

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 662 579**

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 14158978 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.12.2017 EP 2745682**

54 Título: **Colmena con un dispositivo diseminador montado**

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:

09.04.2018

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:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 662 579 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

Colmena con un dispositivo diseminador montado

Campo de la invención

5 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, en particular con 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 agroquímicos, que son recogidos, portados y diseminados por las abejas cuando éstas forrajean fuera de la colmena.

10 Antecedentes de la invención

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 las 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 la *Botrytis cinerea*. El 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), como de 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).

El uso de preparaciones antagonistas microbiológicas contra enfermedades y plagas portadas por flores podría ser particularmente efectivo 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 los 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, proporcionando un control potencial 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).

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 el control indirecto de enfermedades, estos insectos pronubios también pueden llevar a cabo un papel activo en la prevención de enfermedades o el control de plagas depositando, por ejemplo, preparaciones microbiológicas directamente sobre las flores u otras partes de la planta. Esto requiere que las propias abejas sean cargadas previamente con propágulos del 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.

Véanse también los documentos US-A-5348511 y US-A-5989100.

35 Los dispensadores existentes, tal como el dispensador de pasillo lado-a-lado (SSP) y el dispensador de pasillo de superposición (OP), tienen ciertas desventajas al cargar las abejas.

El dispensador SSP mostró que adolece de varios límites funcionales, como se evidencia por la ausencia de propágulos antagonistas en la mayoría de las abejas capturadas y analizadas. La densidad de inóculo en los abejorros también fue bastante 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 del pasillo recto oscuro, 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 mancharon prontamente el pasillo zigzagueante con sus excrementos líquidos, lo que, una vez amasados con la preparación de polvo antagonista, causó que esta última perdiera su consistencia, tornándola inadecuada para ser cargada en la abejas (Maccagnani B. et al., 2005, *Bulletin of Insectology* 58(1): 3-8).

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 la diferencia entre las dimensiones del pasillo superior y del inferior. El pasillo superior es más ancho y más alto comparado con el pasillo inferior; como consecuencia de, y dado el rango en el tamaño de los abejorros de una colmena, algunas de las abejas más grandes pueden salir de la colmena a través del pasillo superior del dispensador OP y atascarse en el pasillo inferior más estrecho. También, la diferencia en el nivel del suelo entre el pasillo superior y el inferior presenta un efecto negativo sobre la luz que entra por el orificio de salida de la colmena.

55 Adicionalmente, tanto en el dispensador SSP como en el dispensador OP, la densidad de inóculo en las flores y el porcentaje de flores colonizadas fueron significativamente menores que con un tratamiento de pulverización

comparable (Maccagnani B. et al., 2005, Bulletin of Insectology 58(1): 3-8). También, tanto el dispensador SSP como el OP están 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 que también evita que las abejas abandonen la colmena.

5 Es, por consiguiente, un objeto general de la invención proveer un dispensador de colmena que supere los problemas mencionados anteriormente. Como se presenta con 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).
 10 Un camino de entrada independiente y también unidireccional se logra a través de una segunda cámara, evitando de esa manera que las abejas salgan de la colmena a través de la entrada. En una realización particular, la salida y la entrada están integradas en una unidad visual, contribuyendo a una entrada rápida de las abejas que regresan. Además, el dispensador cuenta con una alta capacidad de carga del agente que se va a diseminar; evita que las abejas abran un camino en el producto, lo que podría impedir la carga efectiva, y por lo tanto provee una carga óptima de las abejas con un corto tiempo de paso. El dispensador se puede llenar a través de una perforación en la
 15 parte superior de la cámara. Finalmente, éste puede estar integrado en el interior de la colmena para beneficiarse del control interno de temperatura. Se puede hacer accesible a través de una tapa extraíble, de un mecanismo deslizante o de otros medios.

Sumario de la invención

20 Un dispositivo diseminador para colmena que comprende una cámara (2); dicha cámara teniendo aberturas (4,5) en miembros laterales opuestos de dicha cámara y teniendo medios (8) para acumular e inmovilizar una sustancia en un miembro de suelo de dicha cámara; y caracterizado por que las aberturas en los miembros laterales opuestos de dicha cámara incluyen medios (5) para definir un camino unidireccional para las abejas a través de dicha cámara.

