

Настоящее изобретение касается способа борьбы с заражением (инвазией) пчелиных семей клещами, чешуекрылыми, грибами и бактериями, а также композиций для борьбы с заражением, подходящих для такой цели.

Варроатоз представляет собой заражение семей европейских медоносных пчёл (*Apis mellifera*) эктопаразитическими клещами, относящимися к отряду акарид (*Varroa jacobsoni*).

Клещ *Varroa* произошел из Азии и оттуда распространился практически во все страны, в которых практикуется разведение пчёл *A. mellifera*.

Кроме того, заражение другими клещами, как например заражение видами *Acarapis woodi* (трахеальным клещом) и *Tropilaelaps clareae*; заражение чешуекрылыми, как например заражение большой и малой восковой молью, *Galleria mellonella* и *Achroia grisella*, соответственно, заражение двукрылыми, как например заражение пчелиной вошью, *Braula caeca*, грибковые инфекции, такие как инфекции грибка - возбудителя болезни "меловой рой" (*Chalk Brood*), *Ascosphaera apis*, и бактериальные инфекции, такие как инфекции возбудителей болезней "американский и европейский гнилец- пчёл", *Bacillus larvae* и *Melissococcus pluton*, соответственно, могут наносить значительный ущерб здоровью пчелиной семьи.

Клещи *Varroa* питаются гемолимфой развивающихся пчёл, а также взрослых особей, и могут привести к остановке роста пчёл, заражению и гибели пчелиных семей. Фактически, заражение клещами *Varroa* является сегодня наиболее серьёзной опасностью для пчеловодства во всём мире.

Для борьбы с этим заболеванием доступны различные виды обработки. Однако, в некоторых регионах Южной Европы клещ *Varroa* выработал устойчивость к активному ингредиенту некоторых из этих различных видов обработки, в особенности к продуктам, основанным на пиретроидах флуметрине, флувалинате и акринатрине, а также к кумафосу, амитразу, малатиону, цимиазолгидрохлориду, хлорфенвинфосу, бром-пропилату, фенпироксимату и родственными соединениями.

В настоящее время установлено, что с различными заболеваниями в пчелиных ульях можно эффективно бороться путём применения в пчелиных ульях эффективного количества эфирного масла в составе с замедленным выделением.

Соответственно, настоящее изобретение обеспечивает способ борьбы с заражением семей медоносных пчёл клещами, чешуекрылыми, грибами и бактериями, который включает применение эффективного количества эфирного масла, входящего в состав с замедленным выделением, в месте обитания пчелиных семей.

С точки зрения цели настоящего изобретения под местом обитания пчелиных семей обычно понимают, но не ограничиваясь этим, пчелиные ульи или аналогичные им контейнеры, в которых пчелиные семьи строят свои места размножения и хранят запасы пищи, как например медовые соты.

Подразумевается, что понятие "эфирное масло" включает масла, которые могут быть экстрагированы из растения, или их существенный компонент, который иногда может оказаться твёрдым веществом, и органические кислоты. Примерами эфирных масел являются монотерпены, подобные ментолу, гараниолу, тимолу, мирцену, цитралю, лимонену, карену, камфоре, эвгенолу или цинеолу (эвкалиптолу); природные масла, подобные лимонному маслу, эвкалиптовому маслу или нимовому маслу (*neem oil*); или органические кислоты, подобные муравьиной кислоте, уксусной кислоте или щавелевой кислоте. Наиболее предпочтительными являются монотерпены, подобные тимолу или ментолу. Самым предпочтительным является тимол.

Подразумевается, что в настоящем документе термин "состав с замедленным выделением" обозначает состав, разработанный конкретно для того, чтобы вести себя определенным образом в определённых условиях, характеризуемый более регулируемым применением активного вещества в течение определенного промежутка времени по сравнению с не подвергнутым обработке веществом. В частности, такие составы в сочетании с летучими эфирными маслами способны поддерживать постоянную концентрацию паров эфирного масла в атмосфере замкнутого объёма места обитания пчёл, т.е. - пчелиного улья. Предлагаемый состав с замедленным выделением способен, таким образом, выделять регулируемую дозу с постоянной скоростью, предпочтительно выделяя определённое количество эфирного масла в пчелиный улей на протяжении выбранного периода времени, например, периода в 4-6 недель, причём этот период составляет, по меньшей мере, один репродуктивный цикл клеща *varroa*.

