

(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2022 00520**

(22) Data de depozit: **29.09.2017**

(41) Data publicării cererii:
28.02.2024 BOPI nr. 2/2024

(62) Divizată din cererea:
Nr. **a 2017 00774**

(71) Solicitant:
• **UNIVERSITATEA
BABEȘ-BOLYAI-INSTITUTUL DE
CERCETĂRI ÎN CHIMIE "RALUCA RIPAN",
STR. FÂNTÂNELE NR.30, CLUJ-NAPOCA,
CJ, RO;**
• **UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE
ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ DIN
CLUJ-NAPOCA, CALEA MĂNĂȘTUR
NR.3-5, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **VIITOR SĂNĂTOS S.R.L.,
STR.PRINCIPALĂ NR.439, SAT LUNA DE
SUS, COMUNA FLOREȘTI, CJ, RO**

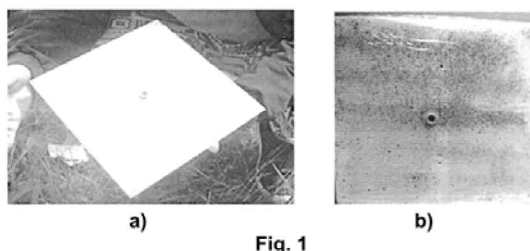
(72) Inventatori:
• **POJAR - FENEȘAN MARIA,
STR. MOGOȘOAIA NR. 3, BL. J1, SC. 1,
AP. 4, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **BALEA ANA, STR.SEPTEMIU ALBINII,
NR.26, SC.1, AP.2, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **CIOTLĂUȘ IRINA, STR.MEHEDINȚI
NR.10-12, SC.A, AP.44, CLUJ-NAPOCA, CJ,
RO;**
• **PANDREA RADU CRISTIAN,
STR.ZORILOR NR.40, AP.20,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **OLTEAN ION, STR.BUCUREȘTI NR.66,
BL.D18, AP.9, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **FLORIAN TEODORA, STR. TARNIȚA
NR.2, AP.72, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO**

(54) **BIOTEHNICĂ DE COMBATERE A ACARIANULUI VARROA
DESTRUCTOR, PARAZIT AL ALBINELOR APIS MELLIFERA,
FOLOSIND COMPOZIȚII ATRACTANTE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă de combatere a acarianului *Varrora destructor* dăunător parazit al albinelor *Apis mellifera* folosind mediatori ecochimici și feromoni care nu afectează albinele, identificanți ca atacanți pentru acest acarian, adulții parazitului fiind atrași, capturați și îndepărtați din stup, reducând astfel populația și întrerupând ciclul biologic al dăunătorului. Metoda de combatere a acarianului conform invenției constă în atragerea dăunătorilor într-o capcană, așezată pe fundul stupului cu partea lipicioasă în sus, reprezentată de o placă de plastic albă, cu dimensiuni de 25 x 25 cm, având suprafața superioară lipicioasă acoperită cu clei, pe care se lipește momeala atractantă reprezentată de un dop de cauciuc în care este condiționat compusul 2-etil-hexanol.

Revendicări: 3
Figuri: 6



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr.	2022 00526
Data depozit	29.09.2017

Descrierea invenției

1. Titlul invenției : *"Biotehnica de combatere a acarianului Varroa destructor, parazit al albinelor Apis mellifera folosind compoziții atrăcătoare"*

2. Domeniul tehnic, la care se refera inventia: apicultura, protecția albinelor

Inventia se refera la o tehnică, un procedeu de combatere a dăunătorului Varroa destructor parazit al albinelor Apis mellifera folosind mediatori ecochimici – kairomoni și feromoni - identificați ca atrăcători pentru acarianul Varroa destructor, adulții parazitului fiind atrași, capturați și îndepărtați din stup, reducând astfel populația și întrerupând ciclul biologic al dăunătorului.

3. Stadiul anterior, al tehnicii, cu indicarea documentelor corespondente;

Începând cu anul 2006 este semnalat un fenomen constând în dispariția subită, în masă, a albinelor, într-un mod absolut misterios, fenomen numit CCD - Colony Collapse Disorder. Pierderea masivă a coloniilor a devenit o problema majoră pentru că polenizarea făcută de albine joacă un rol cheie în funcționarea ecosistemelor și optimizarea producției agricole. Fenomenul CCD este produs de mai multi factori care interacționează, dar există un consens că ectoparazitul Varroa destructor joacă un rol major, are un efect sinergic în manifestarea CCD. [Guzmann-Novoa E., et al. 2010]. Astfel Varroa este parazitul cu cel mai puternic impact economic negativ asupra industriei apicole.

Varrooza afectează întreaga populație de albine, adulți și puiet și se manifestă în tot cursul anului, se reproduce și se dezvoltă în celulele cu puiet de trântor. Agentul etiologic este acarianul Varroa destructor [Anderson & Trueman, 2000] un parazit extern care atacă albinele melifere din speciile Apis cerana (gazda inițială față de care este inofensiv) și Apis mellifera. Are cu un ciclu evolutiv de 7-8 zile, se hrănește cu hemolimfă și lasă răni deschise predispuse la infecții. Atunci când există puiet într-o colonie infestată durata de viață a parazitului este de 3-4 luni. În absența puietului durata de viață poate fi mult mai lungă. În urma infestării sistemul imunitar al albinei este slăbit, favorizând instalarea virusilor, dintre care cei mai periculoși sunt: deformed wing virus (DWV) și Israeli Acute Bee Paralysis Virus (IAPV) (Welsh, J. (2012). Cu excepția unei varietăți rusești, toate albinele europene sunt lipsite de apărare contra acestuia. În primul an de infestare semnele clinice sunt șterse. Pe măsură ce gradul de parazitare crește (parazitul înmulțindu-se în progresie geometrică), semnele clinice devin evidente, albinele parazitare prezentând stări de agitație; în hiperparazitism, populația familiei se diminuează drastic și albinele părăsesc stupul, o mare parte din albinele eclozionate din puiet infestat sunt neviabile, cu aripi nedezvoltate, subponderale, cu malformații ale abdomenului și picioarelor, incapabile de zbor. În perioada de iernare, paraziții nelișițesc familia de albine, determinând un consum mai mare de miere, umplerea prematură a intestinului cu dejecții și apariția diareei. Primăvara, când în celule cu puiet există un mare număr de paraziți, albinele eclozionate vor fi neviabile cu aripi nedezvoltate, cu capul și picioarele diforme. Ele cad pe fundul stupului, de unde sunt scoase afară de către albinele sănătoase. Contaminarea se face cu ajutorul albinelor hoațe, a trântorilor, a roilor și a fagurilor cu puiet, precum și prin practicarea stupăritului pastoral.

