



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2019 00483

(22) Data de depozit: 07/08/2019

(41) Data publicării cererii:
26/02/2021 BOPI nr. 2/2021

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
APICULTURĂ S.A., BD.FICUSULUI NR. 42,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• SICEANU ADRIAN,
STR. RECONSTRUCȚIEI NR. 6, BL. 28,
SC. 2, ET. 1, AP. 50, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;

• CĂUIA ELIZA, STR. LUGOJ NR. 11,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
• VIȘAN GABRIELA OANA, STR.SOFIA
NR.40, OTOPENI, IF, RO;
• CĂUIA DUMITRU, STR.LUGOJ NR.11,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO

(54) PRODUS DE UZ VETERINAR PENTRU COMBATAREA
VARROOZEI ȘI PROCEDEE DE APLICARE

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un produs de uz veterinar pentru combaterea varroozei cauzată de acarianul Varroa destructor la albina meliferă și la procedee de aplicare pentru tratamentul familiei de albine. Produsul conform invenției este constituit din 60 părți acid formic de concentrație 65% sau 85%, 25 părți acid acetic de concentrație 80%, 10 părți extract de plante aromatice și medicinale în părți egale de busuioc, cimbru, mentă și roiniță, și 5 părți zahăr. Procedeele conform invenției sunt următoarele:

a) fagurii cu puiet căpăcit sunt scuturați și periați de albina acoperitoare în familia de origine, se sprijină cu speteaza superioară în jos, înclinat înspre utilizator într-un unghi de 70...80° și se aplică cu o pensulă produsul de tratament prin pensularea, cu o ușoară presare, a suprafeței puietului căpăcit, prin mișcări stânga - dreapta, astfel încât toate celulele cu puiet căpăcit să fie acoperite cu substanța de tratament, după care se repetă aceeași operație pe cealaltă față a

fagurelui cu puiet căpăcit, se mențin 15...20 minute într-un alt corp de stup fiind reintroduși ulterior în familia de origine,

b) fagurii cu puiet căpăcit sunt tratați într-un spațiu închis, cu presiune controlată, saturat cu vapori din produsul veterinar, astfel încât să asigure o evaporare rapidă și o saturație a aerului din spațiul închis cu vapori din substanțele active, prin aplicarea unei tehnici care asigură o diferență de presiune între presiunea normală a aerului și cea realizată în incintă, ceea ce ajută la trecerea rapidă a vaporilor prin porii căpăcelului în celule, până la echilibrarea presiunii din celule și din afara lor, asigurând astfel intrarea unei cantități suficiente de substanțe active în celulele căpăcite pentru tratament.

Revendicări: 4
Figuri: 2



„PRODUS DE UZ VETERINAR PENTRU COMBATAREA VARROOZEI ȘI
PROCEDURE DE APLICARE”

18

Prezenta invenție se referă la un produs pentru combaterea varroozei cauzată de acarianul *Varroa destructor* la albina meliferă (*Apis mellifera*) și a procedurilor de aplicare pentru tratamentul familiei de albine.

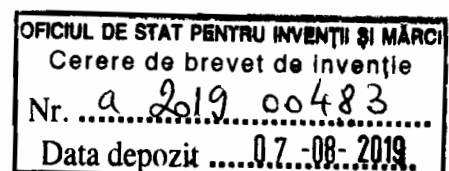
Cercetările au fost generate de necesitatea realizării unui produs de uz veterinar care să sporească eficiența în combaterea varroozei, produs care să acționeze asupra parazitului aflat în diverse stadii de dezvoltare și reproducție în celulele cu puiet căpăcit, dar și pe albina adultă, precum și a procedurilor de aplicare.

La ora actuală, managementul combaterii varroozei presupune, în special, combaterea acarianului *Varroa destructor* care se află pe indivizii adulți (albine lucrătoare și trântori), prin utilizarea de substanțe chimice de sinteză, care acționează prin contact sau inhalare.

Varroa destructor Anderson and Trueman 2000 (Acari: Varroidae) a fost descris pentru prima oară ca ectoparazit al albinei indiene - *Apis cerana*, specie de albine care a dezvoltat de-a lungul timpului diverse mecanisme de apărare, complexe, pentru a supraviețui acestui parazit. Transferul acestui acarian, începând cu anii '70, la specia *A. mellifera*, care s-a extins foarte rapid pe mai toate continentele (exceptând Australia și Noua Zeelandă) a pus apicultura modernă în mare impas, conducând la pierderi economice foarte mari și devenind problema majoră a apiculturii actuale. Combinarea varroozei cu infecțiile secundare asociate (în special cele virale), prin faptul că *Varroa destructor* este vector al acestora, sporește impactul negativ al acestei parazitoze.

În prezent, în România, dar și pe toate continentele atinse de acest parazit, toate familiile de albine sunt infestate cu varroa, iar potențialul de reinfestare este permanent, ținând cont și de unele fenomene sau practici existente: derivă, furțișag, roire, suprapopularea cu familii de albine pe un anumit areal, în special când se practică pastoralul la anumite resurse melifere concentrate.

Varrooza, afecțiunea cauzată de acest acarian, afectează întreaga populație a familiei de albine (trântori, albine lucrătoare, puiet), evoluează în tot cursul anului, iar majoritatea familiilor de albine nu supraviețuiesc infestației în lipsa tratamentelor mai mult de 1-3 ani.



În încercarea de a ține sub control acest acarian s-au dezvoltat o serie de tratamente chimice (în general pe bază de pesticide), care, prin diverse scheme de tratament au contribuit la menținerea infestației la un nivel acceptabil, dar fără a rezolva această problemă, existând o serie de neajunsuri pe care apicultorul trebuie să le aibă în vedere: efectuarea de tratamente costisitoare, după scheme diverse și complexe, rezistența acarianului la acaricidele utilizate, dar și poluarea produselor apicole.

