(19) OFICIUL DE STAT
PENTRU INVENŢII ŞI MĂRCI
Bucureşti

ROMÂNIA

(11) **RO 134732 A2**
(51) **Int.Cl.**
A01N 25/02 (2006.01)

(12) # CERERE DE BREVET DE INVENŢIE

(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, BUCUREŞTI, B, RO*

(72) Inventatori:
• **SICEANU ADRIAN**, *STR. RECONSTRUCŢIEI NR. 6, BL. 28, SC. 2, ET. 1, AP. 50, SECTOR 3, BUCUREŞTI, B, RO;*
• **CĂUIA ELIZA**, *STR. LUGOJ NR. 11, SECTOR 1, BUCUREŞTI, B, RO;*
• **VIŞAN GABRIELA OANA**, *STR.SOFIA NR.40, OTOPENI, IF, RO;*
• **CĂUIA DUMITRU**, *STR.LUGOJ NR.11, SECTOR 1, BUCUREŞTI, B, RO*

(54) # PRODUS DE UZ VETERINAR PENTRU COMBATEREA VARROOZEI ŞI PROCEDEE DE APLICARE

(57) **Rezumat:**

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

a) fagurii cu puiet căpăcit sunt scuturaţi şi periaţi de albina acoperitoare în familia de origine, se sprijină cu speteaza superioară în jos, înclinat înspre utilizator într-un unghi de 70...80° şi se aplică cu o pensulă produsul de tratament prin pensularea, cu o uşoară presare, a suprafeţei puietului căpăcit, prin mişcări stânga - dreapta, astfel încât toate celulele cu puiet căpăcit să fie acoperite cu substanţa de tratament, după care se repetă aceeaşi operaţie pe cealaltă faţă a fagurelui cu puiet căpăcit, se menţin 15...20 minute într-un alt corp de stup fiind reintroduşi ulterior în familia de origine,

b) fagurii cu puiet căpăcit sunt trataţi într-un spaţiu închis, cu presiune controlată, saturat cu vapori din produsul veterinar, astfel încât să asigure o evaporare rapidă şi o saturaţie a aerului din spaţiul închis cu vapori din substanţele active, prin aplicarea unei tehnici care asigură o diferenţă de presiune între presiunea normală a aerului şi cea realizată în incintă, ceea ce ajută la trecerea rapidă a vaporilor prin porii căpăcelului în celule, până la echilibrarea presiunii din celule şi din afara lor, asigurând astfel intrarea unei cantităţi suficiente de substanţe active în celulele căpăcite pentru tratament.

Revendicări: 4
Figuri: 2

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecţia conferită potrivit dispoziţiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepţia cazurilor în care cererea de brevet de invenţie a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecţiei conferite de cererea de brevet de invenţie este determinată de revendicările conţinute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).

RO 134732 A2

„PRODUS DE UZ VETERINAR PENTRU COMBATEREA VARROOZEI ŞI PROCEDEE DE APLICARE"

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

Cercetările au fost generate de necesitatea realizării unui produs de uz veterinar care să sporească eficienţa în combaterea varroozei, produs care să acţioneze asupra parazitului aflat în diverse stadii de dezvoltare şi reproducţie în celulele cu puiet căpăcit, dar şi pe albina adultă, precum şi a procedeelor de aplicare.

La ora actuală, managementul combaterii varroozei presupune, în special, combaterea acarianului *Varrooa destructor* care se află pe indivizii adulţi (albine lucrătoare şi trântori), prin utilizarea de substanţe chimice de sinteză, care acţionează 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 supravieţui acestui parazit. Transferul acestui acarian, începand cu anii `70, la specia *A. mellifera*, care s-a extins foarte rapid pe mai toate continentele (exceptand Australia şi Noua Zeelandă) a pus apicultura modernă în mare impas, conducând la pierderi economice foarte mari şi devenind problema majoră a apiculturii actuale. Combinarea varroozei cu infecţiile secundare asociate (în special cele virale), prin faptul că *Varroa destructor* este vector al acestora, sporeşte impactul negativ al acestei parazitoze.

