

О Т Ч Е Т

по граждански договор на тема:

„СРАВНИТЕЛНО ПРОУЧВАНЕ МЕЖДУ ВМП ЕКОСТОП И ВМП АПИГАРД ПРИ ЛЕЧЕНИЕ НА ВАРОАТОЗА ПО ПЧЕЛНИТЕ СЕМЕЙСТВА”

1. Възложител: "Примавет-София" ООД

Управител: Надежда Панчева

2. Изпълнител: Проф. К. Гургулова, НДНИВМИ, София

3. Срок на изпълнение:

Начало на изследването: 27.08.2014 г.

Край на изследването: 12.10.2014 г.

УВОД

Новите изисквания за производство на чисти и безопасни пчелни продукти, в т. ч. И в меда насочват изследователите към изпитване на акарицидни средства на базата на природни вещества.

Необходим е друг подход, друга стратегия и други акарицидни ингредиенти, които са безвредни и не създават резистентност на акара. Една от най-често използваните субстанции това е тимолът. Редица регистрирани търговски продукти, съдържащи тимол, се предлагат на пазара, като ApiLife Var, Apiguard, Екостоп и др. Тимолът е ефективен срещу *V. destructor* и все повече се използва, тъй като акарът вече е станал резистентен към традиционни акарициди (Mutinelli, F., A. Baggio, 2004).

Третирането с тимол изисква дългосрочно приложение и се използва най-ефективно в топъл климат. Следвайки препоръките на производителя,

отразени в листовката за продукта, третирането с тимол може да се използва като неразделна част от програмата за контрол. Съществуват и методи, препоръчани с постоянна експозиция на тимол в пчелните кошери, които повишават ефективността на продукта. При правилно прилагане (след медосбора) има малък риск от увеличаване на остатъци от тимол в меда.

ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

Създаването на резистентност към акарицидните препарати от различни химични групи е проблем в много страни. При използването на Апистан или негови аналози продължително време е установено привикване на Varroa в различни страни на Европа. Trouller (1998) в свои изследвания, проведени през периода 1995-1997, установява наличие на резистентни отродия на акара *V. Jacobsoni* (сега *Varroa destructor*) в Италия, Словения, Швейцария, Франция, Белгия, Австрия и др.

По данни на Moosbeckhofer (1994) пиретроидите се акумулират в пчелните продукти след употребата им над 7 и повече години.

Тимолът и етеричните масла широко се прилагат като акарицидни средства в алтернативната терапия. Освен акарицидна активност те притежават и действие срещу пчелната въшка (*Braula caeca*) и трахейния акар (*Acarapis woodi*). Изпитани са разнообразни концентрации и дози на тимол самостоятелно или приложени с различни кратност, интервал и период на третиране. Установената ефективност варира от 82% до 98,8% (Naneti, 1996). Прилагането му в комбинация с други природни вещества – етерични масла и киселини повишава неговия ефект (Bogdanov et al., 1999). Швейцарският препарат “Апи-Лайф-Вар”, съдържащ 76% тимол, 16,4% евкалиптол, 3,8% ментол и 3,8% камфора) показва висока акарицидна ефективност в диапазона от 95% до 98,6% (Abou-Zaid et al.

1995; Imdorf et al., 1995; Moosbeckhofer 1994). Akyol et al. (2008) установяват средна ефективност при Thymovar® и BeeVital®, съответно: 96.91% и 88.66%.

Не е установена резистентност към природните продукти и вредно влияние на етеричните масла върху пчелните семейства при правилно им прилагане – температурен диапазон от 14°C до 25°C. Намалява се и рискът от контаминиране на пчелните продукти (Imdorf et al., 1999).