Handwritten signature

Parazitul poate fi descoperit cu ochiul liber pe trântori, pe albinele lucrătoare și pe matcă, precum și pe puietul acestora în urma descăpăcirii celulelor. La începutul infestării, acarianul nu poate fi observat cu ochiul liber, datorită numărului redus de paraziți și a poziției acestora între inelele abdominale; de unde nu i se poate vedea decât marginea posterioară a corpului. După 2-3 ani de la infestare, numărul acarienilor este foarte mare, se înmulțesc cu repeziciune, iar când 20-30 % din albine sunt parazitare, familia slăbește și moare.

Datorită adaptării parazitului la biologia și viața albinelor, au fost utilizate în ultimii ani zeci de substanțe antiparazitare, numeroase metode biologice, fizice și tehnice de combatere a acestuia, dar rezultatele nu sunt nici în prezent satisfăcătoare. S-a constatat că după tratamente corect efectuate toamna, vara și toamna anului următor, aceleași familii pot fi intens parazitare. Pe plan mondial, cele mai utilizate substanțe în combaterea varroozei au fost: fenotiazina, acidul formic, acidul lactic, timolul, camforul, uleiul de eucalipt, clorbenzilatul, brompropilatul, cumafosul, cimiazolul, amitrazul, cianpiretrinoidul de sinteză și fluvalinatul (mavrikul). În prezent, cele mai folosite substanțe în combaterea varroozei sunt amitrazul și fluvalinatul. La noi în țară, varrooza se combate cu Varachet (pe bază de amitraz), Mavrirol, Apistan (pe bază de fluvalinat) și BeeVital-ul (pe bază de uleiuri eterice).

Varachetul (substanța activă - *amitrazul* : bis *N,N* - (dimetil - 2,4 - feniliminometil) *N* – metilamina se administrează sub formă de fumigații în absența puietului căpăcit;

Mavrirolul (substanța activă tau-fluvalinat sau mavrik – piretroid de sinteză *N*-(2-*Chlor*-4-(trifluoromethyl)phenyl)-*D*-valincyano(3-phenoxyphenyl)methylester la fel ca și Varachetul, pătrunde în organismul paraziților și le blochează funcțiile enzimatic și nervoase.

Apistanul este un cianpiretrinoid de sinteză, impregnat în benzi de material plastic, firma Sandoz. BeeVital-ul se administrează între rame, pe albine, prin stropirea acestora cu substanța activă.

În România nu se admite folosirea pesticidelor sub formă de soluții sau emulsii, prin stropirea albinelor sau în hrana lor, deoarece poluează grav atât organismul albinelor cât și ceara, mierea, polenul, lăptișorul și propolisul.

Dezavantajele produselor cu efect acaricid :

- lasă rezidii în produsele apicole
- sunt toxice și pentru albine, mai ales pentru cele parazitare care sunt deja slăbite;
- pot duce la pierderea reginei sau scăderea prolificității mătcilor
- parazitul își creează rezistență

Există cercetări pentru obținerea de albine modificate genetic pentru a le crea rezistență la pesticide și față de Varroa pe care ecologiștii le numesc *frankenbees*.

Sunt și alte cercetări în curs pentru combaterea Varroa destructor pe cale biologică, folosind agenți patogeni sau prădători ai Varroa, dar care implică riscuri și dificultăți în aplicare.

4. Aprecierea stadiului cunoscut al tehnicii

Opțiunile de combatere a ectoparazitului Varroa destructor, permise în apicultură azi sunt:

Stefan

➤ *Metode convenționale – tratamente în stup cu* acaricide sintetice - din clasele organofosfaților, pyretroide, hidrocarburi clorinate, acizi organici și amitraze, fie prin plasarea în stup a unor benzi de plastic sau textile impregnate cu substanța activă, fie prin fumigații.

Producătorii susțin că **Fluvalinate** și **amitraz** au toxicitate scăzută. Varroa dezvoltă însă rezistență și noile formulări *tau-fluvalinate*, cu activitate crescută sunt foarte toxice pentru albine. [Frazier M., Mullin C., Ashcraft S., 2008]. Studiile au arătat toxicitatea mare și a amitraz [Faucon J.-P., 2002: *La varroase, une situation alarmante. Apiservices.*] După tratamente cu amitraz sau coumaphos s-au găsit un număr mare de albine tinere și larve moarte [Ministry of Agriculture of New Zealand, 2001].

Acidul formic este singurul pesticid permis în stupinele unde se produce miere organică. Aplicarea lui se face prin plasarea unor tampoane imbibate în partea superioară a stupului influențată de temperaturile zilnice care dacă sunt mari pot apărea pierderi semnificative de puiet și albine adulte. Dintre tratamentele chimice permise împotriva Varroa acidul formic produce o rată a mortalității la albine de 35% albine/stup/zi. Puietul este cel mai vulnerabil la acid formic.

După tratamentul cu *acid oxalic* lucrătoarele îndepărtează 60% din ouăle depuse și mortalitatea albinelor crește de 4 ori. Acidul oxalic afectează semnificativ dezvoltarea și supraviețuirea mătci. [De Guzman, L I., 1999].

Tratamentul cu *Coumaphos* reduce viabilitatea și fertilitatea reginei în stup [Van Engelsdorp D, 2009] În general substanțele chemoterapeutice sunt toxice și pentru albine.

Utilizarea acaricidelor este de obicei restricționată în perioada de culegere a mierii datorită rezidurilor care rămân în miere, respectiv în perioada când există puiet.

Acarienii dezvoltă rapid rezistență la tratamente chimice, este nevoie de metode alternative pentru a preveni și trata infestările cu acarieni Varroa.

