



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2018 00940

(22) Data de depozit: 23/11/2018

(41) Data publicării cererii:  
30/06/2020 BOPI nr. 6/2020

(71) Solicitant:  
• UNIVERSITATEA "BABEȘ BOLYAI"  
DIN CLUJ-NAPOCA,  
STR.MIHAIL KOGĂLNICEANU NR.1,  
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;  
• S.C. BEEPERT HIVE S.R.L.,  
STR.ZORILOR, NR.40, AP.28,  
CLUJ NAPOCA, CJ, RO

(72) Inventatori:  
• BALEA ANA, STR.SEPTIMIU ALBINI,  
NR.26, SC.1, AP.2, CLUJ NAPOCA, CJ, RO;  
• CIOTLĂUȘ IRINA, STR.MEHEDINȚI  
NR.10-12, SC.A, AP.44, CLUJ-NAPOCA, CJ,  
RO;  
• POJAR FENEȘAN MARIA,  
STR.MOGOȘOAI, NR.3, BL.J1, SC.1, ET.1,  
AP.4, CLUJ NAPOCA, CJ, RO;  
• PANDREA RADU CRISTIAN,  
STR.ZORILOR, NR.40, AP.28,  
CLUJ NAPOCA, CJ, RO

(54) SOLUȚIE NUTRITIVĂ ȘI DE STIMULARE A PONTEI MĂTCII  
"APISTIM BEES" PENTRU ALBINELE APIS MELLIFERA

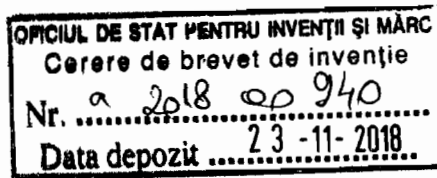
(57) Rezumat:

Invenția se referă la o soluție nutritivă și de stimulare a  
ponteii mătci pentru albinele *Apis mellifera*. Soluția,  
conform invenției, este constituită dintr-o componentă  
proteică pe bază de aminoacizi, carbohidrați, vitamine,  
lipide și minerale, și o componentă de stimulare a

glandelor hipofaringeale și mandibulare pe bază de  
amestec de acid stearic, acid palmitic, acid oleic și acid  
linoleic stabilizat prin adăugare de 1% tocoferol.

Revendicări: 2





a. Titlul invenției :

**SOLUȚIE NUTRITIVĂ ȘI DE STIMULARE A PONTEI MĂTCII  
“APISTIM BEES” PENTRU ALBINELE *APIS MELLIFERA***

b. Precizarea domeniului de aplicare a invenției:

Invenția se referă la un produs destinat domeniului Apicultură, respectiv creșterii ponteii mătcii. Utilizarea produsului va permite dezvoltarea unor mătcii puternice, prolifiche și în final creșterea masei de albine.

c. Precizarea stadiului cunoscut al tehnicii în domeniul obiectului invenției, cu menționarea dezavantajelor soluțiilor tehnice cunoscute

În prezent în țările Uniunii Europene se folosesc diverse tehnologii de creștere a populației în familiile de albine din stupine, astfel:

➤ Produse comerciale sub forma de suplimente alimentare: API-VIT START și STARTOVIT- biostimulatori pe bază de clorură de cobalt, clorură de sodiu, fosfat disodic și glucoză anhidră. Acestea asigură o dezvoltare a familiilor de albine prin: sinteza hemolimfei, hrănirea sistemului nervos și ovogeneză (stimularea ponteii mătcii). Se observă o creștere a puietului de până la 20%. [www.primavet.com]. Dezavantajele utilizării acestor produse sunt: imposibilitatea de a estima exact timpul de metabolizare a proteinelor și carbohidraților și implicit momentul depunerii ouălor de către matcă. Aplicarea preparatului la familii puternice poate duce la intrarea în frigurile roitului

➤ Modificarea genetică a albinelor lucrătoare în scopul producerii unui lăptișor de matcă mai nutritiv, este o altă alternativă. Prin modificarea conținutului de proteine al lăptișorului de matcă, ca urmare a modificărilor genetice în albinele lucrătoare, se obține o creștere a mărimii corpului reginei (Huang CY et al.2012).

Dezavantajul acestei metode constă tocmai în complexitatea ei, fiind doar primul raport științific despre cum s-a realizat remodelarea cromatinei în glandele mandibulare și hipofaringiene ale albinelor lucratoare adulte care a dus la expresia modificată selectiv a unor proteine din lăptișorul de matcă, responsabile cu creșterea viguroasă a mătcilor. În acest stadiu al cercetării nu există nici o estimare financiară relativ la utilizarea metodei în practica apicolă.

