

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 464 765**

51 Int. Cl.:

A01K 47/06 (2006.01)

A01K 51/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.05.2010 E 10757737 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.03.2014 EP 2434871**

54 Título: **Dispositivo diseminador montado en colmena**

30 Prioridad:

29.05.2009 GB 0909172
26.04.2010 GB 201006909

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.06.2014

73 Titular/es:

BIOBEST BELGIUM NV (50.0%)
Ilse Velden 18
2260 Westerlo, BE y
VRIJE UNIVERSITEIT BRUSSEL (50.0%)

72 Inventor/es:

PUT, KURT HANS;
JANS, KRIS CYRIEL JOHAN;
STERK, GUIDO MARIO KAREL MICHEL;
SMAGGHE, GUY;
MOMMAERTS, VEERLE;
WÄCKERS, FELIX LEOPOLD y
JACQUES, YANN BRUNO LOIC

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 464 765 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

Descripción

Dispositivo diseminador montado en colmena.

5 Campo de la Invención

La presente invención se refiere a la diseminación de agentes de control biológico u otras sustancias a través del uso de abejas, incluyendo abejas melíferas y abejorros, con y en particular abejorros. Se refiere a un dispositivo diseminador, que se puede instalar en o conectar a la colmena, y que contiene agentes biológicos u otras sustancias incluyendo agro-químicos, que recogen, portan y son diseminados por abejas cuando estas forrajean fuera de la colmena.

Antecedentes de la Invención

15 Los cultivos requieren ser protegidos contra una amplia gama de enfermedades y plagas. Las flores pueden ser un importante camino para la infección de enfermedades de las plantas o sitios de ocurrencia de plagas. El patógeno les infecta bajo condiciones favorable y progresivamente coloniza otros tejidos o frutas. Los síntomas de enfermedad se hacen visibles cuando los tejidos infectados maduran, envejecen o mueren, como por ejemplo en el caso de *Botrytis cinerea*. Control efectivo de enfermedades y plagas depende tanto del uso de productos adecuados de protección de cultivos, ya sea químicos o biológicos (microbianos o agentes microbianos), y en métodos y estrategias para la introducción, promoción y mantenimiento del antagonista en el cultivo (Sutton and Peng, *Annual Review of Phytopathology*, 1993, 31, pg. 473-493).

25 El uso de preparaciones antagonistas microbiológicas contra enfermedades y plagas portadas por flores podrían ser particularmente efectivas si la diseminación del antagonista ocurriera directamente en las partes de la flor durante su florecimiento (Peng and Sutton, *Canadian Journal of Plant Pathology*, 1991, 13, pg. 247-257). Se sabe que insectos pronubios depositan polen hongos y bacterias (Dag et al., *Journal of Apicultural Research*, 2000, 39, Pg. 117-123). De ahí que, mientras efectúan su servicio de polinización, los insectos pronubios pueden también servir como portadores de agentes antagonistas, brindando potencialmente control de enfermedades y plagas además de servicios de polinización (Sutton and Peng, *Annual Review of Phytopathology*, 1993, 31, pg. 473-493; Sutton, *Advances in Plant Pathology*, 1995, 11, 171-188).

35 Mundialmente, más de 500,000 colonias de *B. terrestris* (L.) se compran anualmente para servicios de polinización de varios cultivos, predominantemente sobre tomates. Además de la polinización y control indirecto de enfermedades, estos insectos pronubios también pueden llevar a cabo un papel activo en la prevención de enfermedades y control de plagas depositando, por ejemplo, preparaciones microbiológicas directamente sobre las flores y otras partes de la planta. Esto requiere que las abejas mismas sean cargadas previamente con propágulos del agente antagonista (Sutton and Peng, *Annual Review of Phytopathology*, 1993, 31, pg. 473-493). Para esto último, un dispensador puede ser montado en la salida de la colmena. Dispensadores existentes, tal como los dispensadores lado-a-lado de pasillo (SSP, por sus siglas en inglés) y los dispensadores traslapando el pasillo (OP, por sus siglas en inglés), tienen ciertas desventajas al cargar las abejas.

45 El dispensador SSP mostró que sufre de varios límites funcionales, como se evidencia por la ausencia de propágulos antagonistas en las mayoría de las abejas capturadas y analizadas. La densidad de inoculación en abejorros también estuvo algo baja. El dispensador SSP tampoco se mostró eficiente en la separación de abejas salientes y entrantes: muchas abejas salieron de la caja de la colonia a través de los pasillos rectos y oscuros, evitando así la preparación en polvo; mientras que otras se arrastraron a través del pasillo zigzagueante pero caminaron sobre las paredes laterales. Además, las abejas embarraron el pasillo zigzagueante con sus excrementos líquidos, lo que, una vez amasados con la preparación de polvo antagonista, causo que este último perdiera su consistencia, tornándolo inadecuado para ser cargado en la abejas (Maccagnani B. et al., 2005, *Bulletin of Insectology* 58(1): 3-8)

50 En cuanto al dispensador OP, únicamente una cantidad limitada de propágulos del antagonista se pueden cargar en el pasaje de salida inferior y la carga en las abejas que van saliendo de las colmenas disminuye rápidamente. Una desventaja adicional del dispensador OP es las diferencia entre las dimensiones del pasillo superior y del inferior. El pasillo superior es más ancho y alto comparado con el pasillo inferior; como consecuencia y dado el rango en el tamaño de los abejorros de una colmena, algunas de las abejas pueden salir a través del pasillo superior del dispensador OP y se atorán en el pasillo inferior que es más estrecho. También, la diferencia en el nivel del piso del pasillo superior y el del inferior presenta un efecto negativo en la luz que entra por el orificio de salida de la colmena.

60 Adicionalmente, tanto en el dispensador SSP como en el dispensador OP la densidad del inóculo en las flores y el porcentaje de flores colonizadas fue significativamente menos que con un tratamiento rociado comparable (Maccagnani B. et al., 2005, *Bulletin of Insectology* 58(1): 3-8). También, tanto el SSP como el dispensador OP se colocan en el exterior de la colmena y por lo tanto son sensibles a los cambios de temperatura. Por ejemplo, completamente expuestos en un invernadero, el incremento de temperatura dentro del dispensador puede ser no solamente perjudicial para el agente de control sino también evita que las abejas puedan salir de la colmena.

65 Es, por consiguiente, un objetivo general de la invención proveer un dispensador de colmena que supere los problemas

mencionados anteriormente. Como se presenta a mayor detalle en lo sucesivo, el diseminador para colmena de la presente invención asegura un pasaje de salida unidireccional para las abejas a través del dispensador, evitando así que las abejas entren a través de la salida (es decir, que entren a través del dispensador). Un camino de entrada independiente y también unidireccional se logra a través de la segunda cámara, de esa manera evitando que las abejas salgan de la colmena a través de la entrada. En una realización particular, la salida y entrada están integradas en una unidad visual, contribuyendo así a que entren rápidamente las abejas que regresan. Además, el dispensador cuenta con alta capacidad de almacenamiento del agente que se va a diseminar; esto evita que las abejas abran un camino en el producto, lo que evitaría la carga efectiva, y por lo tanto provee una carga óptima de las abejas y un corto tiempo de paso. El dispensador se puede llenar a través de una perforación en la parte superior de la cámara. Finalmente, se puede integrar al interior de la colmena para beneficiarse así del control interno de temperatura. Se puede hacer accesible a través de una parte superior removible, un mecanismo deslizante u otros medios.

Resumen de la Invención

15 Un dispositivo diseminador para colmena que consta de una cámara (2); dicha cámara teniendo aberturas (4,5) en los miembros de los lados opuestos de dicha cámara y teniendo medios (8) para almacenar e inmovilizar una sustancia en el miembro piso de dicha cámara; y caracterizada en que las aberturas en los miembros de los lados opuestos de dicha cámara incluyen medios (5) para definir caminos unidireccionales, para abejas, a través de dicha cámara.

20 En una realización adicional, el diseminador para colmena comprende además una segunda y separada cámara (1) en la que dicha cámara tiene aberturas (3,6) en los miembros de lados opuestos y dichas aberturas incluyen medios (3) para definir caminos unidireccionales para abejas a través de dicha segunda cámara. En una realización particular, el camino unidireccional a través de dicha segunda cámara es contrario al camino unidireccional a través de la cámara que tiene medios para inmovilizar una sustancia en su miembro piso, en lo sucesivo también referida como la cámara dispensadora (2).

25 En dicha cámara dispensadora (2) los medios (8) para almacenar e inmovilizar una sustancia al centro del miembro piso, en lo sucesivo generalmente referido como medios para inmovilizar una sustancia al miembro piso de dicha cámara, son de tal manera que evitan, ya sea por si mismos o en combinación, que las abejas puedan abrir un camino a través de la sustancia que se va a diseminar y son, por ejemplo, seleccionados de una o más de una pluralidad de orillas, una malla, una serie de pendientes separados por una orilla poco profunda, un medio tubo, papel acanalado, o similares. En una realización particular, los medios para inmovilizar una sustancia consisten de una malla (8), o una pluralidad de orillas, costillas, pliegues, protuberancias, etc. En una realización más particular, los medios para inmovilizar la sustancia en el miembro piso consiste de una serie de pendientes separadas por una orilla poco profunda, dicha serie de pendientes siendo un parte integrada del miembro piso; o un medio tubo con su eje longitudinal en dirección del camino unidireccional a través de dicha cámara, de manera opcional constando de dos o más de las orillas, costillas, pliegues, protuberancias, etc. Los medios para inmovilizar la sustancia al miembro piso pueden ser removibles o pueden ser una parte integrada al miembro piso de la cámara dispensadora. En una realización particular, dichos medios para inmovilizar una sustancia al miembro piso de dicha cámara son una parte integrada al dicho miembro piso. En una realización adicional, dichos miembros son removibles.

40 Tanto en las anteriormente mencionadas cámaras, los medios para definir el camino unidireccional a través de dicha cámara consiste de una o más salidas dirigidas hacia abajo en un extremo de dicha cámara y una o más entradas en el lado opuesto de dicha cámara. Alternativamente, los medios para definir el camino unidireccional pueden consistir de una puerta de un solo sentido (9), como por ejemplo, una puerta rebatible, una trampilla o escotilla que se abre en una sola dirección. En una realización particular, la puerta de un solo sentido puede constar de una abertura pequeña, por ejemplo en su base. Dicha abertura baja la barrera inicial y anima a las abejas a que abran la puerta.

45 Como se ejemplifica, los medios para definir un camino unidireccional consisten típicamente de tubos dirigidos hacia el exterior y cortados diagonalmente o de puertas de un solo sentido, particularmente tubos cónicos cortados diagonalmente (3,5) o puertas rebatibles (9) y las entradas típicamente incluyen medios (4,3) para comunicarse con la entrada o salida de la colmena. Estos medios para comunicarse con la entrada o salida de la colmena usualmente son seleccionados de tubos flexibles, tubos rígidos, puertas de un solo sentido o tubos cónicos. En aún una realización adicional, las entradas pueden cerrarse, como por ejemplo con un elemento deslizante. En caso que los medios para definir un camino unidireccional sea parte de la salida actual de la colmena, estos preferiblemente consistirán de material transparente, más preferentemente de material translúcido, es decir, como un tubo cónico transparente o translúcido cortado diagonalmente, o una puerta perforada o transparente y de un solo sentido. En caso que los medios para definir un camino unidireccional sean parte de una entrada actual de la colmena, es preferible que consista de un material opaco, es decir, como un tubo opaco (oscuro) cónico cortado diagonalmente, alternativamente una puerta opaca y de un solo sentido.

En una realización particular del dispositivo diseminador para colmena de la presente invención, la cámara que tiene los medios para inmovilizar la sustancia, es decir, la cámara dispensadora (2), define un camino de salida para abejas que van saliendo de la colmena; y la segunda cámara (1) define un camino para abejas que van entrando a la colmena. En

dicha realización, el camino de salida es por lo menos 5, 10, 15, 20 o 25 cm de largo.