➤ *Metode de combatere biologică* – ar putea depăși unele probleme generate de opțiunile de control chimic și alternativ ca de exemplu: rezidii, rezistență, efecte non-țintă, etc. [Meikle et al., 2012]. Aceste metode implică utilizarea de antagoniști, agenți patogeni sau prădători ai dăunătorului (ex. Pseudoscorpions); Dintre patogenii și prădătorii de Varroa, doar ciupercile entomopatogenice au caracteristicile dorite ale unui agent de control [Chandler et al., 2001]. Fungii din genul *Beauveria* pot fi considerați ca dusmani naturali ai acarianului, deoarece acestia au fost găsiți în mod natural, apar pe Varroa [Meikle et al., 2006, García-Fernández et al., 2008, Steenberg et al., 2010].

➤ *Biopesticide* - Uleiurile esențiale sunt compusi organici a caror utilizare în lupta antivarroa este tot mai răspândită iar pentru stupinele care produc miere bio este printre putinele tratamente acceptate. Principalele componente ale amestecului utilizat în *Api-Life - Var* sunt: Tymol, ulei de eucalipt, mentol și camfor. Inconveniente raportate în cazul tratamentelor cu uleiuri esențiale sunt următoarele: reducerea efectivului de albine peste iarnă cu până la 50%, scăderea cantității de miere în anul următor și dificultăți în stocarea hranei pentru iarnă. La fel ca și în cazul altor tratamente nu este indicat a se efectua în timpul înfloririi, atunci când se culege hrana. Gustul mierii ca și al altor produse ale stupului propolis, ceara, este afectat de rezidii rămase chiar dacă acestea sunt în limitele admise. Biopesticidele pot provoca intoxicații grave atât pentru apicultori cât și pentru albine. Un alt biopesticid, comercializat sub denumirea de *Sucrocide* este derivat din planta de tutun și se pulverizează pe albinele adulte, lucrătoare, o dată pe săptămână, timp de trei săptămâni în scopul

uciderii acarienilor care emerg din celulele cu puiet. Aceasta metoda necesita mult timp și tehnici laborioase de manevrare a stupului nefiind astfel o metodă accesibilă pentru utilizarea pe scară largă.

Metode de control mecanic în care nu se folosesc substanțe chimice pentru a reduce infestarea cu paraziți pot fi folosite în perioada când albinele colectează nectar și produc mierea. Acestea necesită însă echipamente și manopere laborioase și nu sunt mai eficace decât alte metode. Exemplele sunt:

➤ *Bordurile ecranate* - prin înlocuirea bazei din lemn a unui stup standard cu un ecran de sârmă, plasă sau alta suprafață nonsolidă scade infestarea probabil datorită mai bunei ventilații în stup. Beneficiile acestei metode sunt însă minime și stupul necesită măsuri de protecție.

➤ *Capcane cu puiet de trântor* – acarianul preferă infestarea puietului de trântor, acesta fiind mai mare decât puietul de lucrătoare necesită o perioadă de dezvoltare mai lungă comparativ cu femelele.

Apicultorii pot plasa piepteni speciali cu celule de trântor pentru a atrage acarienii la puiet. Acești piepteni pot fi apoi îndepărtați înainte ca trântorii și acarienii să iasă din celulele lor. În funcție de perioada din an, această practică poate reduce dramatic populația de acarieni dar și de puiet în colonii.

➤ *Pulberile inerte* - Acarienii adulți trec prin stup agățându-se de spatele albinelor adulte. Acoperirea tuturor adulților din colonie cu particule fine de praf, cum ar fi zahăr pudră sau anumiți înlocuitori de polen, poate provoca pierderea aderenței acarienilor și caderea de pe gazdele lor. Aceasta tehnică poate fi laborioasă și perturbatoare pentru o colonie, dar nu necesită pesticide chimice.

➤ *Utilizarea unor compuși fiziologici în controlul acarianului Varroa Destructor*

B.Kraus (1990) a studiat acțiunea repelentă a componentelor din feromonul de alarmă al albinelor asupra acarianului *Varroa destructor*. Testele s-au făcut în tunel de vânt, tuburi conținând substanța amestecată cu ceară și prin injectarea albinelor congelate cu 1-octanol. Rezultatele acestor testări indică o minimă reacție sau chiar lipsa ei în cazul majorității componentelor. Singurul component care a produs un efect repelent, a fost 1-octanolul însă efectul său nu a putut fi explicat.

Un studiu arată că Guanina, principalul component excretat prin fecale de către acarian, s-a manifestat ca factor agregant în studiul comportamental al acarianului. [YoderJay, 2003].

Peter E.A.Teal (patent US, 2014) au prezentat studiul atractivității unor acizi C4 (butiric și izobutiric). Studii de comportament [B. Ziegelmann et al., 2013], presupun existența unui feromon sexual care declanșează comportamentul de împerechere al *Varroa destructor*, propunând folosirea unui amestec de acizi grași C18 – C16- C12 considerat a fi cocktail feromonal, într-o metoda de dezorientare (*Mating disruption*) a adulților *Varroa*. [Peter Rosenkranz, Bettina Ziegelmann Patent european, 2014].

5. Expunerea invenției

Organismele vii emit și recepționează semnale chimice, în general volatile. Termenul generic de Semiochemicals (gr. semeon = semnal) este termenul generic atât pentru feromoni - mediatori intra-specfici, cât și pentru kairomoni, "comunicatori" chimici inter-specfici, de care beneficiază specia receptoare. Mediatorii chimici controlează comportamentul în general al receptorului. Informația pe care o primește îi induce o modificare de comportament ce poate fi agregare, hrănire, comportament sexual sau ovipozitare. Nu se cunosc feromoni ai artropodelor decât cocktailul propus de Ziegelmann și Rosenkranz (Patent European, 2014) folosit ca modalitate de dezorientare.

Trușca

Brevetul prezent propune folosirea unor atractanți pentru specia *Varroa*, care nu sunt pesticide (control convențional) nici prădători sau bacterii (control biologic) ci o “a treia cale”.

Atractanții pot fi kairomoni prin care se realizează comunicarea parazit (căpușa *Varroa destructor*) – gazdă (albine). Acarianului “preferă” celulele cu larve de trântor celor cu larve de albine lucratoare.

Colectarea folosind tehnica SPME (Solid Phase Micro-Extraction) și analiza GC-MS (gaz-cromatografie în cuplaj cu spectrometria de masă) a volatilelor emise de puietul de trântor a permis identificarea unor compuși care funcționează ca mediatori ecochimici și anume: acidul butiric, acidul izobutiric, acidul izovalerianic, acizi grași (C16-C18) și esterii lor, de asemenea 2-etil-hexanolul și *orto*-nitro-fenol.