Установено е, че остатъчните количества от природните вещества в пчелните продукти се разпадат в продължение на една седмица. Измерените количества в меда са ниски и не вредят на консуматора (Imdorf et al., 1999). Остатъци в меда от плодника намерени за Api Life VAR са в границите от 0.12 до 4.03 mg/kg и за Apiguard - от 0.40 to 8.80 mg/kg. Остатъците от тези продукти са по-високи в пчелния восък (Api Life VAR = 21.6 ± 13.0 ; Apiguard = 147.7 ± 188.9), отколкото в меда, понеже thymol мастно разтворим ингредиент (Floris et al., 2004). Adamczyk et al., (2005) намират остатъци в меда от 0.75 до 8.20 µg/g за Apilife Var, от 0.03 to 6.30 µg/g за разтвор на thymol в маслиново масло и от 0.05 to 6.20 µg/g за разтвор на thymol в етанол. Дори и при тези концентрации за thymol авторите смятат, че, естественото третиране може да бъде считано като добра алтернатива на синтетичните акарициди, тъй като не носи риск за пчелните продукти.

ЛИТЕРАТУРА

1. Abou-Zaid M., Ghoniemy H. (1993) Evaluation of the role of two natural substances for controlling *Varroa jacobsoni* infesting honey-bee colonies, Egypt. Jour. of Appl. Science, 8 (2) 295-300.
2. Adamczyk S., R. Lázaro, C. Pérez-Arquillué, P. Conchello, A. Herrera, 2005. Evaluation of Residues of Essential Oil Components in Honey after

Different Anti-Varroa Treatments J. Agric. Food Chem., 2005, 53 (26), pp 10085–10090.

3. Akyol E., H. Yeninar (2008) Controlling Varroa destructor (Acari: Varroidae) in honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies by using Thymovar® and BeeVital® Italian Journal of Animal Science, 2008, Vol 7, No 2 237-242.
4. Floris, I., A. Satta, P. Cabras, V. Garau, A. Angioni, 2004. Comparison between two thymol formulations in the control of Varroa destructor: Effectiveness, Persistence, and Residues. Journal of Economic Entomology, 2004, 97(2):187-191.
5. Guideline for the evaluation of treatments for control of Varroa mites in honey bee colonies, Recommendations from the CA3686.
6. Guideline on veterinary medical products controlling Varroa destructor parasitosis in bees, 2011 г.
7. Imdorf A., Bogdanov S., Kilchenmann V., Maquelin C (1994) "Api-Life-Var" - ein Varroabekämpfungsmittel dem Hauptwirkstoff Thymol, Schweizerische Bienen-Zeitung, 117, (6) 326-333.
8. Imdorf A., Bogdanov S., Kilchenmann V., Maquelin C (1995) "Api-Life-Var": a new varroacide with thymol as the main ingredient, Bee World, 76 (2) 77-83.
9. Imdorf A., Sharier G., Bogdanov S. (1999), Alternativy therapy against Varroa, София Bogdanov, S.
10. Moosbeckhofer R. (1993) Versuche mit "Api-Life-Var" zur Bekämpfung der Varroamite, Bienenwelt, 35 (7) 161-166.
11. Moosbeckhofer R. (1994) Individuell oder koordiniert – mehrjährige Erfahrungen mit dem Einsatz von Pyretroidstreifen zur Kontrolle der Varroatose in Österreich, Allgemeine Deutsche Imkerzeitung, 28 (10) 6-11.
12. Mutinelli, F., A. Baggio, 2004. Use of medical drugs against varroosis, *Apiacta*, 39, 2004, 53-62.

13. Naneti A., Massi S., Mutinelli F., Cremasco S., Baggio A. (1996) Metodi alternativi per controllo della varroasi, Selezione Veterinaria, (11) 907-921.
14. Troullier J. (1998) Monitoring Varroa jacobsoni resistance to pyrethroids in western Europe, Apidologie, 29 (6) 537-546.
15. Wallner K., I. Fries, 2003. Control of the mite Varroa destructor in honey bee colonies. Pesticide Outlook, April 2003, 80-84.

Целта на изследването е да се сравни ефективността срещу вароатозата по пчелите на двата продукта – ВМП Екостоп и ВМП Апигард.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ:

Опитите бяха проведени на пчелин, собственост на Румен Иванов, разположен в с. Делян, област Софийска през периода август – октомври 2014 г. Пчелните семейства са настанени в 10- и 12-рамкови ДБ кошери.

Опитите проведохме, съгласно изискванията на Guideline on veterinary medical products controlling Varroa destructor parasitosis in bees от 2011 г. на Европейската Медицинска Агенция (ЕМА).