➤ Utilizarea dietelor cu proteine la albine este o altă metodă de creștere a populației coloniilor. Valoarea nutrițională a polenului este dată de compoziția acestuia în aminoacizi esențiali și nu de conținutul în proteine totale. Au fost testate diete cu diverse tipuri de polen comparativ cu dieta martor, fără polen. Indiferent de tipul de polen utilizat, fiecare dietă a fost superioară martorului evaluarea făcându-se prin rata de supraviețuire a albinelor. (Omar, E. et al. 2017). Dezavantajul acestei metode constă în lipsa unei stimulări suplimentare prin compuși modulatori de comportament în scopul unui consum proteic suplimentar.

➤ Utilizarea feromonului de puiet deja identificat (Y. Le Conte et al., 1990), ca fiind amestecul a 10 esteri metilici și etilici ai unor acizi grași–brood pheromone – în scopul consumării suplimentare de proteine devenind astfel o unealtă de stimulare a creșterii coloniei de albine (Pankiw T. et al. 2008). Aplicarea acestui amestec sub forma unui produs comercial –*SuperBoost*– a fost studiat de către Camerron et al. 2012) în scopul dezvoltării coloniilor de albine. Produsul a fost testat comparativ cu colonii martor, netratate. Rezultatul testelor indică o creștere a masei de albine și implicit mai multă miere în lotul stimulat cu *SuperBoost*.

Utilizarea acestei metode în practica apicolă presupune costuri suplimentare cu sinteza chimică a esterilor ce intră în amestecul feromonal.

#### d) Precizarea scopului invenției

Scopul invenției este de a dezvolta coloniile de albine afectate de CCD (Colony Collapse Disorder). Cauzele din spatele CCD rămân necunoscute, dar

cercetătorii se concentrează pe patru factori care pot contribui: boala, dăunătorii, condițiile de mediu și nutriția.

Invenția intervine în compensarea pierderilor masive de albine prin configurarea unei soluții nutritive și de stimulare care duce la creșterea ponteii mătci. Produsele și tehnologiile existente pe piață nu pot compensa eficient scăderea ponteii mătci și implicit a populației de albine.

Invenția include o componentă de stimulare prin mediatori ecochimici și una de nutriție cu proteine. Mecanismul de acțiune propus: Mediatorii ecochimici din Soluția nutritivă și de stimulare, determină (stimulează) albinele lucrătoare să consume cantități mari din componenta proteică importantă în nutriție dar și în procesul de reproducere al mătci - și în același timp stimulează glandele hipofaringeale și mandibulare ale lucrătoarelor să producă lăptișor de matcă. O stimulare feromonală împreună cu o nutriție corespunzătoare a albinelor va permite dezvoltarea unor mătci puternice, prolifică și în final creșterea masei de albine.

e) Expunerea invenției (prezentarea problemei pe care o rezolvă invenția)

„Problema pe care o rezolvă invenția este de a realiza un produs – Soluția nutritivă și de stimulare- care să ducă la dezvoltarea coloniilor de albine aflate în declin datorită bolilor, dăunătorilor, factorilor de mediu și nutriției necorespunzătoare. Dezvoltarea coloniilor va fi posibilă prin creșterea ponteii mătci ca urmare a utilizării produsului care face obiectul invenției.

Părțile constitutive ale Soluției nutritivă și de stimulare sunt cele două componente: proteică –responsabilă de nutriție și componenta de stimulare a glandelor hipofaringeale și mandibulare prin mediatori ecochimici.

Componenta proteică, hrana artificială este pe bază pe aminoacizi, carbohidrați, vitamine, lipide și minerale.

Componenta de stimulare, **aspectul inovativ al invenției**, constă într-un amestec de acizi grași  $C_{16}$ - $C_{18}$  saturați și nesaturați aflați în următoarea compoziție procentuală aproximativă :  $C_{18}(2) = 72-75\%$ ,  $C_{18}(1) = 16-18\%$ ,  $C_{18}(0) = 5-7\%$ ,  $C_{16}(0) = 2-4\%$ . Amestecul de acizi grași este condiționat într-un dispozitiv de eliberare controlată (matrice textilă) și sigilată într-un săculeț de polietilenă până la utilizare. Produsul final constă în 1 mg amestec de acizi grași per dispenser utilizat împreună cu 500 gr hrană proteică artificială pentru o colonie de albine cu 12 rame. Înlocuirea dispenserului și a hranei se face la un interval de 7 zile stabilit în conformitate cu observațiile experimentale relativ la rata de eliberare controlată a componentei de stimulare și a capacității de consum a componentei nutritive. Durata aplicării soluției este de 4 săptămâni.