Pentru testarea acestora în câmp s-au preparat momeli pe dopuri din cauciuc (ca matrice pentru condiționarea atractantului), depuse pe plăci albe, înțeleite, instalate în stup, în locul fundului anti-*Varroa*, funcționând ca și “capcane” pentru reținerea paraziților (Figura 1)

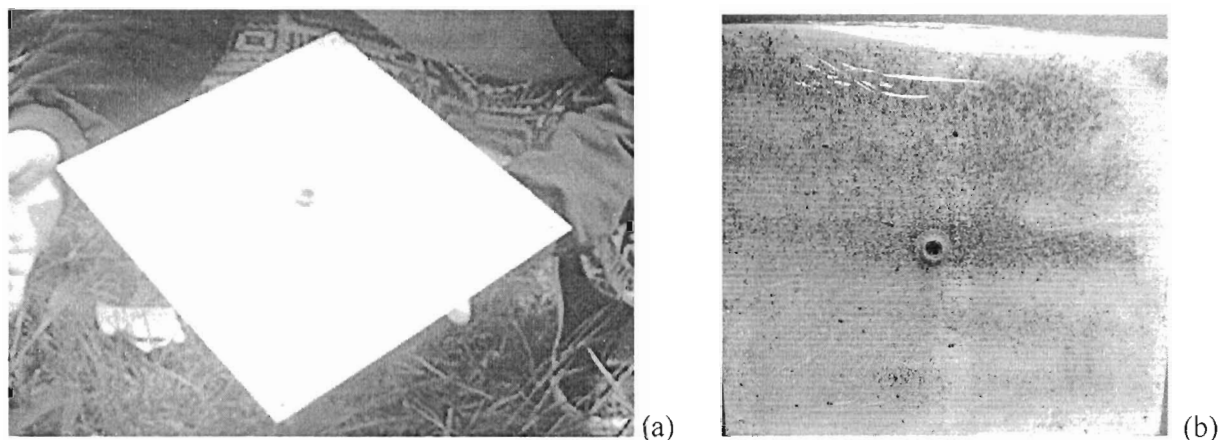


Figura 1 Placa înțeleită cu momeala condiționată pe dop de cauciuc
(a) pregătită de instalare (b) scoasă din stup pentru analiză

Compozitii - Variante

Variante	Compoziții	Raport între componente	Doza pe momeala
V1	acid oleic : acid palmitic : etil-oleat	1 : 1 : 1	0,5 mg/momeala
V2	2-etil-hexanol	1	0,5 mg/momeala
V3	acid butyric : acid izobutiric : acid izovalerianic	1 : 1 : 1	0,5 mg/momeala

Capturi adulti Varroa pe fund incleiat Stupina 1

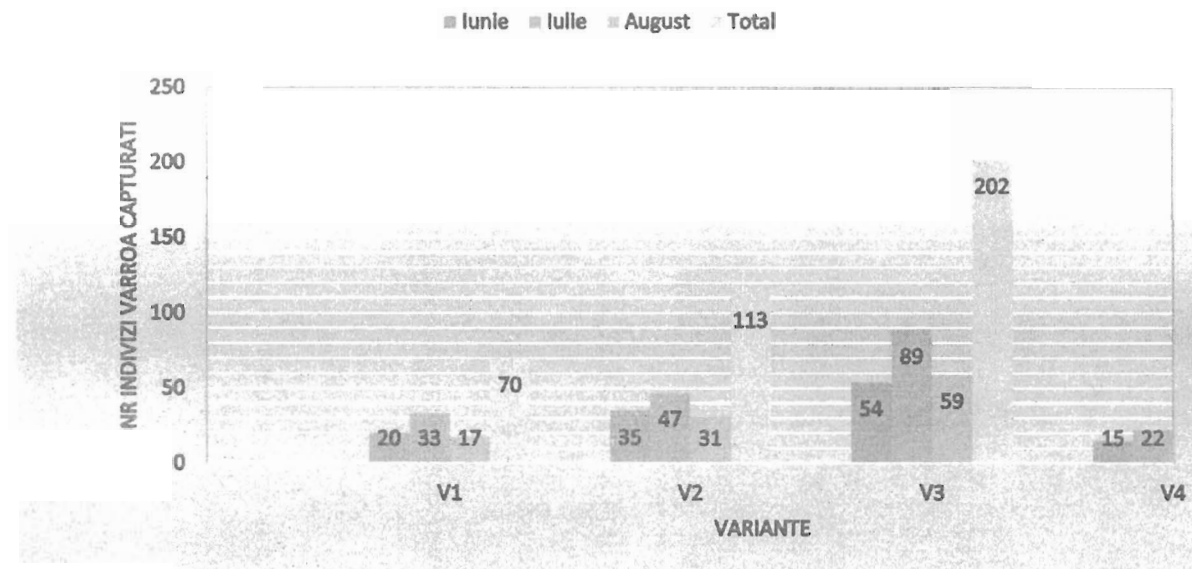


Figura 2 Atractivitatea variantelor propuse pentru capturarea parazitilor Varroa din 4 stupi Stupina 1