En una realización de la presente invención la cámara que tiene los medios para inmovilizar una sustancia, es decir, la cámara dispensadora (2) tiene una base rectangular; uno, dos o más medios para definir un camino unidireccional que consiste de tubos cónicos transparentes cortados diagonalmente (5) o puertas de un solo sentido (9); una entrada tetragonal (4) y se caracteriza adicionalmente por tener una orilla próxima a la entrada para retener los medios para inmovilizar la sustancia en el miembro piso de dicha cámara. En una realización particular, dichos dos o más medios para definir un camino unidireccional a través de la cámara dispensadora están en los miembros de lados opuestos de la cámara dispensadora.

En un aspecto adicional de dicha realización, la segunda cámara (1) tiene una base rectangular; una salida unidireccional que consiste de un tubo cónico opaco dirigido hacia el exterior y cortado diagonalmente (3) o una puerta opaca y de un solo sentido (9); y una entrada (6) que incluye de manera opcional medios de comunicación con la entrada de la colmena, como por ejemplo tubos cónicos transparentes cortados diagonalmente (5) o puertas de un solo sentido (9).

En una realización alternativa de la presente invención, la cámara que tiene los medios para inmovilizar una sustancia, es decir, la cámara dispensadora tiene una base trapezoidal y se caracteriza adicionalmente en que la(s) abertura(s) en el lado corto de la pared de dicha base trapezoidal incluye medios (4) para comunicarse con la salida de la colmena. La pared larga de dicha cámara dispensadora con base trapezoidal tiene una, dos o más salidas dirigidas hacia abajo que consisten de tubos cónicos transparentes cortados diagonalmente (5).

En un aspecto adicional de dicha realización, la segunda cámara (1) tiene una base trapezoidal; una salida dirigida hacia abajo que consiste de un tubo cónico opaco (3); y una entrada (6) que incluye medios para comunicarse con la entrada de la colmena.

Las dos cámaras que conforman los dispositivos diseminadores para colmena como se describen aquí podrían consistir de dos cámaras separadas, pero como se ejemplifica, en una realización particular la cámara que tiene los medios para inmovilizar una sustancia, es decir, la cámara dispensadora; y la segunda cámara tomadas en conjunto, definen una sola carcasa. En dicha realización particular, las dos cámaras están, ya sea, adyacentes o sobrepuestas, con, en una realización más particular, la cámara dispensadora sobre la segunda cámara y caracterizada adicionalmente en que la salida (5) de la cámara dispensadora esta sobrepuesta con respecto a la entrada(6) de la segunda cámara. La salida sobrepuesta (5) y entrada (6) son, de manera opcional, enmarcadas con una marca visual (10), en particular una marca azul.

Como tal, los dispositivos diseminadores para colmena como se definen aquí pueden ser colocados afuera y conectados a la entrada de la colmena y a la salida; o se pueden colocar adentro de la colmena. Cuando se colocan adentro de la colmena, los dispositivos diseminadores para colmena como de define aquí incluirán medios para facilitar el montaje del dispositivo en una colmena. En una realización particular, el dispositivo diseminador para colmenas es una parte integrada a la malla superior de la colmena.

Es, por consiguiente, también un propósito de la presente invención proveer una colmena que comprende un dispositivo diseminador como se define aquí.

Breve Descripción de los Dibujos

Ahora haciendo específicamente referencia a las figuras en detalle, se enfatiza que los particulares que se muestran como ejemplos y para propósito de una discusión ilustrativa de las diferentes realizaciones de la presente invención únicamente, y se presentan en la causa de proveer lo que se cree ser la descripción más útil y adecuada de los principios y aspectos conceptuales de la invención. En este aspecto, no se hace ningún intento de demostrar detalles estructurales de la invención a mayor detalle que lo necesario para una comprensión fundamental de la invención; la descripción junto con los dibujos hará aparente, a aquellos adiestrados en el arte, como las varias formas de la invención se pueden realizar en la práctica.

Figura 1: Dispensador-embudo, A: vista posterior, B: vista lateral, C: vista frontal, D: vista superior 1 compartimento de la entrada, 2. compartimento de salida en forma de trapecio, 3: encerrador de abejorros conectado el compartimento de entrada con la colmena, 4: conexión del compartimento de salida con la colmena, 5: aberturas de salida del encerrador de abejorros, 6: abertura de la entrada, 7: tapa del dispensador.

Figura 2: Impacto del largo del dispensador-embudo en la eficiencia de la carga del cuerpo de las obreras B. Terrestres. Los números promedio de UFC/abeja se expresan como medios (\pm SEM). El ANOVA resultó en dos grupos (F = 29.981; DF = 149; P < 0.001) Los valores seguidos por una letra diferente (a - b) son significativamente diferentes (Tukey-Kramer prueba post-hoc con P = 0.05).

Figura 3: Impacto del sistema dispensador-embudo cuando se coloca antes del nido, en la actividad de forraje de los abejorros a diferentes puntos de tiempo, antes y después de cargar el dispensador.

Figura 4: Comparativo entre el dispensador-embudo y el dispensador SSP modificado, en un invernadero cerrado, respecto la cantidad de deposiciones de ACM en flores. Números medios de UFC recuperada por zona (A-B-C) por tipo de dispensador (dispensador SSP modificado (barras negras) o dispensador F (barras grises) durante un muestreo de tres semanas, con toma de muestras una vez por semana.

Figura 5: Dispensador-rectangular, colocado dentro de una colmena de abejorros, A: vista superior con tapa cerrada, B: vista superior con tapa abierta, C: vista lateral, D: vista frontal. 1: compartimento de la entrada, 2: compartimento de salida en forma rectangular, 3: encerrador de abejorros conectado el compartimento de entrada con la colmena, 4: conexión del compartimento de salida con la colmena, 5: aberturas de salida del encerrador de abejorros, 6: abertura de la entrada, 7: tapa del dispensador.

Figura 6: Comparativo del dispensador R y el dispensador SSP en cuanto a la actividad forrajera de abejorros. La actividad forrajera media por 30 minutos se midió durante 3 días consecutivos y durante 2 puntos de tiempo diferentes durante el día para 3 colmenas sin dispensador, 3 colmenas con el dispensador R y 3 colmenas con el Dispensador S.

Figura 7: El efecto que tiene sobre la actividad de forraje de los abejorros el cargar el dispensador R. La actividad forrajera media por cada 30 minutos medida en 3 diferentes puntos de tiempo (7 AM, 11 AM y 4 PM) del día después de haber cargado el dispensador R. Dispensador R cargado (barras negras), Dispensador R vacío (barras grises).

Figura 8: Dispensador R, incorporado a una colmena de abejorros, mostrando aberturas de salidas encerradoras para abejorros (5) que tienen una puerta de un solo sentido (9), y una abertura de entrada enmarcada con una marca visual (10) (es decir, una marca azul).

Figura 9: Dispensador sobrepuesto (Dispensador S) A: Vista Frontal Superior B: Vista Trasera Inferior C: Vista Lateral D: Dispensador S, incorporado a una colmena de abejorros, mostrando la salida sobrepuesta (5) y entrada (6) enmarcada con una marca visual (10). Vista E: representación de una realización posible de los medios (8) para inmovilizar la sustancia que se diseminará, en la forma de un medio tubo que contiene una pluralidad de pliegues.

Descripción Detallada de la Invención

El dispositivo diseminador de la presente invención soluciona los problemas asociados con los dispositivos mencionados anteriormente en que ofrece:

- una alta capacidad de carga para el agente que se diseminará.
- provee un cargado óptimo de las abejas con corto tiempo de pasaje,
- no ejerce influencia en el comportamiento de forrajeo de las abejas,
- se puede integrar dentro de la colmena, y
- se puede acceder a este fácilmente para su relleno molestando lo menos posible el nido.

Para lograr los objetivos arriba mencionados, los diseminadores de colmena de la presente invención, en los ejemplos mencionados en lo sucesivo y a los que también se les refiere como dispensadores, comprenden de una cámara para recibir los agentes de control biológicos u otras sustancias que serán diseminadas por las abejas. Como se muestra en los ejemplos de las gráficas, se accede a la cámara dispensadora con facilidad con el propósito de rellenarla. Para evitar que las abejas salgan de la colmena mientras se manipula la cámara dispensadora, la entrada (4) a dicha cámara se acomoda preferiblemente por medios para cerrar la entrada, como por ejemplo una puerta deslizante. Acceso a la cámara dispensadora podría, por ejemplo, llevarse a cabo por medio de una tapa removible (7), opcionalmente conectada a la malla superior de la colmena (0) por medio de bisagras. Alternativamente, y en caso que el diseminador para colmena de la presente invención este integrado a la colmena, el miembro superior de la cámara dispensadora puede consistir de la malla que cubre (0) la colmena. En ese caso, el relleno de la cámara dispensadora se puede llevar a cabo directamente a través de la malla.

Como se mencionó con anterioridad, los diseminadores de colmena de la presente invención se caracterizan en que consisten de una o más entradas y salidas que tomadas en conjunto definen un camino unidireccional para que las abejas pasen por la cámara. Cuando se utilizan conjuntamente con una colmena, este camino unidireccional es o un camino de entrada para las abejas que entran en la colmena o un camino de salida para las abejas que salen de la colmena. En una realización preferida, el camino unidireccional a través de la cámara que recibe la sustancia que se va a diseminar, a la que en lo sucesivo también se le refiere como cámara dispensadora, esta es parte del camino de salida para las abejas que salen de la colmena.

Para realizar el camino unidireccional a través de la cámara, las salidas deben ser de tal manera que permitan a las abejas salir de la cámara a través de las aberturas correspondientes, pero que eviten que entren a través de dichas aberturas de salida. Ya que se sabe que las abejas no entran a una colmena a través de un orificio dirigido hacia abajo, los medios para definir el camino unidireccional a través de dicha cámara pueden consistir de una o más salidas dirigidas hacia abajo en un extremo de dicha cámara y una o más entradas en el lado opuesto de dicha cámara. La

salida dirigida hacia abajo podría, por ejemplo, ser realizada con una tapa o capucha que se ajusta externamente sobre la abertura de salida en el miembro lateral de dicha cámara y que tiene una abertura en el plano de ángulo recto orientado hacia abajo cuando se compara con la abertura de salida en el miembro lateral de dicha cámara. Alternativamente, la salida dirigida hacia abajo se podría realizar con un tubo cónico cortado diagonalmente que se ajusta en y se extiende hacia el exterior de la abertura de salida. Las salidas orientadas hacia abajo se pueden fabricar de cualquier material que típicamente se utiliza en la manufactura de dispensadores para colmena, pero en el caso de que la salida sea parte del camino de salida para las abejas que salen de la colmena, el material deberá ser transparente a la luz ya que las abejas que salen responden a la luz que entra a la cámara.

En una realización adicional alternativa, los medios para realizar un camino unidireccional se pueden realizar con una puerta de un solo sentido, tal como una trampilla, puerta rebatible o escotilla. Para animar a las abejas a que abran la puerta y como se muestra en los ejemplos en lo sucesivo, en una realización particular las puertas de un solo sentido contienen en su base una pequeña abertura. No hay requerimientos específicos respecto la forma de dicha abertura pero el tamaño debe ser tal que permita a las abejas identificar la abertura como una ruta de escape posible, pero suficientemente pequeña para evitar que las abejas pasen por ella. Como tal, el ancho y/o altura de esta pequeña abertura debe ser alrededor de 2 mm y hasta 3 mm. De nuevo, en caso que dicha puerta de un solo sentido sea parte del camino de salida, la puerta se debe ser de material transparente a la luz, preferiblemente translúcido o perforado. En caso de que la puerta de un solo sentido sea parte de una entrada a la colmena, es preferible que consista de material opaco (oscuro). En este último caso y para animar a las abejas a abrir la puerta, dicha puerta puede consistir de una abertura adicional, tal como por ejemplo en la base de dicha puerta que permita el aroma de la colmena que entre a la segunda cámara (1).

