

Szczegółowe sprawozdanie z wykonania poszczególnych etapów pracy
naukowo-badawczej

Stworzenie receptury oraz rekomendacji wdrożeniowych dla preparatu do zwalczania *Varroa destructor* o działaniu długookresowym na nośniku stałym, na bazie kwasów organicznych i porównanie go z innym tego typu preparatem stosowanym przez pszczelarzy na terenie Polski

Dr Beata Bąk, mgr Jakub Wilk, dr Maciej Siuda, prof. dr hab. Jerzy Wilde

Katedra Drobiarstwa i Pszczelnictwa

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Ul. Słoneczna 410-710 Olsztyn

1. Opracowanie wstępnych receptur nowego preparatu do zwalczania *Varroa destructor* na bazie kwasów organicznych na nośniku stałym

Wykonano badania literaturowe. W tym celu prześledzono publikacje naukowe na temat preparatów przeciwwarrozowych opartych na kwasach organicznych mrówkowym i szczawiowym. Szczególnie uwzględniano: dawki zastosowanych kwasów, składniki baz badanych preparatów, nośniki stałe na które nanoszono bazy wraz z kwasami. W trakcie badań literaturowych zwracano również uwagę na skuteczność zwalczania *Varroa destructor* danym preparatem oraz jego bezpieczeństwo dla pszczół, produktów pszczelich oraz ich konsumentów. Wyniki badań literaturowych przedstawiono w tabeli 1.

Przeanalizowano również szczegółowy skład wszystkich preparatów przeciwwarrozowych działających długookresowo na nośnikach stałych dostępnych na polskim rynku z uwzględnieniem substancji czynnych i składników baz oraz nośników.

Wyniki analiz przedstawiono w tabeli 2.

Tab. 1. Publikacje naukowe traktujące o preparatach przeciwwarrozowych opartych na kwasach mrówkowym i szczawiowym z uwzględnieniem składu

autor i rocznik	link	nazwa handlowa preparatu	kwas	nośnik	receptura	ilość substancji czynnej w jednej sztuce	dawkowanie	skuteczność	szybkość parowania
Eguaras i in. 2003	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401702003771	brak nazwy	mrówkowy	żel karboksypolimetylenowy	8 g karboksymetyleny and 232 g of formic acid 70%	240g	żel nad rodnia i pod rodnia/ 2 tygodnie	80%-94%	
Eguaras i in. 1999	https://www.researchgate.net/publication/12078625_A_New_Product_with_Formic_Acid_for_Varroa_jacobsoni_Oud_Content_in_Argentina_I_Efficacy	BeeVar	mrówkowy	żel karboksypolimetylenowy	68% kwasu mrówkowego i 32% karboksypolimetylen	200 g	2 tacki co 2 tygodnie	93-100%	5 do 9 g/d (Całkowita ilość kwasu mrówkowego podawana do jednego ula podczas całego okresu leczenia wynosiła około 200 g)
Feldlaufer i in. 1997	https://www.researchgate.net/publication/287849856_A_Gel_Formulation_of_Formic_Acid_for_the_Control_of_Parasitic_Mites_of_Honey_Bees#fullTextFileContent	Beltsville Formic Acid (BFA)	mrówkowy	żel w workach polipropyle nowych	200g żelu	65% kwas mrówkowy	Płaskie opakowania z żelem	70%	10-50ppm (najczęściej 10-20 ppm)
Giusti i in. 2017	https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00218839.2017.1291207	Varterminator	mrówkowy	włóknina	250 gramów żelu zawierającego 36% kwasu mrówkowego go plastikowe pudełka, które łatwo się otwierają.	90 g	plastikowe pudełka z preparatem, które łatwo umieścić na powalce		

Kochansky i Shimanuki 1999	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10552733/	brak nazwy	mrówkowy	żel krzemionkowy	200g żelu	65% kwas mrówkowy w różnych koncentracjach	Płaskie opakowanie z żelem		
Maggi i in. 2016	https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s13592-015-0405-7.pdf	Aluen CAP	szczawiowy	paski celulozowe (45 cm×3 cm×1,5 mm)	10 g kwasu szczawiowego z 20 mL gliceryny.	10g	4 paski/rodnicę/42 dni	93,10%	
Ramos i in. 2010.	https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-90-481-9837-5_94#citeas	brak nazwy	mrówkowy	Żel na bazie skrobi	200 g żelu i 200 g 85% kwasu mrówkowego	200g 85% kwasu mrówkowego	Styropianowy pojemnik z żelem	73%	8-12g/d
Satta i in. 2005	https://academic.oup.com/jee/article/98/2/267/2218212	Liebig-Dispenser	mrówkowy	dozownik Liebig-Dispenser	100ml 85% kwasu odparowanego	100 ml		93-100	26 do 35 g/d

Tab. 2. Skład dostępnych na polskim rynku leków przeciwarzozowych działających długookresowo na nośnikach stałych