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

30 En dicha cámara dispensadora (2) los medios (8) para acumular e inmovilizar una sustancia en el centro del miembro de suelo, en lo sucesivo mencionados en general como medios para inmovilizar una sustancia al miembro de suelo de dicha cámara, son tales que evitan, ya sea por si solos o en combinación, que las abejas sean capaces de abrir un camino a través de la sustancia que se va a diseminar y se seleccionan, por ejemplo, a partir de uno o más de una pluralidad de bordes, una malla, una serie de pendientes separadas por un borde poco profundo, un semitubo, papel acanalado, o similares. En una realización particular, los medios para inmovilizar una sustancia
 35 consisten en una malla (8), o una pluralidad de bordes, nervaduras, pliegues, protuberancias, etc. En una realización más particular, los medios para inmovilizar la sustancia en el miembro de suelo consisten de una serie de pendientes separadas por un borde poco profundo, siendo dicha serie de pendientes una parte integrada del miembro de suelo; o un semitubo con su eje longitudinal en la dirección del camino unidireccional a través de dicha cámara, comprendiendo opcionalmente dos o más de entre los bordes, nervaduras, pliegues, protuberancias, etc.
 40 Los medios para inmovilizar la sustancia al miembro de suelo pueden ser extraíbles o bien ser una parte integrada del miembro de suelo de la cámara dispensadora. En una realización particular, dichos medios para inmovilizar una sustancia en el miembro de suelo de dicha cámara son una parte integrada de dicho miembro de suelo. En una realización adicional, dichos miembros son extraíbles.

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

Según se ha ejemplificado, los medios para definir un camino unidireccional consisten típicamente en tubos dirigidos hacia el exterior y cortados diagonalmente o en puertas de un solo sentido, particularmente tubos cónicos cortados diagonalmente (3,5) o puertas abatibles (9) y las entradas típicamente incluyen medios (4,3) para comunicarse con la entrada o la salida de la colmena. Los medios para comunicar con una entrada o salida de la colmena usualmente
 55 son seleccionados a partir de tubos flexibles, tubos rígidos, puertas de un solo sentido o tubos cónicos. En aún una realización adicional, las entradas pueden cerrarse, tal como por ejemplo con un elemento deslizante. En caso de que los medios para definir un camino unidireccional sean parte de una salida real de la colmena, estos preferiblemente consistirán en un material transparente, más preferentemente un material translúcido, es decir, tal como un tubo cónico transparente o translúcido cortado diagonalmente, o una puerta de un solo sentido
 60 transparente o. En caso de que los medios para definir un camino unidireccional sean parte de una entrada real a la

colmena, es preferible que consistan en un material opaco, es decir, tal como un tubo cónico opaco (oscuro) cortado diagonalmente, alternativamente una puerta opaca de un solo sentido.

5 En una realización particular del dispositivo diseminador para colmena de la presente invención, la cámara que tiene los medios para inmovilizar una sustancia, es decir, la cámara dispensadora (2), define un camino de salida para las abejas que salen de la colmena; y, la segunda cámara (1) define un camino para las abejas que entran en la colmena. En dicha realización, el camino de salida es de al menos 5, 10, 15, 20 o 25 cm de largo.

10 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 en tubos cónicos (5) transparentes dirigidos hacia fuera y cortados diagonalmente o puertas de un solo sentido (9); una entrada tetragonal (4) y se caracteriza adicionalmente por tener un borde proximal a la entrada, para retener los medios para inmovilizar la sustancia en el miembro de suelo 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 miembros laterales opuestos de la cámara dispensadora.

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

20 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 la pared lateral corta de dicha base trapezoidal incluyen medios (4) para comunicarse con una salida de la colmena. La pared lateral larga de dicha cámara dispensadora con base trapezoidal tiene una, dos o más salidas dirigidas hacia abajo que consisten en tubos cónicos (5) transparentes dirigidos hacia el exterior y cortados diagonalmente.

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

30 Las dos cámaras que conforman los dispositivos diseminadores para colmena según se describen en la presente memoria, podrían consistir en dos cámaras separadas, pero según 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 un solo alojamiento. En dicha realización particular, las dos cámaras están, ya sea, adyacentes o ya sea superpuestas con, en una realización más particular, la cámara dispensadora sobre la parte superior de la segunda cámara, y caracterizada adicionalmente por que la salida (5) de la cámara dispensadora está superpuesta con la entrada (6) de la segunda cámara. La salida (5) y la entrada (6) superpuestas están
35 opcionalmente enmarcadas con una marca visual (10), en particular una marca azul.