Diferente a los dispensadores conocidos, la cámara dispensadora de los diseminadores de colmena actuales son sustancialmente libres de obstáculos como las placas cruzadas que se encuentran en los dispensadores SSP y los cambios de nivel de piso que se encuentran por ejemplo en los dispensadores OP. Estos últimos influyen el tiempo de pasaje en el dispensador, la infiltración de luz en la colmena y por tanto puede ser que tengan influencia en el comportamiento de forrajeo de las abejas. Comparado con los diseminadores antes mencionados, la cámara dispensadora de la invención presente únicamente contiene medios en el miembro piso de dicha cámara para inmovilizar la sustancia que será diseminada pero sin obstaculizar el pasaje de las abejas cuando estas caminan a través de la cámara dispensadora. Como ya se explicó anteriormente, estos medios evitan que las abejas puedan abrir una senda a través de la sustancia que se va a diseminar.

La sustancia que se va a diseminar puede ser cualquier sustancia que no sea patogénica a las abejas, incluyendo polen; productos de protección para las plantas tal como agro-químicos; agentes de biocontrol tal como por ejemplo virus, bacteria, hongos, Rickettsia, nematodo, huevo de ácaros o insectos benéficos, o ácaros o insectos benéficos; fertilizadores; o preparaciones que contienen hormonas para las plantas, etc. Si bien se conoce en el medio que las colmenas de abejorros sin dispensador y sustancias diseminadas incluidas en ellos son útiles para la polinización de ciertas plantas, las sustancias diseminadas como se utiliza en la invención busca ofrecer una utilidad adicional a la planta (preferiblemente vía las flores que visiten los abejorros tal como la reducción de ciertas plagas y problemas de enfermedades, polinización (en particular polinización cruzada) o mejor o alterado desarrollo de la flor o planta.

Dichas sustancias se pueden utilizar como tal, o en la forma de una formulación, incluyendo combinaciones de las sustancias mencionadas anteriormente. En una realización particular, la sustancia es una formulación líquida o en polvo, más en particular la formulación es una formulación en polvo, es decir, utilizando un portador en polvo. El portador en polvo puede ser almidón tal como el maíz, almidón, talco, polvo derivado de las cáscaras de nuez trituradas, polvo de barro o mezclas de estos materiales.

Cualquier material para prevenir desplazamientos no deseados de la sustancia en polvo o formulación se puede utilizar en la cámara dispensadora de la presente invención. En una realización particular, dichos medios son una parte integral del miembro piso de la cámara dispensadora; por ejemplo, en caso de que se utilice un material abrasivo para fabricar el miembro piso de dicha cámara. Ejemplos de tal material abrasivo incluyen madera de corte basto cuya textura sea natural o plástico cuya superficie es antiderrapante, es decir, teniendo en la superficie líneas trazadas o una pluralidad de pliegues. En una realización adicional, dichos medios integrados para evitar desplazamientos indeseables de la sustancia consisten de una malla, o una pluralidad de orillas, costillas, pliegues, protuberancias, etc. En una realización particular, los medios integrados para evitar el desplazamiento indeseado de la sustancia consiste de una serie de pendientes separadas por una orilla poco profunda. La inclinación de dichos pendientes es preferiblemente en el mismo eje direccional que el camino de salida a través de dicha cámara. En dicha realización particular, las abejas pasarán un número de veces a través de la sustancia que se va a diseminar, resultando en una alta carga sobre una distancia corta. Alternativamente, el miembro piso de la cámara dispensadora está cubierta de material removible y se selecciona entre, por ejemplo, uno o más de una malla, por ejemplo de alambre soldado; estopilla; esponja; cepillos; papel acanalado; una serie de pendientes separados por una orilla poco profunda, un medio tubo, o papel acanalado. En una realización particular, dichos medios son removibles y pueden consistir de combinaciones de cualquiera de los ejemplos antes mencionados. En una realización particular preferida, los medios para inmovilizar la sustancia que se va a diseminar consiste de un medio tubo removible que comprende dos o más orillas, costillas, pliegues, protuberancias, etc. (tal como por ejemplo lo representado en la figura 9E). Los miembros bloqueadores para retener dicho material en una posición fija en la cámara dispensadora pueden también estar presentes. En cualquiera de las realizaciones antes mencionadas,

los medios para evitar un desplazamiento indeseado de la sustancia causará una distribución automática y uniforme de la sustancia, aún después de que una abeja haya cruzado la cámara dispensadora. Por ejemplo, en caso de que los medios para evitar desplazamientos indeseados de la sustancia consistan de papel acanalado, las costillas estarán preferiblemente en dirección longitudinal de la cámara dispensadora.

Como se provee a mayor detalle en los ejemplos en lo sucesivo, en una realización particular el diseminador para colmena de la presente invención está incorporado en la colmena misma. Uno de los dichos diseminadores integrados en la colmena consistirá de una cámara dispensadora como se describe anteriormente, en el que la(s) salida(s) unidireccionales de la cámara dispensadora se comunican con la(s) salida(s) de la colmena y la(s) entrada(s) de la cámara dispensadora está(n) en contacto directo con el interior de la colmena. Para mejorar el acceso de la cámara dispensadora integrada para las abejas que deseen salir de la colmena, la colmena opcionalmente comprenderá de medios para permitir que las abejas se arrastren de la colmena hacia arriba y hasta la cámara dispensadora, tal como por ejemplo un alambre, palo, malla, escalera, etc..., que se extiende de la entrada(4) del dispensador hasta adentro de la colmena. Es, por lo tanto, objetivo de la presente invención proveer un diseminador para colmena de la presente invención adicionalmente caracterizado en que la cámara dispensadora contiene en su entrada (4) medios que permiten a las abejas arrastrarse desde la colmena hacia arriba y hasta adentro de la cámara dispensadora. Dichos medios que permiten a las abejas arrastrarse desde la colmena hacia arriba y hasta adentro de la cámara dispensadora se fijarán, por ejemplo, a la cámara dispensadora o a la malla superior de la colmena.

Como ya se mencionó anteriormente, dado que las abejas que quieren salir responden a la luz que entra a la colmena, es importante que suficiente luz entre a la cámara dispensadora. Adicionalmente al uso de medios de salida transparentes o perforados en dirección hacia abajo (supra), la luz en la cámara dispensadora se puede mejorar a través del uso de un miembro lateral, transparente o perforado, en la salida de la cámara dispensadora. En dicha realización, en que el diseminador para colmena de la presente invención esté integrado en la colmena misma, el miembro lateral transparente o perforado en la salida de la cámara dispensadora debe de estar en contacto o con una ventana correspondiente o con una abertura de la colmena misma. Es, por lo tanto, objetivo de la presente invención proveer un diseminador para colmena de la presente invención adicionalmente caracterizado en que la cámara dispensadora comprende un miembro lateral transparente o perforado en la salida de dicha cámara.

Para asegurar que las abejas que salen de la colmena pasen a través de la cámara dispensadora y no se escapen vía la entrada de la colmena, esta última debe contar con medios similares a los utilizados para las salidas unidireccionales mencionadas anteriormente. En una realización particular, el orificio de entrada de la colmena comprenderá de un tubo cónico dirigido hacia adentro, opcionalmente un tubo cónico cortado diagonalmente. Para evitar la penetración de la luz, la que puede atraer a las abejas que van saliendo, los medios para realizar la entrada unidireccional deben estar hechos de material ligero opaco. En una realización adicionalmente alternativa, la entrada a la colmena se puede realizar con una puerta de un solo sentido, tal como una trampilla, puerta rebatible o escotilla. En cuanto al tubo cónico cortado diagonalmente mencionado anteriormente, la puerta de un solo sentido en la entrada de la colmena es preferiblemente hecha de un material ligero opaco.

Si bien las abejas que salen de la colmena responden a la luz, a las abejas que entran en la colmena les atrae la aroma de la colmena. Por tanto, en caso que de los medios para realizar una entrada unidireccional consista de una puerta de un solo sentido, esta última puede consistir de una abertura adicional, tal como por ejemplo en la base de dicha puerta que permita que la aroma de la colmena salga y atraiga a las abejas que entran.

Así, en una realización particular, la presente invención provee una colmena que comprende una cámara dispensadora como se describe anteriormente, en que;

- la(s) salida(s) unidireccional(es) de dicha cámara se comunica(n) con la(s) salida(s) de la colmena;
- la(s) entrada(s) de dicha cámara están en contacto directo con el interior de la colmena; y

en que la entrada de la colmena cuenta con medios para realizar una entrada unidireccional.

Como se mencionó anteriormente, los medios para realizar una entrada unidireccional pueden ser similares a los medios para realizar una salida unidireccional, pero alternativamente la entrada de la colmena se comunicará con la entrada de la segunda cámara. En cuanto a la cámara dispensadora, la(s) abertura(s) de salida(s) en dicha segunda cámara debe(n) de ser de tal manera que tomada(s) en conjunto con la entrada definen un camino unidireccional para la abejas a través de la cámara. Al ser integrada a la colmena, la abertura de salida de dicha segunda cámara está en contacto directo con el interior de la colmena y cuenta con los medios para evitar que las abejas entren dicha segunda cámara a través de dicha abertura. En una realización particular, dichos medios consistirán de un tubo cónico dirigido hacia adentro, opcionalmente un tubo cónico cortado diagonalmente. En una realización alternativa, dichos medios consisten de una puerta de un solo sentido, tal como una trampilla, puerta rebatible, o escotilla que se abre hacia una sola dirección. En una realización adicional, la cámara de entrada integrada (la segunda cámara (1)) puede contar, en su salida unidireccional que esta en directa comunicación con el interior de la colmena, con medios que permiten a las abejas arrastrarse desde la cámara de entrada hacia abajo y hasta entrar en la colmena, tal como, por ejemplo, un alambre, palo, malla, escalera, etc. ...

Si bien el largo del camino de salida es importante para realizar una carga optima de las abejas con la sustancia que se va a diseminar, el largo del camino de entrada es de menos importancia. Consecuentemente, comparado con el largo de la cámara dispensadora, la segunda cámara puede tener el mismo largo pero puede ser más corta también. Para

reducir aún más la penetración de la luz a través del camino de entrada a la colmena, el largo de la segunda cámara debe ser cerca de 5, 10, 15 cm o más. Para beneficiarse de la aroma de la colmena en atraer las abejas entrantes, la segunda cámara puede ser de malla o contar con perforaciones en su base y miembro(s) lateral(es) que se comunican con la colmena. Para permitir el desarrollo de una senda de aroma en la segunda cámara, esta última debe de contar con material portador que cubra la base (piso) de dicha cámara, tal como, por ejemplo, una pieza de cartón o madera de corte basto. Igualmente y similar a la entrada unidireccional mencionada anteriormente, en caso que la salida unidireccional consista de una puerta de un solo sentido, esta última puede consistir de una abertura adicional, tal como por ejemplo en la base de dicha puerta que permita que la aroma de la colmena entre en dicha cámara y atraiga a las abejas que entran.

Nuevamente, excepto por el largo del camino de salida, no hay limitaciones en particular en cuanto a la forma de la cámaras como se muestra en los ejemplos a continuación. Dada la habilidad para integrar las cámaras a la colmena, limitaciones en la altura, ancho y largo se establecen típicamente mediante las dimensiones de la colmena. El ancho de las cámaras es típicamente cerca de 2,0 a 15,0 cm, con una cámara dispensadora en promedio alrededor de 5,0 hasta alrededor de 15,0 cm y la segunda cámara en promedio alrededor de 2,0 hasta alrededor de 5,0 cm. La altura de las cámaras debe ser tal que evita que las abejas vuelen y es típicamente alrededor de 1,0 hasta alrededor de 15,0 cm con una altura promedio de alrededor 3,0 hasta 4,0 cm. No debe de ser un obstáculo para las abejas que entran o salen de las cámaras, las aberturas deben de estar cerca de los miembros piso y estar colocados hasta alrededor de 0,5 cm arriba de dichos miembros piso, con diámetros que van desde el ancho de las cámaras hasta alrededor de 1,0 cm.

Las dos cámaras como se describen aquí pueden ser cámaras independientes y separadas pero preferiblemente en conjunto formando una sola carcasa tal como por ejemplo se provee en las diferentes realizaciones descritas a continuación. Como tal la carcasa se puede utilizar dentro o fuera de la colmena. In el último caso, la(s) entrada(s) de la cámara dispensadora y la(s) salida(s) de la segunda cámara contarán con medios para comunicarse con la(s) salida(s), entrada(s) respectiva(s) de la colmena.