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

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

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENŢII ŞI MĂRCI
Cerere de brevet de invenţie
Nr. a 2019 00483
Data depozit 07-08-2019

În incercarea 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 sa le aibă în vedere: efectuarea de tratamente costisitoare, după scheme diverse şi complexe, rezistența acarianului la acaricidele utilizate, dar şi poluarea produselor apicole.

Din aceste motive, cercetarea apicolă, la nivel mondial, s-a axat în ultimii ani pe gasirea altor metode, tehnici si 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 şi 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 şi perioada din an, utilizarea anumitor practici tehnologice aşa 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 şi îmbunatățirea metodelor de management a familiilor de albine (alimentație, tehnici de întreținere, roire artificială etc) şi de produse noi de tratament.

În ceea ce privește biologia acarianului, femela adultă măsoară aproximativ 1,1 mm lungime şi 2,6 mm lățime, cântăreşte 0,14 mg şi are culoare maron-roşcat. Masculii sunt mult mai mici şi mai slab colorați (slab pigmentați) şi 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 şi sternitele abdominale ale albinei.

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

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

Ciclul de viaţă se desfăşoară doar în familia de albine şi are două faze: faza foretică (de mişcare şi hrănire în vederea reinfestării celulelor) care are loc pe albina adultă şi faza reproductivă –care se desfăşoară întotdeauna in interiorul celulelor cu puiet căpăcit.

Pentru a se înmulţi, femela adultă împerecheată intră într-o celulă cu puiet, chiar înainte de a fi capacită (atât în puietul de trântor cât şi 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 sa depună primul ou din care va ieşi de obicei un mascul şi 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 şi de 7-8 zile pentru femelele de acarian, perioadă în care se disting două faze: faza de protonimfă şi 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 şi viaţa acestuia sunt limitate doar la interiorul celulei cu puiet. Prin existenţa doar a unui mascul, acarianul îşi creşte şansele de a se înmulţi în familia de albine (rezultând mai multe femele).

Rata de înmulţire obişnuită (nr. de femele adulte rezultate) este de 1,7-2 ori în puietul de lucrătoare şi 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 şi cantitatea de puiet a unei familii de albine influenţează numărul acarienilor, de aceea un tratament facut eficient la momentul potrivit poate reduce semnificativ numărul acarienilor.

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

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

- Scaderea semnificativă a populaţiei de albine adulte, eventual existenţa unui număr redus de albine moarte pe fundul stupului.
- Apariţia de albine adulte cu aripi şi abdomen deformate.

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

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

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

Este important de menţionat că celulele cu puiet larvar, la 6 zile de la ieşirea larvei din ou, este căpăcit cu ceară de către albinele lucrătoare. Acest fenomen este generat de necesitatea prevenirii căderii larvei care în momentul îngogoşării se mişcă intens în celulă (Siceanu A, 1996). Din momentul căpăcirii şi 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 îşi începe ciclul reproductiv prin părăsirea unei albine adulte şi intrarea într-o celulă ncăpăcită ce conţine o larvă de trântor sau de lucrătoare în vârstă de 5 până la 5,5 zile. Pot intra mai multe femele în aceeaşi celulă. Odată intrată, femela parazit se îndreaptă la baza celulei unde se află hrana larvară. Ea consumă din această hrană şi rămâne acolo cu partea ventrală orientată către deschiderea celulei.

Când celula este căpăcită şi 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 desfăşoară în interiorul celulelor cu puiet, închise ca urmare a acestui comportament de căpăcire.

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

În ceea ce priveşte utilizarea acidului formic, produs care asigură o anumită eficienţă şi 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 reuşit realizarea unor produse şi tehnici care să asigure o penetrare suficientă a căpăcelelor şi combaterea acarianului în celulele cu puiet căpăcit, fără intervenţii asupra căpăcelului, într-un interval de timp scurt, ca de ex. metodă de descăpăcire şi aplicare de tratamente (Siceanu A, 1996, 2017).