Информация за използваните в опита ветеринарномедицински продукти. В опитите бяха използвани следните ВМП:

- ВМП Екостоп - плочки, съдържащи 5,0 g тимол и 2 g ментово масло, производство на фирма "Примавет-София" ООД.
- Апигард - гел, съдържащ 50,0 g тимол, производство на фирма "Vita Co", Англия.
- Перицин - разтвор, съдържащ 32 mg/ml кумафос, производство на фирма "Bayer", Германия.

Продуктите бяха използвани според указанията на производителя.

Групи пчелни семейства:

I гр. О-А - опитна група - 5 пчелни семейства, третирани 2 пъти с по 50 г Апигард.

II гр. О-Е - опитна група - 5 пчелни семейства, третирани с 2 плочки Екостоп.

III гр. К- контролна група - 3 пчелни семейства, не третирани.

Проведохме третиране на пчелните семейства за клинично изпитване на акарицидната активност на ВМП Апигард, производство на фирма Vita Со и ВМП Екостоп, производство на фирма "Примавет-София" ООД срещу *Varroa destructor*.

За целта беше извършено следното:

- Определяне на степента на опаразитеност чрез отчитане на екстензинвазията (ЕИ в %) на пчелните семейства (на пчелите и пилото) от опитните и контролната групи преди започване на опитното третиране.
- Определяне на развитието на пчелните семейства чрез отчитане на силата (в кг) и количеството на запечатаното пило (в см²) на пчелните семейства преди третирането.
- През времето на експеримента (45 дни) отчитахме динамиката на падналите акари под действието на изпитваните ВМП в опитните групи и естествената им смъртност при контролната група. Отчитахме броя на падналите акари по следната схема:

1-во отчитане – 24 часа от залагането (2-ри ден) – 28.08.14 четвъртък

2-ро отчитане – 48 часа от залагането (3-ти ден) – 29.08.14 петък

3-то отчитане – 72 часа от залагането (4-ти ден) – 30.08.14 събота

4-то отчитане – 9-ти ден – 04.09.14 четвъртък

5-то отчитане – 14-ти ден – 09.09.14 вторник

На 15-я ден извършихме третиране с втора доза Апигард на I
опитна група О – А.

6-то отчитане – 20-ти ден – 15.09.14 понеделник

7-мо отчитане – 24-ти ден – 19.09.14 петък

8-мо отчитане – 30-ти ден – 25.09.14 четвъртък

9-то отчитане – 36-ти ден – 01.10.14 сряда

10-то отчитане – 41-ви ден – 07.10.14 вторник

11-то отчитане – 45-ти ден – 11.10.14 събота

- Определихме силата на пчелните семейства и екстензинвазията (ЕИ) на пчелните семейства (на пчелите и пилото) от опитните и контролните групи след приключване на опитното третиране на 45-я ден.
- Акарицидната ефективност на изпитваните ВМП установихме чрез контролно третиране на опитните и контролната група с ВМП Перицин, производство на фирма "Байер" Германия на 45-я ден от началото на третирането.
- Отчетохме броя на падналите от контролното третиране с ВМП Перицин акари 24 часа след контролното третиране – 12.10.14
- Изчислихме ефективността на ВМП Апигард и ВМП Екостоп по следната формула:

$$\text{Ефективност} = \frac{\text{убити от ВМП акари}}{\text{убити от ВМП} + \text{останали акари}} \times 100$$

(% Редукция)

- акарите, убити от ВМП са всички акари, събрани по време на експозицията на изпитвания препарат;

- останалите акари са тези, които не са убити от ВМП и падат след третирането с контролния препарат.
- През целия период на опита наблюдавахме третираните семейства за нормално развитие, проява на странични явления и вредно влияние на изпитваните препарати върху майката, пчелите и пилото. Отчитахме страничните фактори, които биха могли да повлияят върху ефективността на изпитваните ВМП – температура, развитие на семействата, наличие на пило и др.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

