveari posto nella pianura bolognese sono stati formati due gruppi (TRT e CTR) di identica dimensione. Apedin Vapor® è stato distribuito sette volte, ad intervalli di 19-28 giorni, la prima delle quali il 24 maggio e l'ultima il 5 ottobre 2002.

In attesa della prima somministrazione e alcuni giorni dopo l'ultima, tutte le colonie sono state controllate con il c.d. "metodo dei sestini" (5, 1). Due diversi operatori si sono alternati in questo compito, rilevando il numero di api adulte e di celle di covata, ma ogni colonia è stata sempre valutata dalla stessa persona. I dati raccolti dai due operatori, tuttavia, non essendo significativamente diversi, sono state raggruppati.

Il 29 ottobre, dopo aver verificato che l'allevamento della covata era ormai praticamente terminato, si è proceduto al trattamento di controllo, che è stato eseguito sgocciolando 5ml di soluzione al 4,2% di acido ossalico contenente il 60% di zucchero per favo occupato dalle api (8). Gli acari caduti sui fondi diagnostici sono stati raccolti e contati per altre due settimane.

Trattamento di breve termine

Questa prova è stata realizzata in una località di pianura in provincia di Torino, in un apiario

suddiviso in due gruppi (TRT1 e CRT1) di dodici colonie ciascuno. La prima distribuzione di Apedin Vapor® è stata effettuata il 18 maggio 2002 ed è stata seguita da altri due interventi, dopo 21 e 42 giorni.

Per il trattamento di controllo, una soluzione di acido ossalico (4,4%) contenente circa il 30% di zucchero è stata somministrata per due volte a tre settimane di intervallo in ragione di 5 ml per favo popolato dalle api. Per aumentare l'efficacia di questi interventi, nei primi 12 giorni del periodo di controllo la deposizione di nuova covata è stata impedita confinando le regine in gabbietta.

Il citato "metodo dei sestini" è stato adottato anche in questo caso prima (18 maggio) e dopo il periodo di trattamento (25 agosto), ma solo per rilevare la consistenza della popolazione di api adulte.

Prova di alimentazione

A gruppi di circa 50-70 api confinate in contenitori appositamente allestiti sono state offerte mediante alimentatori alcune soluzioni costituite, rispettivamente, da Apedin Vapor® puro o diluito (con acqua in rapporto 1:2), sciroppo zuccherino al 60% (peso) con o senza aggiunta di alcol etilico (19% vol.), acqua, alcol etilico (19% vol.). Per poterle rintracciare nell'apparato digerente delle api, le soluzioni sono state colorate con blu di metilene (2%). La quantità asportata da ciascun nutrito è stata determinata per differenza di peso a 28 ore. Contestualmente sono state contate le api morte o incapaci di camminare regolarmente, attribuendo queste condizioni ad un'alimentazione insufficiente.

L'analisi dei risultati è stata condotta con metodi statistici non

'ecological' methods to control the mites have been studied more than others, but the lack of adequate and careful research did not prevent the commercial successes of some of the lasts.

Scanty and sometimes conflicting information is available about Apedin Vapor®, produced by Istituto Fitofarmaceutico Euganeo Srl, Rubano, Padua, (Figure 1) which seems to place this easily obtainable product amongst group of formulations that have not been submitted to a sufficient body of research.

The composition of the product is given on label (water, ethanol, lactose, hydro-alcoholic extracts of *Echinacea angustifolia*, *Thuya occidentalis*, *Spiraea ulmaria* and *Oxalis acetosella*) but, apart from the alcohol (19% vol.), concentrations are not indicated. Moreover, information about the use is not given on the packages (200-ml flasks) but only on leaflets separately issued by the manufacturer.

The above directions classify Apedin Vapor® as a feed, but pinpoint its efficacy against *Varroa destructor*, the causative agent of varroosis. In addition, they state that the product "strengthens, helping in the varroa treatment" and that "the maximum efficacy is reached two weeks after the second treatment and lasts for one month at least". The product description continues: "it is not toxic; it does not destabilise the swarm; it does not affect the queen fertility; it does not leave residues nor jeopardises the honey quality; it can be used in presence of super boxes and brood".

The published information exclusively covers the use of Apedin Vapor® in the control of varroosis (often experiences relevant to the practical use rather than real tests are reported), while no references about the nutritional qualities of the product are available.

This paper aims to acquaint readers with work on this product, that the Authors have considered as both an acaricide and feed, as stated by the notice provided by the manufacturer.

Materials and methods

Field tests

Two different treatment concepts

Tabella 1: Trattamento prolungato: consistenza iniziale e finale delle colonie (differenze fra gruppi non significative).

Table 1: Size of colonies before and after long-term treatment (no significant difference was recorded between groups).

Gruppo/Group	Controllo del 21 maggio 2002 Control on 21 May 2002		Controllo del 15 ottobre 2002 Control on 15 October 2002		
	Api Bees	Celle di covata Brood cells	Api Bees	Celle di covata Brood cells	Colonie senza covata Colonies without broods*
TRT/Treated	15,433	33,040	15,386	945	63.6%
CTR/Control	14,650	37,760	15,202	2,215	53.8%

* Test χ^2

Tabella 2: Trattamento di breve termine: consistenza iniziale e finale delle colonie (differenze fra gruppi non significative).