Din aceste motive, cercetarea apicolă, la nivel mondial, s-a axat în ultimii ani pe găsirea altor metode, tehnici și tehnologii de combatere, care să asigure limitarea înmulțirii acarianului sub pragul economic de dăunare. Alternativele actuale, utilizate uneori în programe integrate de management, includ scheme de aplicare a substanțelor chimice (organice sau nu), dezvoltarea rezistenței naturale a albinelor la infestare prin măsuri specifice de selecție care pun accentul pe mecanisme naturale specifice de rezistență (comportament igienic, deparazitare și autodeparazitare, imunitate sporită), monitorizarea gradului de infestare prin diverse metode (căderea naturală, identificarea numărului de acarieni pe probe de albine sau în puiet) cu aplicarea tratamentelor chimice în funcție de nivelul de infestare și perioada din an, utilizarea anumitor practici tehnologice așa cum este eliminarea puietului de trântor care, prin ciclului său biologic mai lung este preferat de *Varroa* pentru dezvoltare, izolarea mătcii timp de 24 de zile combinată cu unul din tratamentele clasice, dar și îmbunătățirea metodelor de management a familiilor de albine (alimentație, tehnici de întreținere, roire artificială etc) și de produse noi de tratament.

În ceea ce privește biologia acarianului, femela adultă măsoară aproximativ 1,1 mm lungime și 2,6 mm lățime, cântărește 0,14 mg și are culoare maron-roșcat. Masculii sunt mult mai mici și mai slab colorați (slab pigmentați) și pot fi observați doar în interiorul celulelor cu puiet, unde are loc împerecherea, singurul său rol în biologia speciei. Corpul parazitului este aplatizat dorsoventral, ceea ce îi permite inserția între tergitele și sternitele abdominale ale albinei.

Durata de viață a paraziților depinde de sezon, de prezența puietului, de temperatură și umiditate, în practică aceasta fiind de la câteva zile la câteva luni.

Acarianul *Varroa destructor* parazitează, atât albinele adulte, cât și puietul.

Ciclul de viață se desfășoară doar în familia de albine și are două faze: faza foretică (de mișcare și hrănire în vederea reinfestării celulelor) care are loc pe albina adultă și faza reproductivă –care se desfășoară întotdeauna în interiorul celulelor cu puiet căpăcit.

Pentru a se înmulți, femela adultă împerecheată intră într-o celulă cu puiet, chiar înainte de a fi capacită (atât în puietul de trântor cât și în cel de albine lucrătoare). După aproximativ 4 ore de la căpăcire începe să se hrănească pe puietul de albină. După 60-70 ore (2,5 zile-3 zile) de la căpăcire femela de acarian (fondatoare) începe să depună primul ou din care va ieși de obicei un mascul și apoi, din următoarele ouă, depuse la interval de cca. 30 ore (1,25 zile), vor rezulta de obicei doar femele (4-5). Durata de dezvoltare este de 5-6 zile pentru masculii acarianului și de 7-8 zile pentru femelele de acarian, perioadă în care se disting două faze: faza de protonimfă și faza de deutonimfă.

Femelele fiice rezultate se împerechează cu masculul existent (fratele, în cazul infestării cu o singură femelă fondatoare) înainte de eclozionarea albinelor din celule, astfel că rolul și viața acestuia sunt limitate doar la interiorul celulei cu puiet. Prin existența doar a unui mascul, acarianul își crește șansele de a se înmulți în familia de albine (rezultând mai multe femele).

Rata de înmulțire obișnuită (nr. de femele adulte rezultate) este de 1,7-2 ori în puietul de lucrătoare și de 2-3 ori în puietul de trântor, aceasta datorită perioadei mai mari de dezvoltare a puietului de trântor (24 de zile la trântor, comparativ cu 21 de zile la albina lucrătoare).

Dezvoltarea și cantitatea de puiet a unei familii de albine influențează numărul acarienilor, de aceea un tratament făcut eficient la momentul potrivit poate reduce semnificativ numărul acarienilor.

Acarienii se hrănesc cu hemolimfa și corpul gras al puietului și albinelor adulte, slabindu-le atât sub aspect nutritiv, cât și din punct de vedere imunitar și fiind în același timp un vector foarte important de transmitere a virusurilor specifice.

Semnele clinice în infestarea severă, care poate fi urmată de colapsul familiilor de albine, constau în:

- Scaderea semnificativă a populației de albine adulte, eventual existența unui număr redus de albine moarte pe fundul stupului.
- Apariția de albine adulte cu aripi și abdomen deformat.

- Acarianul este în număr mare și adesea vizibil pe albine adulte, în puietul de trântor, sau pe fundul stupului.
- Existența unor anomalități ale puietului (dacă semnele nu sunt specifice altor boli ale puietului - ex. loca americană și europeană) – sindromul de varroză.

Biologia albinei melifere prezintă o serie de particularități, dar în contextul dat, cele legate de metamorfoza completă de la ou la adult sunt de maximă importanță. Există astfel două perioade distincte: prima este cea embrionară, care are loc în ou și constituie primul stadiu de dezvoltare, a doua perioadă este postembrionară, în care se dezvoltă larva care se transformă în prenimfă și ulterior în nimfă. Durata dezvoltării de la ou la adult variază la cei trei indivizi și ca rezultat și cele trei perioade se modifică, astfel: albină lucrătoare - 21 zile, trântor - 24 zile și matcă - 16 zile. Durata vieții albinei adulte depinde de asemenea de tipul de individ și de sezon, în funcție de activitățile derulate și starea fiziologică.

Prezenta cerere de brevet de invenție vizează combaterea acarianului varroa (*Varroa destructor*) în mod special în perioada de reproducție a acestuia care se suprapune pe perioada de dezvoltare postembrionară - perioada puietului căpăcit, începând cu a noua zi de viață și până la ecloziunea albinei adulte din celulă ceea ce reprezintă 12 zile la albina lucrătoare și 15 zile la trântor.

Este important de menționat că celulele cu puiet larvar, la 6 zile de la ieșirea larvei din ou, este căpăcit cu ceară de către albinele lucrătoare. Acest fenomen este generat de necesitatea prevenirii căderii larvei care în momentul îngogoșării se mișcă intens în celulă (Siceanu A, 1996). Din momentul căpăcirii și până la atingerea stadiului *de imago*, metamorfoza albinei (stadiile de larvă întinsă, prepupă, pupă) se produce sub căpăcel, ea neputând fi observată. Chiar înaintea căpăcirii, femelele fondatoare ale acarianului varroa infestează celulele cu puiet, pregătindu-se pentru începerea ciclului lor reproductiv.