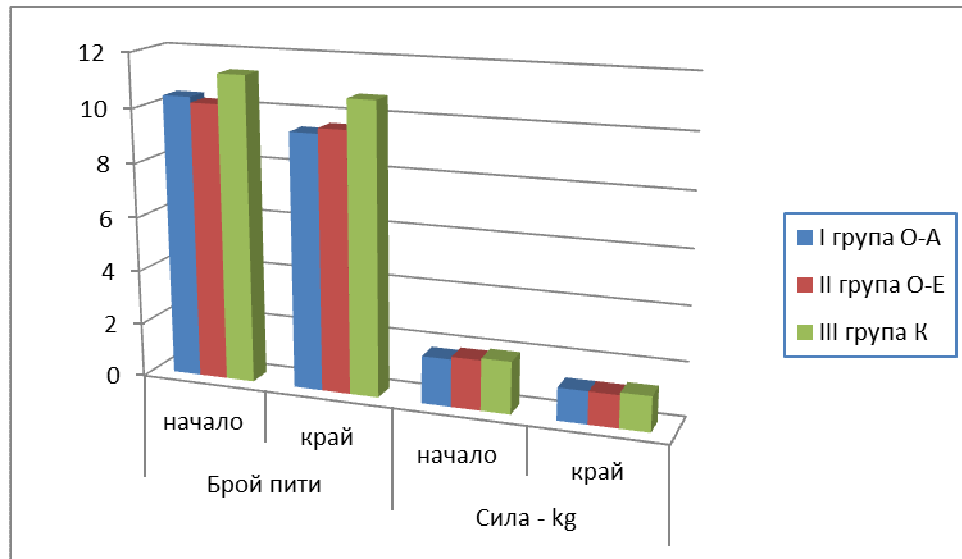
В началото на експеримента развитието на пчелните семейства, включени в опита, беше съответно за група I - 10,4 пити, за група II - 10,2 пити и за контролата - 11,3 пити в ДБ кошери (табл. 1, фиг.1 и фиг.2).

Таблица 1. Състояние на пчелните семейства в началото и в края на експеримента

Група №	Брой пити		Сила - междурамия с пчели и kg		Пило Квадрати см ²	
	начало	край	начало	край	начало	край
I гр. O-A	10,4	9,4	1,75	1,2	46,3	0
II гр. O-E	10,2	9,6	1,85	1,2	94,7	0
K	11,3	10,7	1,93	1,3	50,3	0

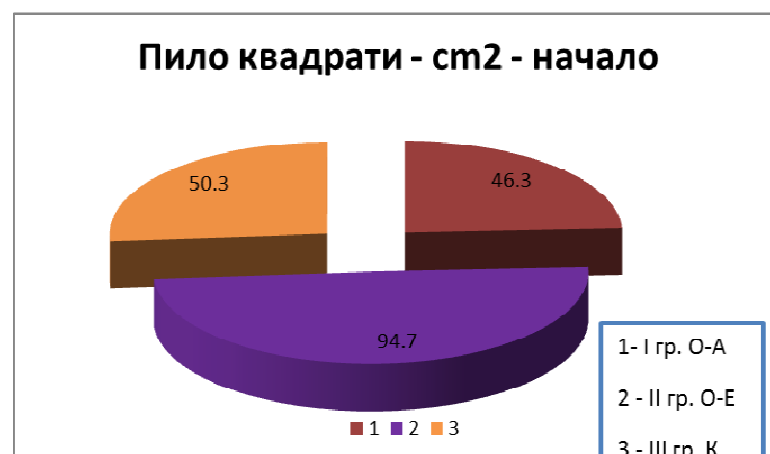
Силата на семействата от трите групи беше сходна със средно развитие от 7,4 до 7,7 междурамия или от 1,75 до 1,93 кг. пчели. Между отделните семейства не се наблюдаваха достоверни разлики, въпреки

лекаия превес за контролната група. Количеството на пилото беше в значително по-голямо количество във II група О-Е – 94,7 см², което е почти два пъти повече от пилото в другите две групи (табл. 1, фиг.2).