Nazwa leku	Substancja czynna	Skład nosnika	link
Apiguard	tymol	żel (lekko opalizujący, bezbarwny, ziarnisty żel – opatentowana formuła, skład: karbomer trietyloamina woda oczyszczona)	https://imeds.pl/apiguard-12-5-g-50-g http://pzp.biz.pl/wp-content/uploads/2018/01/VETANIMAL.pdf
ApilifeVar	olejki eteryczne	spieniona żywica fenolowa (foamed phenolic resin)	https://www.eurovet.eu/custom/eurovet/image/data/srattached/f68df003084937c8a207b0804c28b665_Apilife%20var%20eng.pdf
Apivar	amitraza	kopolimer etylenu z octanem winylu	http://kp.nysa.pl/plk/2019/ulotki/Apiwar_ulotka.pdf
Bayvarol	flumetryna	polietylen o małej gęstości	http://kp.nysa.pl/plk/2019/ulotki/BAYVAROL_ulotka.pdf
Biowar 500	amitraza	pasek z tworzywa sztucznego o gładkich powierzchniach, barwy białej, skład: polietylen	https://biowet.pl/wp-content/uploads/2018/11/Biowar-500-CHPL.pdf
Formicprotect	kwas mrówkowy	skrobia kukurydziana cukier płynny pył drzewny papier laminowany zawierający biodegradowalne polimery guma ksantan woda pitna	https://www.vet-animal.pl/wp-content/uploads/2022/02/Formicprotect-SPC-karta-charakterystyki.pdf
Polyvar yellow	flumetryna	żółte, plastikowe paski o składzie: adypinian dibutylo glikolu propylenowego dikaprylokapronian epoksydowany olej sojowy kwas stearynowy polichlorek winylu tytanu dwutlenek (e171) żelaza tlenek żółty (e172)	https://plw.urpl.gov.pl/files/POLYVARYELLOW_ULOTKA_INF.pdf
Thymowar	tymol	gąbka celulozowa nasączona	https://imeds.pl/thymovar-15-g-paski-do-zawieszania-w-ulu-dla-pszczol-miodnych-15-g-pasek

Na podstawie przeprowadzonych badań literaturowych oraz analizy preparatów dostępnych na rynku stworzono sześć receptur (Fot. 1). Głównym założeniem tych receptur było:

1. W skład preparatu przeciwwarrozowego mają wchodzić obydwa kwasy: mrówkowy i szczawiowy
2. Preparat powinien zredukować jak największą liczbę pasożytów w jak najkrótszym czasie po zastosowaniu, po czym oddziaływać w sposób ciągły przez okres 2-4 tygodni gwarantując oddziaływanie na roztocza uwalniające się wraz z wygryzającym się czerwem, a także stanowić barierę dla reinwazji pasożyta.
3. Kwas mrówkowy ma występować w małej dawce, bezpiecznej dla pszczoł w różnych warunkach środowiskowych stosowania, nawet w przypadku szybkiego odparowania całej dawki kwasu na początku stosowania preparatu przy potencjalnie występujących wysokich temperaturach zewnętrznych i ma stanowić dawkę uderzeniową w początkowym okresie stosowania preparatu.
4. Kwas szczawiowy ma parować z preparatu w sposób ciągły przez 2 - 4 tygodnie, gwarantując oddziaływanie na roztocza uwalniające się wraz z wygryzającym się czerwem, a także stanowić barierę dla reinwazji pasożyta.
5. Baza dla kwasów ma składać się z substancji tanich, neutralnych dla kwasów oraz bezpiecznych dla pszczoł, produktów pszczelich oraz ich konsumentów.
6. Nośnik stały na który będzie naniesiona baza z kwasami ma dobrze znosić kontakt z kwasami. Ponadto ma być ciałem stałym w pojęciu fizycznym i ma zabezpieczać kwasy przed zbyt gwałtownym odparowaniem, co mogłoby zaszkodzić pszczolom.

Powyższe założenia pozwoliły stworzyć wstępne receptury, które przedstawiono w tabeli 3. Czynności wykonane w celu stworzenia 6-ciu receptur:

1. Ustalono dawki kwasów mrówkowego na poziomie 10g/rodzinę pszczelą (tj. 11,5 g 85% kwasu mrówkowego) oraz szczawiowego dwuwodnego na poziomie 40g/na rodzinę pszczelą.
2. Ustalono składniki baz. Uznano, że najlepszymi substancjami będą tu gliceryna bezwodna jako czynnik spowalniający uwalnianie kwasu szczawiowego, skrobia spożywcza i guma arabska jako czynniki pozwalające uzyskać odpowiednią konsystencję bazy.

3. Wymieszano substancje bazy w różnych proporcjach wraz z wytypowanymi dawkami kwasu w celu uzyskania jak najlepszych właściwości organoleptycznych. Użyto tu mieszadła magnetycznego.
4. Przetestowano wchłanianość nośników stałych i neutralność dla kwasów. Egzamin zdały sorbent polipropylenowy i paski celulozowe. Odrzucono natomiast płytki ceramiczne jako zbyt słabo chłone.
5. Naniesiono uzyskane bazy z kwasami na nośniki stałe (Fot. 2). W zależności od konsystencji i ilości uzyskanej mieszanki użyto jeden lub dwa jednocześnie nośniki stałe. W przypadku bazy 2 wystarczył jeden pasek dla pełnej dawki leczniczej, a dla pozostałych receptur użyto dwa paski.