Los medios para comunicarse con la entrada o salida de la colmena típicamente son seleccionados de tubos flexibles, tubos rígidos, puertas rebatibles o tubos cónicos.

Esta invención será mejor comprendida si uno se refiere a los Detalles Experimentales que siguen a continuación pero aquellos o aquellas experimentados o experimentadas en el arte inmediatamente comprenderán que estos son únicamente ilustrativos de la invención como se describen a mayor detalle en las realizaciones que siguen a continuación. Adicionalmente, a través de esta aplicación, se citan varias publicaciones. La revelación de estas publicaciones queda mediante esta incorporada por referencia en esta aplicación para describir con mayor detalle el estado del arte al que pertenece esta invención.

EJEMPLOS

En todos los siguientes ejemplos diferentes realizaciones de los diseminadores para colmena se presentan y se prueban para determinar su eficacia en la distribución de agentes de control microbiológicos (ACM) utilizando el abejorro *Bombus terrestris*.

Como se ofrece a mayor detalle en los ejemplos a continuación, la eficacia de los diseminadores para colmena, es decir dispensadores, fueron evaluados mediante;

- la determinación del cargado de los abejorros con ACM, mediante la evaluación de las UFC que se pudieron recuperar de las abejas;
- determinación del impacto del dispensador en la intensidad del forrajeo mediante el recuento la frecuencia de entradas y salidas durante 30 minutos a diferentes puntos de tiempo durante el día; y
- la determinación de la cantidad de ACM dispersado en las flores cuando se prueban bajo condiciones prácticas en un invernadero cerrado. La cantidad de ACM dispersado en las flores se evaluó así como las UFC que se pudieron recuperar del mismo.

EJEMPLO 1. Dispensador embudo

En todos los experimentos con el dispensador E, los ACM consistieron de semillas/propágulos de cepas de hongos *Trichoderma atroviride* y *Hypocrea parasilulifera* en una concentración mínima de 1,000,000 UFC (Unidades Formadoras de Colonias)/gramo. Estos ACM son, por ejemplo, disponibles como producto comercial bajo el nombre de BINAB® T Vector (Bio-Innovation AB, Suecia). Sin embargo, se puede utilizar cualquier agente de control que no interfiera con el funcionamiento normal de las abejas.

Diseño del dispensador embudo

El dispensador embudo (dispensador E) tiene las siguientes características (fig. 1):

- Es un dispensador de doble sentido con una base tipo trapecio hecho de PVC de 3 mm de espesor con compartimentos de salida y entrada separados ((2) y (1), respectivamente)
- La base trapecio tiene un ancho de 7.2 cm a 18 cm
- El compartimento (2), se llena con el ACM, tiene 5,3 cm de altura, desde alrededor de 7,0 a 14,0 cm de ancho y desde alrededor de 20-30 cm de largo. Este compartimento contiene una abertura (4) que esta conectada con el nido vía un tubo corto de plástico con un encerradero-de-abejorros y 3 aberturas de salida (5), con un encerradero-de-abejorros. Los encerraderos-de-abejorros se utilizan para evitar que los abejorros regresen al nido por vía de la abertura equivocada
- Las aberturas de salida se colocan lo más cercanas posible a las aberturas de entrada, ya que se ha observado que los abejorros que salen del dispensador vía una abertura de salida colocada lejos de una abertura de entrada pierden más tiempo tratando de encontrar la abertura de entrada correcta.
- Compartimento (1) (Largo alrededor de 20-30 cm x Ancho alrededor de 3,0 cm x Altura de 5,3 cm) tiene dos aberturas, una está conectada con el nido (3) vía un tubo corto de plástico, con un encerrador-de-abejorros en la parte interna de la colmena para evitar que los abejorros salgan del nido vía la abertura equivocada y la otra es la abertura de entrada. Esta última abertura (6) está marcada en el exterior con el color azul para atraer a los abejorros que van a entrar
- Para evitar movimiento del polvo como consecuencia de el movimiento de los abejorros, una malla se coloca en el fondo de dispensador.

Eficiencia del dispensador embudo para la carga de abejorros

Para determinar el largo óptimo de dispensador embudo, para obtener una carga óptima del cuerpo del abejorro, dibujamos líneas en el dispensador (de 25 cm de largo) a los 5, 10, 15, 20 y 25 cm. El dispensador se llenó con BINAB® T Vector. Abejorros de la misma edad y tamaño se guardaron individualmente en un frasco cubierto de papel aluminio para mantenerlo oscuro. Entonces, el frasco se conectó con el dispensador y se les permitió a los abejorros obreras caminar a través del dispensador. Se capturó a las obreras a diferentes distancias después de 5, 10, 15, 20 y 25 cm de haber caminado a través del dispensador bajo oscuridad completa (luz roja) para evitar disturbios del comportamiento del caminado de las obreras debido a la presencia de la luz. Después de la captura, se le dio muerte a la abejas, y se analizó la cantidad de UFC presentes en sus cuerpos. Para cada distancia, se sacudieron 10 abejorros en una solución fisiológica a 200 rpm durante 60 minutos. Se analizó la cantidad de UFC recubriendo placas de medios selectivos con una serie de diluciones de la solución que se obtuvo y para cada dilución se utilizaron 4 placas. Se incubaron las placas petri a temperatura ambiente y después de 36 horas se evaluaron las diferentes colonias. El experimento se repitió tres veces.

Como se muestra en la figura 2, la mejor carga se obtuvo cuando las abejas caminaron durante 20 o 25 cm a través del dispensador. Los datos sugieren que la carga alcanzó su máxima/saturada carga al caminar 20 y 25 cm a través del dispensador. A menores distancias se recuperaron significativamente ($p < 0.05$) menores cantidades de UFC.

Además, la eficiencia de los dispensadores tipo embudo para la carga de abejorros se comparó con aquella del dispensador SSP previamente descrito. Por tanto, se utilizó un dispensador embudo en el que el compartimento que se llenó con el ACM medía 25 cm de largo. El dispensador embudo pareció ser mucho más efectivo en cargar los abejorros, ya que la media UFC/abeja (433413 ± 62780) fue 10 veces más alta que la del dispensador SSP (49421 ± 3499). La media del área de superficie corporal de la abejas que se utilizó en ambos dispensadores fue comparable: $362,8 \pm 19,6 \text{ mm}^2$ para el dispensador SSP y $356,7 \pm 59,0 \text{ mm}^2$, indicando que la diferencia en UFC/abeja se debe a una eficiencia más alta del dispensador embudo en la carga de abejorros.

Efecto del dispensador embudo en el forraje de los abejorros

El propósito de este experimento fue comprobar si al colocar el dispensador embudo al frente de la colmena de abejorros afecta la actividad de forrajeo de los abejorros en cinco diferentes nidos. Para determinar el periodo cuando las abejas están más activas, la actividad de los abejorros (entradas/salidas del nido) se contó durante intervalos de 30 minutos entre las 7 AM - 9 AM, 11 AM - 1PM, 4 PM – 6 PM y 7 PM – 9PM. Aunque no hubo diferencias significativas en la actividad de los abejorros entre los diferentes puntos de tiempo, la actividad más alta se observó durante los intervalos de las 7 AM - 9 AM y 11 AM - 1 PM (no se muestran los datos). Por tanto, se decidió que para el análisis adicional se trabajaría con los intervalos de las 7 AM y las 11 AM.

Después, la actividad de los abejorros se determinó en los puntos de tiempo de las 7 AM y las 11 AM en colmenas con y sin un dispensador embudo puesto al frente de la colmena. Las mediciones se hicieron el día después de que se colocó el dispensador. Como se muestra en la figura 5, aún cuando la actividad de los abejorros disminuyó levemente en los nidos con un dispensador embudo, este efecto no fue significativo lo que indica que el dispensador embudo no afecta significativamente la actividad de los abejorros. La mañana siguiente (7 - 9 AM), se cargó el dispensador con polvo BINAB® T Vector y se midió el efecto en la actividad de los abejorros a las 11 AM y 24 horas después de nuevo a las 11 AM (Fig. 3). Curiosamente, la actividad de los abejorros fue significativamente más alta 1 hora después de haber cargado el dispensador cuando se comparó con el dispensador vacío (Fig. 3), y es aún comparable con la actividad de los abejorros sin el dispensador embudo a las 11 AM. Además, un nivel de actividad comparable también se observó 24 horas después de cargar el dispensador embudo.

Evaluación del dispensador embudo en un invernadero cerrado

Para evaluar la eficiencia del dispensador embudo, llevamos a cabo un experimento bajo condiciones prácticas en un invernadero cerrado (humedad y temperatura controladas) en el que se cultivan fresas. Tanto en el dispensador embudo (0,08 g/cm²) como en el dispensador SSP modificado (0,13 g/cm²) (aberturas de entrada y salida separadas); como material para ser disperso se utilizó el agente BINAB® T Vector. Semanalmente, el nivel de polvo en el dispensador se analizó y si fuera necesario se rellenó. Se utilizaron tres invernaderos en total: uno para cada dispensador y uno como invernadero de control donde no se utilizó un ACM. La temperatura y humedad relativa se siguieron con registros de datos.

Para determinar que tan lejos forrajeaban los abejorros para inocular flores con los ACM, marcamos el piso de cada invernadero con tres círculos y se colocaron los nidos de los abejorros en el centro de estos, mismos que tenían diámetros de 8 m (zona A), 18 m (zona B) y >18 m (zona C = el resto del invernadero). En cada zona, se recogieron 20 flores y se colocaron individualmente en frascos. Esto se hizo semanalmente durante 3 semanas. Se agregó 50 ml de solución fisiológica a cada frasco con flores y estos se sacudieron a 120 rpm durante 60 minutos. Se preparó una serie de diluciones (1/1, 1/5, 1/10—1/100,000) y se colocaron en placas con MST (medio selectivo para Trichoderma) (William et al., *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69, pag. 4190-4191). Para cada concentración se utilizaron 4 placas. Después de 36 horas de incubación a temperatura ambiente, se evaluaron los números de colonias.

Fue muy interesante ver que se contaron más UFC por zona con el uso del dispensador embudo comparado con el sistema modificado SSP (Fig. 4). Entre las tres zonas A, B y C, no se notaron diferencias significativas: se recuperaron iguales cantidades de UFC en las flores.

En resumen, nuestros resultados claramente indican que el dispensador embudo no afecta significativamente la actividad de los abejorros y que muestra mejores números en cargas de ACM sobre los abejorros y de depósitos de ACM en flores comparado en el dispensador SSP.

EJEMPLO 2. Dispensador rectangular

En los experimentos con el dispensador rectangular, la ACM consiste de

- semillas/propágulos de cepas de hongos *Trichoderma atroviride* y *Hypocrea parasilulifera* en una concentración mínima de 1,000,000 UFC (Unidades Formadoras de Colonias)/gramo. Estos ACM están, por ejemplo, disponibles como producto comercial bajo el nombre de BINAB® T Vector (Bio-Innovation AB, Suecia)
- semillas/propágulos de cepas de hongos *Gliocladium catenulatum J1446* en una concentración mínima de 10,000,000 UFC (Unidades Formadoras de Colonias)/gramo. Este ACM está, por ejemplo, disponible bajo el nombre de producto comercial Prestop Mix® (Verdera Oy, Finlandia).

Sin embargo, se puede utilizar cualquier agente de control que no interfiera con el funcionamiento normal de las abejas.