Фиг. 1. Развитие на пчелните семейства в началото и в края на експеримента

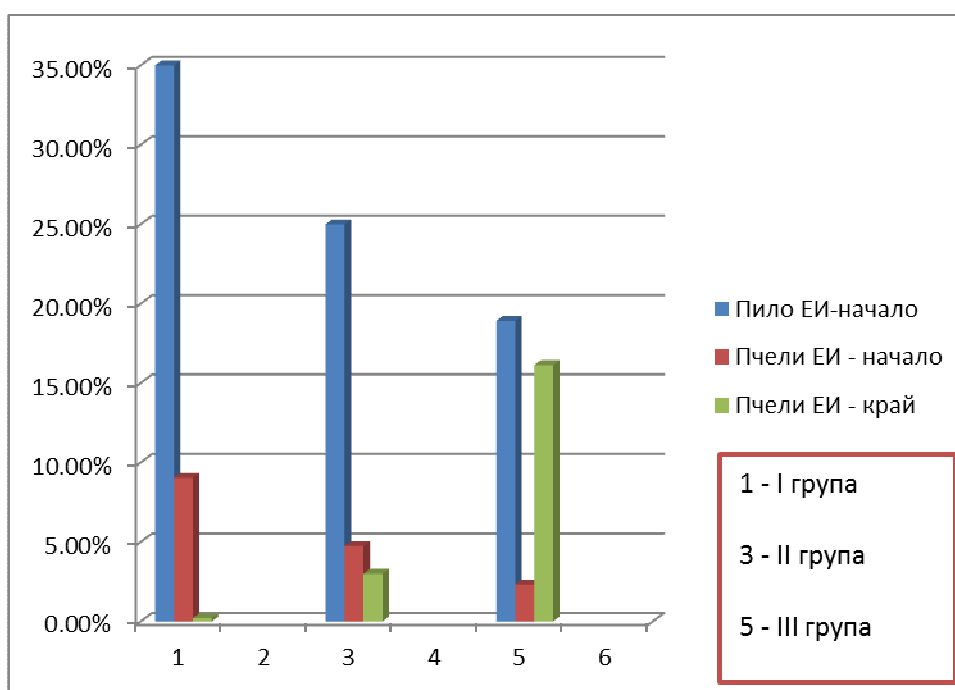
След приключване на експеримента в опитните и контролната група силата на семействата беше намалена с около 0,500- 0,600 кг, което е нормално за месец октомври, тъй като популацията на пчелите по принцип намалява през есенния период (табл. 1, фиг.1). Отглеждането на пило бе прекратено /табл.1/.



Фиг.2. Количество на пилото в началото на експеримента

Получените стойности на процентите за ЕИ /екстензинвазия/ на пилото и пчелите от трите групи с акара *Varroa* преди и след третиране са представени на фигура 1.

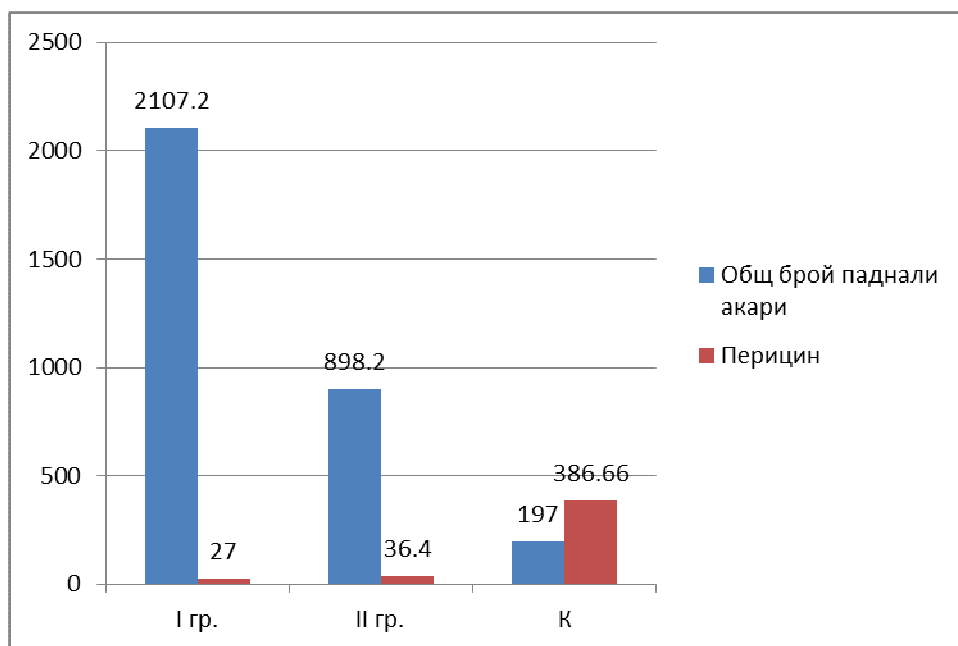
Вижда се, че произволно избраните пчели и ларви са опаразитени в степен, която варира при семействата от отделните групи. Средната стойност на ЕИ при пилото преди третирането при I група (опитна О-А, третирана с Апигард) е 35,00%, а при пчелите – 9,04%. При II група (опитна О-Е, третирана с Екостоп) ЕИ е 25,00% при пилото и 4,74% при пчелите. При III група (контролна, нетретирана) ЕИ на пилото е 18,92%, а при пчелите – 2,00%. Следователно акарите бяха концентрирани в запечатаното пило, което показваше значително по-високи стойности на ЕИ. През есента процентът на опаразитяване на пчелите и пилото е в най-висока степен, поради пикът на размножаване на акара. Най-опаразитена беше I група, следвана от II група, а най-слабо опаразитена беше контролата.