Активный ингредиент (эфирное масло или органическая кислота) переносится из состава через паровую фазу на являющегося объектом обработки паразита. На практике, эфирное масло испаряется или сублимируется из состава в регулируемой концентрации в атмосферу окружающей среды пчёл (т.е. в пчелиный улей) и поддерживает заранее выбранную концентрацию в течение периода обработки, составляющего от, по меньшей мере, 4 до 6 недель. Хотя атмосфера окружающей среды пчёл не является герметически изолированной, с различными паразитами в указанной окружающей среде можно эффективно бороться посредством выделения эфирного масла из состава с замедленным выделением. Это относится также к паразитам, воздействующим на личинок пчёл в выводковых камерах, которые могут быть эффективно защищены при помощи данного способа.

Способ борьбы с заражением клещом *Varroa* согласно настоящему изобретению является эффективным для борьбы как с устойчивыми к пиретроидам, так и чувствительными к ним линиям клеща *Varroa*, в пчелиных ульях.

Из литературы известно об использовании, в попытках бороться с заражением клещом *Varroa*, тимол в составах, не относящихся к составам с замедленным выделением. Было также предложено использовать тимол как средство борьбы с пчелиным трахеальным клещом *Acarapis woodi*. Однако, степень успешности борьбы, достигаемая путём обработки улья исходным, не подвергнутым обработке веществом, является низкой и, в лучшем случае, непостоянной. При использовании исходного вещества естественная скорость испарения из кристаллической, порошкообразной или жидко\* формы сильно\* зависит от температуры окружающей среды, т.е. доза, вводимая в пчелиный улей, не может удовлетворительно регулироваться при помощи продукта в исходной необработанной форме. Например, обработка пчелиных семей против клеща

ваггоа тимолом требует либо неоднократной обработки, либо высоких концентраций применяемых доз, и оба этих метода могут заставить медоносных пчёл покинуть улей. Высокие дозы являются также токсичными для чувствительных к ним личинок пчёл.

Вышеуказанных недостатков можно избежать при помощи способа, представляемого нашим изобретением. Новый способ не только является эффективным против клеща Varroa, но и позволяет бороться со всеми другими упомянутыми ранее организмами, вызывающими заболевания пчёл.

Примерами составов с замедленным выделением согласно настоящему изобретению являются гелеобразные составы, либо сами по себе, либо на приемлемых для пчёл подложках; пропитанных материалах; или полимерных матрицах, в состав которых включаются вышеупомянутые эфирные масла или органические кислоты. Обработка зараженных колоний пчёл предпочтительно выполняется препаратом в форме геля или полоски геля, гранул геля, таблеток геля или даже в лотке-дозаторе, заполненном любой из указанных выше форм, либо любым другим типом дисперсной системы с замедленным выделением.

Состав с замедленным выделением в виде матрицы может находиться в распределяющей системе любого типа, например дозатора в виде мелкого пластикового лотка с герметически изолирующим покрытием, подобным пластиковому или алюминиевому герметичному покрытию. Составы с замедленным выделением, используемые в способе согласно настоящему изобретению, готовят согласно способам, которые по сути известны квалифицированным специалистам. Однако, составы с замедленным выделением согласно настоящему изобретению предпочтительно являются образующими матрицы гелями, которые содержат эфирное масло или органическую кислоту в чистой форме или в виде жидкого состава и гелеобразующий компонент-загуститель и приемлемое для пчёл вещество-носитель. Этот тип состава является пригодным как для твёрдых, так и для жидких эфирных масел.

В качестве компонентов-загустителей пригодными являются, в частности, полимеры акриловой кислоты. Промышленно выпускаемыми продуктами, пригодными для этой цели, являются: карбоксиполиметилены, карбоксивинилполимеры, или карбомеры, такие как CARBOPOL® (B.F. Goodrich Corp., Cleveland, Ohio). Другими подходящими компонентами-загустителями являются, например, карбоксиметилцеллюлозы, ацетаты поливиниловых спиртов, как например MOWIOL® (HOECHST AG, Frankfurt, Germany), длинноцепные соли аммония, как например BENTONE® (RHEOX GmbH, Leverkusen, Germany), гидрофильные полисахариды, как например RHODOPOL® (RHONE POULENC, Paris) или KELZAN® (KELCO COMP. San Diego), или производные целлюлозы, как например TYLOSE (HOECHST AG, Frankfurt, Germany).