40 Como tal, los dispositivos diseminadores para colmena según se definen en la presente memoria pueden ser colocados, pero no según la invención, por fuera y conectados a la entrada y la salida de la colmena; o, según la invención, pueden estar colocados en el interior de la colmena. Colocados dentro de la colmena, los dispositivos diseminadores para colmena según se definen en la presente memoria incluirán medios para facilitar el montaje del dispositivo en una colmena. El dispositivo diseminador para colmenas es una parte integrada de la malla superior de la colmena.

Es, por consiguiente un propósito de la presente invención proveer una colmena que comprende un dispositivo diseminador como se define en la reivindicación 1, y proporcionar un método para distribuir un agente de control biológico como se define en la reivindicación 10.

45 Las características preferidas de la invención se exponen en las reivindicaciones dependientes.

Breve descripción de los dibujos

Haciendo ahora referencia específica a las figuras en detalle, se enfatiza que los particulares que se muestran son a título de ejemplo y para el propósito de una discusión ilustrativa de las diferentes realizaciones de la presente invención únicamente, y se presentan a efectos de proporcionar lo que se considera que es la descripción más útil y
50 adecuada de los principios y aspectos conceptuales de la invención. En este aspecto, no se hace ningún intento de mostrar detalles estructurales de la invención con mayor detalle de lo necesario para una comprensión fundamental de la invención, donde la descripción tomada junto con los dibujos hace que resulte evidente para los expertos en la materia cómo pueden ser materializadas las diversas formas de la invención en la práctica.

55 **Figura 1:** Dispensador de embudo, A: vista posterior, B: vista lateral, C: vista frontal, D: vista superior; 1: compartimento de entrada, 2: compartimento de salida en forma de trapecio, 3: cerrador interno de abejorros que

conecta el compartimento de entrada con la colmena, 4: conexión del compartimento de salida con la colmena, 5: aberturas de salida del cerrador interno de abejorros, 6: abertura de entrada, 7: tapa del dispensador.

5 **Figura 2:** Impacto de la longitud del dispensador de embudo sobre la eficiencia de carga del cuerpo de las obreras B. Terrestres. Los números promedio de UFC/abeja se expresan como medios (\pm SEM). El ANOVA dio como resultado 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 de embudo cuando se coloca antes del nido, sobre la actividad de forraje de los abejorros a diferentes puntos de tiempo, antes y después de cargar el dispensador.

10 **Figura 4:** Comparación del dispensador-F con el dispensador SSP modificado en un invernadero cerrado respecto a la cantidad de deposiciones de ACM sobre las flores. El número medio de UFCs recuperadas 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.

15 **Figura 5:** Dispensador-rectangular, integrado 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 entrada, 2: compartimento de salida en forma rectangular, 3: cerrador interno de abejorros que conecta el compartimento de entrada con la colmena, 4: conexión del compartimento de salida con la colmena, 5: aberturas de salida del cerrador interno de abejorros, 6: abertura de la entrada, 7: tapa del dispensador.

20 **Figura 6:** Comparación 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 2 puntos de tiempo diferentes por día para 3 colmenas sin dispensador (control), 3: colmenas con el dispensador R y 3 colmenas con un dispensador S.

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

25 **Figura 8:** Dispensador R, integrado en una colmena de abejorros, mostrando aberturas de salida (5) encerradoras para abejorros 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).

30 **Figura 9:** Dispensador superpuesto (Dispensador S) A: Vista Frontal Superior B: Vista Trasera Inferior C: Vista Lateral D: Dispensador S, integrado en una colmena de abejorros, mostrando la salida (5) y la entrada (6) superpuestas enmarcadas con una marca visual (10). Vista E: representación de una realización posible de los medios (8) para inmovilizar la sustancia que va a ser diseminada, en la forma de un semitubo que contiene una pluralidad de pliegues.

Descripción detallada de la invención

35 El dispositivo diseminador de la presente invención soluciona los problemas asociados a los dispositivos del estado de la técnica mencionados anteriormente dado que proporciona:

- una alta capacidad de carga para el agente que va a ser diseminado,
- proporciona una carga optima de las abejas con corto tiempo de paso,
- no ejerce ninguna influencia sobre el comportamiento de forrajeo de las abejas,
- puede estar integrado en el interior de una colmena, y
- 40 - es fácilmente accesible para su relleno con una molestia mínima del nido.