Фиг. 1. Екстензинвазия на пилото и пчелите при опитните и контролните групи

След приключване на експеримента отглеждането на пило във всички семейства беше прекратено, пчелите са се излюпили и заедно с тях, намиращите се в пилото акари. При престояване на Апигард-гел и Екостоп-плочки за 45 дни в пчелните семейства, ЕИ на акара при пчелите от опитните групи е в по-малък процент и е съответно при I група, третирана с 2 опаковки Апигард - 0,21%, а при II опитната група, третирана с 2 плочки Екостоп – 3,00%. При контролната /нетретирана/ група (К) ЕИ се увеличава от 2,00% до 16,14% за пчелите, което се дължи на размножаването на акара в запечатаното пило по време на експеримента.

На фиг.2 са представени средните стойности на падналите акари в опитните и контролната група

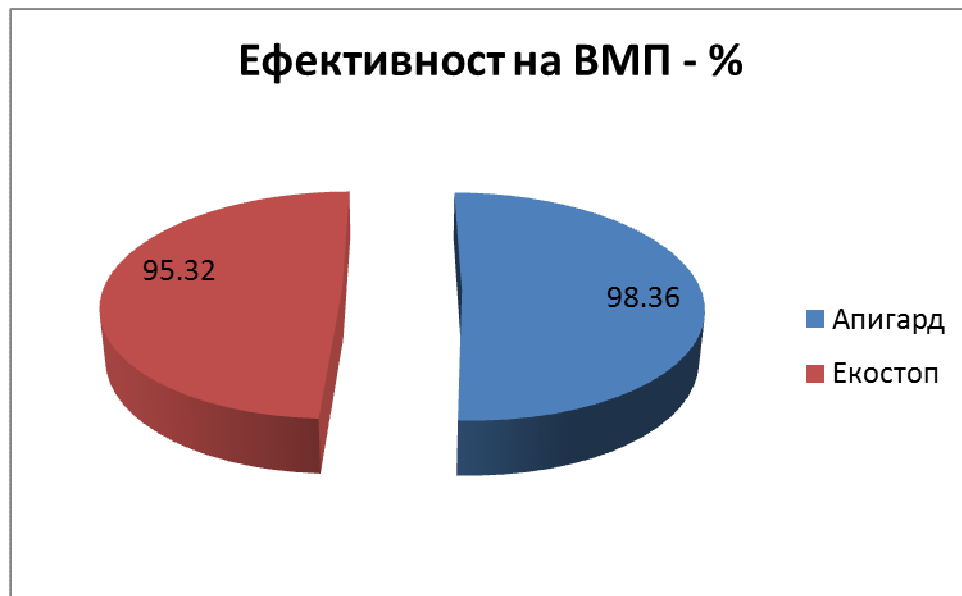


Фиг. 2. Брой паднали акари под действието на Апигард, Екостоп и контролното третиране с Перицин

Мониторингът на падналите акари показва (фиг.2), че при опитните групи, третирани с Апигард и Екостоп, данните са както следва: при I група падат 2107 акара, а при II група броят на падналите акари е 898,2, което може да се обясни с това, че I група е с най-висока опаразитеност.