Majoritatea medicamentelor existente (acaricide) sunt pe bază de pesticide, acizi organici sau uleiuri volatile şi sunt realizate prin impregnare pe suporţi de plastic, textil, celulozic care se introduc în familia de albine, unde se menţin o perioada de timp intre 7-30 zile, în funcţie de produs. Substanţele active se dispersează, în intervale de timp diferite, prin contactul direct dintre albine şi materialele impregnate cu acaricid sau prin prin volatilizare/fumigaţie în tot volumul stupului şi acţionează în special asupra paraziţilor aflaţi pe albine şi doar în foarte mică măsura asupra celor aflaţi în puietul căpăcit.

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

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

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

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

În acest sens, prin teste şi cercetări proprii s-a constatat că **produsul nou realizat** şi aplicat prin procedeele care fac obiectul prezentei cereri de brevet de invenţie asigură o eficienţă mare antivarroa (80-100% din celulele infestate conţinând acarieni în diverse stadii de dezvoltare fiind morţi), scurtând foarte mult timpul de aplicare şi de acţiune asupra parazitului, acţionând doar asupra paraziţilor aflaţi în puietul căpăcit, fără a afecta puietul tratat, de albină lucrătoare sau trântor.

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

Invenţia înlătură toate dezavantajele utilizării produselor şi tehnicilor convenţionale, aplicate sau studiate până în prezent, prin aceea că substanţele utilizate în produsul care face obiectul prezentei cereri de brevet de invenţie sunt admise ca nepoluante, nu favorizează dezvoltarea rezistenţei acarianului *Varroa destructor* şi nu necesită intervenţii cu impact negativ economic asupra familiei de albine ca de exemplu, eliminarea puietului de trântor, eliminarea puietului de albine lucrătoare (vidarea cuibului) sau întreruperea pontei mătcii prin izolarea în cuşti specifice până la 24 de zile, în vederea aplicării

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

Produsul nou are la bază utilizarea următoarelor ingrediente, în proporţii diferite şi concentraţii 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 componenţa produsului care face obiectul prezentei cereri de brevet de invenţie sunt bine cunoscute şi studiate în literatura de specialitate, dar, din cercetări documentare, nu există un produs similar, cu eficienţa combinativă a celor doi acizi şi a substanţelor din plante, atât prin aplicarea cu metode clasice de lucru cât şi prin procedurile de aplicare descrise în prezenta cerere de brevet de invenţie.

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

Acidul formic, este un acid organic foarte cunoscut, care se găseşte în natură ca substanţă 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 substanţă de conservare şi agent antimicrobian în diverse industrii. Fiind o substanţă cu un grad ridicat de volatilitate acidul formic s-a dovedit că poate fi utilizat cu succes în controlul varroozei. În apicultură se foloseşte ca atare în realizarea unor medicamente antivarroa, deşi nu se cunoaşte exact modul său de acțiune (sufocare sau inhibarea respirației), prin diverse metode şi dispozitive care presupun tratamentul de termen lung (minim 7 zile).

Un alt avantaj al utilizării acestei substanţe este că nu contaminează fagurii şi alte produse ale stupului, dar şi acela, foarte important, că poate penetra căpăcelul celulelor, care are o structură poroasă, şi 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 şi albine), căpăcelul este o barieră importantă şi necesită o perioadă mare de timp pentru

atingerea unui nivel înalt de eficienţă, fiind în acelaşi timp extrem de repelent şi toxic pentru albine.