Fot. 1 Uzyskane bazy po wymieszaniu jej składników w różnych proporcjach



Tab. 3. Wstępne receptury preparatu przeciwwarzewego działającego długookresowo na nośniku stałym

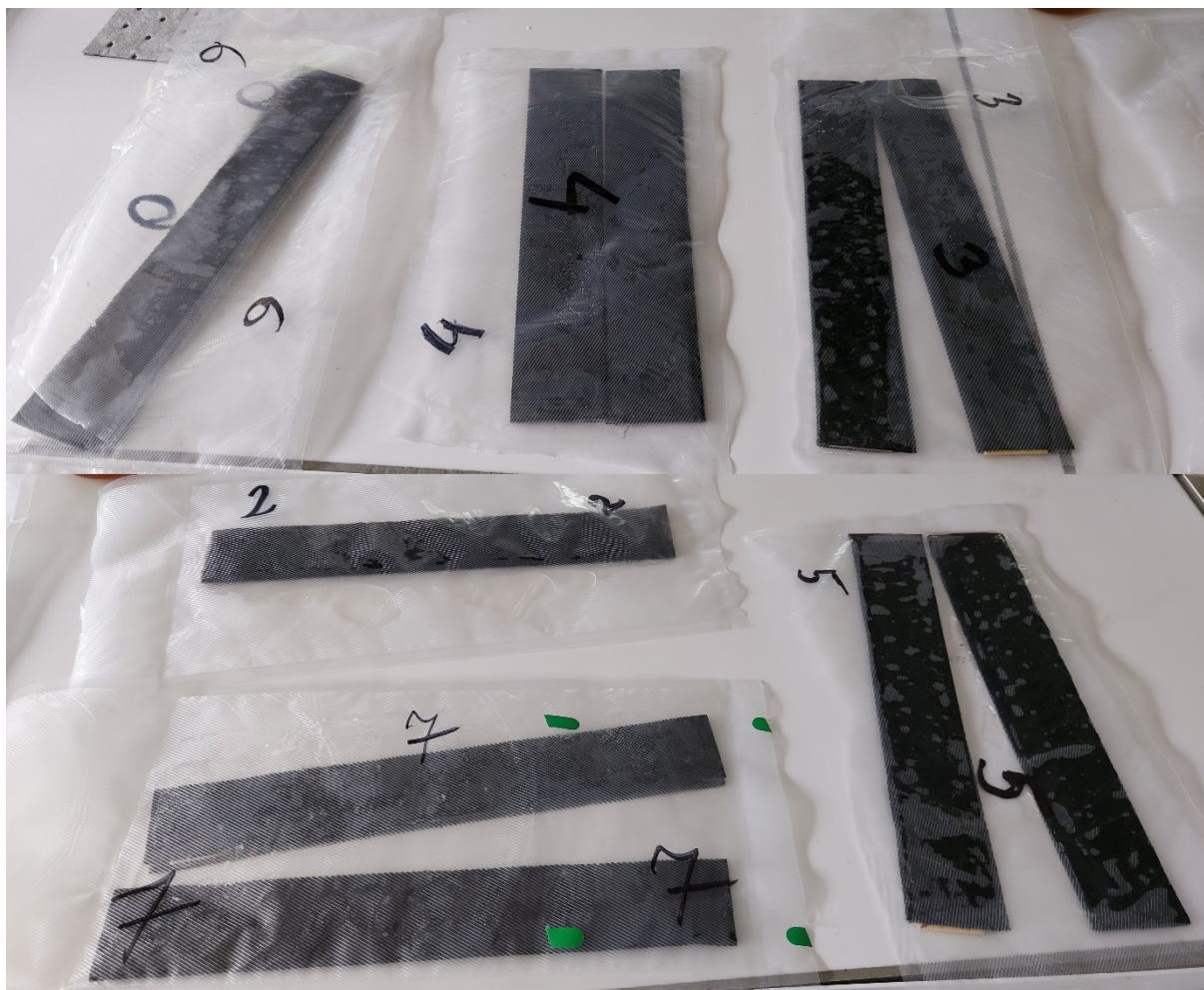
nr receptury	nośnik	skład bazy (g)	kwas mrówkowy 85% (g)	kwas szczawiowy dwuwodny (g)	uwagi
1	-	Gliceryna (82,5) guma arabska (55) woda (110)	-	-	Nie użyto w dalszych badaniach (badano jedynie rozpuszczalność w wodzie i glicerynie)
2	sorbent polipropylenowy	gliceryna (23,5) guma arabska (15) woda (10)	11,5g	40g	

3	sorbent polipropylenowy + paski celulozowe	gliceryna (73,5) guma arabska (15) woda (10)	11,5g	40g	
4	sorbent polipropylenowy	gliceryna (48,5)	11,5g	40g	
5	sorbent polipropylenowy + paski celulozowe	gliceryna (98,5)	11,5g	40g	
6	sorbent polipropylenowy + paski celulozowe	gliceryna (48,5) skrobia (5) woda (45)	11,5g	40g	
7	sorbent polipropylenowy + paski celulozowe	gliceryna (48,5) skrobia (5) guma arabska (5) woda (40)	11,5g	40g	