Capturi adulti Varroa pe fund incleiat stupina 2

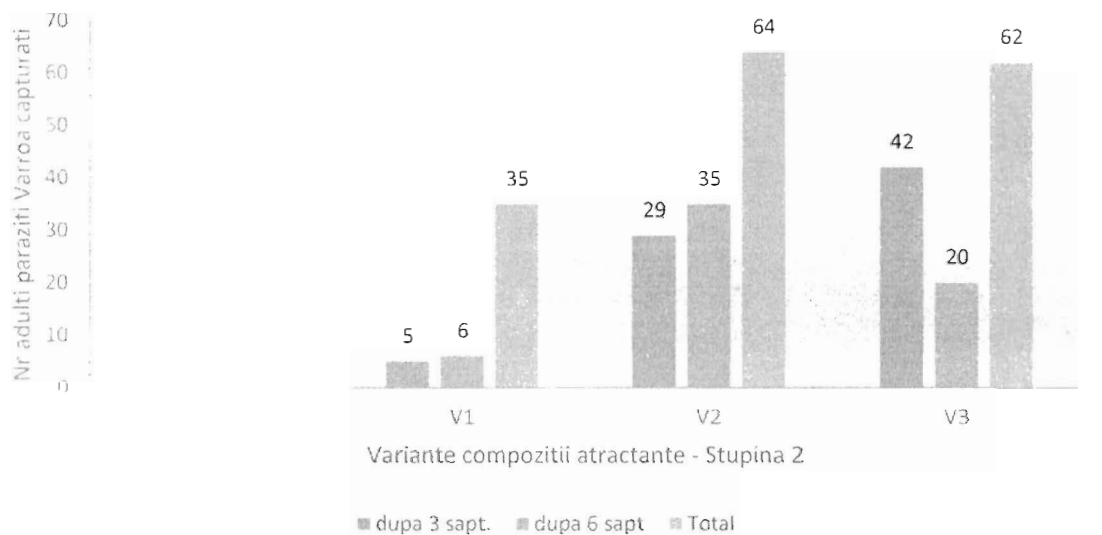


Figura 3 Atractivitatea variantelor propuse pentru capturarea parazitilor din 3 stupi Stupina 2



Figura 2 Colectarea prin tehnica SPME
a volatilelor emise de adulti *Varroa destructor* colectati din stup

Tabelul 2 GC-MS COV emise de adulti *Varroa Destructor*

Nr crt.	Timp retenție	Compuși identificați	Spectrul de masă
1.	4.065	2,3-Butandiol	SM (m/z %): 90 (1.25); 45(100)
2.	5.531	O-xilen	SM (m/z %): 106 (55); 91(100)
3.	6.042	Metoxi-fenil-oximă	SM (m/z %): 151 (65); 133 (100)
4.	7.542	2-Octanonă	SM (m/z %): 128 (6.25); 43 (100)
5.	8.197	2-etil-1-hexanol	SM (m/z %): 130 (<1); 57 (100)
6.	8.656	Trans-decahidronaftalenă	SM (m/z %): 138 (<1); 67 (100)
7.	9.284	Undecan	SM (m/z %): 156 (3.75); 57(100)
8.	10.470	DI -mentol	SM (m/z %): 156 (<1); 71(100)
9.	14.015	Cariofilenă	SM (m/z %): 204 (<1); 93(100)
10.	14.251	Cariofilena oxid	SM (m/z %): 220 (<1); 41(100)
11.	14.544	2,6- bis-(1-dimetiletil) - 2,5ciclohexadien-1,4dionă	SM (m/z %): 220(75); 177 (100)
12.	15.567	Ciclopropilnorcarane	SM (m/z %): 136 (<1); 67(100)
13.	16.594	Verbenol	SM (m/z %): 152(5.12); 109(100)
14.	17.032	3-Metil-6-(1-metiletetil)-ciclohexena.	SM (m/z %): 136(95); 79(100)
15.	19.282	7,9-diterț-butil-1-oxaspiro (4,5) deca- 6,9-diena-2,8-diona.	SM (m/z %): 276(95); 57(100)

Varianta atractantă ca momeală pentru parazitul *Varroa* după experimentările în câmp este compusul 2-etil-hexanol (V2).

Compusul **2-etil-hexanol** V2 a fost găsit prin analiza SPME-GC-MS atât în volatilele emise de adulții *Varroa* vii colectați din stup (Tab. 1, Figura 7), cât și în volatilele emise de puietul de trântor (Tab. 1, Figura 8)

Tabelul 1 GC-MS COV emise de adulți *Varroa Destructor*



Nr crt.	Timp retenție	Compuși identificați	Spectrul de masă
1.	4.065	2,3-Butandiol	SM (m/z %): 90 (1.25); 45(100)
2.	5.531	O-xilen	SM (m/z %): 106 (55); 91(100)
3.	6.042	Metoxi-fenil-oximă	SM (m/z %): 151 (65); 133 (100)
4.	7.542	2-Octanonă	SM (m/z %): 128 (6.25); 43 (100)
5.	8.197	2-etil-1-hexanol	SM (m/z %): 130 (<1); 57 (100)
6.	8.656	Trans-decahidronaftalenă	SM (m/z %): 138 (<1); 67 (100)
7.	9.284	Undecan	SM (m/z %): 156 (3.75); 57(100)
8.	10.470	DI –mentol	SM (m/z %): 156 (<1); 71(100)
9.	14.015	Cariofilenă	SM (m/z %): 204 (<1); 93(100)
10.	14.251	Cariofilena oxid	SM (m/z %): 220 (<1); 41(100)
11.	14.544	2,6- bis-(1-dimetiletil) - 2,5ciclohexadien-1,4dionă	SM (m/z %): 220(75); 177 (100)
12.	15.567	Ciclopropilnorcarane	SM (m/z %): 136 (<1); 67(100)
13.	16.594	Verbenol	SM (m/z %): 152(5.12); 109(100)
14.	17.032	3-Metil-6-(1-metiletenil)- ciclohexena.	SM (m/z %): 136(95); 79(100)
15.	19.282	7,9-diterț-butil-1-oxaspiro (4,5) deca-6,9-diena-2,8-diona	SM (m/z %): 276(95); 57(100)

Figura 7 Colectarea tehnica SPME a volatilelor emise de adulți *Varroa destructor* colectati din stup