Produsul se utilizează primăvara devreme, în perioadele deficitare în resurse naturale de hrană și colonia este slăbită la ieșirea din iarnă.

f) Prezentarea avantajelor rezultate din aplicarea invenției.

Invenția prezintă următoarele avantaje:

- Prin utilizarea acestei soluții în practica apicolă, primăvara devreme, crește cantitatea de puiet ca urmare a creșterii ponteii mătci și implicit are loc dezvoltarea coloniei de albine.
- Creșterea suprafeței de fagure cu ouă depuse în cazul variantei experimentale cu *soluție nutritivă și de stimulare* este mai mare cu 80% față de varianta martor având doar componenta proteică fără componenta de stimulare.
- Este o metodă ecologică, prietenoasă cu mediul și colonia de albine din stup. Este inofensivă pentru produsele stupului: miere, polen, ceară dar și pentru apicultor.

g) Prezentarea unuia sau mai multor exemple de realizare/aplicare a invenției cu referire la figurile explicative (în cazul în care sunt și desene).

Se dau în continuare trei exemple de realizare a invenției.

În legătură cu *figura 1* care reprezintă analiza GC-MS a compușilor volatili emiși de larvele vii cu vârste diferite. S-a făcut o colectare statică folosind microextracția în fază solidă (SPME) și au fost analizați prin tehnica GC-MS, utilizând coloana cromatografică polară.

*Metodă:* Într-un flacon SPME de 20 ml s-au introdus 20 larve de albine vii proaspăt scoase din fagure (direct din stupină), apoi flaconul s-a sigilat cu dop cu septum de PTFE și s-a lăsat în repaus aprox 15 minute pentru stabilirea echilibrului. Fibră SPME de tip DVB/CAR/PDMS -50/30  $\mu\text{m}$  (SUPELCO) s-a introdus direct în spațiul de deasupra probei, iar extracția s-a efectuat timp de 30 min. Analiza gaz cromatografică (Agilent 7890 & 5975 MS) a COV-urilor adsorbite pe fibră s-a efectuat prin injectarea fibrei în inletul gaz-cromatografului, în modul "scan", menținut izoterm la 240°C, timpul de desorbție fiind de 10 min.. Coloana capilară utilizată a fost de tip DB-FFAP, coloană specifică pentru separarea acizilor și esterilor grași. Gazul purtător He de înaltă puritate, cu un debit de 1ml/min. Programul aplicat pentru temperatura coloanei în GC a fost următorul: temperatura inițială este de 50°C (1min) apoi 10°C/min până la 200°C și 5°C/min până la 240°C (10min). Identificarea compușilor s-a realizat utilizând baza de date NIST 14L. (figura 1)

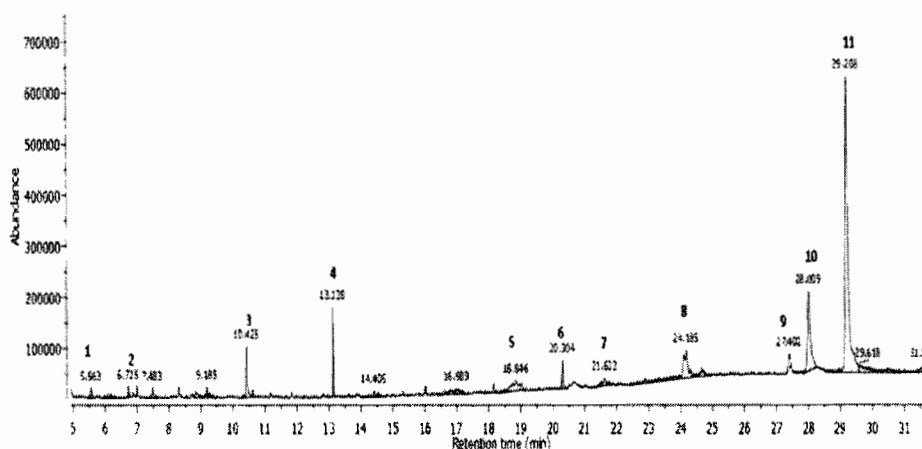


Figura 1. Analiza gaz-cromatografică a volatilelor emise de larvele de albine vii de 7-9 zile

Legendă: 1. Beta-ocimen (5.563); 2. 1-Butoxi-propanol (6.725); 3. Esterul metilic al acidului benzoic (10.425); 4. 3, 3, 4-trimetil-hexan (13.128); 5. Acid benzoic (18.846); 6. 2-Oxanonă (20.304); 7. Acid n-decanoic (21.622); 8. Acid palmitic (24.185); 9. Acid stearic (27.402); 10. Acid oleic (28.020); 11. Acid linoleic (29.208).