Para lograr los objetivos mencionados con anterioridad, los diseminadores de colmena de la presente invención, en los ejemplos que siguen mencionados también como dispensadores, comprenden de una cámara para recibir los agentes de control biológicos u otras sustancias que van a ser diseminadas por las abejas. Como se muestra por ejemplo en las figuras, la cámara dispensadora es fácilmente accesible a efectos de relleno. Para evitar que las abejas salgan de la colmena mientras se manipula la cámara dispensadora, la entrada (4) a dicha cámara está alojada preferiblemente con medios para cerrar la entrada, tal como por ejemplo una puerta deslizante. El acceso a la cámara dispensadora podría, por ejemplo, llevarse a cabo por medio de una tapa extraíble (7), opcionalmente abisagrada a la malla superior (0) de la colmena. Alternativamente, y en caso de que el diseminador para colmena de la presente invención esté integrado a la colmena, el miembro superior de la cámara dispensadora puede consistir en la malla de cobertura (0) de la colmena. En ese caso, el relleno de la cámara dispensadora se puede lograr directamente a través de la malla.

Como se mencionó con anterioridad, los diseminadores de colmena de la presente invención se caracterizan por que comprenden una o más entradas y salidas que tomadas en conjunto definen un camino unidireccional para las abejas a través de dicha cámara. Cuando se utiliza conjuntamente con una colmena, este camino unidireccional es, o bien un camino de entrada para las abejas que entran en la colmena, o bien 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, mencionada también en lo que sigue como cámara dispensadora, forma 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 tales que permitan a las abejas salir de la cámara a través de la abertura correspondiente, pero que evite que las abejas entren a través de dicha abertura de salida. Ya que se sabe que las abejas no entran a la colmena a través de un orificio dirigido hacia abajo, los medios para definir el camino unidireccional a través de dicha cámara pueden consistir en una o más salidas dirigidas hacia abajo en un extremo de dicha cámara, y en una o más entradas en el extremo 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 en 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 hasta, el exterior de la abertura de salida. Las salidas orientadas hacia abajo se pueden fabricar con cualquier material típicamente utilizado en la manufactura de dispensadores para colmena, pero en el caso de que la salida sea realmente 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 en la cámara.

En una realización adicional alternativa, los medios para realizar un camino unidireccional podrían ser realizados con una puerta de un solo sentido, tal como una trampilla, puerta abatible o escotilla. Para animar a las abejas a que abran la puerta, y como se muestra en los ejemplos que siguen, en una realización particular las puertas de un solo sentido comprenden en su base una pequeña abertura. No hay requerimientos específicos respecto a la forma de dicha abertura, pero su 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 lleguen a través de la misma. Como tal, la anchura y/o la altura de esta pequeña abertura es de aproximadamente 2 mm a aproximadamente 3 mm. De nuevo, en caso de que dicha puerta de un solo sentido sea parte del camino de salida, la puerta debe estar hecha con un material transparente a la luz, preferiblemente translúcido o perforado. En caso de que la puerta de un solo sentido sea parte de una entrada real a la colmena, ésta consiste preferiblemente en un material opaco (oscuro). En este último caso y para animar a las abejas a abrir la puerta, dicha puerta puede comprender una abertura adicional, tal como por ejemplo en la base de dicha puerta, que permita que el aroma de la colmena entre en la segunda cámara (1).

De forma diferente a los dispensadores conocidos, la cámara dispensadora de los presentes diseminadores de colmena está sustancialmente libre de obstáculos como las placas transversales encontradas en el dispensador SSP y los cambios de nivel del suelo encontrados por ejemplo en el dispensador OP. Estos últimos tienen influencia sobre el tiempo de paso en el dispensador, la infiltración de luz en la colmena y por tanto es probable que tengan influencia en el comportamiento de forrajeo de las abejas. En comparación con los diseminadores antes mencionados, la cámara dispensadora de la invención presente únicamente contiene medios en el miembro suelo de dicha cámara para inmovilizar la sustancia que va a ser diseminada, pero que no obstaculizan el paso de las abejas cuando éstas caminan a través de la cámara dispensadora. Como ya se explicó anteriormente, dichos medios evitan que las abejas sean capaces de abrir una trayectoria a través de la sustancia que se va a diseminar.