Femela parazit își începe ciclul reproductiv prin părăsirea unei albine adulte și intrarea într-o celulă ncăpăcită ce conține o larvă de trântor sau de lucrătoare în vârstă de 5 până la 5,5 zile. Pot intra mai multe femele în aceeași celulă. Odată intrată, femela parazit se îndreaptă la baza celulei unde se află hrana larvară. Ea consumă din această hrană și rămâne acolo cu partea ventrală orientată către deschiderea celulei.

Când celula este căpăcită și ultima hrană este consumată de larvă, parazitul începe să se hrănească cu hemolimfa puietului de lucrătoare sau trântor care se dezvoltă în celulă.

Ca rezultat al acestui comportament, cea mai mare parte a ciclului biologic al acarianului se desfășoară în interiorul celulelor cu puiet, închise ca urmare a acestui comportament de căpăcire.

În ceea ce privește stadiul tehnicii, majoritatea tratamentelor (în afara celor pe bază de acid formic) au în vedere doar tratamentul acarianului de pe indivizii adulți ai albinei melifere, acarienii derulându-și comportamentul reproductiv în celulele cu puiet, căpăcite, fără a fi afectați. În acest sens și Institutul de Cercetare Dezvoltare pentru Apicultură produce medicamente de combatere antivarroa pe bază de amitraz și fluvalinat, acestea vizând doar tratamentul albinei adulte și nu a puietului.

În ceea ce privește utilizarea acidului formic, produs care asigură o anumită eficiență și în celulele căpăcite, tratamentele actuale presupun utilizarea acestuia pe o perioadă lungă de timp (minim 7 zile), prin aplicare pe toată familia de albine, fapt ce conduce la efecte secundare negative asupra dezvoltării familiei de albine.

Până în prezent nu s-a reușit realizarea unor produse și tehnici care să asigure o penetrare suficientă a căpăcelor și combaterea acarianului în celulele cu puiet căpăcit, fără intervenții asupra căpăcelului, într-un interval de timp scurt, ca de ex. metodă de descăpăcire și aplicare de tratamente (Siceanu A, 1996, 2017).

Majoritatea medicamentelor existente (acaricide) sunt pe bază de pesticide, acizi organici sau uleiuri volatile și sunt realizate prin impregnare pe suporti de plastic, textil, celulozic care se introduc în familia de albine, unde se mențin o perioada de timp între 7-30 zile, în funcție de produs. Substanțele active se dispersează, în intervale de timp diferite, prin contactul direct dintre albine și materialele impregnate cu acaricid sau prin prin volatilizare/fumigație în tot volumul stupului și acționează în special asupra paraziților aflați pe albine și doar în foarte mică măsura asupra celor aflați în puietul căpăcit.

Dezavantajele utilizării acestor substanțe este acela că sunt dispersate în tot stupul, ajungând în toate produsele stupului, dar și în contact cu puietul larvar, aflat în stadiul de puiet necăpăcit, care nu necesită tratament.

Un alt dezavantaj este și acela că prin reziduurile de pesticide în produsele stupului, în special în miere și ceară, aceste tratamente poluează pe termen lung produsele stupului, afectează imunitatea albinelor și favorizează rezistența acarianului față de substanțele active, prin dozele subletale reziduale, cumulate de-a lungul timpului.

La momentul actual toate studiile pe plan internațional arată că este necesară renunțarea la substanțele chimice din categoria pesticidelor din motivele prezentate mai sus. În acest sens, substanțele organice pot fi foarte eficiente în combaterea diverselor organisme, foarte importantă fiind în acest sens, doza utilizată deoarece aceasta poate omorî atât gazda cât și agentul patogen vizat.

Problema tehnică rezolvată: combaterea acarianului varroa (*Varroa destructor*) care se află în puiet (în perioada de reproducție), în timp scurt, cu costuri minime, fără contaminarea produselor apicole și apariția rezistenței la substanțe de tratament, fără afectarea speciei țintă (albina meliferă – puiet și albină adultă de orice vârstă), tratament care combate toate stadiile de dezvoltare ale acarianului (puiet+aduți). Astfel, combaterea acarianului se face prin întreruperea ciclului de dezvoltare, omorând în proporție de 80-100% toate stadiile de dezvoltare existente în puietul căpăcit, singurul loc unde se reproduce acarianul.

În acest sens, prin teste și cercetări proprii s-a constatat că **produsul nou realizat** și aplicat prin procedeele care fac obiectul prezentei cereri de brevet de invenție asigură o eficiență mare antivarroa (80-100% din celulele infestate conținând acarieni în diverse stadii de dezvoltare fiind morți), scurtând foarte mult timpul de aplicare și de acțiune asupra parazitului, acționând doar asupra paraziților aflați în puietul căpăcit, fără a afecta puietul tratat, de albină lucrătoare sau trântor.

În plus, din cercetări a rezultat faptul că există și un efect acaricid asupra acarienilor aflați pe albinele lucrătoare, efect observat după 24 ore de la momentul tratamentului, prin căderea unui număr mare de paraziți pe foaia de control. Se consideră că acest efect se datorează comportamentului igienic al albinelor, care iau contactul cu suprafața de puiet tratată, în urma preluării de substanțe active, reziduale, din produsul aplicat.

Invenția înlătură toate dezavantajele utilizării produselor și tehnicilor convenționale, aplicate sau studiate până în prezent, prin aceea că substanțele utilizate în produsul care face obiectul prezentei cereri de brevet de invenție sunt admise ca nepoluante, nu favorizează dezvoltarea rezistenței acarianului *Varroa destructor* și nu necesită intervenții cu impact negativ economic asupra familiei de albine ca de exemplu, eliminarea puietului de trântor, eliminarea puietului de albine lucrătoare (vidarea cuibului) sau întreruperea ponteii mătcii prin izolarea în cuști specifice până la 24 de zile, în vederea aplicării

tratamentelor existente doar pe populația adultă unde se află femelele varroa împerecheate, înainte de a relua ciclul reproductiv în puietul căpăcit. 12

Produsul nou are la bază utilizarea următoarelor ingrediente, în proporții diferite și concentrații rezultate în urma cercetărilor: acid formic, acid acetic, extract de plante medicinale (busuioc – *Ocimum basilicum*, cimbru – *Thymi vulgaris*, mentă – *Mentha piperita*, roinița - *Mellisa officinalis*), zahăr.