Table 2: Size of colonies before and after short-term treatment (no significant difference was recorded between groups).

Gruppo/Group	Controllo del 18 maggio 2002 Control on 18 May 2002		Controllo del 25 agosto 2002 Control on 25 August 2002	
	Api/Bees	Facciate di favo con covata Comb sides with brood	Api/Bees	Facciate di favo con covata Comb sides with brood
TRT1/Treated 1	19,063	12.3	20,750	11.5%
TRT2/Control 1	19,833	12.7	20,625	11.2%

Tabella 3: Trattamento prolungato: cadute corrispondenti ad ogni intervento con Apedin Vapor® (differenze fra gruppi non significative).

Table 3: Long-term treatment: mite fall after each treatment with Apedin Vapor® (no significant difference was recorded between groups).

	Somministrazioni	TRT/Treated group		CTR/Control group	
		Media/Mean	No.	Media/Mean	No.
1	24 May 2002	2.0	15	1.9	15
2	14 June 2002	1.3	14	1.4	14
3	3 July 2002	2.4	14	1.9	14
4	26 July 2002	8.5	14	8.7	14
5	23 August 2002	11.1	13	14.5	13
6	12 September 2002	29.9	13	83.8	13
7	7 October 2002	30.2	11	45.9	13

parametrici (U test di Mann-Whitney; test χ^2), assumendo la soglia di significatività $\alpha=0,05$

Risultati

Condizioni delle colonie

I dati riportati nelle Tabelle 1 e 2 mostrano una notevole uniformità fra il gruppo trattato e quello di controllo di ciascuna prova per quanto attiene alla forza iniziale delle colonie. A determinare tale favorevole condizione di partenza ha certamente contribuito il metodo utilizzato per formare i gruppi, che si basava sulla casualità.

Le colonie della prova di

trattamento prolungato, che all'inizio contavano mediamente circa 15.000 api adulte, dopo l'evoluzione estiva erano ritornate pressappoco alla stessa consistenza. La covata, invece, che inizialmente oscillava attorno alle 33.000-38.000 celle, al termine del periodo di trattamento si era ormai esaurita quasi completamente.

Alcune famiglie sono state eliminate durante questa prova. In particolare ne è stata eliminata una a causa di cadute di acari molto elevate (superiori alla somma della media e del triplo della deviazione standard del

using Apedin Vapor® were taken into consideration: in one case the most part of the active season was covered by the administrations, but only a two-month period in the second case. The product belonged to the batch number C02/APV, with an expiry date of March 2004.

Efficacy and tolerability of treatments were evaluated by comparing treated colonies with control groups, belonging to the same apiary but receiving water alone.

The colonies were of similar strength and, in any case, of normal development if the period of the year is taken as a reference. Each apiary was randomly split into two groups. During each trial period, good rearing practices were followed to keep the colonies.

Apedin Vapor® solution was prepared by diluting the product with water in ratio 1:2 (v/v). After a vigorous shaking, that is recommended by the manufacturer himself (which refers to the procedure as the "dynamisation"), it was administered by spraying 25-ml twice, at a few minute interval, on the bees located on the comb top bars.

Fallen mites were collected using sticky sheets placed in the bottom boards, that were replaced with clean ones once or twice a week. The control treatments, needed to collect the surviving mites, were performed using oxalic acid.

Long-term treatments

In an apiary of 30 colonies located near Bologna, two groups (treated and control) of identical size were used. Apedin Vapor® was distributed seven times at 19- to 28-day intervals, starting on 24 May 2002 and ending on 5 October.

Before the first administration and a few days after the last, all colonies were evaluated by the method using the sixth part of a DB frame as a unit of measure (1, 5). Two people took turns in estimating the number of adult honeybees and brood cells; the same person always evaluated the same colony. As the data collected by the two people were not significantly different, they were grouped.

On 29 October, after checking that

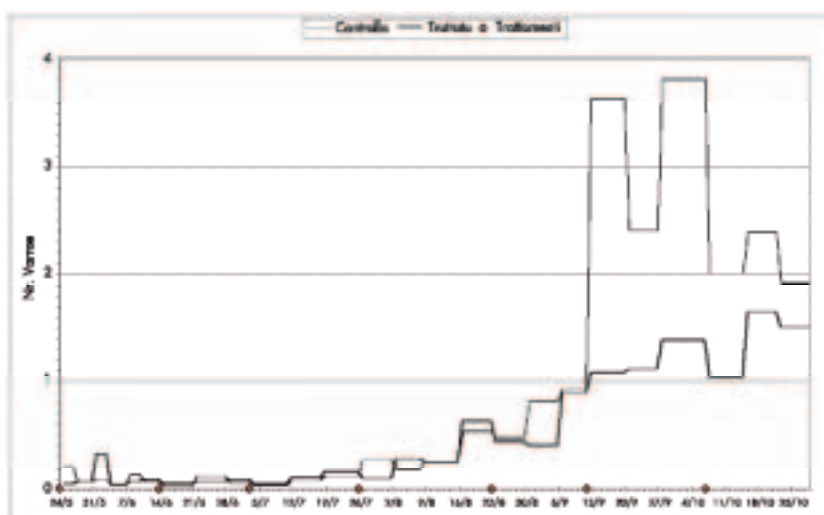


Figura 2: Cadute medie giornaliere nel periodo di trattamento prolungato.