Предпочтительный вариант реализации составов с замедленным выделением согласно настоящему изобретению содержит активное вещество (эфирное масло или органическую кислоту), загуститель с агентом поперечного сшивания и воду, но не требуется, чтобы присутствовал дополнительный детергент.

Типичные концентрации загустителя в составе с замедленным выделением составляют от 0,01 до 1,5% от общей массы состава, предпочтительно от 0,1 до 1,0%, например, 0,3%, 0,4% или 0,5%. Однако, действительная концентрация может быть легко определена квалифицированным специалистом в соответствии с желаемой концентрацией эфирного масла в среде обитания пчёл и размера указанной среды обитания.

Концентрация эфирного масла во всей композиции не является решающей, но, в разумных пределах, составляет от 5 до 50% от общей массы композиции. Предпочтительно, концентрация составляет от 10% до 40%, например, 20%, 25% или 30%.

Соотношение эфирного масла и загустителя в смеси зависит главным образом от количества загустителя, требуемого для преобразователя смеси эфирного масла или смеси органической кислоты и носителя в гель. В данных здесь диапазонах содержания компонентов оно составляет от 3:1 до 5000:1, предпочтительно от 30:1 до 90:1, например, 40:1, 50:1, 60:1 или 70:1.

В типичном варианте приготовления состава с замедленным выделением жидкое или твёрдое эфирное масло добавляют к дисперсии загустителя, подобного полиакриловой кислоте (например, CARBOPOL® EZ1) в воде, а затем проводят поперечное сшивание смеси посредством добавления подходящего количества третичного или вторичного амина, например от 0,01% до 2% триэтаноламина.

Поперечное сшивание полиакриловой кислоты при помощи многофункционального амина придаёт полученному гелю матрицеподобную структуру.

Полученный состав с замедленным выделением обеспечивает выделение эффективного количества эфирного масла или органической кислоты на протяжении определённого периода обработки. Под эффективным количеством мы подразумеваем количество эфирного масла или органической кислоты, достаточное для того, чтобы осуществить борьбу с заражением паразитическими/патогенными организмами с эффективностью, по меньшей мере, 80%, при отсутствии эффекта значительной смертности в пчелиной семье. Действительная требуемая и желаемая концентрация в пчелином улье может быть легко определена посредством проведения стандартных экспериментов.

У приготовленных таким образом новых составов обеспечиваются следующие полезные свойства:

1. Состав содержит регулируемую дозу активного вещества (эфирного масла или органической кислоты), выделяющуюся в пчелиный улей в продолжение определённого периода времени и в диапазоне температур 10-40 градусов по Цельсию.

2. Состав является высокоэффективным для борьбы как с устойчивыми к пиретроидам, так и чувствительных к ним линиями клеща Varroa jacobsoni, паразитирующими на медоносных пчёлах.

3. Состав обладает также эффективным действием против трахеального клеща A. woodi; большой и малой восковой моли, Galleria mellonella и Achroia grisella, соответственно; двукрылых паразитов Braula caeca; грибковых инфекций, таких как инфекция грибка "меловой рой" (Chalk Brood), Ascosphaera apis; и бактериальных инфекций, таких как инфекции возбудителей болезней "американский и европейский гнилец пчёл", Bacillus larvae и Melissococcus pluton, соответственно.

Способ согласно настоящему изобретению предпочтительно и в идеальном варианте применяется к популяциям пчёл или к среде обитания пчёл ранней весной и поздним летом, т.е. до или после сбора

основного количества мёда, но может и не ограничиваться этими периодами.

Состав с заземленным выделением следует вводить во внутреннее пространство улья и оставлять там на месте в продолжение определённого периода времени, причём продолжительность обработки составляет не менее 4 недель и не более 6 недель, а по истечении этого времени состав следует удалить из улья.

В зависимости от климатической зоны, может быть необходимым выполнить вторую такую обработку в более поздние сроки в том же году вследствие различий в давлении реинвазии (повторного заражения).