Ingredientele care intră în componența produsului care face obiectul prezentei cereri de brevet de invenție sunt bine cunoscute și studiate în literatura de specialitate, dar, din cercetări documentare, nu există un produs similar, cu eficiența combinativă a celor doi acizi și a substanțelor din plante, atât prin aplicarea cu metode clasice de lucru cât și prin procedurile de aplicare descrise în prezenta cerere de brevet de invenție.

Toate componentele utilizate sunt admise și în apicultura ecologică ceea ce permite utilizarea produsului atât în apicultura convențională cât și în apicultura ecologică, facilitând accesul nerestricționat al tuturor apicultorilor din toate tipurile de exploatații apicole.

Acidul formic, este un acid organic foarte cunoscut, care se găsește în natură ca substanță de apărare la diverse organisme (ex. furnici, scorpioni, gândaci, plante etc), dar și în atmosferă prin procese de biodegradare naturală. Acidul formic poate fi realizat artificial prin sinteză chimică, fiind utilizat ca substanță de conservare și agent antimicrobian în diverse industrii. Fiind o substanță cu un grad ridicat de volatilitate acidul formic s-a dovedit că poate fi utilizat cu succes în controlul varroozei. În apicultură se folosește ca atare în realizarea unor medicamente antivarroa, deși nu se cunoaște exact modul său de acțiune (sufocare sau inhibarea respirației), prin diverse metode și dispozitive care presupun tratamentul de termen lung (minim 7 zile).

Un alt avantaj al utilizării acestei substanțe este că nu contaminează fagurii și alte produse ale stupului, dar și acela, foarte important, că poate penetra căpăcelul celulelor, care are o structură poroasă, și astfel să omoare acarienii din celule.

Cu toate acestea, atunci când este difuzat în interiorul familiei de albine prin metodele clasice, care presupun utilizarea acestuia pe întreaga familie de albine (puiet și albine), căpăcelul este o barieră importantă și necesită o perioadă mare de timp pentru

atingerea unui nivel înalt de eficiență, fiind în același timp extrem de repelent și toxic pentru albine.

Un alt dezavantaj al utilizării acestei substanțe este acela că, fiind un acid foarte puternic volatil, necesită o atentă manipulare, fiind în același timp coroziv pentru unele elemente metalice ale stupului.

Un alt dezavantaj al acestui produs este și acela că acidul formic este o substanță foarte volatilă, nivelul de volatilizare fiind dependent de temperatura și umiditatea din spațiul de tratament. Ca urmare, nivelul vaporilor nu poate fi ușor ținut constant și uniform de aceea produsele actuale ce au la bază doar acid formic în anumite concentrații, se recomandă a fi utilizate doar când temperatura exterioară stupului (ambientă) se află între limitele de 12°- 25°C. Ca urmare a acestui fapt, supradozarea sau subdozarea devine o problemă în administrarea acidului formic prin metodele existente, fiind recomandate în special în perioada iulie-octombrie.

La momentul actual acidul formic este utilizat în tratamentul varroozei, cu grade diferite de eficiență (60-70%), prin mai multe metode (impregnarea unor materiale textile, geluri, dispensoare de lichid), majoritatea acestor tratamente fiind completate de tratamente convenționale pentru un control mai eficient. Este important de menționat că toate aceste metode de utilizare a acidului formic presupun utilizarea pe întreaga familie de albine, cu o perioadă mare de menținere a substanței active în familia de albine (minim 7 zile), având efecte nocive asupra albinelor, dezvoltării populației de albine, moartea puietului de albine necăpăcit (foarte tânăr, în primele stadii de dezvoltare) și chiar moartea mătcilor, în funcție de concentrația acestuia și nivelul de evaporare, care sunt extrem de dificil de menținut constant.

Acidul acetic concentrat (glacial, alimentară), în concentrații mici, este utilizat în apicultură, pe scară largă în unele țări, în nutriție, pentru acidifierea siropului de stimulare și completare a rezervelor de hrană, având rol de conservare a siropului și de mărire a palatabilității hranei, dar și efecte benefice asupra sistemului digestiv. În plus, acidul acetic concentrat se utilizează pentru conservarea fagurilor și tratamentul unor boli și dăunători ai fagurilor, când aceștia se depozitează în afara stupilor. Nu este considerat un ingredient poluant al stupului și produselor apicole, acidul acetic fiind un acid organic.

Acidul acetic nu este utilizat la ora actuală în combaterea varoozei, dar prin metodele aplicate în prezenta cerere de brevet de invenție, s-a constatat că dă rezultate extrem de bune în anumite concentrații.

Plantele utilizate în obținerea extractului utilizat reprezintă specii de plante medicinale și aromatice ale căror principii active sunt recunoscute pentru efectele pozitive asupra sistemului digestiv la albine, sunt utilizate în formulă pentru sporirea atractivității albinelor față de produs, dar și a diminuării efectului repelent al acizilor față de populația de albine din stup.

Pentru o cât mai bună extracție a componentelor volatile, de atractivitate, din plantele utilizate, dar și ca urmare a unor cerințe tehnologice se poate aborda o extracție mixtă - hidro-alcoolică sau hidro-acidă prin procedee binecunoscute ca macerarea și infuzia pentru realizarea produsului final al extractului de plante utilizat în formulă.

Zahărul are rolul de a asigura o mai bună aderență a produsului la aplicare pe substrat (puietul căpăcit) și a menține astfel timp mai îndelungat produsul în structura poroasă a căpăcelului. Ca urmare, produsul realizat pe baza formulei propuse prezintă următoarele avantaje:

1. Eficiență maximă în combaterea varoozei în puietul căpăcit;
2. Minimizarea numărului de tratamente/an la maxim două tratamente;
3. Nu creează rezistența parazitului față de substanțele active existente în formulă;
4. Ingredientele sunt nepoluante, ieftine și ușor de procurat;
5. Utilizarea rapidă și ușor de aplicat de către apicultori, prin procedeele descrise care fac obiectul prezentei cereri de brevet.