Figure 2: Average daily mite fall during the long-term treatment.

Tabella 4: Trattamento prolungato: caduta delle varroe nelle fasi di prova (differenze fra gruppi non significative).

Table 4: Long-term treatment: mite fall during the trial phase (no significant difference was recorded between groups).

Gruppo/Group	Trattamento con Apedin Vapor® Treatment with Apedin Vapor® (24 maggio - 29 ottobre 2002) (24 May-29 October 2002)				Trattamento di controllo Control treatment (30 ottobre - 12 novembre 2002) (30 October-12 November 2002)			
	Media/Mean	Min	Max	CV/RSD%	Media/Mean	Min	Max	CV/RSD%
TRT/Treated (N=11)	88,5	50	139	36,4	669,0	68	1156	54,7
CRT/Control (N=13)	157,5	37	483	84,0	834,4	189	2053	64,3

gruppo), mentre altre eliminazioni (tre nel gruppo TRT e due nel gruppo CTR) sono state provocate da fattori accidentali (orfanità, altre avversità) non riconducibili all'uso di Apedin Vapor®.

Nella prova di trattamento di breve termine le colonie erano inizialmente più popolose (circa 19.000 api) ed avevano covata estesa mediamente su 12-13 facciate di favo. Nessuna unità sperimentale è stata eliminata in questo caso. Al termine di ciascuna prova le colonie possedevano api e covata in quantità non significativamente diverse fra i gruppi. Le osservazioni esterne non hanno evidenziato manifestazioni anomale (mortalità, ventilazione eccessiva, abbarbicamento all'esterno, abbandono del nido, ecc.).

Mortalità delle varroe

Nella prova di trattamento prolungato con Apedin Vapor® sono state registrate modeste

cadute di acari (Tabella 3, Figura 2) cui, evidentemente, hanno corrisposto livelli d'infestazione moderati, grazie ai quali si è potuto protrarre il periodo di trattamento fino al termine della stagione attiva senza che le colonie venissero sopraffatte dalle popolazioni dei parassiti. Nelle colonie dei due gruppi non vi sono state differenze significative nel numero di acari di volta in volta recuperati nei fondi diagnostici, nella mortalità totale rilevata nel periodo di trattamento e nel numero di acari caduti con il successivo trattamento di controllo (Tabella 4). In corrispondenza delle diverse somministrazioni non si sono manifestati incrementi di mortalità.

L'efficacia complessiva dei sette interventi eseguiti con Apedin Vapor® è stata del 19,8%.

the brood rearing was over or almost over in all colonies, a control treatment was applied by trickling 5 ml of solution at 4.2% of oxalic acid with 60% of sugar per comb occupied by the bees (8). The mites that fell onto the bottom boards were collected and counted for two additional weeks.

Short-term treatments

This test was performed in an apiary in the province of Turin divided into two groups (treated 1 and control 1) of 12 colonies each. The first application of Apedin Vapor® was made on 18 May 2002 and was followed by two additional applications, 21 and 42 days later.

For the control treatment, a solution of oxalic acid (4.4% containing approximately 30% sugar) was administered twice at three-week intervals, according to the dose of 5 ml per comb occupied by the bees. To increase the efficacy of this application, further egg lying was prevented by caging the queens during the first 12 days of the control period.

The method for evaluating the colony strength using the sixth part of a DB frame as a unit of measure was used even in this case before (18 May) and after (25 August) the treatment period.

Feeding test

Appropriate feeders allowed to feed groups of approximately 50 to 70 bees confined in lab cages respectively with the following solutions: pure or diluted (1:2, with water) Apedin Vapor®, 60% sugar syrup (w/v) with or without ethanol (19% vol.), water, ethanol (19%).

The solutions were dyed with methylene blue (2%) in order to trace them in the bee intestines. The amounts taken from each feeder was determined after 28 h as a difference in weight. At the same time, the bees that had died or that were unable to regularly walk were counted, assuming that these bad conditions of the bees were due to insufficient feeding.

The statistical analysis of the results was made using non-parametric methods (Mann-Whitney U test; χ^2 test), taking a significance threshold $\alpha = 0.05$.

Results

Conditions of colonies

The random method used to split

Tabella 5: Trattamento di breve termine: caduta delle varroe nelle fasi di prova (lettere diverse indicano differenze significative fra le medie dei gruppi).

Table 5: Short-term treatment: mite fall during the trial phase (different letters show significant differences among the average of groups).

Gruppo Group	Prima del trattamento Before treatment (28 aprile - 18 maggio 2002) (28 April-18 May 2002)				Trattamento con Apedin Vapor® Treatment with Apedin Vapor® (19 maggio - 22 luglio 2002) (19 May-22 July 2002)				Infestazione totale Total infestation (19 maggio - 25 agosto 2002) (19 May - 25 August 2002)			
	Media Mean	Min	Max	CV% RSD%	Media Mean	Min	Max	CV% RSD%	Media Mean	Min	Max	CV% RSD%
TRT/Treated (N=12)	31.1 ^(a)	9	74	71,71	701,4 ^(a)	217	1.569	56,78	1.213,7	659	2.145	35,78
CRT/Control (N=12)	14.0 ^(b)	6	46	75,41	327,4 ^(b)	196	523	30,77	1.441,2	1.119	1,697	11,45

Durante il periodo di trattamento, nel gruppo che aveva ricevuto soltanto tre somministrazioni di Apedin Vapor® sono state rilevate cadute di acari significativamente maggiori rispetto al controllo, in accordo con una tendenza già presente prima dell'inizio dei trattamenti (Tabella 5). Tuttavia, il numero di *varroe* recuperate complessivamente non è stato significativamente diverso nei due gruppi di alveari. La mortalità di acari è stata del 54,1% e del 22,6% rispettivamente nel gruppo trattato e in quello di controllo. L'andamento delle cadute nel tempo è illustrato in Figura 3: come nell'altro caso, le somministrazioni non hanno provocato picchi di mortalità dei parassiti.