Пример 1: Получение тимолсодержащего состава с замедленным выделением

0,38 части продукта CARBOPOL® EZ1 медленно добавляли к 73,86 частям воды при перемешивании. 25 частей тимола тонко измельчали и добавляли к перемешиваемой смеси. К полученной дисперсии добавляли 0,76 части 50% водного раствора триэтаноламина с целью поперечного сшивания с образованием геля.

Гелеобразную смесь делили на порции по 50г и помещали в дозатор в виде мелкого пластикового лотка. Поверхность лотка герметически изолировали покрытием из алюминиевой фольги или пластиковой плёнки. В альтернативном варианте алюминиевые лотки могут заполняться гелем и изолироваться покрытием из пластиковой плёнки.

Пример 2: Составы в виде дисперсий

Следуя методике из Примера 1, готовили составы с замедленным выделением на основе твёрдых эфирных масел, имеющие следующий состав входящих в них веществ:

Эфирное масло	CARBOPOL®EZ1	Гриэтаноламин (50% водный раствор)	Вода
Тимол 25%	0,38%	0,76%	73,86%
Тимол 20%	0,38%	0,76%	78,86%
Тимол 15%	0,48%	0,96%	83,56%
Тимол 10%	0,48%	0,96%	88,56% "
Тимол 30%	0,38%	0,76%	68,86%
Тимол 35%	0,38%	0,76%	63,86%
Тимол 40%	0,38%	0,76%	58,86%
Камфора 25%	0,38%	0,76%	73,86%
Оксалат кальция до 25%	0,38%	0,76%	73,86%

Пример 3: Составы в виде суспензий

0,38 части продукта CARBOPOL® EZ1 медленно добавляли к 73,86 частям воды при перемешивании. 25 частей цинеола (эвкалиптола) суспендировали с использованием перемешивания с высокой скоростью до достижения гомогенной суспензии. К полученной суспензии добавляли 0,76 части 50% водного раствора триэтаноламина с целью поперечного сшивания с образованием геля.

Гелеобразную смесь делили на порции по 50г и помещали в дозатор в виде пластикового лотка. Поверхность лотка герметически изолировали покрытием из алюминиевой фольги или пластиковой плёнки. В альтернативном варианте алюминиевые лотки могут заполняться гелем и изолироваться покрытием из пластиковой плёнки.

Аналогичным образом готовили следующие составы, содержащие жидкие эфирные масла:

Эфирное масло	CARBOPOL® EZ1	Триэтаноламин (50% водный раствор)	Вода
Цинеол 25%	0,38%	0,76%	73,86%
Лимонен 25%	0,38%	0,76%	73,86%
Ментол 25%*)	0,38%	0,76%	73,86%
Нимовое масло 25%	0,38%	0,76%	73,86%
Уксусная кислота 30%	0,48%	0,96%	68,56%
Муравьиная кислота 25%	0,48%	0,96%	73,56%

\*) процесс протекает при 40°C

Пример 4: Биологический шест

Два лотка, с составом с замедленным выделением в виде матрицы с содержанием тимола 25%, полученные согласно Примеру 1, содержащие каждый по 50 граммов геля с замедленным выделением, вскрывали - посредством удаления герметизирующего покрытия из фольги и помещали в пчелиный улей поверх широких рамок. Тест начинался с помещения лотков в пчелиные ульи и продолжался в течение 6 недель. Среднюю температуру внутри и вне пчелиных ульев регистрировали. Средняя температура внутри улья составляла от 33 до 34°C, тогда как температура вне улья изменялась от 17 до 35°C (ночь/день).

По истечении от 4 до 6 недель оценивали инвазию пчелиной семьи по сравнению с необработанным контрольным пчелиным ульем путём подсчёта общего числа клещей, уничтоженных в процессе обработки, и его деления на сумму того же числа плюс число клещей, погибающих после конечной обработки акарицидом, уничтожающим всех выживших клещей.