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

Un alt dezavantaj al acestui produs este şi acela că acidul formic este o substanţă foarte volatilă, nivelul de volatilizare fiind dependent de temperatura şi umiditatea din spaţiul de tratament. Ca urmare, nivelul vaporilor nu poate fi uşor ţinut constant şi uniform de aceea produsele actuale ce au la bază doar acid formic în anumite concentraţii, se recomandă a fi utilizate doar când temperatura exterioară stupului (ambiantă) 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 eficienţă (60-70%), prin mai multe metode (impregnarea unor materiale textile, geluri, dispensoare de lichid), majoritatea acestor tratamente fiind completate de tratamente convenţionale pentru un control mai eficient. Este important de menţionat că toate aceste metode de utilizare a acidului formic presupun utilizarea pe întreaga familie de albine, cu o perioadă mare de menţinere a substanţei active în familia de albine (minim 7 zile), având efecte nocive asupra albinelor, dezvoltării populaţiei de albine, moartea puietului de albine necăpăcit (foarte tânăr, în primele stadii de dezvoltare) şi chiar moartea mătcilor, în funcţie de concentraţia acestuia şi nivelul de evaporare, care sunt extrem de dificil de menţinut constant.

Acidul acetic concentrat (glacial, alimentar), în concetraţii mici, este utilizat în apicultură, pe scară largă în unele ţări, în nutriţie, pentru acidifierea siropului de stimulare şi completare a rezervelor de hrană, având rol de conservare a siropului şi de mărire a palatabilităţii hranei, dar şi efecte benefice asupra sistemului digestiv. În plus, acidul acetic concentrat se utilizează pentru conservarea fagurilor şi tratamentul unor boli şi dăunători ai fagurilor, când aceştia se depozitează în afara stupilor. Nu este considerat un ingredient poluant al stupului şi 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 invenţie, s-a constatat că dă rezultate extrem de bune în anumite concentraţii.

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

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

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

1. Eficienţă maximă în combaterea varroozei în puietul căpăcit;
2. Minimizarea numărului de tratamente/an la maxim două tratamente;
3. Nu creează rezistenţa parazitului faţă de substanţele active existente în formulă;
4. Ingredientele sunt nepoluante, ieftine şi uşor de procurat;
5. Utilizarea rapidă şi uşor 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 părţi din produsul obţinut: acid formic de concentraţie 85% – 60p (părţi), acid acetic de concentraţie 80% - 25p (părţi), extract de plante medicinale în părţi egale (busuioc – *Ocimum basilicum*, cimbru – *Thymi vulgaris*, mentă – *Mentha piperita*, roinița - *Mellisa officinalis)* – 10 p (părţi), zahăr – 5p (părţi).

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

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

Cele două formule, mai concentrată şi mai puţin concentrată în acid formic, sunt realizate astfel pentru a fi utilizate în două condiţii 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 şi 2 **presupun o activitate inventivă** comparativ cu alte formule existente la nivel naţional sau internaţional prin:

- lipsa unei formule pe piaţa naţională şi internaţională cu ingredientele propuse, în proporţiile şi concentraţiile stabilite, în vederea combaterii varroozei (*Varroa destructor*);
- realizarea unei formule foarte eficiente pentru combaterea varoozei din puietul căpăcit;
- posibilitatea utilizării acestora prin procedeele care fac obiectul prezentei cereri de brevet;
- posibilitatea utilizării acestora pentru combaterea varroozei (*Varroa destructor*) de pe albina lucrătoare adultă, în familia obişnuită, prin procedee clasice (impregnare în elemenţi absorbanţi);
- combinarea a doi acizi organici cu proprietăţi volatile, în proporţiile şi concentraţiile studiate, care acţionează sinergic şi complementar, cu eficienţă foarte mare în combaterea varroozei;
- 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 invenţie) prin combinarea produsului cu procedurile descrise în prezenta cerere de brevet de invenţie;
- reducerea costurilor cu privire la realizarea produsului, ţinând cont că ingredintele sunt relativ ieftine;
- reducerea numărului de tratamente prin combinarea cu procedurile descrise în prezenta cerere de brevet de invenţie la 1-2/an;

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

Aplicabilitate industrială. Produsele rezultate din exemplele numărul 1 şi 2 pot fi realizate la scară industrială şi 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 obţinere constă în amestecul ingredientelor în proporţiile stabilite, în vase de amestec şi spaţii autorizate pentru utilizarea acizilor organici concentraţi.