Consumo della soluzione

La Figura 4 mostra il consumo delle varie soluzioni e la percentuale di api morte o indebolite per mancanza di alimento (indicate con il termine "colpite") 28 ore dopo l'inizio delle somministrazioni.

Lo sciroppo zuccherino al 60% è stato assorbito dalle api in modo intenso, ma l'aggiunta di alcol alla concentrazione dichiarata sull'etichetta di Apedin Vapor® (19%) ha provocato una sensibile riduzione del prelievo

dai nutritori. Acqua, soluzione alcolica e Apedin Vapor® sono stati prelevati in quantità simili e comunque molto modeste. Alla scadenza indicata, nel gruppo che aveva ricevuto sciroppo zuccherino

the apiaries fostered the homogeneous colony strength shown by treated and control groups at the beginning of each experiment (Tables I and II).

At that time, the colonies devoted to test the long-term treatment concept, sized approximately 15,000 adult bees and, after the summer development, they returned to almost the same size. On the contrary, the brood initially ranged around 33,000-38,000 cells, but it was almost completely over at the end of the experiment.

In one case, a very high mite fall (more than the average plus three times the standard deviation of the group) was seen, and in some other instances (three in the treated group and two in the control) mishap clearly not related to the treatments occurred. This made the respective colonies being

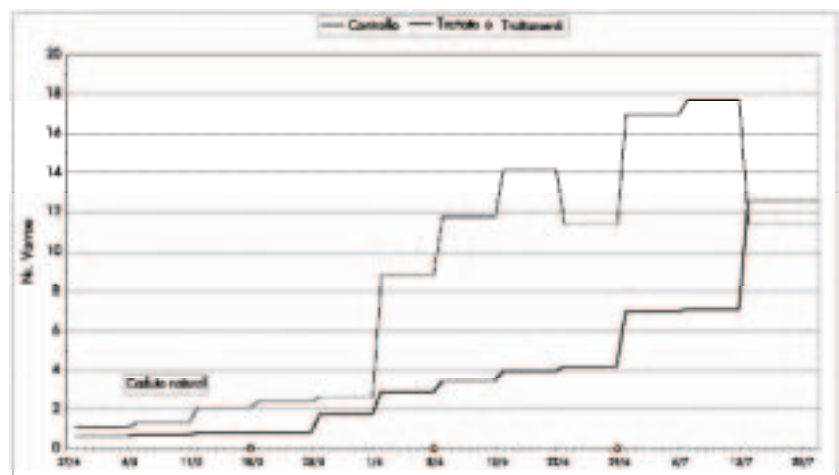


Figura 3: Cadute medie giornaliere nel periodo di trattamento di breve termine.

Figure 3: Average daily mite fall during the short-term treatment.

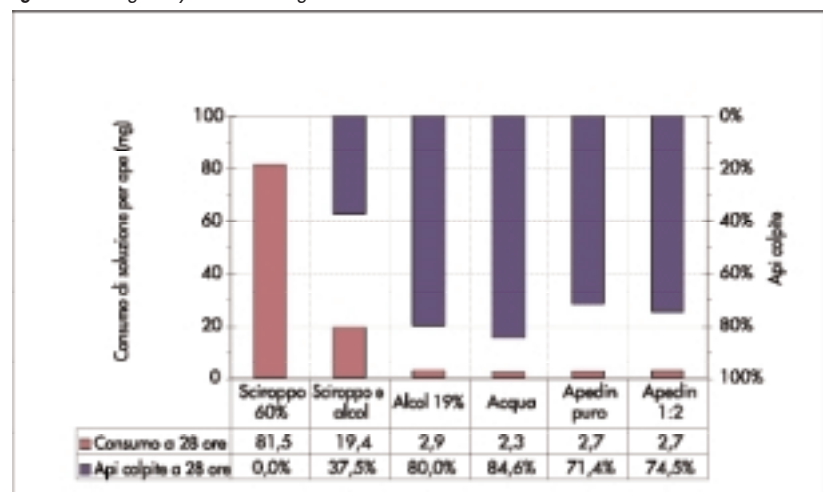


Figura 4: Quantità di soluzione consumata e proporzione di api morte o indebolite per l'insufficiente alimentazione.

Figure 4: Solution uptake and proportion of starving bees.