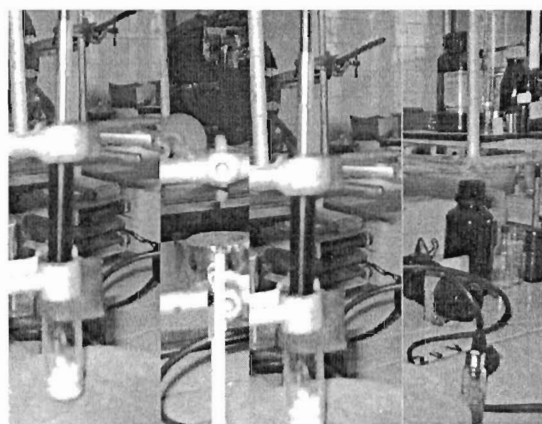


Figura 8 Prelevare puiet de trântor din stup si analiza cu tehnica SPME – GC-MS

Nr crt.	Timp de retenție	Compuși identificați	Spectrul de masă
1.	5.556	p-Xilen	SM (m/z %): 106 (55); 91(100)
2.	6.094	Metoxi-fenil-oximă	SM (m/z %): 151 (65); 133 (100)
3.	7.794	6-metil – 5-hepten-2-onă	SM (m/z %): 126 (12.5); 43 (100)
4.	7.564	4-Etil-2,2,6,6-tetrametil-heptan	SM (m/z %): 126 (12.5); 43 (100)
5.	8.171	2-etil-1-hexanol	SM (m/z %): 130 (<1); 57 (100)
6.	8.496	Beta-ocimen	SM (m/z %): 136 (6.25); 93 (100)
7.	9.172	3-Metil-4-decenă	SM (m/z %): 154 (1.25); 57 (100)
8.	9.289	Undecan	SM (m/z %): 156 (3.75); 57(100)
9.	9.376	Nonanal	SM (m/z %): 142 (<1); 57 (100)
10.	9.566	Acid-2-etil hexanoic	SM (m/z %): 144(<1); 73 (100)
11.	10.338	3-etil-benzaldehidă	SM (m/z %): 119 (55); 134(100);
12.	10.470	DI -mentol	SM (m/z %): 156 (<1); 71(100)
13.	10.694	Naftalena	SM (m/z %): 127 (11.25); 128(100)
14.	10.807	Dodecan	SM (m/z %): 170 (5.12); 170(100)
15.	10.911	Decanal	SM (m/z %): 156 (< 1); 43(100)
16.	11.010	2,6-Dimetil-undecan	SM (m/z %): 184 (< 1); 57 (100)
17.	11.856	2,6,11-Trimetil-dodecan	SM (m/z %): 212(< 1); 57 (100)
18.	11.960	Pentil-hexanoate	SM (m/z %): 186(< 1); 70(100)
19.	12.120	2Z-Tridecenă	SM (m/z %): 182(5.20); 41 (100)
20.	12.229	Tridecan	SM (m/z %): 184(5.20); 57 (100)
21.	12.294	Eicosanol	SM (m/z %): 298(<1); 57 (100)
22.	13.568	Tetradecan	SM (m/z %): 198(5.20); 57 (100)
23.	13.707	Dodecanal	SM (m/z %): 184(<1); 41 (100)
24.	14.288	6,10-dimetil-5,9-undecadien-2-one	SM (m/z %): 194(<1); 43 (100)
25.	14.554	2,6-bis-(1-dimetiletil)-2,5 – ciclohexa-dien -1,4-di- onă	SM (m/z %): 220(75); 177 (100)
26.	14.743	1-Z-Pentadecenă	SM (m/z %): 210(10.25); 41 (100)
27.	16.031	Hexadecan	SM (m/z %): 226(2.60); 57 (100)
28.	16.204	Tetradecanal	SM (m/z %): 212(2.60); 57(100)
29.	18.194	Octadecan	SM (m/z %): 254(11.25); 57(100)
30.	19.035	Nonadecan	SM (m/z %): 269(2.03); 57 (100)
31.	19.746	Eicosan	SM (m/z %): 282(<1); 57 (100)

Tabel 2 Compuși Organici Volatili identificați în tehnica SPME-GC-MS din puiet de trântor

Dovedit attractant în testele din câmp (Figura 3) putem considera acest compus 2-etil-hexanol ca **feromon de agregare** al parazitului Varroa, utilizabil în tehnici de management integrat pentru protecția stupului.

Avantajele acestei tehnici de protecție utilizând produsul capcana cu momeli pentru Varroa, produs eco-friendly, are mare potențial economic de piață, datorită efectelor :

- ⇒ nu afectează albinele, produsele stupului sau sănătatea apicultorului ca în cazul tratamentelor chimice
- ⇒ scade populația dăunătorului în stup, astfel că acesta nu ajunge în celulele cu puiet unde hrănindu-se cu materialul larvar generația nouă de albine nu poate să se dezvolte normal
- ⇒ nu creează rezistență
- ⇒ reducerea tratamentelor aplicate în stup,
- ⇒ reducerea mortalității coloniilor de albine datorată parazitului,
- ⇒ creșterea productivității stupului, creșterea calității mierii și a produselor aferente stupului care nu vor mai avea încărcătura toxică dată de insecticidele convenționale

Geneșca

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

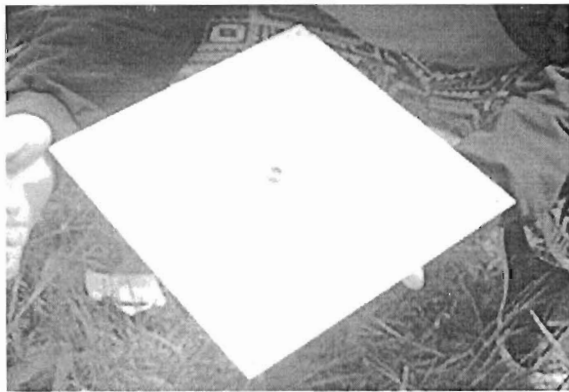
1. Anderson D.L., Trueman J.W., *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species, *Exp Appl Acarol*, **2000**, 24(3), 165-89.
2. Chandler, D., K.D. Sunderland, B.V. Ball & G. Davidson,. Prospects of biological control agents of *Varroa destructor* n. sp., an important pest of the European honey bee, *Apis mellifera*, *Biocontrol Science and Technology*, **2001**, 11: 429-448.
3. Faucon J.P., La varroase, une situation alarmante. Apiservices, Ministry of Agriculture of New Zealand, **2002**, La Santé de l'Abeille, FNOSAD
4. Frazier, M., Mullin, C., Frazier, J., Ashcraft, S., What have pesticides got to do with it? *American Bee Journal*, **2008**, 148 (6), 521-523
5. García-Fernández P., Santiago-Álvarez C., Quesada-Moraga E. Pathogenicity and thermal biology of mitosporic fungi as potential microbial control agents of *Varroa destructor* (Acari: Mesostigmata), an ectoparasite mite of honey bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), *Apidologie*, **2008**, 39, 662–673.
6. Guzman L.I., Rinderer T.E., Identification and comparison of Varroa species infesting honey bees, *Apidologie*, **1999**, 30 (2-3), 85-95
7. Guzmán-Novoa E., Eccles L., Calvete Y., McGowan J., Kelly G. P., Correa-Benítez A., *Varroa destructor* is the main culprit for the death and reduced populations of overwintered honey bee (*Apis mellifera*) colonies in Ontario, Canada, *Apidologie*, **2010**, 41(4), 443–450
8. Kraus. B., Effects of honey-bee alarm pheromone compounds on the behaviour of *Varroa jacobsoni*, *Apidologie*, 1990, 21(2), 127-134
9. Meikle WG, Mercadier G, Girod V, Derouane, F, Jones WA, Evaluation of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycota: Hyphomycetes) strains isolated from Varroa mites in southern France. *J Apic Res*, **2006**, 45:219-220
10. Meikle, W.G., Sammartaro, D., Neumann, P. and Pflugfelder, J.. Challenges for developing pathogen-based biopesticides against *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae). *Apidologie*, **2012**, 43: 501–514.
11. Steenberg, T; Kryger, P; Holst, N. A scientific note on the fungus *Beauveria bassiana* infecting *Varroa destructor* in worker brood cells in honey bee hives. *Apidologie* **2010**, 41: 127-128
12. VanEngelsdorp D, Evans JD, Saegerman C, Mullin C, Haubruge E, Nguyen BK, et al. Colony Collapse Disorder: A Descriptive Study. *PLoS ONE*, **2009**, 4(8):e6481,1-17
13. Welsh, J., Mites and Virus Team Up to Wipe Out Beehives, *Live Science*, 7 June **2012**
14. Yoder Jay, Sammartaro D., Potential to control Varroa mites (Acari: Varroidae) using chemical ecology, *International Journal of Acarology*, **2003**, 29(2):139-143
15. Ziegelmann B., Tolasch T., Johannes L. Steidle, M., Rosenkranz P., The mating behavior of *Varroa destructor* is triggered by a female sex pheromone. Part 2: Identification and dose-dependent effects of components of the Varroa sex pheromone, *Apidologie* (**2013**) 44:481–490
16. Ziegelmann, B., Rosenkranz, P., Pheromone composition for treating Varroa mite infestation, EP 2695517A112, februarie **2014**