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 funcţie de situaţia existentă în familia de albine.

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

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

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

În scopul aplicării produsului pe suprafeţele de puiet căpăcit, fagurii cu puiet căpăcit, indiferent de suprafaţa puietului căpăcit sau a existenţei în aceşti faguri a unor suprafeţe cu puiet larvar (necăpăcit), sau hrană (miere şi păstură), sunt scuturaţi şi periaţi de albina acoperitoare în familia de origine, iar fiecare fagure se aşează, 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 tratmentului, cu o pensulă (cu peri de rigiditate medie), de cca 4 cm lăţime, se aplică produsul de tratament şi se pensulează, cu o uşoară presare (pentru a îmbiba căpăcelul cât mai bine cu produs), suprafaţa de puiet căpăcit de pe faţa

fagurelui dinspre utilizator, prin mişcări stânga-dreapta, astfel încât toate celulele cu puiet căpăcit să fie acoperite cu substanţa de tratament. Fagurele se plasează cu speteaza superioară în jos şi se ţine înclinat spre utilizator pentru ca soluţia de tratament să nu se scurgă în celulele necăpăcite în care ar putea exista – ouă, puiet larvar, miere sau păstură, aflate în golurile suprafeţei de puiet căpăcit sau pe marginile acesteia, deci pentru a evita contactul conţinutului celulelor necăpăcite (în special a puietului necăpăcit) care ar putea fi omorât. Pensularea se face cu mişcări stânga-dreapta, pentru a evita acumularea de picături pe marginea de jos a celulelor necăpăcite şi scurgerea în interiorul acestora. După operaţiune, fagurele se întoarce cu faţa tratată în jos şi se scutură cu o mişcare uşoară, dar fermă, astfel încât eventualele picături al produsului de tratament să se desprindă şi să cadă de pe marginile celulelor necăpăcite. Operaţiunea se repetă pe cealaltă faţă a fagurelui dacă există puiet căpăcit.

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

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

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

Pentru utilizarea produsului de tratament este obligatorie purtarea unor mănuşi de protecţie rezistente la acizi şi a unei măşti de protecţie care să nu permită inhalarea vaporilor de acizi.

Fagurii trataţi 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 pensulaţi cu produs se reintroduc în familia de origine, fiind consideraţi trataţi.

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

protonimfe şi deutonimfe ale celor două tipuri de indivizi), fără a afecta dezvoltarea ulterioară a puietului de albine lucrătoare sau trântor şi a indivizilor adulţi rezultaţi. Din cercetări rezultă că cele mai sensibile forme de dezvoltare ale acarianului sunt protonimfele şi deutonimfele, dar şi 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 şi 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 operaţiunea de tratament în sine nu depăşeşte durata unei inspecţii obişnuite a familiei de albine (cca 5 minute), în intervalul de evaporare de cca 15-20 de minute apicultorul putând efectua aceeaşi operaţiune şi 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 funcţie de nivelul de infestare, sau preventiv, având în vedere nivelurile foarte variabile de infestare la familii de albine din aceeaşi stupină. Totuşi se apreciază că momentul optim de tratament poate fi primăvara, când este puţin puiet căpăcit sau/şi în perioada iulie (până în ultima decadă, de preferat după un cules de blocaj, pentru a minimiza suprafaţa de puiet căpăcit), înainte de începerea creşterii albinei de iernare, pentru ca puietul să se dezvolte în condiţii de lipsă a acestei parazitoze şi a infecţiilor virale asociate, pentru ca generaţiile de albine de iernare să fie sănătoase, cu longevitate sporită.