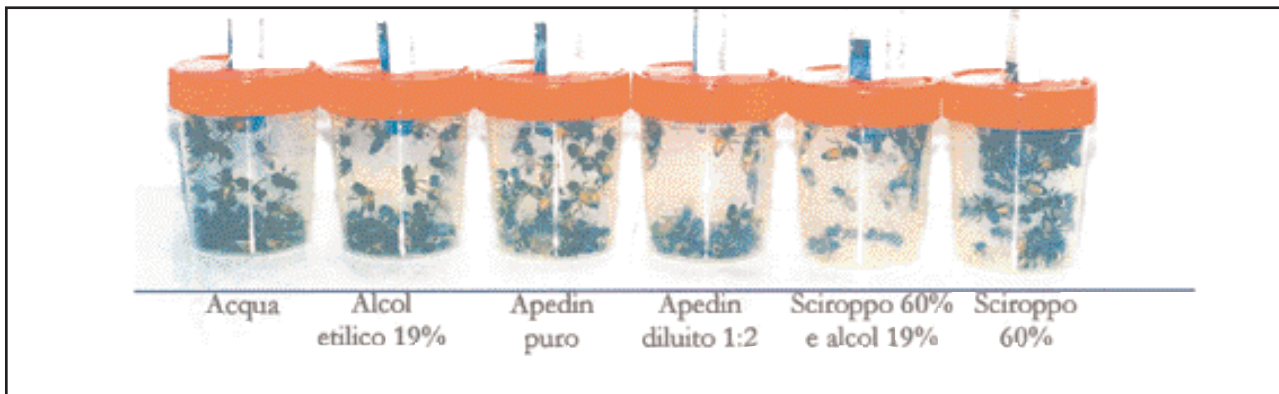


Figura 5: Prova di alimentazione delle api.
Figure 5: Bee feeding experiment.

non sono state rinvenute api morte o incapaci di muoversi, ma con lo sciroppo addizionato di alcol etilico la loro proporzione si è innalzata fino al 37,5%. Negli altri gruppi, invece, la proporzione di api colpite è variata fra il 70 e l'85% (χ^2 : differenze non significative).

Le immagini delle figure 5 e 6 si riferiscono ad una fase intermedia (19 ore). La prima mette in evidenza l'assembramento in corrispondenza del nutritore ripieno di sciroppo zuccherino e l'ammassarsi sul fondo delle api che avevano ricevuto Apedin Vapor® e gli altri liquidi non alimentari. Nell'altra, la diversa colorazione testimonia l'assunzione di sciroppo zuccherino, ma non di Apedin Vapor®.

Discussione

Le prove hanno evidenziato una buona tollerabilità di Apedin

Vapor® da parte degli alveari. I trattamenti non hanno provocato comportamenti anomali rilevabili esternamente né alterazioni significative nella popolazione adulta e nella quantità di covata rispetto ai controlli. L'esclusione di alcune colonie dalla prova si è resa necessaria per motivi indipendenti dalla compatibilità del prodotto con le api. In un apiario destinato alla produzione invece che alla sperimentazione le colonie eliminate avrebbero potuto essere recuperate dall'apicoltore senza particolari difficoltà.

Le somministrazioni sono state relativamente semplici e rapide, ma la suddivisione di ogni dose in due aliquote da distribuire separatamente ha comportato tempi di intervento superiori rispetto a quelli necessari, ad esempio, per eseguire trattamenti con acido ossalico attraverso la tecnica del gocciolamento. Non è chiaro se

eliminated from the trial.

In the short-term treatment, the colonies initially sized more bees than in the previous case (approximately 19,000) and their brood was spread over 12-13 comb sides. In this case, all the experimental colonies could be kept until the end of the experiment.

At the end of each trial, the amounts of adult bees and brood cells in the groups did not significantly differ. External observations did not put into evidence abnormal events (mortality, extreme ventilation, external clinging, absconding etc.).

Mortality of Varroa

In the long-term treatment, moderate mite falls were observed (Table III, Figure 2), which confirmed a moderate level of infestation. Consequently, the treatment period could be extended until the end of the active season without major concern for the colony survival. The groups did not significantly differ in the number of mites recovered from the bottom boards during the time, in the overall mortality of the treatment period and in the number of mites fallen after the control treatment (Table IV). The mite mortality did not increase when each administration was applied to the colonies. The overall efficacy of the seven administrations with Apedin Vapor® was 19,2% (Because of the very long-lasting treatment, the efficacy was calculated according to the Neal formula ($E=(Sc-St)/Sc$, where Sc and St indicate the number of surviving parasites in controls and treated groups, respectively) instead of the usual ratio between killed and total mites [4].)

The group receiving only three administrations of Apedin Vapor® showed significantly higher mite

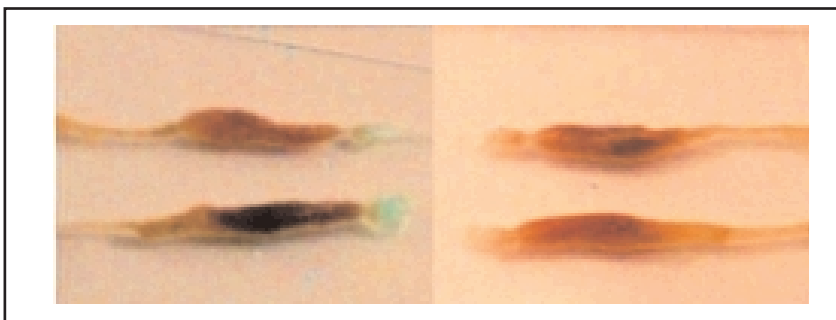


Figura 6: Borsa melaria e tratti successivi dell'apparato digerente di api alimentate con sciroppo zuccherino (a sinistra) e con Apedin Vapor® non diluito (a destra) marcati con blu di metilene.