Se prezintă în continuare, 2 exemple de realizare a produsului:

Exemplul 1: produs de uz veterinar pentru combaterea varoozei, ce se realizează prin amestecul următoarelor componente ca părți din produsul obținut: acid formic de concentrație 85% – 60p (părți), acid acetic de concentrație 80% - 25p (părți), extract de plante medicinale în părți egale (busuioc – *Ocimum basilicum*, cimbru – *Thymi vulgaris*, mentă – *Mentha piperita*, roinița - *Mellisa officinalis*) – 10 p (părți), zahăr – 5p (părți).

Exemplul 2: produs de uz veterinar pentru combaterea varoozei, ce se realizează prin amestecul următoarelor componente ca părți din produsul obținut: acid formic de concentrație 65% – 60p (părți), acid acetic de concentrație 80% - 25p (părți), extract de

plante aromatice și medicinale în părți egale (busuioc – *Ocimum basilicum*, cimbru – *Thymi vulgaris*, mentă – *Mentha piperita*, roinița - *Mellisa officinalis*) – 10 p (părți), zahăr – 5p (părți).

Cele două formule, mai concentrată și mai puțin concentrată în acid formic, sunt realizate astfel pentru a fi utilizate în două condiții de temperatură ambientală, astfel formula de la exemplul 1 se recomandă când temperatura ambientală este de sub 22°C, iar formula de la exemplu 2 se recomandă când temperatura ambientală este de peste 22°C, pentru a compensa nivelul necesar de volatilizare.

Produsele de uz veterinar rezultate din exemplele 1 și 2 **presupun o activitate inventivă** comparativ cu alte formule existente la nivel național sau internațional prin:

- lipsa unei formule pe piața națională și internațională cu ingredientele propuse, în proporțiile și concentrațiile stabilite, în vederea combaterii varrozei (*Varroa destructor*);
- realizarea unei formule foarte eficiente pentru combaterea varrozei din puietul căpăcit;
- posibilitatea utilizării acestora prin procedeele care fac obiectul prezentei cereri de brevet;
- posibilitatea utilizării acestora pentru combaterea varrozei (*Varroa destructor*) de pe albina lucrătoare adultă, în familia obișnuită, prin procedee clasice (impregnare în elemente absorbante);
- combinarea a doi acizi organici cu proprietăți volatile, în proporțiile și concentrațiile studiate, care acționează sinergic și complementar, cu eficiență foarte mare în combaterea varrozei;
- utilizarea pentru prima oară a acidului acetic într-un produs antivarroa;
- scurtarea perioadei de tratament de la minim 7 zile (metoda clasică) la 15 minute (metoda descrisă în prezenta cerere de brevet de invenție) prin combinarea produsului cu procedurile descrise în prezenta cerere de brevet de invenție;
- reducerea costurilor cu privire la realizarea produsului, ținând cont că ingredientele sunt relativ ieftine;
- reducerea numărului de tratamente prin combinarea cu procedurile descrise în prezenta cerere de brevet de invenție la 1-2/an;

- completarea formulei cu extracte de plante, cu rol de diminuare a efectului repelent al acizilor și de sporire a atractivității albinelor adulte față de fagurii tratați pentru a-și relua activitatea normală într-un timp cât mai scurt;
- utilizarea unui excipient –zahăr cu rol în sporirea aderenței față de suportul de tratare (fagurele căpăcit).

Aplicabilitate industrială. Produsele rezultate din exemplele numărul 1 și 2 pot fi realizate la scară industrială și pot fi aplicate în orice stupină, conform modului de administrare care intră în procedurile de aplicare, având în vedere faptul că varrooza există în toate familiile de albine, cu diverse grade de infestare.

Procedeul de obținere constă în amestecul ingredientelor în proporțiile stabilite, în vase de amestec și spații autorizate pentru utilizarea acizilor organici concentrați.

Procedee de aplicare. Pentru aplicarea produsului veterinar, realizat prin unul din cele două exemple de formule de mai sus, s-au realizat două **procedee de aplicare pentru combaterea varoozei din puietul căpăcit**, care pot fi utilizate fie individual fie combinat, în funcție de situația existentă în familia de albine.

Produsul realizat prin cele două exemple de formule, dar și procedeele de aplicare ale acestora au ca scop tratamentul acarianului *Varroa destructor* aflat în diverse stadii ale ciclului său de dezvoltare și reproducție, în faguri, în special în puietul căpăcit, dar și a celor ce se află pe albina adultă.

Astfel, pentru aplicarea și tratamentul varoozei în puietul căpăcit au fost dezvoltate două procedee după cum urmează:

Procedeul nr 1 – Procedeu de aplicare a tratamentului prin pensularea suprafețelor de puiet căpăcit cu produsul de uz veterinar conform prezentei invenții.

În scopul aplicării produsului pe suprafețele de puiet căpăcit, fagurii cu puiet căpăcit, indiferent de suprafața puietului căpăcit sau a existenței în acești faguri a unor suprafețe cu puiet larvar (necăpăcit), sau hrană (miere și păstură), sunt scuturați și periați de albina acoperitoare în familia de origine, iar fiecare fagure se așează, de preferat, cu speteaza superioară în jos, sprijinită pe un suport, aplecată înspre utilizator, într-un unghi de cca 70-80° (fig. 1). Pentru efectuarea tratamentului, cu o pensulă (cu peri de rigiditate medie), de cca 4 cm lățime, se aplică produsul de tratament și se pensulează, cu o ușoară presare (pentru a îmbiba căpăcelul cât mai bine cu produs), suprafața de puiet căpăcit de pe fața