Procedeul nr 2 – Procedeu de aplicare a tratamentului în spaţiu închis, cu presiune controlată, saturat cu vapori din produsul de uz veterinar conform prezentei cereri de brevet de invenţie. Aplicarea procedeului se realizează conform următorului principiu de lucru: într-un spaţiu închis ermetic (o incinta ermetică) (exemplu în fig. 2), care să reziste la presiunea de tratament, în care pot fi introduşi un număr de faguri, după necesităţi (exemplu 5-10 sau mai mulţi), se introduc elemente impregnate cu produsul de uz veterinar, în funcţie de volumul spaţiului, astfel încât să se asigure o evaporare rapidă (suprafaţă mare de evaporare) şi astfel, o saturaţie a aerului, din spaţiul închis, cu vapori din substanţele active, din produsul care face obiectul prezentei cereri de brevet de invenţie. După recoltarea fagurilor cu puiet căpăcit, fără albină, din familia de albine,

aceştia se introduc în acest spaţiu care se închide etanş. Spaţiul închis este prevăzut cu un furtun cu supapă, prin care se poate introduce aer sub presiune, şi un furtun cu manometru exterior care permite măsurarea presiunii din interior. După introducerea fagurilor în incinta închisă ermetic se acţionează o pompă de aer conectată la supapa tubului de admisie, care comunică cu spaţiul interior prin peretele incintei, şi 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 trataţi se reintroduc în familiile de albine. Aplicarea acestei tehnici asigură o diferenţă de presiune dintre presiunea normală a aerului şi cea realizată în incintă, ceea ce ajută la trecerea rapidă a vaporilor prin porii căpăcelului în celule, până la echilibrarea presiunii din celule şi din afara lor. Această tehnică asigură introducerea în celulele cu puiet a unei cantităţi suficiente de substanţe 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 şi 100%. Avantajul acestei proceduri ar fi acela că la un număr foarte mare de faguri nu ar mai fi necesară operaţiunea manuală de pensulare pe fiecare suprafaţă de puiet.

Incinta poate fi prevăzută suplimentar cu un alimentator de vapori din produsul descris în prezenta cerere de brevet de invenţie, pentru situaţiile în care tratamentele se succed rapid şi nu se aşteaptă saturarea aerului din incintă prin evaporarea naturală din elementii îmbibaţi cu produs. Alimentatorul de vapori constă dintr-un vas barbotor în care se introduce produsul de tratament şi care se intercalează pe traseul conductei de alimentare cu aer, fie între supapă şi 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 şi transformat în bule, ce se încarcă cu acid, îmbunătăţind permanent concentraţia de acizi din incinta de tratament.

Cele două proceduri pot fi utilizate combinat în funcţie de suprafaţa de puiet căpăcit şi existenţa puietului larvar necăpăcit pe acelaşi fagure care nu necesită tratament. Se menţionează că puietul larvar necăpăcit, mai ales în primele zile de la ecloziunea din ou, este mai sensibil şi poate fi afectat sau chiar omorât. Pentru a evita această situaţie, această

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

Concomitent cu tratamentul fagurilor se pot trata şi albinele din stup, cu una din cele două formule descrise în prezenta cerere de brevet de invenţie, 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 şi doar 20% pe albinele adulte, de unde şi ineficienţa tratamentelor clasice şi necesitatea efectuării unui număr mare de tratamente la anumite intervale de timp, sau a menţinerii unor substanţe de combatere cu timp lung de acţiune.