Din amestecul de compuși organici volatili identificat, corelat cu abundența lor și rolul fiecăruia în comportamentul din colonie au fost selectați acizii grași saturați și nesaturați (C16-C18) pentru testare. Acești compuși sunt cunoscuți în literatură ca: precursori ai esterilor de acizi grași (Y Le Conte et al. 2006), constituenți la rândul lor ai feromonului de puiet (Y Le Conte et al. 1990) dar și un alt rol prin componența în ceara fagurelui, de recunoaștere a fraților de cuib (Breed, 1995). Biotestele indica un rol cheie al acizilor grași în recunoașterea fraților de cuib, chiar mai semnificativ decât hidrocarburile cuticulare (Michael D Breed, 1998).

În legătură cu figura 2 care reprezintă compoziția pentru componenta de stimulare (FA), proprie, inovativă, a fost testată în scopul creșterii ponteii mătci.

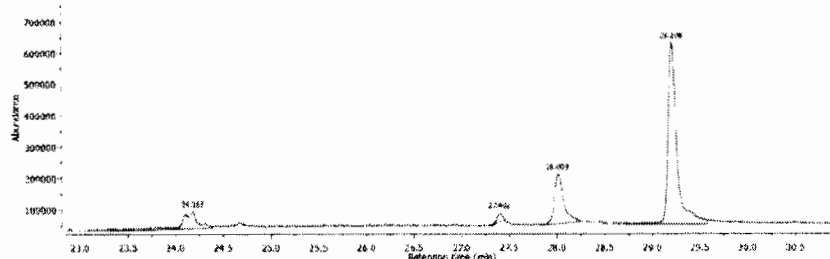


Figura 2: Analiza gaz-cromatografică a componentei FA pentru stimulare

Legendă: 1. Acid palmitic (24.185), 7%; 2. Acid stearic (27.402), 3%; 3. Acid oleic (28.020), 18%; 4. Acid linoleic (29.208), 72%.

Amestecul de acizi grași a fost condiționat în vederea utilizării prin aplicarea pe suport textil - matrice cu eliberare controlată-. Amestecul a fost stabilizat prin adăugare de tocoferol 1%. Un dispenser textil sigilat în săculeț de polietilenă conține 1 mg substanța activă. Ambalajul este desigilat în momentul plasării în colonie fiind înlocuit la interval de 7 zile.

În legătură cu figura 3 care reprezintă rezultatele testărilor, sunt descrise eficiența Soluției nutritive și de stimulare APISTIM BEES-varianta 3- comparativ cu alte variante compoziționale nutritive și de stimulare.

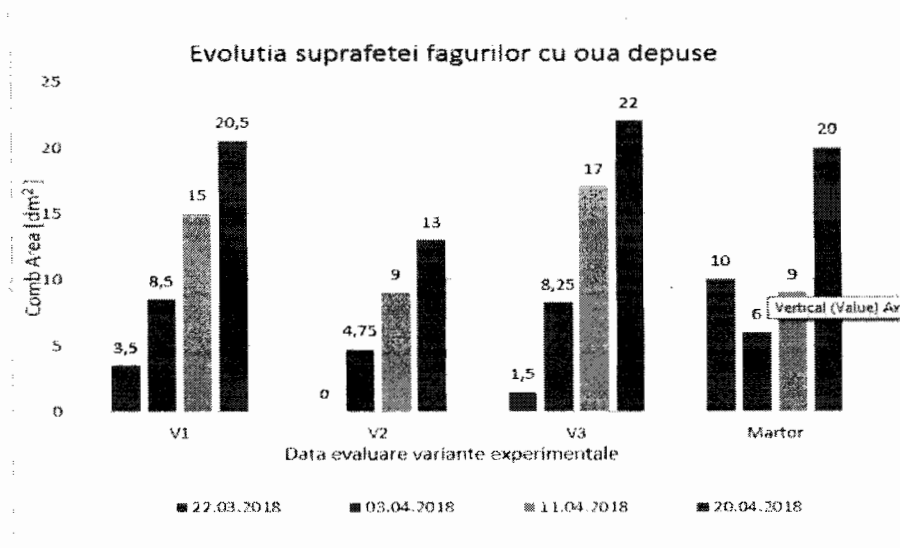


Figura 3: Evaluarea depunerii oualor de către matca în perioada experimentarilor



Variantele experimentale testate comparativ au fost următoarele:

- V1- hrană proteică solidă + momeli cu feromon de puiet pentru stimulare
- V2 - hrană proteică solidă îmbogățită cu acizi grași nesaturați + momeli cu feromon de puiet pentru stimulare
- V3 - Soluția nutritivă și de stimulare APISTIM BEES: hrană proteică solidă + dispenserii cu amestec de acizi grași pentru stimulare
- V4 - hrană proteică solidă, varianta martor.