La sustancia que se va a diseminar puede ser cualquier sustancia que no sea patógena para la abejas, incluyendo el polen; productos de protección para la plantas tal como los agro-químicos; agentes de biocontrol tal como por ejemplo virus, bacterias, hongos, rickettsia, nematodo, huevos de ácaros o insectos beneficiosos, o ácaros o insectos beneficiosos; fertilizadores; o preparaciones que contienen hormonas para las plantas, etc. Aunque se conoce bien en el estado de la técnica que las colmenas de abejorros sin dispensador ni sustancia diseminada incluida en las mismas son útiles para la polinización de ciertas plantas, la sustancia diseminada según se utiliza en la invención está destinada a proporcionar una utilidad añadida a la planta (preferiblemente a través de las flores) visitadas por los abejorros tal como la reducción de ciertas plagas y problemas de enfermedades, la polinización (en particular polinización cruzada) o un desarrollo mejor o alterado de la flor o planta.

Dichas sustancias pueden ser usadas como tales, o en forma de formulación, incluyendo combinaciones de las sustancias mencionadas anteriormente. En una realización particular, la sustancia se formula como un líquido o en forma de polvo, más en particular la formulación es una formulación en polvo, por ejemplo que utiliza un portador en polvo. El portador en polvo puede ser un almidón tal como el maíz, almidón, talco, polvo derivado de las cáscaras de nuez trituradas, polvo de arcilla, o mezclas de los mismos.

Cualquier material para impedir el desplazamiento no deseado de la sustancia en polvo / formulación puede ser usado en la cámara dispensadora de la presente invención. En una realización particular, dichos medios son una parte integral del miembro de suelo de la cámara dispensadora; por ejemplo, en el caso de que se utilice un material abrasivo para fabricar el miembro de suelo de dicha cámara. Ejemplos de tal material abrasivo incluyen madera

5 cortada en bruto cuya textura sea natural o plástico que tenga una superficie antideslizante, por ejemplo que tenga una superficie con trazos o con una pluralidad de pliegues. En una realización adicional más, dichos medios integrados para evitar el desplazamiento indeseado de la sustancia consisten en una malla, o en una pluralidad de bordes, nervaduras, pliegues, protuberancias, etc. En una realización particular, los medios integrados para evitar el desplazamiento indeseado de la sustancia consisten en una serie de pendientes separadas por un borde poco profundo. 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 se sumergirán un número de veces a través de la sustancia que se va a diseminar, dando por resultado una alta carga sobre una distancia corta. Alternativamente, el miembro de suelo de la cámara dispensadora está cubierto con un material extraíble y que se selecciona por ejemplo a partir de uno o más de entre una malla, por ejemplo de alambre soldado; estopilla; esponja; cepillos; papel acanalado; una serie de pendientes separadas por un borde poco profundo, un semitubo, o papel acanalado. En una realización particular, dichos medios son extraíbles y pueden consistir en una combinación de uno cualquiera de los ejemplos antes mencionados. En una realización preferida, los medios para inmovilizar la sustancia que se va a diseminar consisten en un semitubo extraíble que comprende dos o más de entre los bordes, nervaduras, pliegues, protuberancias, etc. (tal como por ejemplo lo representado en la figura 9E). Miembros de bloqueo para retener dicho material en una posición fija en la cámara dispensadora pueden también estar presentes. En una cualquiera de las realizaciones antes mencionadas, los medios para evitar un desplazamiento indeseado de la sustancia causarán 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 el desplazamiento indeseado de la sustancia consistan en papel acanalado, las nervaduras estarán preferiblemente en la dirección longitudinal de la cámara dispensadora.

25 Según se proporciona con mayor detalle en los ejemplos que siguen, el diseminador para colmena de la presente invención está incorporado en una colmena real. Uno de dichos diseminadores de colmena integrados consistirá en una cámara dispensadora como se ha descrito anteriormente, en donde la(s) salida(s) unidireccional(es) de la cámara dispensadora comunica(n) 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 comprende medios que permiten que las abejas se arrastren desde la colmena hacia arriba y hacia la cámara dispensadora, tal como por ejemplo un alambre, una varilla, malla, escalera, etc., que se extiende desde la entrada (4) de la cámara dispensadora hacia la colmena. Es, por lo tanto, un objeto de la presente invención proveer un diseminador para colmena de la presente invención caracterizado además por que la cámara dispensadora comprende en su entrada (4) medios que permiten que las abejas se arrastren desde la colmena hacia arriba y hacia la cámara dispensadora. Dichos medios que permiten que las abejas se arrastren desde la colmena hacia arriba y hacia la cámara dispensadora, se fijan por ejemplo a la cámara dispensadora, o a la malla superior de la colmena.