Figure 6: Honey-sac and further digestive system tracts of bees fed syrup (left) and undiluted Apedin Vapor® (right) dyed with methylene blue.

la “dinamizzazione” serva semplicemente ad evitare una stratificazione della soluzione o se abbia altre funzioni, ma è evidente che la necessità di eseguirla e di rinnovarla periodicamente non contribuisce a semplificare gli interventi.

Nella prova di alimentazione, Apedin Vapor® (puro e diluito) e sostanze prive di appetibilità e di valore alimentare per le api, come acqua e alcol etilico al 19%, sono state assunte in quantità molto piccole; nei rispettivi gruppi la mortalità delle api per insufficiente alimentazione si è manifestata secondo tempi e modalità simili. Lo sciroppo zuccherino concentrato, che invece è stato assorbito molto attivamente (circa 80 mg per ape), ha subito una notevole riduzione di appetibilità in seguito all'aggiunta di alcol etilico alla stessa concentrazione alcolica di Apedin Vapor®.

Il produttore dichiara la presenza di lattosio in questo formulato, senza però specificarne la concentrazione. Considerata la destinazione alimentare di Apedin Vapor®, tuttavia, si deve notare che la presenza di questo zucchero al di sopra di determinati livelli può essere indesiderabile. Il lattosio, infatti, pur essendo presente nel miele in piccole quantità (0,0062-0,0383%) (12), non ha valore alimentare per le api (3), che sono prive dell'enzima necessario per digerirlo (lattasi). Inoltre, prove di alimentazione artificiale hanno messo in evidenza una riduzione di longevità delle api tanto più marcata quanto maggiore è la concentrazione di lattosio nell'alimento stesso (2).

L'inadeguatezza di Apedin Vapor® nell'alimentazione diretta delle api non è però soltanto dovuta alla mancanza di

appetibilità e alla presenza di costituenti ad azione potenzialmente negativa, ma anche, e soprattutto, all'assenza di componenti dotati di valore alimentare per le api, come zuccheri e sostanze proteiche. Mancano peraltro indicazioni sia del produttore sia da altre fonti a supporto di un impiego in combinazione con sciroppi, canditi, integratori proteici o altri alimenti destinati agli alveari.

L'urgenza di individuare forme di lotta alla varroa sempre più efficaci, versatili e rispettose delle produzioni apistiche hanno naturalmente focalizzato le maggiori aspettative degli apicoltori sulle dichiarate proprietà acaricide di Apedin Vapor®. La via di somministrazione proposta dal produttore, in effetti, richiama quella di alcuni interventi acaricidi, mentre si allontana nettamente da quella adottata in genere per le nutrizioni, che si affidano all'utilizzo di alimentatori, se liquide, o di canditi e implicano dosi ben più consistenti.

L'efficacia acaricida di Apedin Vapor® è stata molto modesta e insufficiente a soddisfare l'esigenza di controllare le popolazioni di *varroa*, che durante la stagione attiva vanno incontro ad aumenti rilevanti.

Gli andamenti delle cadute degli acari sono stati in graduale e progressiva crescita in entrambe le prove, indicando che il numero di *varroae* continuava ad aumentare

mortality, if compared to the controls. However, it must be pointed out that such a trend was already seen in the preliminary stage of the experiment (Table V). However, the overall number of the mites fallen in the colonies belonging to the two groups was not significantly different. The mite mortality reached 54.1% and 22.6% in the treated and in control groups, respectively. The pattern of mite falls over time is shown in Figure 3. As in the previous case, the administrations did not yield an increase in mite mortality.

Solution consumption

Figure 4 shows the solution consumption and the percentage of the bees that were found dead or extremely weakened at 28 h (indicated by the word 'colpite' I='hit' E) due to the lack of food.

The uptake of 60% sugar syrup was very active, but the addition of alcohol to the concentration indicated on the Apedin Vapor® label (19%) led to a significant decrease. Water, alcohol solution and Apedin Vapor® were taken in similar and very moderate amounts. At the end all the bees receiving plain syrup were still alive and active but, when alcohol was added, a proportion of 37.5% of the bees showed clear symptoms of starvation. In the other groups, this proportion rose to 70 to 85% (χ^2 non-significantly different).

Figures 5 and 6 show the situation at 19 h. The bees clustered around the feeder filled with sugar syrup but were crawling on the bottom of the cage when non-feeding substances were given (Figure 5). In Figure 6, the uptake of sugar syrup but not of Apedin Vapor® is testified by the different

Tabella 6: In determinate condizioni la mortalità cumulativa delle varroae può essere simile in alveari trattati e di controllo.

Table 6: Cumulative varroa mortality may be similar in treated and control colonies.