fagurelui dinspre utilizator, prin mișcări stânga-dreapta, astfel încât toate celulele cu puiet căpăcit să fie acoperite cu substanța de tratament. Fagurele se plasează cu speteaza superioară în jos și se ține înclinat spre utilizator pentru ca soluția de tratament să nu se scurgă în celulele necăpăcite în care ar putea exista – ouă, puiet larvar, miere sau păstură, aflate în golurile suprafeței de puiet căpăcit sau pe marginile acesteia, deci pentru a evita contactul conținutului celulelor necăpăcite (în special a puietului necăpăcit) care ar putea fi omorât. Pensularea se face cu mișcări stânga-dreapta, pentru a evita acumularea de picături pe marginea de jos a celulelor necăpăcite și scurgerea în interiorul acestora. După operațiune, fagurele se întoarce cu fața tratată în jos și se scutură cu o mișcare ușoară, dar fermă, astfel încât eventualele picături al produsului de tratament să se desprindă și să cadă de pe marginile celulelor necăpăcite. Operațiunea se repetă pe cealaltă față a fagurelui dacă există puiet căpăcit.

Fagurele astfel tratat se introduce într-o cutie de tip corp de stup, lădiță de transport rame, roiniță, etc., care să permită introducerea tuturor fagurilor cu puiet căpăcit prelevați dintr-o familie de albine ce se tratează.

Operațiunea se repetă pentru fiecare fagure cu puiet căpăcit din familia de albine.

Corpul cu fagurii tratați se acoperă cu un podișor, astfel încât albinele să nu poată intra în spațiul respectiv (pentru a nu genera furțișag) și se lasă 15-20 de minute, timp în care, cea mai mare parte din produsul de tratament se evaporă în interiorul celulelor și în afara lor.

Pentru utilizarea produsului de tratament este obligatorie purtarea unor mănuși de protecție rezistente la acizi și a unei măști de protecție care să nu permită inhalarea vaporilor de acizi.

Fagurii tratați nu se introduc imediat în familia de albine deoarece cantitatea de acizi evaporată în special în primele minute poate dăuna albinelor din stup.

După scurgerea timpului de 15-20 minute, fagurii pensulați cu produs se reintroduc în familia de origine, fiind considerați tratați.

Prin cercetările efectuate s-a constatat că prin modul de aplicare al produsului se asigură evaporarea substanțelor și pătrunderea acestora în celulele cu puiet căpăcit într-o concentrație suficientă care să omoare populația de acarieni existentă, în proporție de 80-100%, indiferent de stadiul de dezvoltare (femele fiice, femele fondatoare, masculi,

protonimfe și deutonimfe ale celor două tipuri de indivizi), fără a afecta dezvoltarea ulterioară a puietului de albine lucrătoare sau trântor și a indivizilor adulți rezultați. Din cercetări rezultă că cele mai sensibile forme de dezvoltare ale acarianului sunt protonimfele și deutonimfele, dar și masculii (probabil ca urmare a faptului că exoscheletul este nechitinizat, iar toate organele interne, inclusiv cel respirator sunt vulnerabile).

Tot din cercetările efectuate s-a observat că moartea acarienilor începe imediat după aplicarea tratamentului și continuă în orele următoare până la cca 18 ore. Ca rezultat al tratamentului are loc întreruperea ciclului reproductiv al acarianului, aflat în puietul căpăcit, într-o singură zi, iar operațiunea de tratament în sine nu depășește durata unei inspecții obișnuite a familiei de albine (cca 5 minute), în intervalul de evaporare de cca 15-20 de minute apicultorul putând efectua aceeași operațiune și la alte cca 2 familii de albine, lucrând astfel succesiv la toate familiile de albine.

Perioada optimă de tratament: Tratamentul se poate efectua în orice moment al sezonului activ când există puiet căpăcit, în funcție de nivelul de infestare, sau preventiv, având în vedere nivelurile foarte variabile de infestare la familii de albine din aceeași stupină. Totuși se apreciază că momentul optim de tratament poate fi primăvara, când este puțin puiet căpăcit sau/și în perioada iulie (până în ultima decadă, de preferat după un cules de blocaj, pentru a minimiza suprafața de puiet căpăcit), înainte de începerea creșterii albinei de iernare, pentru ca puietul să se dezvolte în condiții de lipsă a acestei parazitoze și a infecțiilor virale asociate, pentru ca generațiile de albine de iernare să fie sănătoase, cu longevitate sporită.

Procedeu nr 2 – Procedeu de aplicare a tratamentului în spațiu închis, cu presiune controlată, saturat cu vapori din produsul de uz veterinar conform prezentei cereri de brevet de invenție. Aplicarea procedurii se realizează conform următorului principiu de lucru: într-un spațiu închis ermetic (o incinta ermetică) (exemplu în fig. 2), care să reziste la presiunea de tratament, în care pot fi introduși un număr de faguri, după necesități (exemplu 5-10 sau mai mulți), se introduc elemente impregnate cu produsul de uz veterinar, în funcție de volumul spațiului, astfel încât să se asigure o evaporare rapidă (suprafață mare de evaporare) și astfel, o saturație a aerului, din spațiul închis, cu vapori din substanțele active, din produsul care face obiectul prezentei cereri de brevet de invenție. După recoltarea fagurilor cu puiet căpăcit, fără albină, din familia de albine,

aceștia se introduc în acest spațiu care se închide etanș. Spațiul închis este prevăzut cu un furtun cu supapă, prin care se poate introduce aer sub presiune, și un furtun cu manometru exterior care permite măsurarea presiunii din interior. După introducerea fagurilor în incinta închisă ermetic se acționează o pompă de aer conectată la supapa tubului de admisie, care comunică cu spațiul interior prin peretele incintei, și se introduce aer până când presiunea aerului încărcat cu vapori ajunge la 50-60 mmHg, putând mări presiunea până la maxim 100 mmHg, timp de 15-20 minute. După cele 15-20 minute, prin supapa de admisie se eliberează presiunea, se deschide cutia, iar fagurii tratați se reintroduc în familiile de albine. Aplicarea acestei tehnici asigură o diferență de presiune dintre presiunea normală a aerului și cea realizată în incintă, ceea ce ajută la trecerea rapidă a vaporilor prin porii căpăcelului în celule, până la echilibrarea presiunii din celule și din afara lor. Această tehnică asigură introducerea în celulele cu puiet a unei cantități suficiente de substanțe active din aerul saturat.