Fot. 2. Przygotowywanie preparatów według ustalonych receptur



Fot. 3 Uzyskane preparaty na bazie 6-ciu receptur



2. Badanie laboratoryjne jakości i bezpieczeństwa dla pszczół różnych składów preparatu

Badanie laboratoryjne wykonano w dwóch etapach:

I etap – testowanie wszystkich stworzonych receptur pod kątem jakości i bezpieczeństwa dla pszczół

II etap – porównanie wybranych dwóch receptur preparatu z preparatami przeciwwarrozowymi dostępnymi na rynku

Badanie obejmowało:

-analizę pozostałości kwasów przed i po zastosowaniu

- analizę poziomu parowania kwasu mrówkowego
- analizę utraty masy paska po zastosowaniu
- analizę śmiertelności robotnic

Badanie przeprowadzono w cieplarkach w temp. 35°C, wilg. 60%. W tym celu pośrodku cieplarki ustawiano po 5 klateczek z pszczołami. W każdej klateczce umieszczono 30 robotnic. Tuz przed samymi klateczkami układano całą dawkę preparatu przeznaczoną na rodzinę pszczelą (Fot. 3). Cieplarki posiadały otwory wentylacyjne o średnicy 5cm. Eksperyment trwał 48 h. W celu analizy zawartości kwasów w preparacie paski ważono przed włożeniem do cieplarki i po 48 godzinach. Wyniki przedstawiono w tabeli 4 dla etapu I i w tabeli 5 dla etapu II. Analizę parowania kwasu mrówkowego wykonywano po 6, 12, 24 i 48 godz. od włożenia preparatu (fot. 4). Wyniki przedstawiono w tabeli 6 dla etapu I i w tabeli 7 dla etapu II. Analizę śmiertelności robotnic wykonywano po 6, 12, 24 i 48 godz. od włożenia preparatu. Wyniki przedstawiono w tabeli 8. dla etapu I i w tabeli 9 dla etapu II.

Fot. 3. Klateczki z pszczołami umieszczone w cieplarni w celu oceny śmiertelności robotnic



Tab. 4. Utracona łączna masa przez paski zawierające pełną dawkę leczniczą kwasów po 48 h od zastosowania w etapie I badania laboratoryjnego

nr receptury	masa paska przed użyciem (g)		masa paska po 48h (g)		różnica w masie (g)		suma utraconej masy dla I i II (g)
	I	II	I	II	I	II	
2	77,519	-	67,543	-	9,976	-	9,976
3	71,82	65,289	63,024	57,422	8,796	7,867	16,663
4	44,911	50,256	39,705	44,838	5,206	5,418	10,624
5	75,723	76,614	75,3	76,3	0,423	0,314	0,737
6	80,796	82,236	53,006	54,742	27,79	27,494	55,284
7	79,132	68,452	71,361	61,926	7,771	6,526	14,297

Tab. 5. Utracona łączna masa przez paski zawierające pełną dawkę leczniczą kwasów po 48 h od zastosowania w etapie II badania laboratoryjnego

Nr receptury	Masa paska przed użyciem (g)				Masa paska po 48h (g)				Różnica w masie (g)				Suma utraconej masy dla I i II (g)
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	
Nr paska													
B4	71,317	61,262	-	-	60,658	52,258	-	-	10,659		-	-	10,659
B7	81,049	85,013	-	-	60,479	63,479	-	-	20,570	21,534	-	-	42,104
OA	27,450	27,180	27,150	27,360	24,280	24,55	23,990	24,020	3,170	2,630	3,160	3,340	12,300
FA po 2h	163,166	162,255	-	-	153,920	153,13	-	-	9,246	9,125	-	-	18,371
FA po 6h	160,927	164,251	-	-	141,943	145,385	-	-	18,984	18,866	-	-	37,850

Fot. 4. Pomiar stężenia oparów kwasu mrówkowego za pomocą detektora kwasu mrówkowego



Tab. 6. Wyniki monitorowania stężenia oparów kwasu mrówkowego w środowisku cieplarki po 6, 12, 24 i 48 h od momentu zastosowania w etapie I badania laboratoryjnego (ppm)

nr receptury	stężenie kwasu mrówkowego po 6 h (ppm)	stężenie kwasu mrówkowego po 12 h (ppm)	stężenie kwasu mrówkowego po 24 h (ppm)	stężenie kwasu mrówkowego po 48h (ppm)
2	13	25	18	24
3	9	17	14	13
4	15	13	21	16
5	16	21	15	15
6	6	3	12	7
7	12	18	17	12

Tab. 7. Wyniki monitorowania stężenia oparów kwasu mrówkowego w środowisku cieplarki po 6, 12, 24 i 48 h od momentu zastosowania w etapie II badania laboratoryjnego

nr receptury	stężenie kwasu mrówkowego po 6 h (ppm)	stężenie kwasu mrówkowego po 12 h (ppm)	stężenie kwasu mrówkowego po 24 h (ppm)	stężenie kwasu mrówkowego po 48h (ppm)
4	18	17	13	15
7	15	16	18	13
FA po 6h	Poza zakresem przyrządu 80 ppm	Odstąpiono od pomiarów	Odstąpiono od pomiarów	Odstąpiono od pomiarów