7

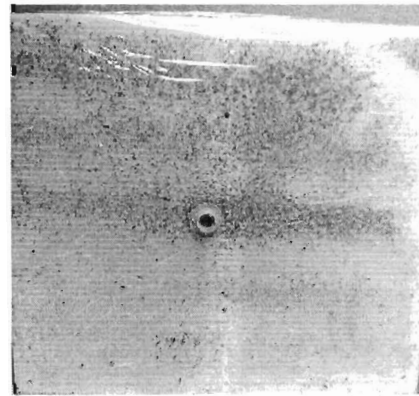
REVENDICĂRI

1. Metoda de combatere a acarianului *Varroa destructor* dăunător al albinelor *Apis mellifera*, prin capturarea parazitului utilizând o compoziție atractantă și anume compusul 2-etil-hexanol
2. Metodă conform revendicării 1 în care momeala atractantă este reprezentată de un dop de cauciu în care este condiționat compusul 2-etil-hexanol
3. Metodă conform revendicării 1, în care paraziții *Varroa destructor* sunt atrași într-o capcană reprezentată de o placă din plastic, albă, cu dimensiuni 25x 25 cm, având suprafața superioară lipicioasă, acoperită cu clei, pe care se lipește momeala atractantă. Placa lipicioasă cu momeala atractantă se instalează pe fundul stupului.

Henegea



a



b

Figura 1 Placa înleiată cu momeala condiționată pe dop de cauciuc

(a) pregătită de instalare

(b) scoasă din stup pentru analiză



Heueya

Capturi adulti Varroa pe fund incleiat Stupina 1

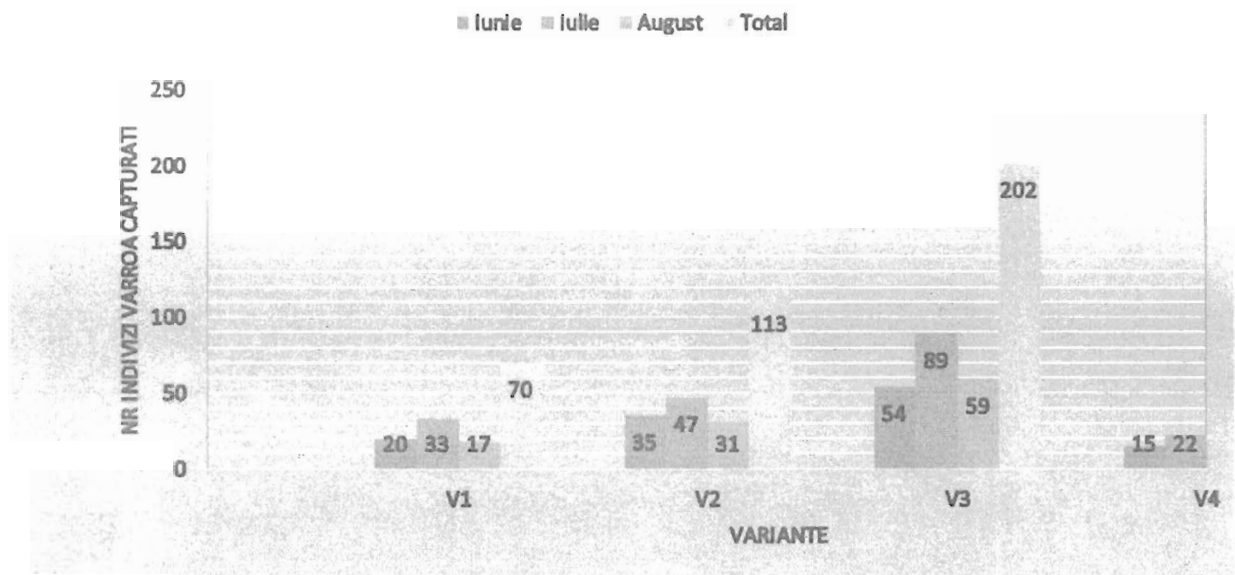
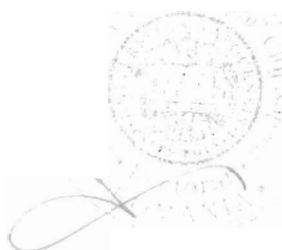


Fig.2 Atractivitatea variantelor propuse pentru capturarea parazitilor Varroa din 4 stupi Stupina 1