Din cercetările noastre efectuate în acest scop s-a constatat că tratamentul este foarte eficient, cu un procent de mortalitate a acarianului între 80 și 100%. Avantajul acestei proceduri ar fi acela că la un număr foarte mare de faguri nu ar mai fi necesară operațiunea manuală de pensulare pe fiecare suprafață de puiet.

Incinta poate fi prevăzută suplimentar cu un alimentator de vapori din produsul descris în prezenta cerere de brevet de invenție, pentru situațiile în care tratamentele se succed rapid și nu se așteaptă saturarea aerului din incintă prin evaporarea naturală din elementii îmbibați cu produs. Alimentatorul de vapori constă dintr-un vas barbotor în care se introduce produsul de tratament și care se intercalează pe traseul conductei de alimentare cu aer, fie între supapă și peretele incintei, fie în interiorul incintei racordat la intrarea fluxului de aer. Aerul este trimis în vasul barbotor printr-o conductă care este prevăzută cu un difuzor de aer (plus vapori de acid din produs), care este continuu barbotat și transformat în bule, ce se încarcă cu acid, îmbunătățind permanent concentrația de acizi din incinta de tratament.

Cele două proceduri pot fi utilizate combinat în funcție de suprafața de puiet căpăcit și existența puietului larvar necăpăcit pe același fagure care nu necesită tratament. Se menționează că puietul larvar necăpăcit, mai ales în primele zile de la ecloziunea din ou, este mai sensibil și poate fi afectat sau chiar omorât. Pentru a evita această situație, această

procedură de tratament se poate combina cu izolarea mătcii pe un număr mai mic de faguri goi, în aceeași familie de albine, prin separarea cu o gratie izolatoare, înainte de momentul tratamentului cu 8-9 zile, pentru a obține astfel separarea puietului larvar de puietul căpăcit în familia de albine, ceea ce elimină riscul menționat mai sus în cazul aplicării procedurii 2.

Concomitent cu tratamentul fagurilor se pot trata și albinele din stup, cu una din cele două formule descrise în prezenta cerere de brevet de invenție, folosind dispozitive sau elemente de impregnare cunoscute, sau prin oricare din tratamentele clasice, cunoscute. Cercetările arată că în sezonul activ, când există puiet căpăcit, cca 80% din acarieni se află în puietul căpăcit și doar 20% pe albinele adulte, de unde și ineficiența tratamentelor clasice și necesitatea efectuării unui număr mare de tratamente la anumite intervale de timp, sau a menținerii unor substanțe de combatere cu timp lung de acțiune.

Procedeele de aplicare a produsului de uz veterinar rezultate din exemplele 1 și 2 **presupun o activitate inventivă** comparativ cu alte procedee existente pe plan național sau internațional prin:

- Scurtarea timpului de tratament antivarroa a puietului căpăcit la 15-20 minute, printr-un tratament, cu efort minim și nepoluant;
- Modalitățile de lucru în ambele procedee (tratament prin pensulare și în incintă sub presiune) nu au mai fost descrise sau prezentate în lucrări de specialitate, la nivel național sau internațional;
- Eficiența combaterii varroa în puietul căpăcit, prin procedurile descrise și formulele propuse în prezenta cerere de brevet de invenție, este de 80-100%, ceea ce duce la tăierea ciclului biologic al varroa (*Varroa destructor*) și limitarea numărului de tratamente pe an la 1-2 tratamente.

Procedeele descrise în prezenta cerere de brevet de invenție pot fi aplicate pe scară largă de către orice apicultor, în orice stupină, la orice nivel (hobby, part-time, profesional), în funcție de necesități, în orice perioadă a sezonului activ și indiferent de mărimea sau tipul stupinei – convențională sau certificată ecologic, scurtând perioada de tratament, numărul tratamentelor și costurile acestora, cu impact pozitiv asupra sănătății albinelor și economiei apicole.

REVENDICĂRI

1. Produs de uz veterinar pentru combaterea varoozei **caracterizat prin aceea că** este constituit din 60 părți acid formic de concentrație 85%, 25 părți acid acetic de concentrație 80%, 10 părți extract de plante aromatice și medicinale în părți egale (busuioc – *Ocimum basilicum*, cimbru – *Thymi vulgaris*, mentă – *Mentha piperita*, roinița - *Mellisa officinalis*), 5 părți zahăr.
2. Produs de uz veterinar pentru combaterea varoozei **caracterizat prin aceea că** este constituit din 60 părți acid formic de concentrație 65%, 25 părți acid acetic de concentrație 80%, 10 părți extract de plante aromatice și medicinale în părți egale (busuioc – *Ocimum basilicum*, cimbru – *Thymi vulgaris*, mentă – *Mentha piperita*, roinița - *Mellisa officinalis*), 5 părți zahăr.
3. Procedeu de aplicare a produsului de uz veterinar conform revendicărilor 1 sau 2 **caracterizat prin aceea că** fagurii cu puiet căpăcit, preluați din familia de albine, sunt tratați prin pensulare cu produsul veterinar, astfel că fagurii cu puiet căpăcit, scuturați și periați de albina acoperitoare în familia de origine, se sprijină cu speteaza superioară în jos, înclinat înspre utilizator, într-un unghi de cca 70-80° și se aplică cu o pensulă produsul de tratament prin pensularea, cu o ușoară presare, a suprafeței puietului căpăcit pe fața dinspre utilizator, prin mișcări stânga-dreapta, astfel încât toate celulele cu puiet căpăcit să fie acoperite cu substanța de tratament, după care se menține ușor înclinat spre utilizator pentru ca soluția de tratament să nu se scurgă în celulele necăpăcite, unde există puiet larvar care ar putea fi omorât, după care aceeași operațiune se repetă și pe cealaltă față a fagurelui cu puiet căpăcit, dar și pentru fiecare fagure cu puiet căpăcit din familia de albine, fagurii tratați fiind menținuți în continuare încă 15-20 de minute într-un corp de stup sau în orice altă cutie specifică, fiind ulterior reintroduși în familia de origine.
4. Procedeu de aplicare a produsului de uz veterinar conform revendicărilor 1 sau 2 **caracterizat prin aceea că** fagurii cu puiet căpăcit preluați din familia de albine sunt tratați în spațiu închis, cu presiune controlată, saturat cu vapori din produsul veterinar conform revendicărilor 1 sau 2 prin introducerea unui număr de faguri, după necesități și a unor elemente impregnate cu produsul de uz veterinar, în funcție de volumul spațiului, astfel încât să se asigure o evaporare rapidă și astfel, o saturație a aerului, din spațiul închis, cu vapori din substanțele active, prin aplicarea unei tehnici ce asigură o diferență de presiune dintre presiunea normală a aerului și cea realizată în incintă, ceea ce ajută la trecerea rapidă a vaporilor prin porii căpăcelului în celule, până la echilibrarea presiunii din celule și din afara lor, asigurând astfel o cantitate suficientă de substanțe active din aerul saturat, în celulele căpăcite pentru tratament.