Diseño del dispensador rectangular

El dispensador rectangular (dispensador R) tiene las siguientes características (fig. 5):

- Es un dispensador de doble sentido con una base rectangular hecha de PVC de 3 mm de espesor con compartimentos de salida y entrada separados ((2) y (1), respectivamente)
- La base rectangular tiene un ancho que va de alrededor 2,5 a alrededor de 15,0 cm, preferencialmente con un ancho de alrededor de 10,0 cm.
- El compartimento (2), se llena con ACM y tiene 4,0 cm de alto, 5,0 cm de ancho y 20-25 cm de largo. El compartimento contiene una abertura (4) que está en contacto directo con el nido y 2 aberturas de salida (5) con un encerrador-de-abejorros. Los encerradores-de-abejorros se utilizan para evitar que los abejorros regresen al nido por vía de la abertura equivocada
- Las aberturas de salida se colocan lo más cercanas posible a las aberturas de entrada, ya que se ha observado que los abejorros que salen del dispensador vía una abertura de salida colocada lejos de una abertura de entrada pierden más tiempo tratando de encontrar la abertura de entrada correcta.
- Compartimento (1) (Largo alrededor de 8,0 cm x Ancho alrededor de 2,5 cm x Altura 4,0 cm) tiene dos aberturas, una esta comunicada directamente con el nido (3) y cuenta con un encerrador-de-abejorros, para evitar que los abejorros salgan del nido vía la abertura equivocada y el otro esta comunicado con la abertura de

entrada (6) de la colmena a través de un tubo corto de plástico. Esta última abertura está marcada en el exterior con el color azul para atraer a las abejas a que entren.

- Para evitar movimiento del polvo como consecuencia de el movimiento de los abejorros, una malla se coloca en la parte inferior del dispensador.

5

La eficiencia del dispensador R en la carga de abejorros

La eficiencia del dispensador R para cargar abejorros se investigó. Para ello, el dispensador, lleno de Prestop Mix® (0,11 g/cm²), se conectó al nido de abejorros mediante dos tubos grises de plástico. En el nido, se retiró el polen un día antes de la conexión para estimular a las abejas a salir del dispensador y buscar alimento. Entonces, un frasco se conectó en el ángulo de 45 grados en la abertura de entrada/salida para capturar las abejas obrero que salían del dispensador. Un total de 10 abejorros fueron capturados y se les dio muerte. A continuación, los abejorros fueron sacudidos en una solución fisiológica a 200 rpm durante 60 minutos. Se analizó la cantidad de UFC mediante el recubrimiento de placas de medios selectivos (APD) con una serie de disoluciones de la solución que se obtuvo y para cada disolución se utilizaron 4 placas. Se incubaron las placas petri a temperatura ambiente y después de 36 horas se evaluaron las colonias individuales. Las cifras de UFC recuperados en cada cuerpo se calcularon respecto el área de superficie. El experimento se repitió dos veces.

10

15

La media de carga de UFC por cada abejorro obrero fue 1083150 ± 3700 UFC y la media de la superficie del cuerpo por cada abejorro obrero fue 361.0 ± 18.0 mm². Estos datos indican que el dispensador R es cerca de 3,5 veces más eficiente en la carga de abejorros comparado con el dispensador F con una longitud de desplazamiento de 25 cm (ver figura 2).

20

Evaluación del efecto del dispensador R en la actividad forrajera en un invernadero cerrado.

25

El propósito de este experimento fue comparar el efecto del dispensador R y el dispensador SSP, ambos sin carga, sobre la actividad forrajera de las abejas en un invernadero de pimientos dulces. Para cada tipo de dispensador, se utilizaron 3 colmenas de abejorros cada una consistiendo de una reina y 50 obreras. El grupo de control consistió de colmenas regulares de abejorros. En el día cero, se conectaron los dos dispensadores a (para el dispensador SSP) o en (para el dispensador R) las colmenas regulares. Después de 3 días hubo recuentos a las 9 AM y 4 PM. Los recuentos se repitieron el día 4 y el día 5 a las 9 AM y 4 PM. Los datos se analizaron para distribución normal con una prueba Kolmogorov-Smirnov.

30

Los resultados mostraron que se siguió una distribución normal. La actividad forrajera no fue significativamente diferente entre las 9 AM y 4 PM (no se muestran los datos). La media de la actividad forrajera por cada 30 minutos para cada tipo de dispensador se muestra en la figura 6. Estos resultados indican que la actividad forrajera para los intervalos de cada 30 minutos fue significativamente (p < 0.05) diferente entre el dispensador R y el dispensador SSP. Además, no se observó algún efecto significativo en la media de la intensidad de forrajeo para cada 30 minutos entre el control y los nidos que contenían un dispensador R.

35

40

Evaluación del efecto sobre la actividad forrajera cuando se carga el dispensador R

El propósito de este experimento fue probar si el cargar el dispensador R afecta la actividad forrajera de las abejas. Para ello, se utilizaron 10 nidos que contenían dispensadores R. En la tarde del siguiente día (10 PM) los dispensadores R en cinco nidos se cargaron con 10g Binab® T-vector y cinco se dejaron vacíos. La siguiente mañana se hizo el recuento a las 7 AM, 11 AM y 4 PM para determinar el efecto de un dispensador cargado con polvo y aquellos sin polvo. Cualquier reducción en la actividad se atribuiría al efecto del polvo. Los datos se analizaron para distribución normal con una prueba Kolmogorov-Smirnov. Después, la diferencia entre los nidos se determinó con una prueba-t utilizando una muestra independiente.

45

50

Los resultados obtenidos siguieron una distribución normal. Evaluamos que impacto había tenido el dispensador cargado sobre la intensidad forrajera. Para los primeros cinco nidos con un dispensador R vacío, la respuesta no fue significativamente diferente a las 7 AM, 11 AM y 4 PM comparado con los cinco nidos que contenían un dispensador R cargado (figura 7).

55

En resumen, nuestros resultados claramente indican que el dispensador R no afecta significativamente la actividad de los abejorros y que obtiene buenas evaluaciones en cuanto a cargas de ACM sobre los abejorros.

60

EJEMPLO 3. Evaluación del efecto del dispensador Sobreimpuesto (S) en la actividad forrajera en condiciones exteriores.

El propósito de este experimento fue evaluar el efecto de la presencia de un dispensador S lleno en la actividad de forrajeo de las abejas en condiciones exteriores. También se probó un dispensador S modificado. Este, llamado dispensador S de 3 válvulas, difiere de dispensador S porque tiene como característica una tercera válvula entre la cámara dispensadora y el nido (ver Figura 10), para evitar que regresen al nido las abejas ya cargadas. Cada tipo de

65

5 dispensador se probó en tres colmenas duplicadas, cada una conteniendo una reina y alrededor de 50 obreras. El grupo de control consistió de 3 colmenas regulares de abejorros. Las colmenas fueron colocadas en una línea en el exterior en alternancia. El día cero, los dispensadores se montaron en las colmenas regulares y se llenaron de Maízena para imitar la presencia de una formulación el polvo. Después de 5 días, se rellenaron los dispensadores y se hicieron recuentos cada 30 minutos a las 10 AM y a las 2:30 PM. Los recuentos se repitieron el día 5, 7 y 9 a las 10 AM y 2:30 PM. Se calcularon promedios y errores estándar.

10 La media de la actividad forrajera por cada 30 minutos para cada tipo de dispensador se muestra en la (figura 11). La actividad forrajera durante intervalos de 30 minutos no fue significativamente diferente entre dos tipos de dispensadores y la colmena regular. Además, el efecto de la tercera válvula que se agregó al dispensador S de 3 válvulas.

15 En resumen, los resultados indican que el dispensador S no afecta significativamente la actividad de los abejorros.

20

25

30

35

40

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo diseminador de colmena que comprende una cámara **(2)**; dicha cámara tiene aberturas **(4,5)** en los miembros laterales opuestos de dicha cámara y medios **(8)** para inmovilizar una sustancia en el miembro de suelo de dicha cámara; y **caracterizado porque** las aberturas en los miembros laterales opuestos de dicha cámara incluyen medios **(5)** para definir una trayectoria unidireccional para las abejas a través de dicha cámara.
2. El dispositivo de la reivindicación 1, que incluye medios de cubierta removible **(7)** que definen el miembro superior de dicha cámara.
3. El dispositivo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, que comprende además una segunda cámara separada **(1)** en donde dicha segunda cámara tiene aberturas en los miembros laterales opuestos **(3,6)** y dichas aberturas incluyen medios **(3)** para definir unas trayectorias unidireccionales para las abejas a través de dicha segunda cámara.
4. El dispositivo de la reivindicación 1 o 3, en donde los medios para definir una trayectoria unidireccional a través de dicha cámara consisten en una o más salidas dirigidas hacia abajo **(5 o 3)** en un extremo de dicha cámara y una o más entradas **(4 o 6)** en el extremo opuesto de dicha cámara.
5. El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 4, en donde las salidas dirigidas hacia abajo consisten en tubos cónicos dirigidos hacia fuera y diagonalmente cortados **(5 o 3)**; particularmente tubos cónicos transparentes en dicha cámara **(2)** que tiene los medios para inmovilizar una sustancia y tubos cónicos opacos en dicha segunda cámara **(1)**.
6. El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 4 en donde la una o más entradas **(4 o 6)** se pueden cerrar e incluyen medios para comunicarse con una entrada o salida de la colmena.
7. El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los medios **(8)** para inmovilizar una sustancia en el miembro de suelo de dicha cámara se seleccionan de una pluralidad de bordes, una malla, o papel nervado.
8. El dispositivo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6, en donde la trayectoria unidireccional a través de dicha segunda cámara es opuesta a la trayectoria unidireccional a través de la otra cámara.
9. El dispositivo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde la cámara que tiene los medios para inmovilizar una sustancia define una trayectoria de salida para las abejas que salen de la colmena y comprende en su entrada **(4)** medios que permiten que las abejas avancen lentamente por la colmena hacia arriba y dentro de la cámara; y en donde la segunda cámara define una trayectoria para las abejas que entran en la colmena.
10. El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 9,
 - (A) en donde la cámara **(2)** que tiene los medios **(8)** para inmovilizar una sustancia tiene una base rectangular; una, dos o más salidas dirigidas hacia abajo que consisten de tubos cónicos transparentes dirigidos hacia fuera y diagonalmente cortados **(5)**; una entrada tetragonal **(4)** y se caracteriza además **porque** tiene un borde proximal en la entrada, para retener los medios para inmovilizar una sustancia en el miembro de suelo de dicha cámara, y
 - (B) en donde la segunda cámara **(1)** tiene una base rectangular; una salida dirigida hacia abajo que consiste de un tubo cónico opaco dirigido hacia fuera y diagonalmente cortado **(3)**; y una entrada **(6)** que incluye medios que se comunican con la entrada de la colmena.
11. El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 9,
 - (A) en donde la cámara que tiene los medios para inmovilizar una sustancia, tiene una base trapezoidal y además se **caracteriza porque** la(s) abertura(s) en la pared lateral corta de dicha base trapezoidal incluyen medios **(4)** para comunicarse con una salida de la colmena, y **porque** la pared lateral larga de dicha base trapezoidal tiene una, dos o más salidas dirigidas hacia abajo que consisten de tubos cónicos transparentes dirigidos hacia fuera y diagonalmente cortados **(5)**, y
 - (B) en donde la segunda cámara **(1)** tiene una base trapezoidal; una salida dirigida hacia abajo que consiste de un tubo cónico opaco dirigido hacia fuera **(3)**; y una entrada **(6)** que incluye medios que se comunican con la entrada de la colmena.
12. El dispositivo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 3 a 11, en donde la cámara que tiene los medios para inmovilizar una sustancia; y la segunda cámara tomadas juntas, definen una carcasa única.