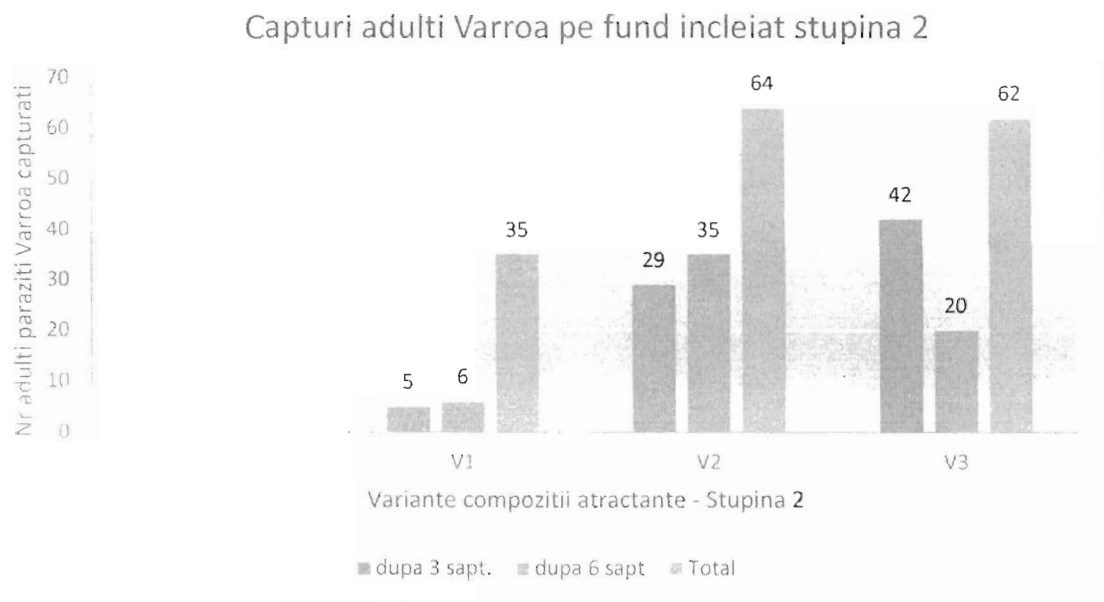


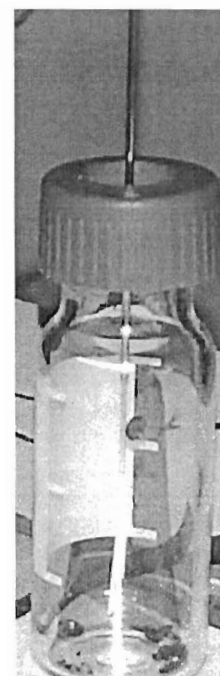
Fig.3 Atractivitatea variantelor propuse pentru capturarea parazitilor Varroa din 3 stupi Stupina 2



Figura 7 Colectarea prin tehnica SPME
a volatilelor emise de adulti *Varroa destructor* colectati din stup

Tabelul 1 GC-MS COV emise de adulti Varroa Destructor

Nr crt.	Timp retenție	Compuși identificați	Spectrul de masă
1.	4.065	2,3-Butandiol	SM (m/z %): 90 (1.25); 45(100)
2.	5.531	O-xilen	SM (m/z %): 106 (55); 91(100)
3.	6.042	Metoxi-fenil-oximă	SM (m/z %): 151 (65); 133 (100)
4.	7.542	2-Octanonă	SM (m/z %): 128 (6.25); 43 (100)
5.	8.197	2-etil-1-hexanol	SM (m/z %): 130 (<1); 57 (100)
6.	8.656	Trans-decahidronaftalenă	SM (m/z %): 138 (<1); 67 (100)
7.	9.284	Undecan	SM (m/z %): 156 (3.75); 57(100)
8.	10.470	DI –mentol	SM (m/z %): 156 (<1); 71(100)
9.	14.015	Cariofilenă	SM (m/z %): 204 (<1); 93(100)
10.	14.251	Cariofilena oxid	SM (m/z %): 220 (<1); 41(100)
11.	14.544	2,6- bis-(1-dimetiletil) - 2,5ciclohexadien-1,4dionă	SM (m/z %): 220(75); 177 (100)
12.	15.567	Ciclopropilnorcarane	SM (m/z %): 136 (<1); 67(100)
13.	16.594	Verbenol	SM (m/z %): 152(5.12); 109(100)
14.	17.032	3-Metil-6-(1-metiletetil)- ciclohexena.	SM (m/z %): 136(95); 79(100)
15.	19.282	7,9-diterț-butil-1-oxaspiro (4,5) deca-6,9-diena-2,8-diona	SM (m/z %): 276(95); 57(100)



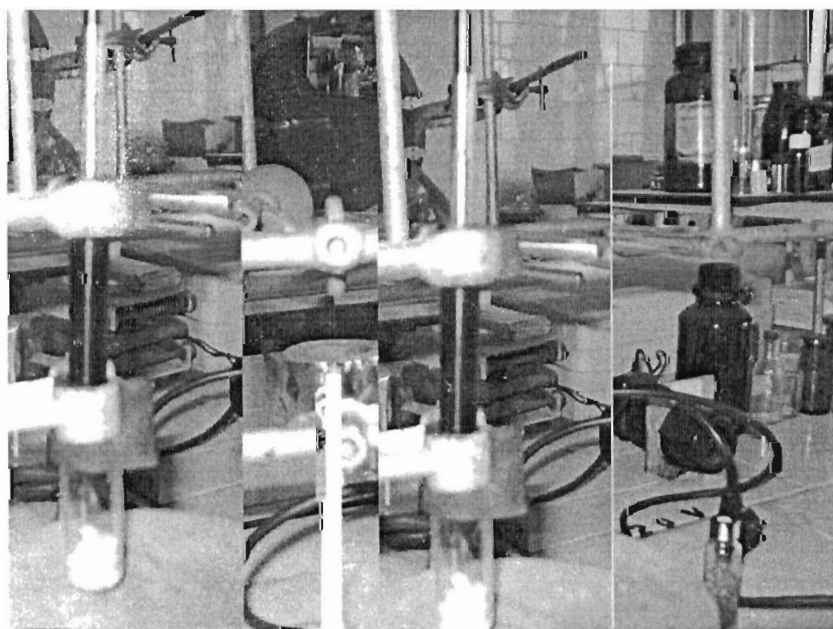


Fig.7 Prelevare puiet de trântor din stup si analiza cu tehnica SPME – GC-MS