Tab. 8. Śmiertelność pszczoł po 6, 12, 24 i 48h od zastosowania preparatu w I etapie badań laboratoryjnych

grupa	po 24h	po 24h	po 24h	po 24h	suma martwych pszczoł	odsetek martwych pszczoł
2	2	1	3	4	10	6,67
3	0	0	0	0	0	0,00
4	0	0	0	0	0	0,00
5	0	0	0	1	1	0,67
6	0	1	0	4	5	3,33
7	0	1	1	0	2	1,33
K	0	0	0	2	2	1,33

Tab. 9. Śmiertelność pszczoł po 6, 12, 24 i 48h od zastosowania preparatu w II etapie badań laboratoryjnych

grupa	po 24h	po 24h	po 24h	po 24h	suma martwych pszczoł	odsetek martwych pszczoł
4	0	1	2	0	3	2,00
7	1	2	1	0	4	2,67

OA	1	0	4	0	5	3,33
FA	150	-	-	-	150	100,00
K	0	0	0	0	0	0,00

3. Badanie terenowe skuteczności i bezpieczeństwa dla pszczoł stworzonego preparatu do zwalczania *Varroa destructor* porównawczo z innymi tego typu preparatami dostępnymi na polskim rynku

Badania terenowe przeprowadzono na 96 młodych rodzinach pszczelich w czerwcu i lipcu, ustawionych na 2 pasieczyskach: Kortowo (48 rodzin) i Kabikiejmy Dolne (48 rodzin) (woj. warm.-maz., powiat olsztyński). Rodziny znajdujące się na pasieczysku Kortowo osadzone były w ulach Ostrowskiej, posiadały wyrównaną siłę (obsiadanie przez pszczoły 5 uliczek międzyplastrowych, w jednym korpusie), a na pasieczysku Kabikiejmy Dolne w ulach Langstrotha. Na pasieczysku w Kabikiejmach Dolnych siła rodzin była zróżnicowana: od 6 do 10 obsiadanych przez pszczoły uliczek międzyplastrowych, w jednym korpusie. Średnia siła w grupach wynosiła od 7,75 do 8. Na tej pasiece tuż przed badaniem nadstawiono drugi korpusu z węzą i przełożono do niego po dwie ramki czerwiu z korpusu dolnego. Wszystkie ule posiadały dennice higieniczne. Na obu pasieczyskach wydzielono 4 grupy doświadczalne liczące po 12 rodzin:

grupa B4 – rodziny leczone preparatem na bazie receptury 4

grupa B7- rodziny leczone preparatem na bazie receptury 7

grupa OA - rodziny leczone preparatem na bazie kwasu szczawiowego

grupa K – rodziny pszczele nie leczone na warrozę

Preparaty aplikowano w jak najbliższym sąsiedztwie czerwiu pszczelego, na górnych beleczkach plastrów rodni. W przypadku uli Langstrotha - pomiędzy korpusy, w środek rodni.

Fot. 5 Aplikowanie preparatów do rodzin doświadczalnych w badaniach terenowych



Badania obejmowały:

1. badanie śmiertelności robotnic
2. badanie śmiertelności czerwiu pszczelego
3. badania skuteczności zastosowanych preparatów na podstawie poziomej inwazji *V. destructor* pobranych próbek pszczół przed leczeniem i po leczeniu
4. badania skuteczności zastosowanych preparatów na podstawie osypu pasożyta na wkładki dennicowe varroa sticky
5. badanie pozostałości kwasów w pasku po zastosowaniu

Badanie śmiertelności pszczół prowadzono przez tydzień od momentu zastosowania preparatu na pasieczysku Kabikiejmy Dolne. Polegały one na ustawieniu przed wylotami uli pojemników do których przez wpadały wyrzucane z ula martwe robotnice (fot. 5). Wyniki ze śmiertelności przedstawiono w tabeli 10.