13. El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la salida **(5)** de la cámara que tiene los medios para inmovilizar una sustancia se sobrepone en la entrada **(6)** de la segunda cámara.
- 5 14. El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 13, en donde la salida **(5)** y la entrada **(6)** se enmarcan con un marco visual **(10)**.
- 10 15. Una colmena que comprende un dispositivo diseminador como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14.
- 15
- 20
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45

Figura 1

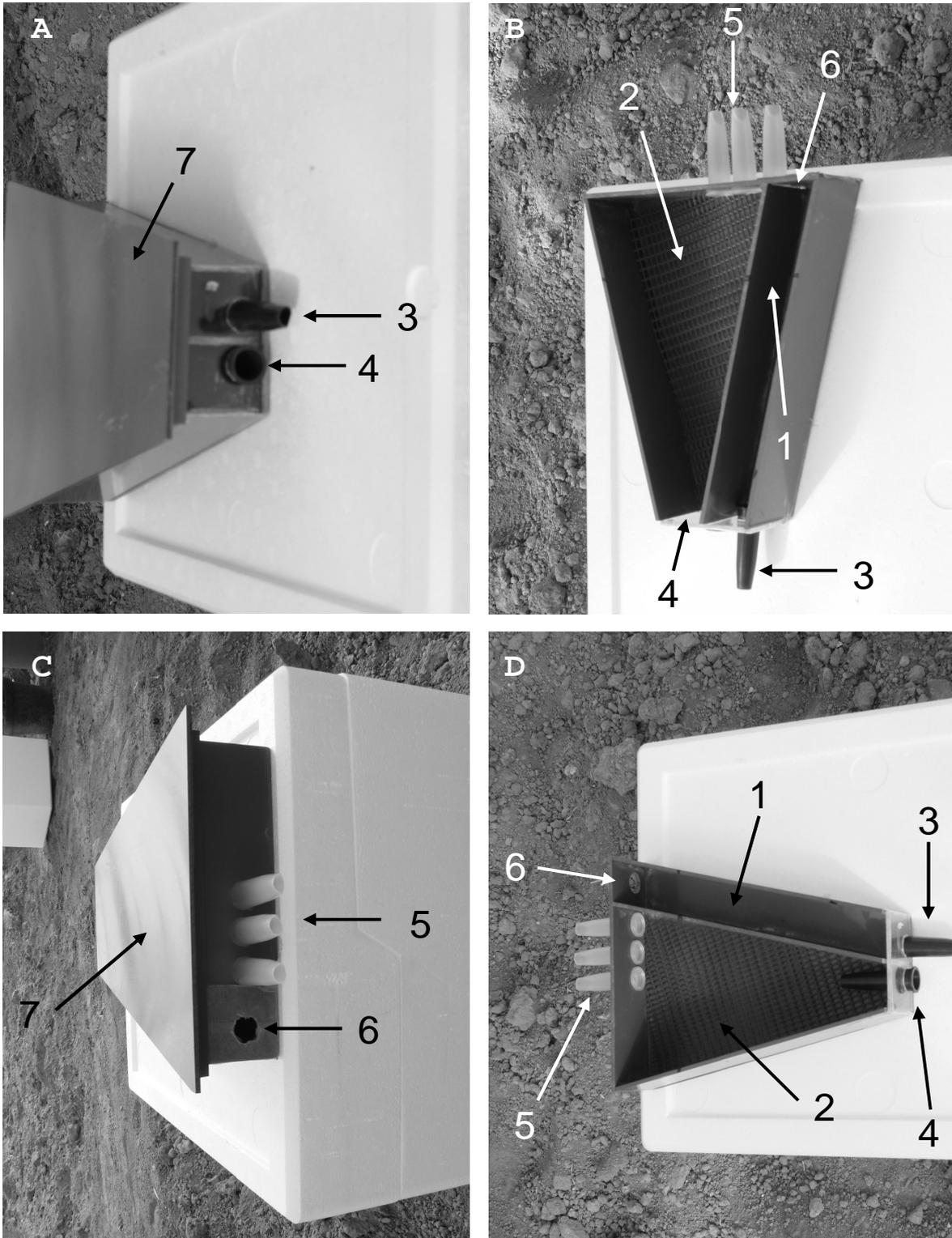
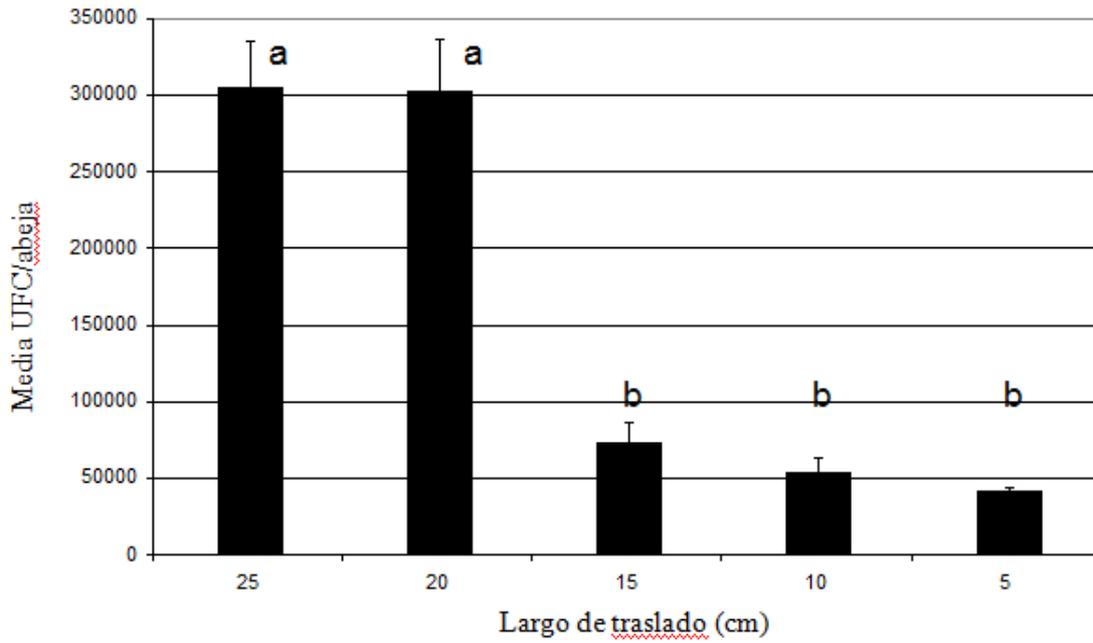