Броят на падналите акари след контролното третиране с Перицин при опитните групи е съответно е 26 броя при третираната с 2 опаковки Апигард, а при третираната с две плочки Екостоп за 45 дни падат 36,4 броя. При контролната не третирана група падат достоверно по-голямо количество акари - 386,66 броя, в сравнение с I и II опитни групи /фиг.2/.

На фигура 3 е показана ефективността на Апигард и Екостоп срещу вароатозата по пчелите.



Фиг.3. Ефективност на Апигард и Екостоп срещу вароатозата

При проведените експерименти през есенния период на 2014 г. се установи, че третирането за 45 дни на пчелните семейства с 2 опаковки Апигард показва висока ефективност и не се наблюдава високо достоверна разлика в сравнение с ефективността при пчелните семейства, третирани с 2 плочки Екостоп, съответно 96,15% (за Апигард) при степен на опаразитеност – ЕИ 35,00% за пилото и 9,04% при пчелите и 95,32% (за Екостоп) при степен на опаразитеност – ЕИ 25,00% при пилото и 4,74% при пчелите.

Получените от нас резултати потвърждават данните на други автори, които установяват 95 – 98% ефективност при третиране с “Аpi-Life-Var”

(Abou-Zaid et al., 1993; Imdorf et al., 1993, 1994; Moosbeckhofer, 1993; Akyol et al., 2008).

През целия период на опита не се наблюдаваха прояви на странични нежелани явления на изпитваните препарати върху пчелната майка, пчелите и пилото.

Получените от нас резултати, дават основание да считаме, че изпитаните ВМП-та са подходящи средства за профилактика и борба срещу вароатозата по пчелите в условията на Р. България, поради установената висока ефективност при прилагането им при есенното третиране. Апигард и Екостоп ще допълнят ограничената гама от продукти за борба срещу вароатозата в пчелините с биологично пчеларство и ще даде възможност на пчеларите да получават пчелен мед без остатъци от акарицидни средства с химическа база, вредни за човека.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведеното клинично изпитване на ВМП Екостоп и ВМП Апигард през периода август-октомври 2014 г. показва висока ефективност > 95% и на двата продукта срещу вароатозата, което според изискванията на Guideline on veterinary medical products controlling Varroa destructor parasitosis in bees, 2011 г. След експозиция от 45 дни се постига средна ефективност на Апигард 98,36%, съответно Min/Max - 96,15/99,47%. Акарицидният ефект на Екостоп е средно 95,32, съответно Min/Max - 90,76/97,45%. Следователно Екостоп не отстъпва на ефективността на Апигард, като и двата продукта са на базата на тимол. Трябва да се отбележи обаче, че съдържанието на тимол в Екостоп е 5 g, което е в 10 пъти по-ниска концентрация от тази на Апигард (50 g тимол). Комбинацията от тимол и ментово масло в Екостоп, както и носителя, който позволява бавно излъчване на активните субстанции го правят

предпочитан от гледна точка на остатъци в меда и цена, както и липса на допълнителни манипулации по време на третирането (поставяне на втора опаковка, както е при Апигард). Това също има значение и по отношение стресирането на пчелните семейства.

При прилагането на ВМП Апигард и ВМП Екостоп не се установява вредно влияние върху отделните развойни форми и морфологични групи на третираните пчелни семейства. Не се установява влияние на температурата на околната среда върху ефективността на продуктите.

Смятаме, че поради високата ефективност $> 95\%$, която показват, липсата на резистентност на *V. destructor* към активната субстанция тимол, безвредността му за пчелните семейства, липсата на остатъчни количества в меда, както и лесното им прилагане, ВМП Екостоп и ВМП Апигард са много подходящи за профилактика и борба срещу вароатозата по пчелите и отговорят на нуждите на биологичното пчеларство и конвенционалната пчеларска практика при условията на нашата страна.

Изпълнител:

проф. Д-р К. Гургулова:.....