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

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

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

REVENDICĂRI

1. Produs de uz veterinar pentru combaterea varoozei **caracterizat prin aceea că** este constituit din 60 părţi acid formic de concentraţie 85%, 25 părţi acid acetic de concentraţie 80%, 10 părţi extract de plante aromatice şi medicinale în părţi egale (busuioc – *Ocimum basilicum*, cimbru – *Thymi vulgaris*, mentă – *Mentha piperita*, roiniţa - *Mellisa officinalis)*, 5 părţi zahăr.
2. Produs de uz veterinar pentru combaterea varoozei **caracterizat prin aceea că** este constituit din 60 părţi acid formic de concentraţie 65%, 25 părţi acid acetic de concentraţie 80%, 10 părţi extract de plante extract de plante aromatice şi medicinale în părţi egale (busuioc – *Ocimum basilicum*, cimbru – *Thymi vulgaris*, mentă – *Mentha piperita*, roiniţa - *Mellisa officinalis)*, 5 părţi zahăr.
3. Procedeu de aplicare a produsului de uz veterinar conform revendicărilor 1 sau 2 **caracterizat prin aceea că** fagurii cu puiet căpăcit, preluaţi din familia de albine, sunt trataţi prin pensulare cu produsul veterinar, astfel că fagurii cu puiet căpăcit, scuturaţi şi periaţi de albina acoperitoare în familia de origine, se sprijină cu speteaza superioară în jos, înclinat înspre utilizator, într-un unghi de cca 70-80° şi se aplică cu o pensulă produsul de tratament prin pensularea, cu o uşoară presare, a suprafaţei puietului căpăcit pe faţa dinspre utilizator, prin mişcări stânga-dreapta, astfel încât toate celulele cu puiet căpăcit să fie acoperite cu substanţa de tratament, după care se menţine uşor înclinat spre utilizator pentru ca soluţia de tratament să nu se scurgă în celulele necăpăcite, unde există puiet larvar care ar putea fi omorât, după care aceeaşi operaţiune se repetă şi pe cealaltă faţă a fagurelui cu puiet căpăcit, dar şi pentru fiecare fagure cu puiet căpăcit din familia de albine, fagurii trataţi fiind menţinuţi în continuare încă 15-20 de minute într-un corp de stup sau în orice altă cutie specifică, fiind ulterior reintroduşi 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 preluaţi din familia de albine sunt trataţi în spaţiu închis, cu presiune controlată, saturat cu vapori din produsul veterinar conform revendicărilor 1 sau 2 prin introducerea unui număr de faguri, după necesităţi şi a unor elemente impregnate cu produsul de uz veterinar, în funcţie de volumul spaţiului, astfel încât să se asigure o evaporare rapidă şi astfel, o saturaţie a aerului, din spaţiul închis, cu vapori din substanţele active, prin aplicarea unei tehnici ce asigură o diferenţă de presiune dintre presiunea normală a aerului şi cea realizată în incintă, ceea ce ajută la trecerea rapidă a vaporilor prin porii căpăcelului în celule, până la echilibrarea presiunii din celule şi din afara lor, asigurând astfel o cantitate suficientă de substanţe active din aerul saturat, în celulele căpăcite pentru tratament.