Figura 2



5

Figura 3

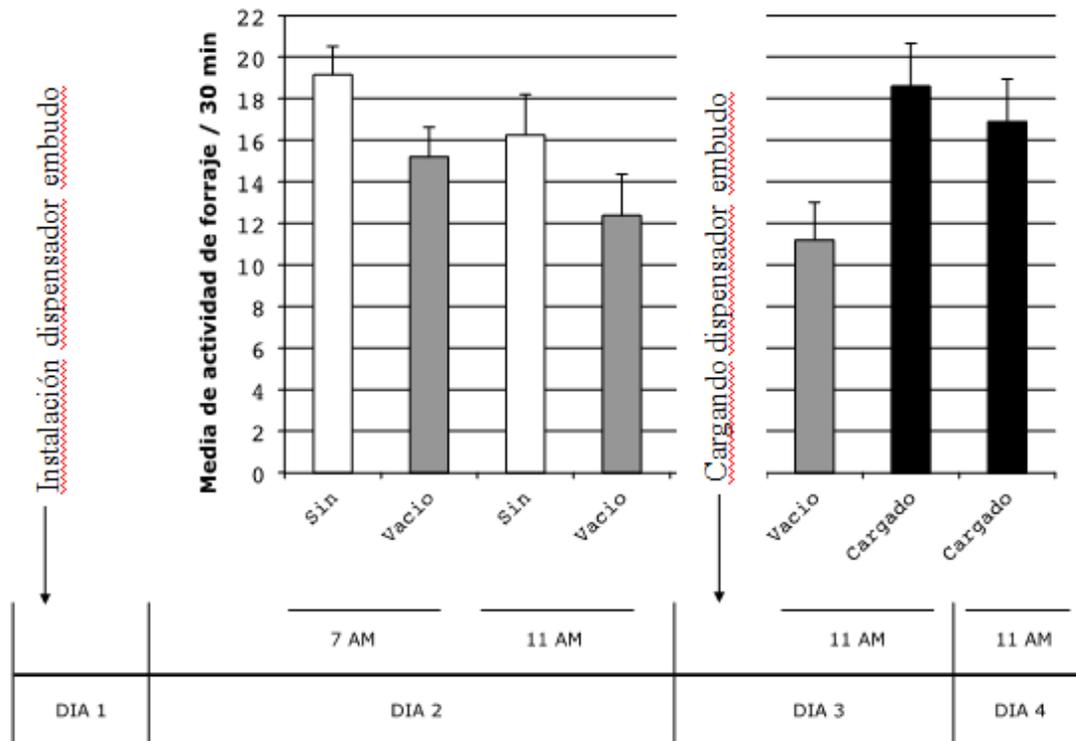


Figura 4

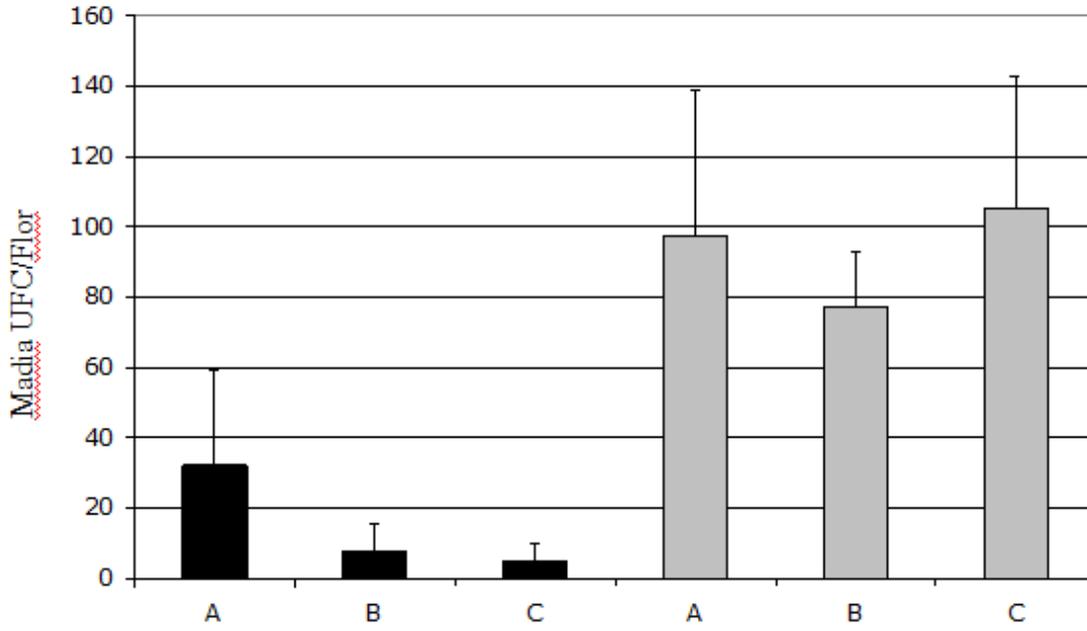


Figura 5

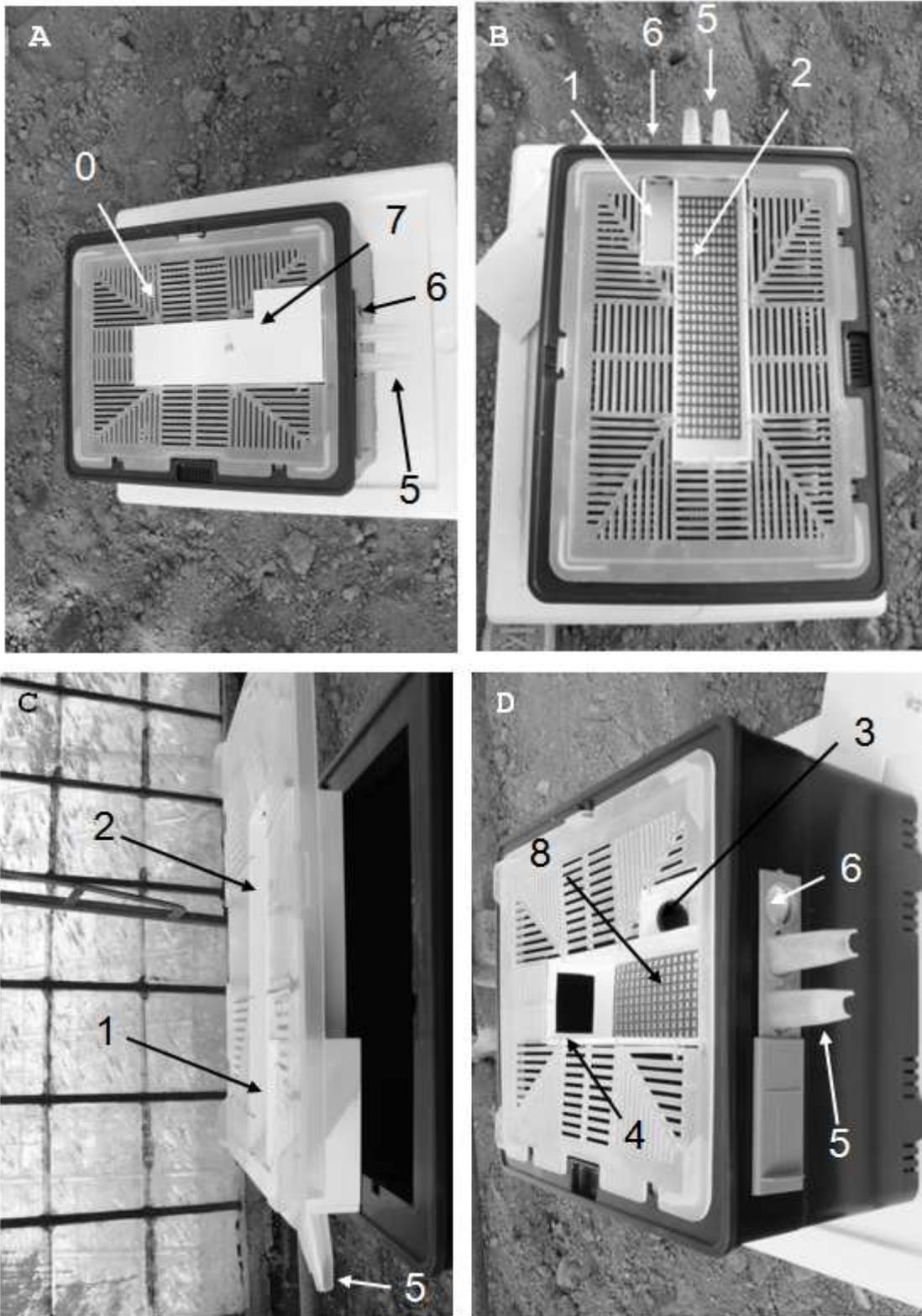


Figura 6

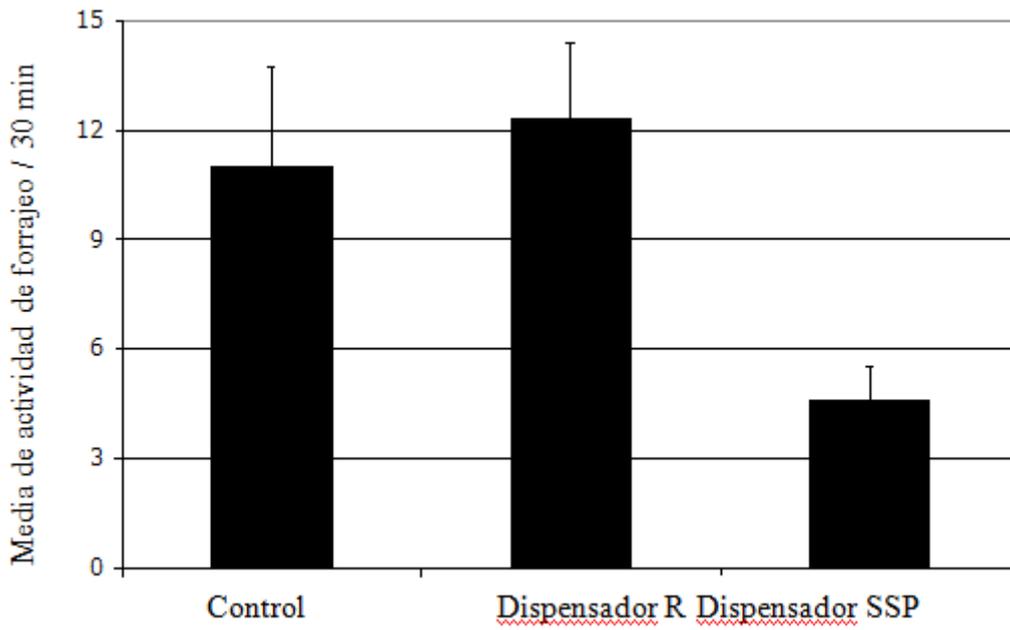


Figura 7

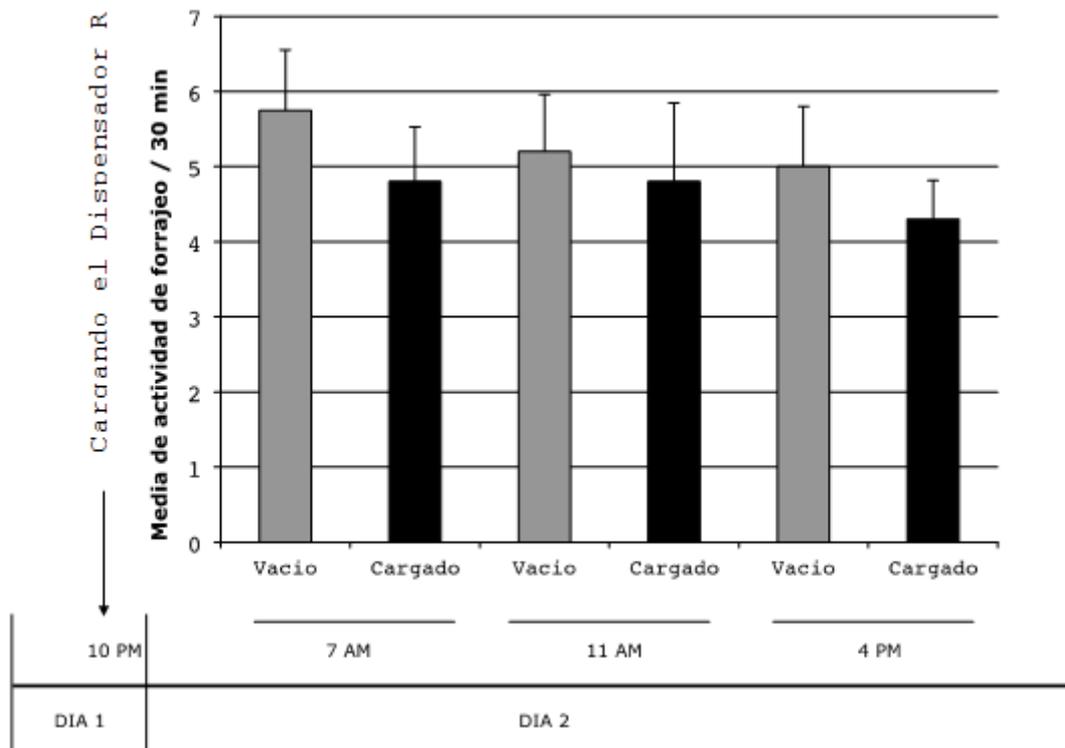


Figura 8

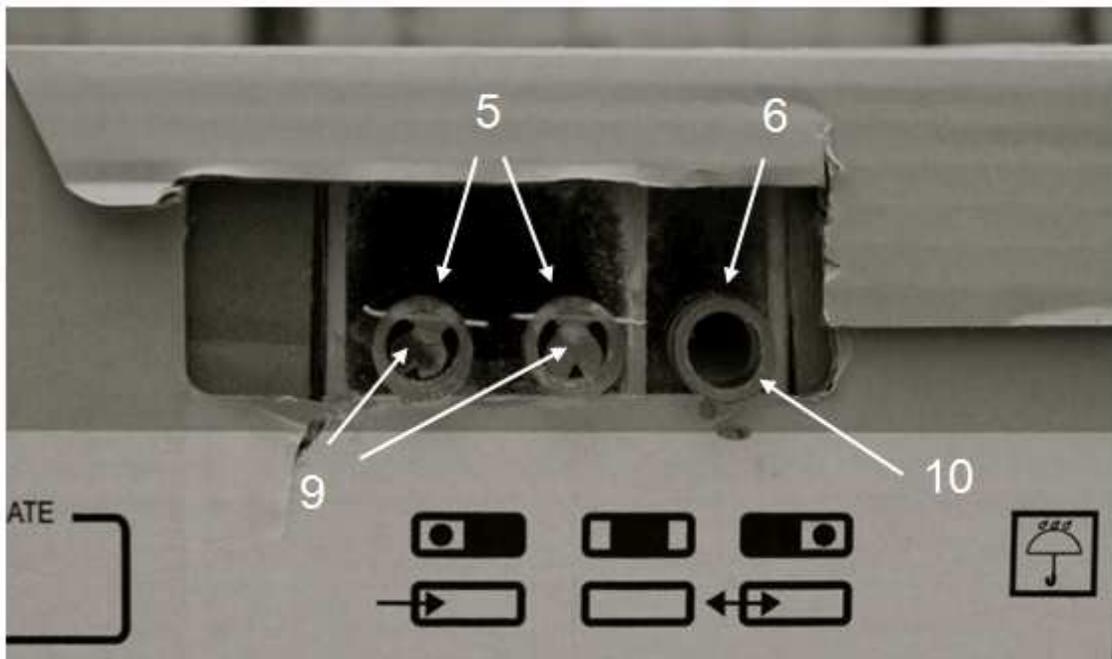
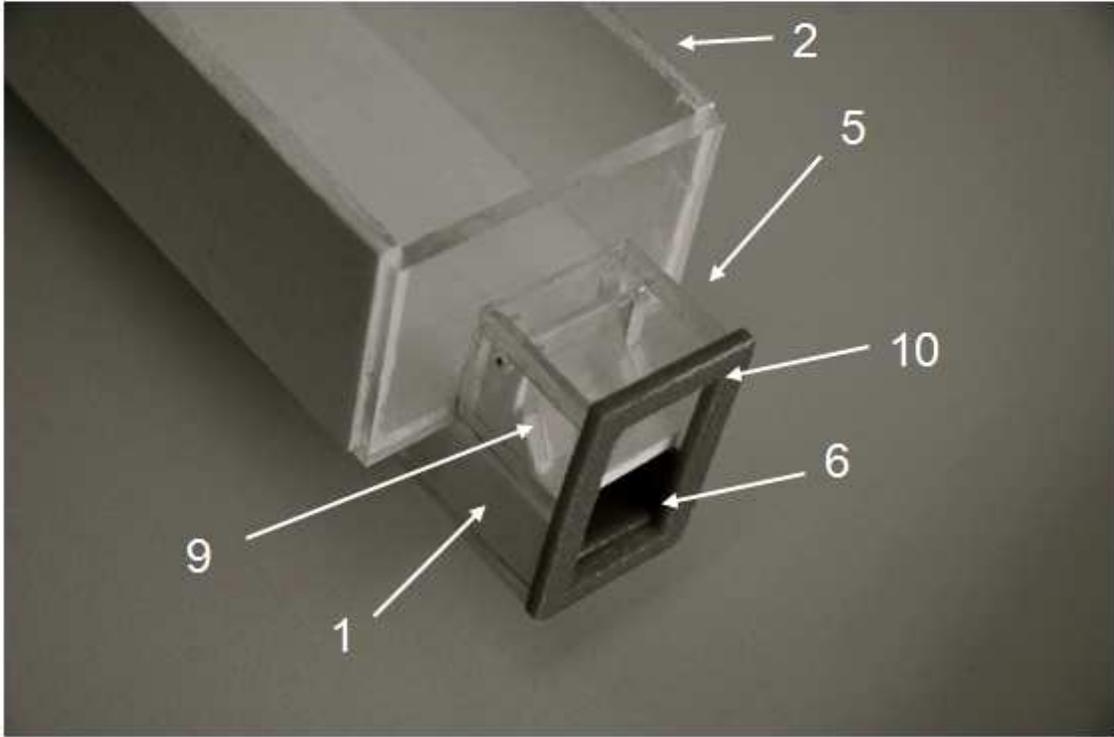