	Gruppo trattato Treated group	Gruppo di controllo Control group
Somministrazioni di acido ossalico Administration of oxalic acid	Media/Mean(%)	Media/Mean(%)
1 5 September 1997	27.2	40.3
2 16 September 1997	55.5	54.8
3 23 September 1997	71.6	59.9
4 30 September 1997	85.4	63.6

nonostante i trattamenti. Ne è risultato che, nonostante sette somministrazioni e un periodo di trattamento di oltre quattro mesi, le infestazioni sono rimaste su valori non significativamente diversi rispetto a quelli dei controlli, contraddicendo, tra l'altro, l'ipotesi di un effetto acaricida protratto nel tempo (10). In questo caso si è riproposta una situazione simile a quella verificata in altre occasioni con trattamenti sostanzialmente inefficaci (stecche di legno impregnate con una soluzione di acido ossalico) in cui le somministrazioni non hanno comportato picchi di mortalità delle varroe, che invece proseguivano il loro incremento numerico secondo un ritmo indipendente dai trattamenti (9). In base agli andamenti rilevati, non possono essere confermati neppure i risultati di prove che rimandano l'efficacia massima di Apedin Vapor® alla seconda settimana dopo il secondo intervento (6).

Alcuni apicoltori che hanno pubblicato le loro esperienze su riviste del settore sono giunti a conclusioni forse troppo ottimistiche rispetto ai reali riscontri. Alcune di queste prove, in particolare, sono state effettuate senza adeguati gruppi di controllo su cui rilevare la mortalità naturale dei parassiti, situazione che può comportare una valutazione dell'efficacia acaricida notevolmente distorta (Tabella 6).

I risultati delle prove presentate in questo lavoro concordano invece con quelli ottenuti da altri Autori. Una sperimentazione biennale svolta in Italia centrale in cui Apedin Vapor® è stato distribuito due volte l'anno a intervalli di tre settimane durante l'estate si è conclusa con la sostanziale

inefficacia del prodotto (11). Prove di trattamento estivo (anche che in questo caso con due somministrazioni intervallate di tre settimane) in Italia settentrionale hanno fatto registrare una mortalità di acari del 25 e del 21%, appena superiore a quella dei corrispondenti gruppi di controllo (22 e 18%, rispettivamente) (7).

Conclusioni

Diverse indicazioni del produttore di Apedin Vapor® non hanno trovato conferma in questa sperimentazione. Trattamenti anche molto protratti nel tempo non hanno evidenziato un'efficacia acaricida, immediata o ritardata, nei confronti della varroasi tale da poterne suggerire l'impiego in campo. Altri principi attivi naturali somministrati in modo simile (ad esempio acido ossalico distribuito secondo la tecnica del gocciolamento) costituiscono alternative verosimilmente più efficaci e altrettanto ben tollerate dalle api. Tuttavia va ricordato che durante la stagione in cui gli alveari allevano covata, supporti a rilascio graduale di principio attivo sono in linea generale da preferire alle soluzioni che, una volta distribuite, vengono rimosse dalle api con una certa rapidità senza venire a contatto con le varroe protette dagli opercoli della covata. Apedin Vapor® non ha invece provocato fenomeni negativi negli alveari trattati.

La mancanza di appetibilità e la composizione chimica rendono Apedin Vapor® inadatto alla alimentazione diretta delle api. Non esistono invece notizie riguardo alla eventuale possibilità di impiegarlo in combinazione con altre sostanze.

colours of the intestines.

Discussion

The tests have demonstrated that honeybee colonies have good tolerance of Apedin Vapor®. The treatments did not cause any visible behavioural abnormality or significant alteration in the quantity of adult bees or brood in comparison to the controls. The exclusion of some colonies from the experiment was not related to problems with the product tolerability. If the apiary was intended for production instead of the experimental use, the beekeeper could have recovered those colonies without difficulty.

The administration of treatments was relatively simple and rapid, but splitting each dose into two aliquots made the intervention times lengthier than the ones needed for other treatments, e.g. the trickling method for oxalic acid administration (8). It is not clear the reason why the manufacturer suggests a beforehand "dynamisation" of the solution, but it is obvious that such an additional requirement contributes to make the treatments more complicated.

In the feeding tests, only very small quantities of Apedin Vapor® (pure and diluted) and of substances showing neither attractiveness nor feeding value, were taken by the bees. In these groups, the mortality of bees due to insufficient feeding occurred according to similar times and modes. The sugar syrup, which was assimilated very actively (approximately 80 mg per bee), underwent a noticeable decrease in attractiveness to the bees when ethanol was added at the same alcohol concentration of Apedin Vapor®.

The manufacturer states that lactose is present in this formula, but no mention is made of the concentration. However, the presence of that sugar may be inappropriate in a product intended for the honeybee feeding. In fact, small quantities of lactose are naturally present in the honey (0.0062-0.0383%) (12), but they are of no nutritional value for bees, that do not avail of the enzyme needed for its digestion (lactase) (3). Additionally, artificial feeding tests have pointed out a decreasing life span of the bees supplied with feed containing

Non avendo riscontrato i presupposti per utilizzare Apedin Vapor® nella lotta alla varroasi o nell'alimentazione delle api, la sperimentazione non è proseguita con ulteriori indagini sui residui dei trattamenti nel miele e negli altri prodotti dell'alveare.