Fot. 5 Badanie śmiertelności pszczół

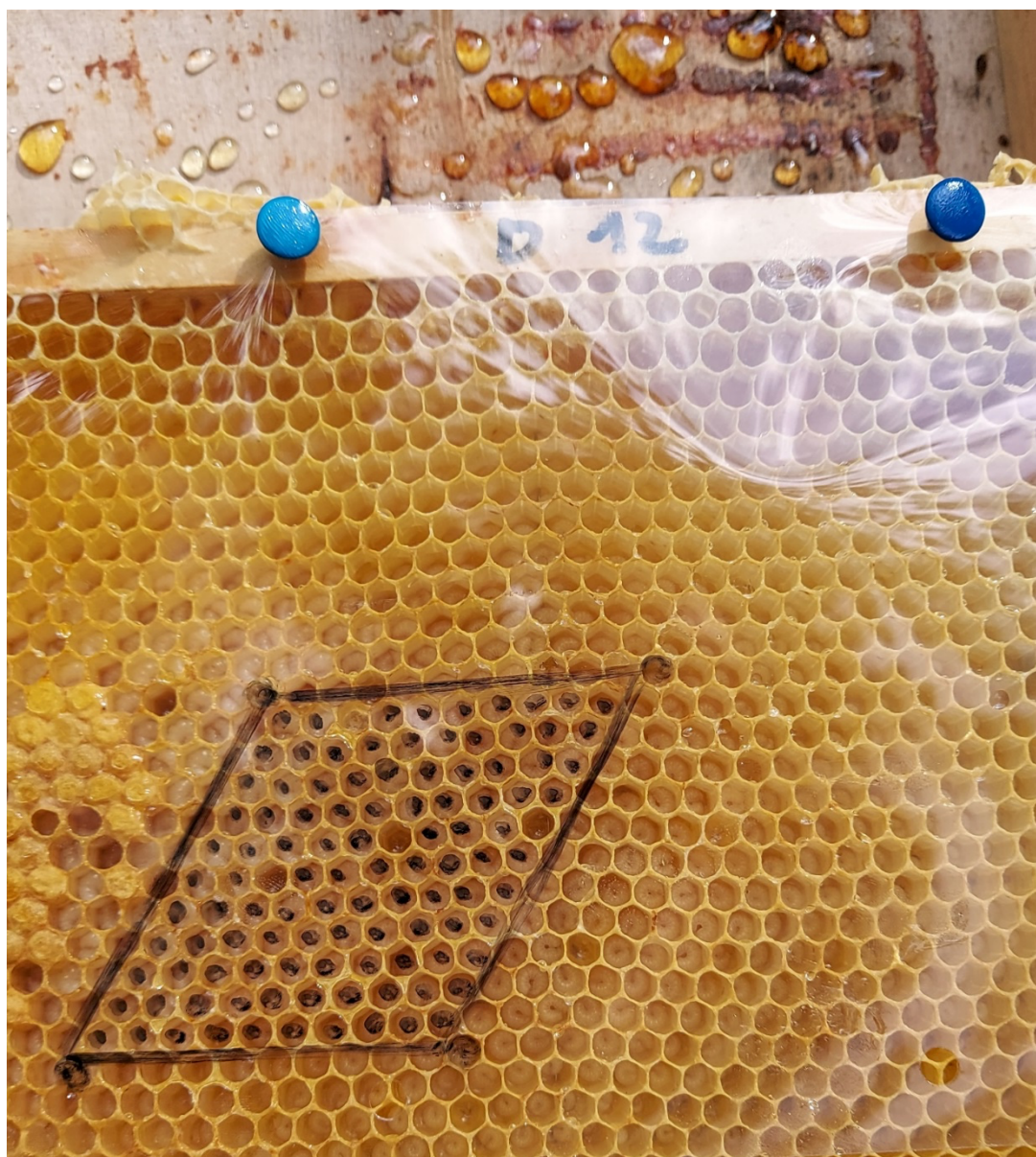


Tab. 10. Średnia śmiertelność robotnic po tygodniu od rozpoczęcia leczenia.

grupa	liczba martwych pszczół
B4	125,67
B7	146,17
OA	87,92
K	94,83

W celu badania śmiertelności czerwii pszczelego w każdej rodzinie pszczelej uczestniczącej w eksperymencie wyznaczono na jednym plastrze fragment czerwii otwartego w stadium larwy zwiniętej liczący 121 komórek pszczelich. Istotne było, aby plaster z badanym fragmentem znajdował się w gnieździe w bezpośrednim kontakcie z preparatem leczniczym. Każdą z komórek zaznaczono za pomocą wodoodpornego markera punktem na folii przypiętej pinezkami stabilnie do beleczki górnej. Na folii i na beleczce naniesiono identyfikator rodziny pszczelej. Następnie po tygodniu ponownie przyłożono folię w to samo miejsce i za pomocą krzyżyków odznaczono czerw usunięty (Fot. 5). Śmiertelność czerwii przedstawiono w tabeli 11.

Fot. 5 Ocena terenowa śmiertelności czerwiu pszczelego



Tab. 11. Średnia śmiertelność czerwiu pszczelego (%) po tygodniu od rozpoczęcia leczenia.

grupa	odsetek zmarłych larw pszczelich
B4	4,12 ab
B7	1,82 b
OA	6,21 a
K	3,31 ab

a, b - wartości oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie, brak oznaczenia przy wartości oznacza brak różnic, $p < 0,05$

We wszystkich rodzinach pszczelich na obu pasieczyskach przed leczeniem i po leczeniu pobrano próbki pszczół z centralnej części gniazd w celu oceny stopnia inwazji V.

destructor. Działania te wykonano bezpośrednio przed włożeniem preparatów leczniczych do ula i bezpośrednio po ich usunięciu po dwóch tygodniach. Próbkę pszczoł zostały przebadane w laboratorium metodą flotacji zalecaną w naukowych standardach światowych. Wyniki poziomu inwazji pasożyta w badanych rodzinach przedstawiono w tabeli nr 12.