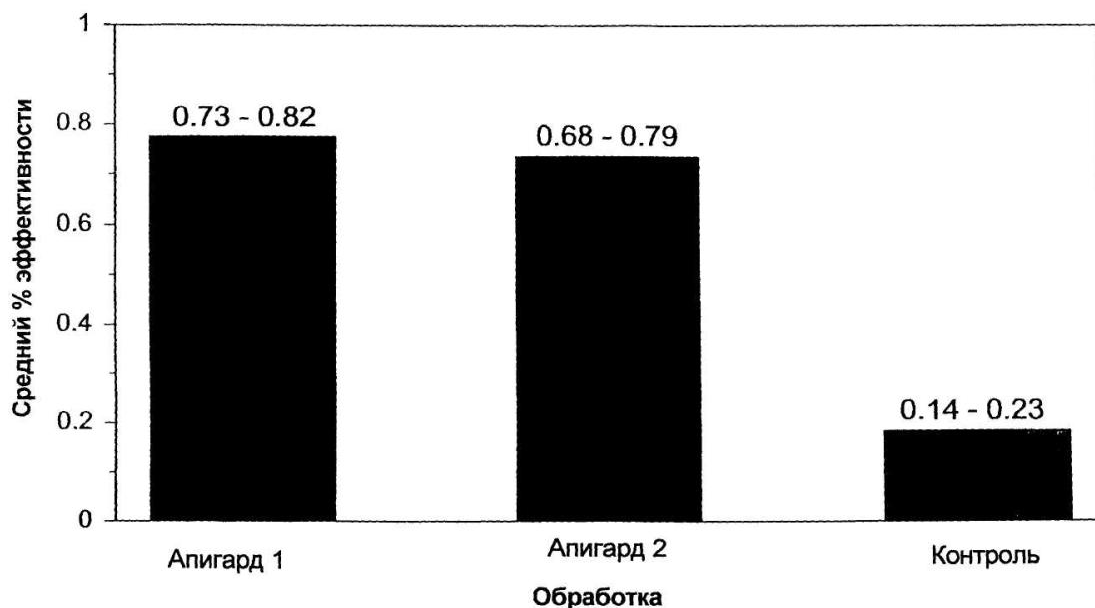
Результаты выглядят следующим образом:

Обработка	Исходное заражение	Заражение через 4 недели	Снижение заражения в %
Тимол 1 лоток на улей	3240	1675	48,3%

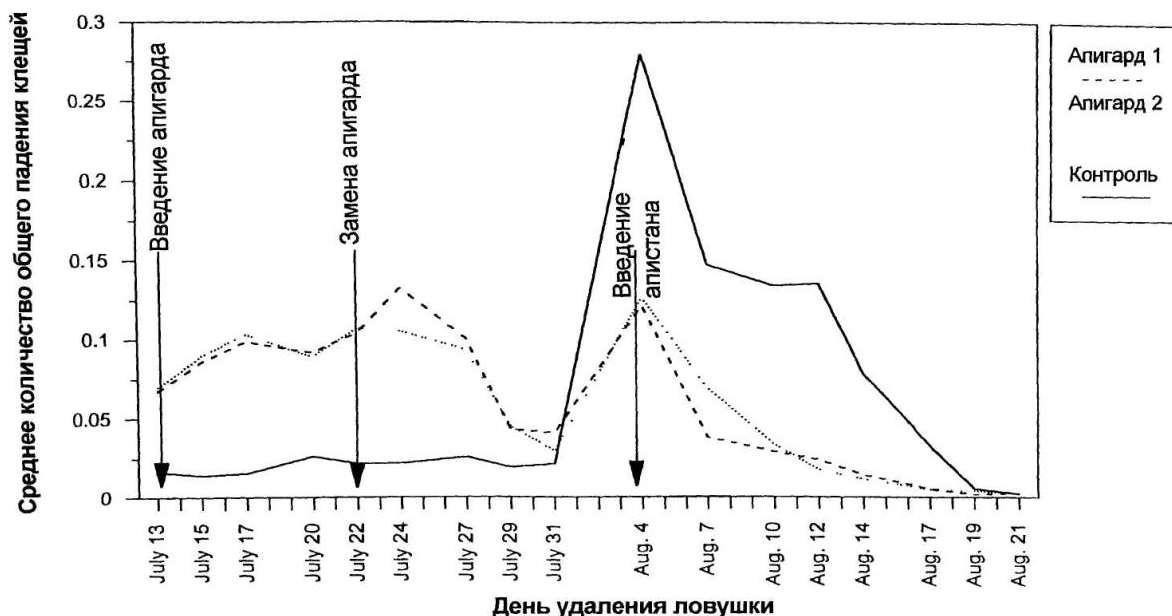
2 лотка на улей	2446	557	77,2%
Контрольный образец	2873	2502	12,9%