Bibliografia/References

1. **Accorti M.** (1985). – Valutazione numerica degli adulti di *Apis mellifera* L.: variazioni e modifiche al metodo dei sestii. *Apicoltura*, **1**, 63-73.
2. **Baek D.H., Goh Y.G.** (1999). – [Food value of pollen from China, domestic pollen substitute and lactose on the basis of palatability and life span in honey bees]. *Korean J. of Apiculture* **14** (1), 5-12.
3. **Dietz A.** (1975). – Nutrition of the adult honey bee. In *The hive and the honey bee*. Dadant & Sons, Hamilton, Illinois, 740 pp.
4. **Floris I., Satta A.** (1999). – Lotta alla varroa. Aspetti sperimentali e pratici della valutazione dell'efficacia di trattamenti acaricidi in presenza di covata opercolata. *Apitalia*, **26** (2-3), 35-44.
5. **Gerig L.** (1983). – Lehrgang zur Erfassung der Volkstaerke. *Schweiz. Bienen-Zeitung*, **106** (4), 1099.
6. **Gianinetto M.** (2003). – A proposito di Apedin Vapor® e per fare un po' di chiarezza. *Apitalia*, **30** (6), 25-28.
7. **Grassone U., Allais L.** (2002). – Prove di efficacia del trattamento tampone. *Lapis*, **10** (8), 4-8.
8. **Nanetti A., Stradi G.** (1997). – Varroasi trattamento chimico con acido ossalico in sciroppo zuccherino. *L'ape nostra amica*, **19** (5), 6-14.
9. **Nanetti A., Arrigoni E., Antonietti S., Bendinelli A., Castiglioni G.** (1999). – Stecche di legno impregnate con acido ossalico. *Lapis VII*, (7), 4-7.
10. **Niero C.** (2001). – Varroa: con Apedin-Vapor® una risposta tutta naturale. *Apitalia*, **28** (7-8), 35-37.
11. **Persano Oddo L., Marinelli E.** (2002). – Impiego di prodotti omeopatici nella lotta contro *Varroa destructor* Anderson & Trueman. In *Atti Congresso Internazionale di Entomologia*, Catania, 10-15 giugno 2002, 1319-1324.
12. **Val A., Huidobro J.F., Sánchez M.P., Muniategui S., Fernández-Muñoz M.A., Sancho M.T.** (1998). – Enzymatic determination of galactose and lactose in honey. *J. Agri. Food Chem.*, **46**, 1381- 1385.

increasing concentrations of lactose (2).

The inadequacy of Apedin Vapor® in the direct nutrition of bees is not only due to the lack in attractiveness and in the presence of potentially negative substances. Above all, it is due to the absence of nutritional substances, such as sugars and proteins. On the other side, no suggestions are provided either by the producer or by other sources supporting the use of the product in combination with syrups, sugar candies, protein integrators or other honeybee feeds.

Obviously, the needs of acaricides that are increasingly efficient, versatile and respectful of bee products have focused the greater expectations of beekeepers on the potential use of Apedin Vapor® in the varroa control. Actually, the mode of administration proposed by the manufacturer is similar to the indications for other acaricides, but deeply differs from the method usually adopted in the feeding of honeybee colonies, which are supplied with much higher amounts by the means of appropriate feeders.

The efficacy of Apedin Vapor® was very low and insufficient to control the mite populations, which considerably increase during the active season. In both trials the mite fall gradually increased during the time, testifying that the mite populations were growing, despite of the treatments. As a result and notwithstanding seven administrations and more than four months of treatment, the number of mites still infesting the colonies did not significantly differ in treated and control colonies. This conflicts with the statement of a long lasting acaricidal effect (10).

A similar situation occurred in past experiments, showing a substantial inefficacy of wooden strips soaked with an oxalic acid solution. In this case, no peaks of mite mortality were seen after each administration, and the number of mites increased irrespective of the treatment (9). The present investigations also did not show the peak of efficacy that is expected to happen during the second week after the second administration (6).

The conclusions of some beekeepers that have published their trials on beekeeping journals seem

unsupportedly optimistic. Often they lack of appropriate control groups, which are badly needed to assess the natural mite mortality and keep from the risk of errors in the efficacy evaluation (Table VI).

The present results agree with the findings of other Authors. For instance, a substantial inefficacy was recorded in a two-year experiment in Central Italy, where two summer Apedin Vapor® administrations per year at three-week interval (11) were made. Other trials on the summer treatment had been made previously in North Italy (two administrations at three-week interval). They yielded an efficacy of 25 and 21%, that was only slightly above the mortality recorded in the control groups (22 and 18%, respectively) (7).

Conclusions

Several indications coming from the manufacturer of Apedin Vapor® could not be confirmed by the present experiments. The lack of attractiveness for the honeybees, the chemical composition and the lack of information about a possible use in combination with other products make Apedin Vapor® unsuitable in the colony feeding.

Long or short lasting treatments did not show an Apedin Vapor® efficacy sufficient to suggest its use against very dangerous parasites, like varroa mites are. Other "natural" active ingredients may be administered in a similar way (e.g.: oxalic acid trickling), with the expectation of a considerably higher acaricide effect and a good tolerability. However it must be pointed out that formulations allowing a gradual release of the active ingredient are generally more suitable to the brood rearing period, when many mites are prevented from the contact with acaricidal solutions, that are usually removed quickly by the bees themselves. On the contrary, Apedin Vapor® did not show side effects on the treated colonies.

Since the results do not support the use of Apedin Vapor® in the field, the study was not extended further to examine its residues in the honey and in the other bee products.