Tab. 12. Średni poziom inwazji *V. destructor* w poszczególnych grupach na podstawie badania próbek pszczoł zebranych przed i po leczeniu, oraz skuteczność roztoczebójcza preparatów

pasieczysko	grupa	poziom inwazji <i>V. destructor</i> przed leczenie (%)	poziom inwazji <i>V. destructor</i> po leczeniu (%)
Kortowo	B4	0,66	0,5
	B7	1,33	0,71
	OA	1,42	0,19
	K	0,93	0,72
Kabikiejmy Dolne	B4	1,41	1,29
	B7	1,03	0,98
	OA	1,11	0,80
	K	1,15	1,65

Badania skuteczności zastosowanych preparatów przeprowadzono na podstawie osypu pasożyta na wkładki dennicowe *Varroa* sticky. Skuteczność preparatu obliczono według formuły podanej przez EMA (2011) w opracowaniu „Wytyczne dla medycznych produktów weterynaryjnych do zwalczania *V. destructor* oraz w Beebook (2013) „Standard methods for varroa research”. Według tych opracowań skuteczność preparatu wyznacza „% zredukowanej liczby roztoczy” i stosuje się następujący wzór:

$$\% \text{ zredukowanej liczby roztoczy} = \frac{N \text{ roztoczy zabitych w trakcie terapii}}{N \text{ roztoczy zabitych w trakcie terapii} + N \text{ roztoczy zabitych po leczeniu kontrolnych}} \times 100$$

$$N \text{ roztoczy zabitych w trakcie terapii} + N \text{ roztoczy zabitych po leczeniu kontrolnych}$$

Fot. 6. Przykładowa szufladka z dennicy higienicznej z zamontowaną wkładką *Varroa-sticky*



Fot. 7. Osypane pasożyty *V. destructor* na wkładkę dennicową



Tuż przed zastosowaniem preparatów w dennicach higienicznych założono wkładki *Varroa sticky* (Fot. 6 i fot.7). Po tygodniu zliczono liczbę pasożytów i wymieniono wkładki na świeże. Po kolejnym tygodniu ponownie zarejestrowano liczbę martwych pasożytów osypanych na dennicę i usunięto badane preparaty. Ponownie wymieniono wkładki oraz dokonano leczenia kontrolnego preparatem Apiwarol. Wyliczono skuteczność roztoczebójczą zastosowanych preparatów. Wyniki zaprezentowano w tabeli 13.

Tab. 13. Średnia liczba *V. destructor* uzyskana na wkładkach *Varroa sticky* przed leczeniem warrozy, w trakcie leczenia warrozy i po zabiegu kontrolnym oraz wyliczona skuteczność roztoczebójcza.

	grupa	liczba <i>V. destructor</i> po leczeniu	liczba <i>V. destructor</i> po zabiegu kontrolnym	skuteczność roztoczebójcza preparatów
Kortowo	B4	58,25 ab	24,17	60,61
	B7	13,58 b	25,5	43,61
	OA	83,42 a	12,75	88,64
	K	21,16 b	42,67	-
Kabikiejmy Dolne	B4	60,58	89,58	34,62
	B7	47,83	62,45	23,45
	OA	49,08	56,17	45,50
	K	17,75	88	-

a, b - wartości oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie, brak oznaczenia przy wartości oznacza brak różnic, p-0,05

Przeprowadzono badanie pozostałości kwasów w pasku po zastosowaniu w laboratorium. Badanie zostało wykonane metodą Próbkę ekstrahowano w wysokoobrotowym mieszalniku b400 firmy BUCHI, w temperaturze <10 st.C w 0,1M wodnym roztworze KOH. Ekstrakt oczyszczano techniką SPE na fazie C18. Oczyszczony ekstrakt poddano analizie chromatograficznej.

Parametry IC:

Kolumna AS 18

Eluent KOH

Elucja gradientowa

Detekcja konduktometryczna

Wyniki przedstawiono w tabeli 14.

Tab. 14 Ilość kwasu mrówkowego i szczawiowego w pojedynczym pasku po tygodniu od włożenia

preparat	masa badanego paska po 7 dniach(g)	kwas mrówkowy (po 7 dniach) (g)	kwas szczawiowy po 7 dniach (g)	Kwas mrówkowy po 14 dniach) (g)	Kwas szczawiowy po 14 dniach (g)
B4	84,22	<0,05	13,7	<0,05	15,3
B7	55,65	<0,05	20,4	<0,05	13

4. Opracowanie wyników i rekomendacji wdrożeniowych wraz z ich opublikowaniem na stronach internetowych i prasie pszczelarskiej

Rekomendacje wdrożeniowe

Uzyskane wyniki badań laboratoryjnych i terenowych potwierdzają bezpieczeństwo opracowanych receptur dla pszczoł i czerwiu. Uśredniona skuteczność varrobójcza preparatów była oceniana po dwóch tygodniach i wyniosła dla preparatu B4 47,61%, dla B7 33,53% i dla OA 67,07%. Uzyskane wyniki należy traktować jako wstępne, gdyż badania prowadzono na rodzinach pszczelich o niskim porażeniu. Jako rekomendację wdrożeniową należy uznać:

1. Dążenie do udoskonalenia prototypowej receptury, poprzez dobór nośnika. Preparat B4 posiadał w składzie taką samą ilość kwasu szczawiowego oraz wyłącznie glicerynę jako rozpuszczalnik - jak OA, a ponadto kwas mrówkowy, jako dodatkową substancję czynną, okazał się jednak mniej skuteczny od OA. Różnił się natomiast nośnikiem (sorwent polipropylenowy w B4, paski celulozowe w OA). Nośnik w postaci pasków celulozowych okazał lepszy, pozostaje więc właściwym wyborem.
2. Dążenie do udoskonalenia prototypowej receptury, poprzez zwiększenie początkowej dawki kwasu mrówkowego w celu osiągnięcia większej skuteczności varrobójczej, z zachowaniem głównych założeń bezpieczeństwa dla pszczoł i długookresowego działania. Badania laboratoryjne wykazały wysoką toksyczność dla pszczoł dawki kwasu mrówkowego 70g, uwalnianego z innego nośnika stałego niż stworzone w doświadczeniu preparaty. Badania laboratoryjne i terenowe potwierdziły bezpieczeństwo dla pszczoł i czerwiu dawki 10g (11,5g 85% kwasu mrówkowego). Odpowiednią ilość kwasu mrówkowego przeznaczoną do aplikacji na nośnik stały należy rozważać w przedziale od 10g, do wartości mniejszej niż 70g.
3. Należy kontynuować badania terenowe w zakresie skuteczności varrobójczej, a także laboratoryjne, w zakresie tempa uwalniania kwasów w dłuższym okresie stosowania preparatu (4 tygodnie).
4. Należy kontynuować badania na rodzinach pszczelich o wyższym porażeniu *Varroa destructor*, we właściwym terminie dla głównego zabiegu zwalczania pasożyta, który prawidłowo powinien rozpocząć się z na przełomie lipca i sierpnia.

Wyniki i rekomendacje wdrożeniowe opublikowano w internecie na stronie internetowej Katedry Pszczelnictwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie oraz w prasie pszczelarskiej w czasopiśmie Pasięka. Poniżej wskazano linki do publikacji:

:

<http://www.uwm.edu.pl/pszczoły/?p=750>

<http://www.uwm.edu.pl/pszczoły/wp-content/uploads/2022/07/kwasy-organiczne-na-nos%CC%81niku-sta%C5%82ym.pdf>

<https://pasieka24.pl/index.php/pl-pl/wiedza-w-komorce/porady-pszczelarskie-w-pasiece/3538-stworzenie-receptury-oraz-rekomendacji-wdrozeniowych-dla-preparatu-do-zwalczania-varroa-destroyer-o-dzialaniu-długookresowym-na-nosniku-stalym-na-bazie-kwasow-organicznych-i-porownanie-go-z-innym-tego-typu-preparatem-stosowanym-przez-pszczelarzy-na-terenie-polski>

Piśmiennictwo:

- Eguara M., Palacio M.A., Faverin C., Basualdo M., Del Hoyo M.L., Velis H., Bedascarrasbure E. 2003. Efficacy of formic acid in gel for Varroa control in Apis mellifera L.: importance of the dispenser position inside the hive. *Veterinary Parasitology*, 111(2-3): 241-245. DOI:10.1016/S0304-4017(02)00377-1.
- Eguaras M, Del Hoyo M, Palacio MA, Ruffinengo S, Bedascarrasbure EL. 2001. A new product with formic acid for *Varroa jacobsoni* Oud. control in Argentina. I. Efficacy. *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health.* 2001 Feb;48(1):11-4. DOI: 10.1046/j.1439-0450.2001.00418.x. PMID: 11254094.
- Feldlaufer M., Pettis, J.S., Kochansky, J.P., Shimanuki, H. 1997. A gel formulation of formic acid for the control of parasitic mites of honey bees. *American Bee Journal*. 137. 661-663.
- Giusti M., Sabelli C., Di Donato A., Lamberti D., Paturzo C.E., Polignano V., Lazzari R., Felicioli A. 2017. Efficacy and safety of Varterminator, a new formic acid medicine against the varroa mite. *Journal of Apicultural Research*, 56(2): 162-167. DOI: [10.1080/00218839.2017.1291207](https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1291207)
- Kochansky J, Shimanuki H. 1999. Development of a gel formulation of formic acid for control of parasitic mites of honey bees. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(9): 3850-3. DOI: 10.1021/jf9901439. PMID: 10552733.
- Maggi M., Tourn E., Negri P., Szawarski N., Marconi A., Gallez L., Medici S, Ruffinengo S., Brasesco C., De Feudis L., Quintana S., Sammataro D., Eguaras M. 2016. A new formulation of oxalic acid for Varroa destructor control applied in Apis mellifera colonies in the presence of brood. *Apidologie*, 47:596–605, DOI: 10.1007/s13592-015-0405-7.
- Ramos A., Otero-Colina F., Sánchez-Arroyo G., Santillán-Galicia M.T., Tecante A. 2010. A gel formulation of formic acid for control of *Varroa destructor*. *Trends in Acarology*: 545–549. DOI:10.1007/978-90-481-9837-5_94
- Satta A., Floris I., Eguaras M., Cabras P., Garau V., Melis M. 2005. Formic acid-based treatments for control of *Varroa destructor* in a Mediterranean area. *Journal of Economic Entomology*, 98: 267-73. DOI:10.1603/0022-0493-98.2.267.