Figura 9

A



B

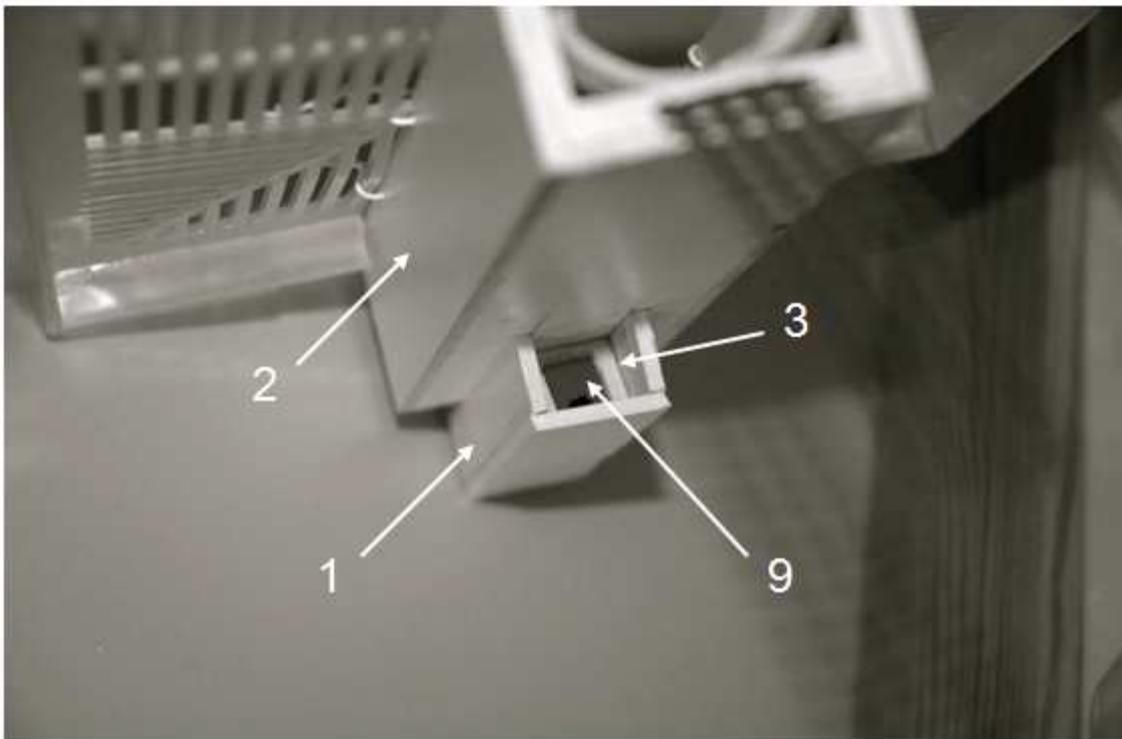


Figura 9 - Continuación

c

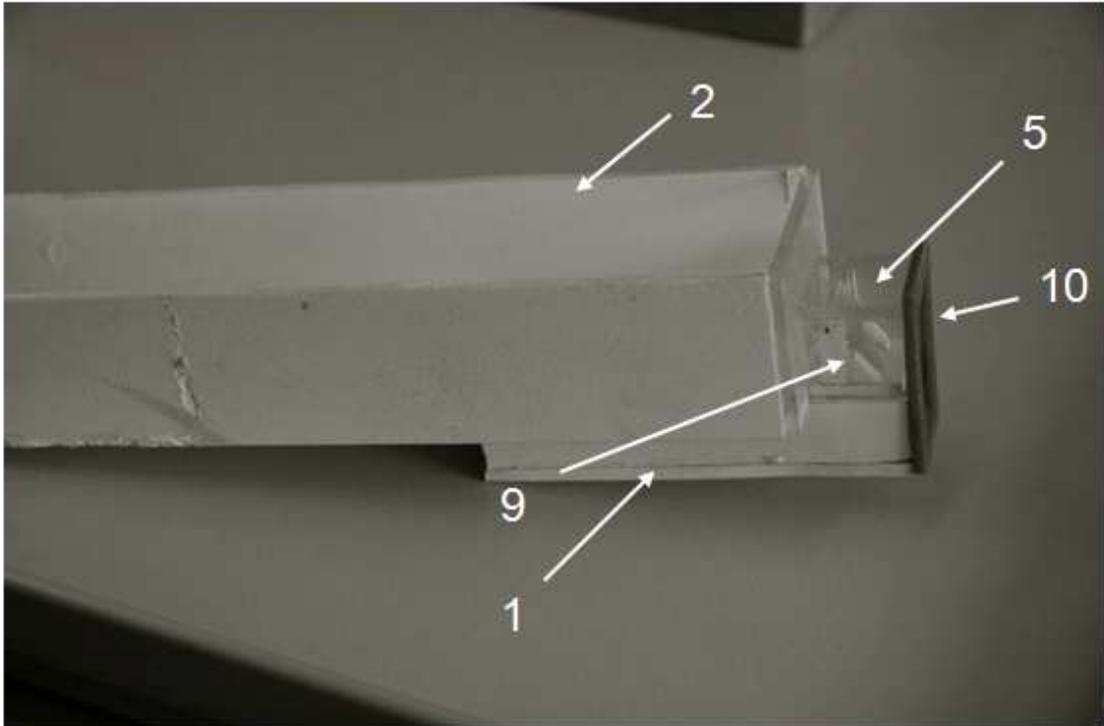


Figura 9 - Continuación

D

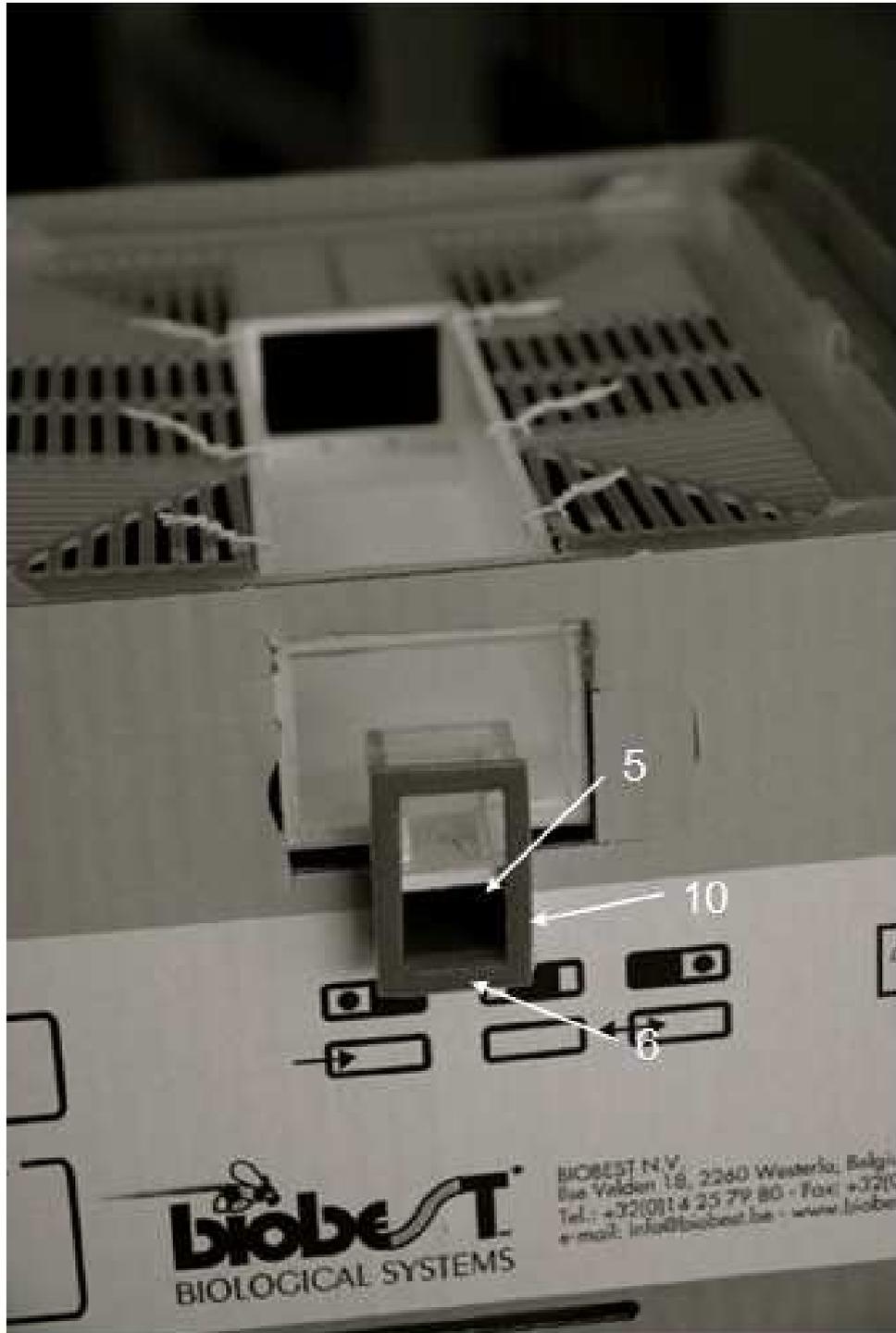


Figura 9 - Continuación

E

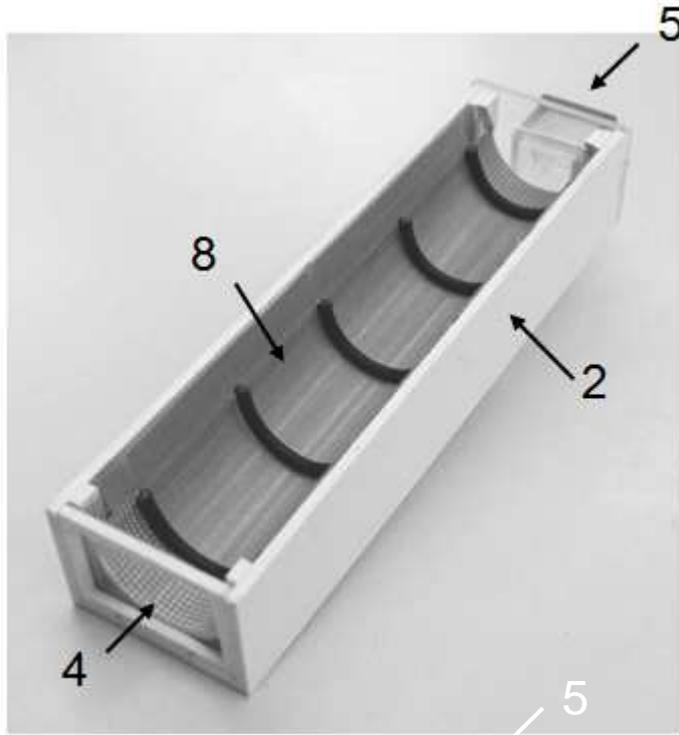


Figura 10

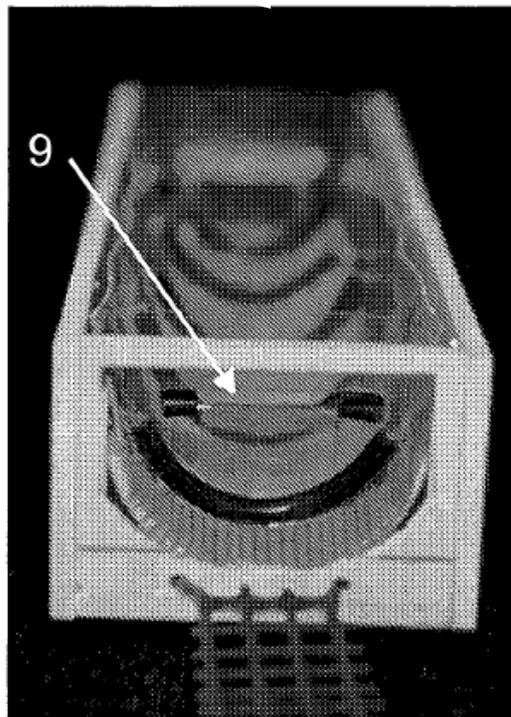


Figura 11