Desene

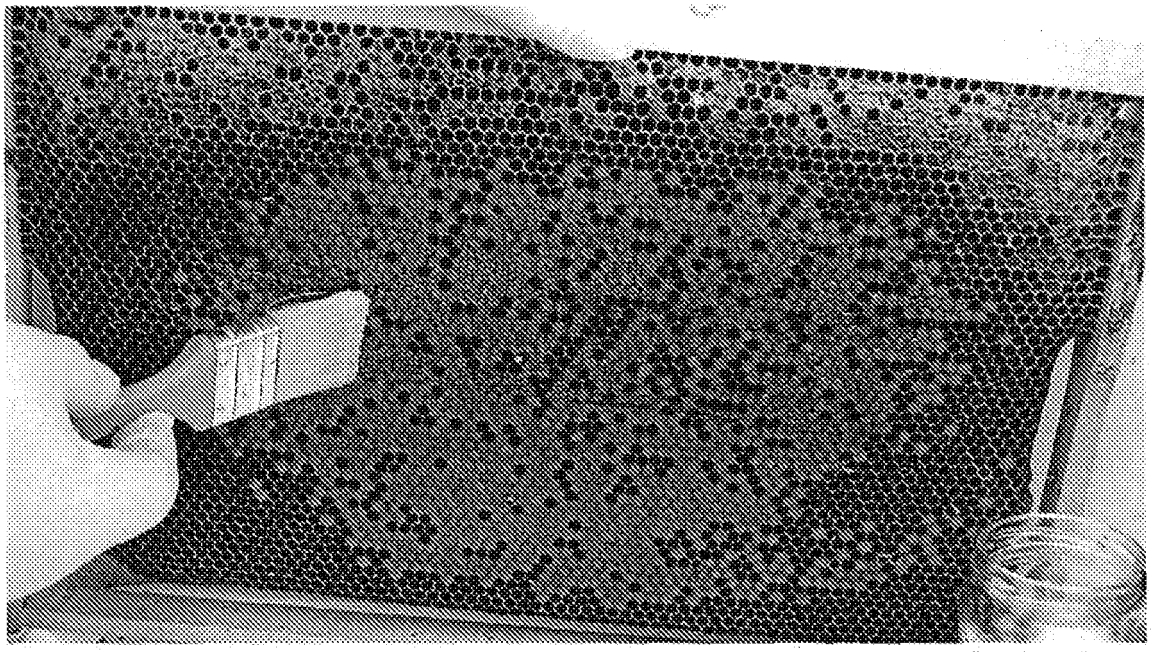


Fig. 1. Procedeu de aplicare a tratamentului prin pensularea suprafeţelor de puiet căpăcit cu produsul de uz veterinar pentru combaterea varroozei

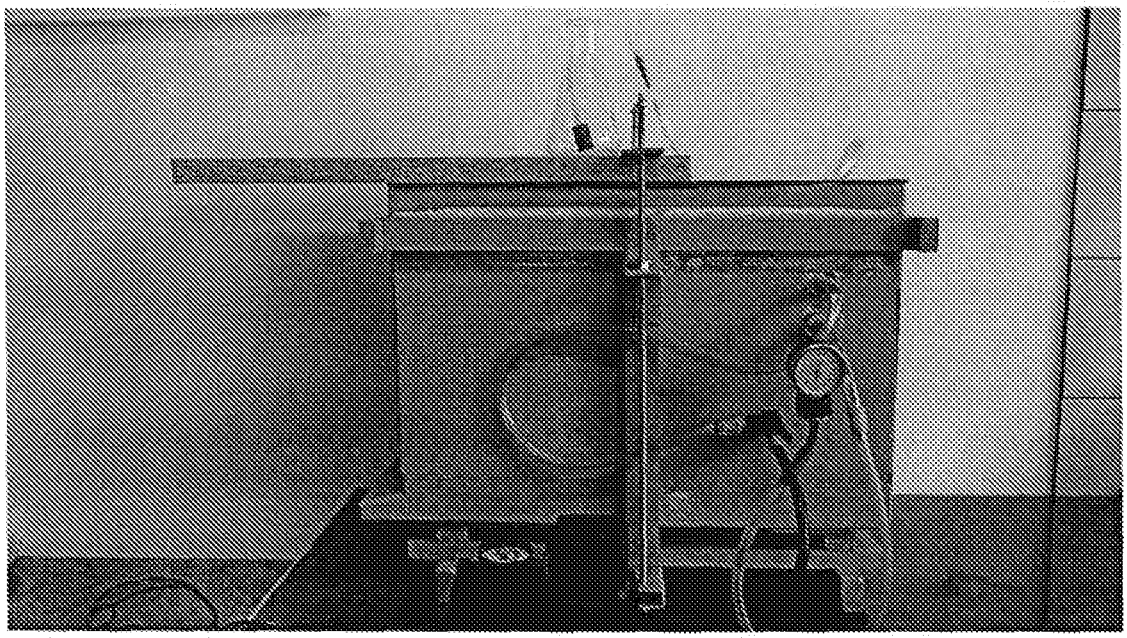


Fig. 2. Procedeu de aplicare a tratamentului în spaţiu închis, cu presiune controlată, saturat cu vapori din produsul de uz veterinar pentru combaterea varroozei