#### Заключение

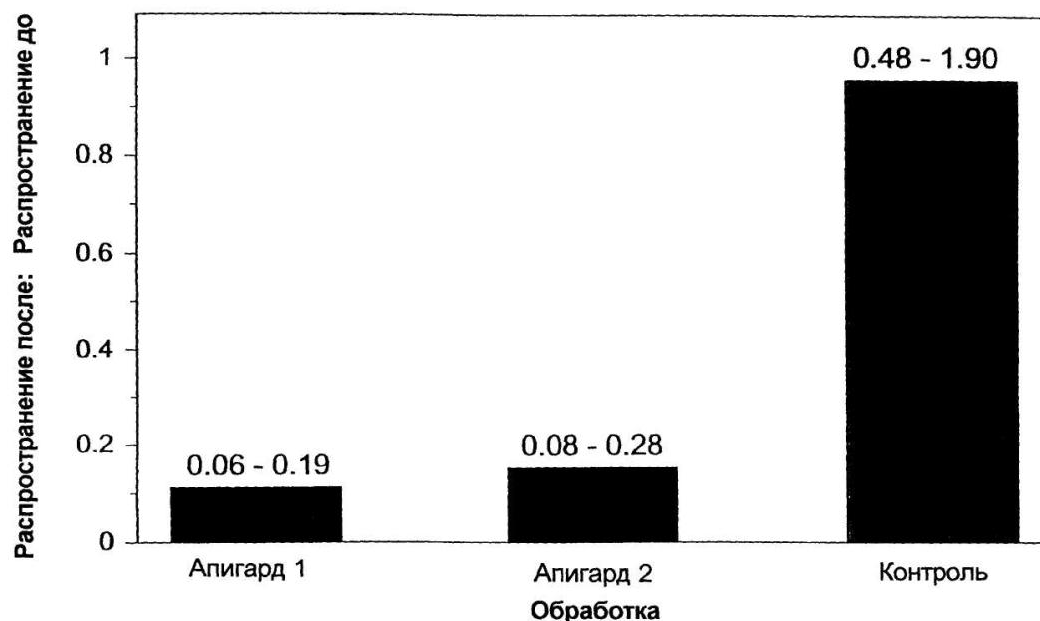
Испытывавшийся выше состав с замедленным выделением является эффективным против заражения пчелиных ульев клещом *Varroa jacobsoni* по сравнению с контрольными (необработанными) семьями.



**Фигура 1:** Средний процент эффективности или общее количественное соотношение отпадения клещей варроа за период обработки Апигардом в трех группах обработки: пчелиные семьи, получающие Апигард 1 (n=12), пчелиные семьи, получающие Апигард 2 (n=12), и необработанные пчелиные семьи (контроль, n=12). 95% доверительный интервал среднего % эффективности указан выше



**Фигура 2:** Среднее количественное соотношение общего отпадения клещей варроа, зарегистрированного на липких бумажках в ловушках варроа, которые были извлечены из пчелиных семей в 3 группах обработки: пчелиные семьи, получающие апигард 1 (n=12), пчелиные семьи, получающие апигард 2 (n=12), и необработанные пчелиные семьи (контроль, n=12). Отпадение клещей регистрировали с 15 июля по 21 августа при применении апигарда, а затем апистана. Стрелки показывают дату, когда отпадение клещей на липкие бумажки показало эффект указанной обработки.



**Фигура 3:** Отношение среднего распространения НВТМ (# пораженных трахей/# исследованных трахей) после обработки к среднему распространению НВТМ до обработки для 30 пчелиных семей в 3 группах на исследовательской станции Arkell: пчелиные семьи, получающие апигард 1 (n=11), пчелиные семьи, получающие апигард 2 (n=10), и пчелиные семьи, оставшиеся необработанными (контроль, n=9). 95% доверительный интервал для этого отношения представлен выше. Обработка является значимой до значения  $P < 0,001$ .

**Фигура 4:** % распространения НВТМ для всех пчелиных семей в 3 группах обработки до и после обработки апигардом. До отбора образцов 24 июня и после отбора образцов 19 октября от 30 пчелиных семей на исследовательской станции Arkell