Concluzie:

Din analiza rezultatelor, **varianta 3** are dezvoltarea cea mai spectaculoasă, creșterea suprafeței cu ouă depuse cu 20,5 dm<sup>2</sup> iar lotul martor are cea mai redusă dezvoltare de doar 10 dm<sup>2</sup>.

**Dieta proteică**, fără adaos de acizi grași nesaturați și **amestecul cu acizi grași** s-a dovedit a fi cea mai bună variantă.

## BIBLIOGRAFIE

1. Breed, D. M.; Recognition Pheromones of the HoneyBee, *BioScience*, **1998**, 48(6), 463-470
2. Breed, D.; Garry, M.F.; Pearce, A. N.; Hibbard, B. E.; Bjostad B. L.; Page, E. R.; The role of wax comb in honey bee nestmate recognition, *Anim. Behav*, **1995**, 50, 489-496
3. Huang CY, Chi LL, Huang WJ, Chen YW, Chen WJ, Kuo YC, Yuan CM, Chen CN.(**2012**) Growth stimulating effect on queen bee larvae of histone deacetylase inhibitors, *J Agric Food Chem.*; 60(24):6139-49. doi: 10.1021/jf300815b. Epub 2012 Jun 7. PMID: 22642680]
4. Lait C. G.; Borden J. H.; Kovacs E.; Moeri O. E.; Campbell M.; Machial, C. M.; Treatment With Synthetic Brood Pheromone (SuperBoost) Enhances Honey Production and Improves Overwintering Survival of Package Honey Bee (*Hymenoptera: Apidae*) Colonies *J. Econ. Entomol.* **2012**, 105/2, 304-3012

25

5. Le Conte Yves, Jean Marc Becard, Guy Costagliola, Gerard deVaublanc, Mohamed El Maataoui, Didier Crauser, Erika Plettner, Keith N Slessor; Larval salivary glands are a source of primer and releaser pheromone in honey bee (*Apis mellifera* L.), *Naturwissenschaften*, **2006**, 93, 237-241
6. Le Conte, Y, Arnold, G., Trouiller, J. & Masson, C., Identification of a brood pheromone in honeybees. *Naturwissenschaften*, **1990**, 77, 334-336.
7. Omar, E.; Abd-Ella, A.; Khodairy, M. M; Moosbeckhofer, R.; Crailsheim, K.; Brodschneider, R.; Influence of different pollen diets on the development of hypopharyngeal glands and size of acid gland sacs in caged honey bees (*Apis mellifera* ), *Apidologie* ,**2017**, 48:425–436
8. Pankiw T,Sagili RR, Metz BN(2008) Brood pheromone effects on colony protein supplement consumption and growth in the honey bee (Hymenoptera Apidae) in a subtropical winter climate, *J.Econ Entomol.*101(6): 1749-55.
9. [www.primavet.com](http://www.primavet.com)

## REVENDICĂRI

1. Componenta de stimulare a Soluției nutritive și de stimulare a ponteii mătci *APISTIM BEES pentru albinele Apis mellifera* constă într-un amestec de acizi grași, respectiv: acid stearic+ acid palmitic +acid oleic + acid linoleic stabilizat prin adăugare de tocoferol 1%, fiind caracterizat prin aceea că: este condiționat într-un dispozitiv de eliberare controlată (matrice textilă) cu dimensiunea de 4cm x7 cm și sigilat într-un săculeț de polietilenă până la utilizare. Produsul final constă în 1 mg substanță activă per dispenser utilizat împreună cu 500 gr hrană proteică artificială pentru o colonie de albine cu 12 rame.

2. Biotehnica de utilizare este una ecologică, nu afectează mediul și produsele stupului, este eficientă în creșterea ponteii mătci fiind caracterizată prin aceea că: aplicarea *Soluției nutritive și de stimulare a ponteii mătci APISTIM BEES pentru albinele Apis mellifera* în stup, între rame, primavara timpuriu, când resursele de hrană naturală sunt limitate și albinele sunt epuizate după ieșirea din iarnă, la interval de 7 zile pe durata a 4 săptămâni, duce la creșterea ponteii mătci.