Desene

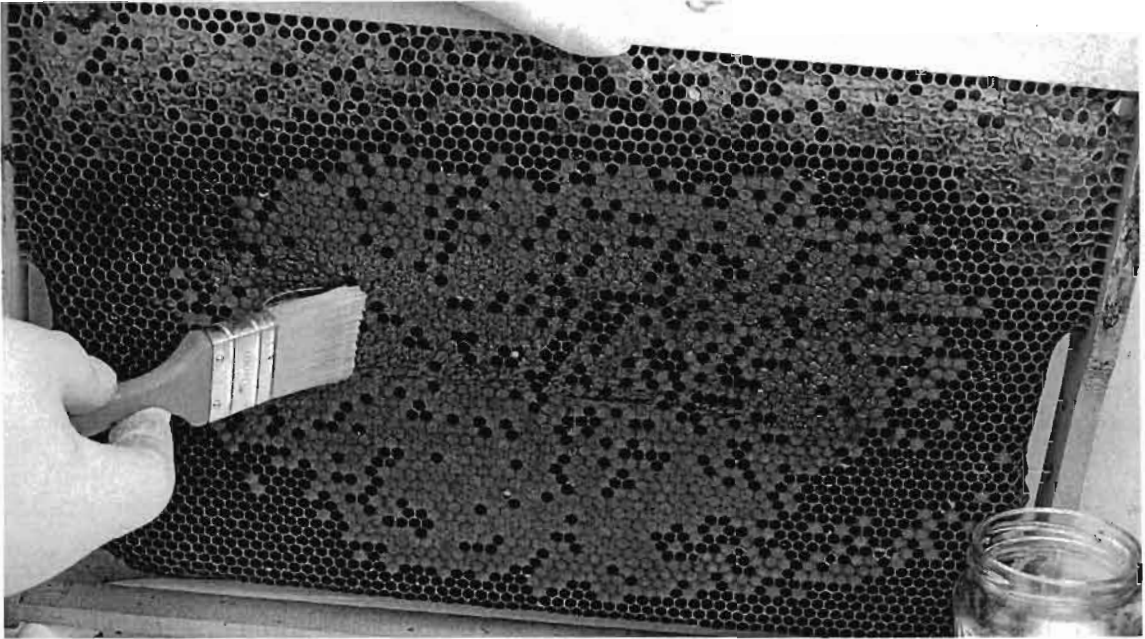


Fig. 1. Procedeu de aplicare a tratamentului prin pensularea suprafețelor de puiet căpăcit cu produsul de uz veterinar pentru combaterea varroozei

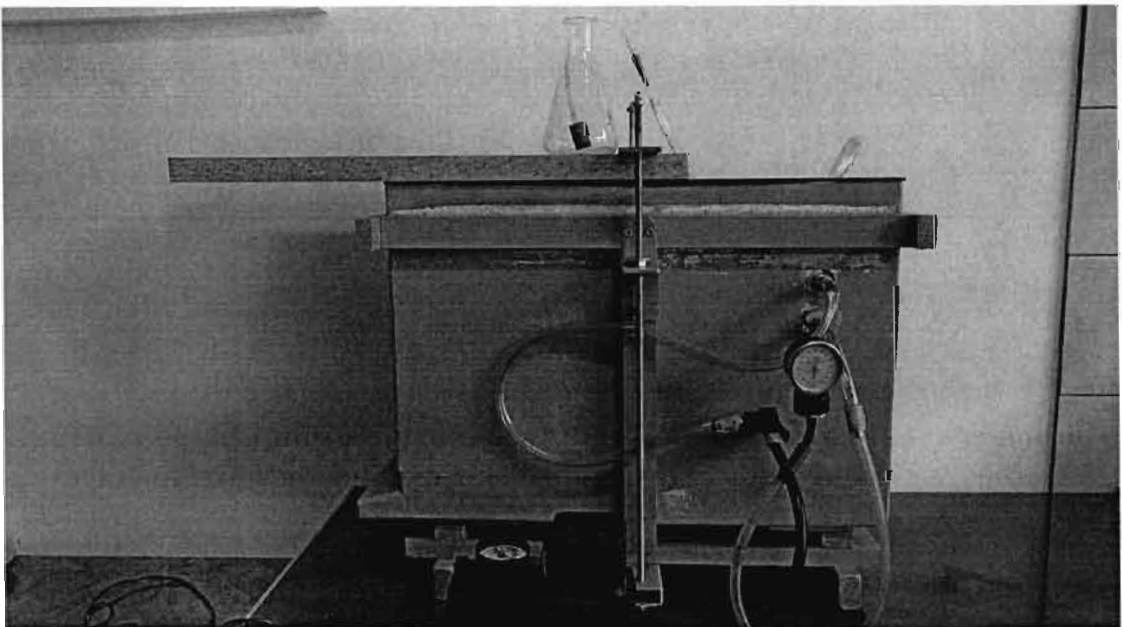


Fig. 2. Procedeu de aplicare a tratamentului în spațiu închis, cu presiune controlată, saturat cu vapori din produsul de uz veterinar pentru combaterea varroozei