35 Según se ha mencionado ya con anterioridad, dado que las abejas que buscan salir responden a la luz que entra a la colmena, es importante que entre suficiente luz 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 puede ser potenciada mediante el uso de un miembro lateral, transparente o perforado, en la salida de la cámara dispensadora. En dicha realización, en donde el diseminador para colmena de la presente invención esté integrado en una colmena real, el miembro lateral transparente o perforado en la salida de la cámara dispensadora debe de estar ya sea en contacto con una ventana correspondiente o ya sea con una abertura de la colmena real. Es, por lo tanto, un objeto de la presente invención proporcionar un diseminador para colmena de la presente invención caracterizado además por que la cámara dispensadora comprende un miembro lateral transparente o perforado en la salida de dicha cámara.

45 Para asegurar que las abejas que salen de la colmena podrán pasar a través de la cámara dispensadora y no escaparán a través de la entrada de la colmena, esta última deberá comprender medios similares a los medios utilizados para las salidas unidireccionales mencionadas anteriormente. En una realización particular, el orificio de entrada de la colmena comprenderá un tubo cónico dirigido hacia adentro, opcionalmente un tubo cónico cortado diagonalmente. Para evitar la penetración de la luz, la cual puede atraer a las abejas que van saliendo, los medios para realizar la entrada unidireccional deben estar hechos de un material opaco a la luz. En una realización alternativa más, la entrada a la colmena podría ser realizada con una puerta de un solo sentido, tal como una trampilla, una puerta abatible o una escotilla. Al igual que para el tubo cónico cortado diagonalmente mencionado anteriormente, la puerta de un solo sentido en la entrada a la colmena está hecha preferiblemente con un material opaco a la luz. Cuando las abejas que salen de la colmena responden a la luz, las abejas que entran en la colmena son atraídas por el aroma de la colmena. Por tanto, en caso de que los medios para realizar la entrada unidireccional consistan en una puerta de un solo sentido, esta última puede comprender una abertura adicional, tal como por ejemplo en la base de dicha puerta, que permita que el 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 según se ha descrito anteriormente, en la que;

60 las salida(s) unidireccional(es) de dicha cámara comunica(n) con la(s) salida(s) de la colmena;

la(s) entrada(s) de dicha cámara está(n) en contacto directo con el interior de la colmena; y

en donde la entrada de la colmena comprende medios para realizar una entrada unidireccional.

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

Si bien la longitud del camino de salida es importante para realizar una carga óptima de las abejas con la sustancia que se va a diseminar, la longitud del camino de entrada es de menos importancia. Consecuentemente, comparado con la longitud de la cámara dispensadora, la segunda cámara puede tener la misma longitud pero puede ser más corta también. Para reducir aún más la penetración de la luz a través del camino de entrada de la colmena, la longitud de la segunda cámara debe ser aproximadamente de 5, 10, 15 cm o más. Para beneficiarse del aroma de la colmena en la atracción de las abejas entrantes, la segunda cámara puede estar hecha de malla, o contar con perforaciones en su base y miembro(s) lateral(es) en comunicación con la colmena. Para permitir el desarrollo de una senda de aroma en la segunda cámara, esta última puede comprender un material portador que cubra la base (suelo) de dicha cámara, tal como, por ejemplo, una pieza de cartón, o madera cortada en bruto. De nuevo y de forma similar a la entrada unidireccional mencionada anteriormente, en caso de que la salida unidireccional de dicha segunda cámara consista en una puerta de un solo sentido, esta última puede comprender una abertura adicional, tal como por ejemplo en la base de dicha puerta, que permita que el aroma de la colmena entre en dicha cámara y atraiga a las abejas que entran.

De nuevo, excepto por la longitud del camino de salida, no hay limitaciones particulares en cuanto a la forma de las cámaras como se muestra en los ejemplos que siguen. Dada la capacidad para integrar las cámaras en una colmena, las limitaciones en la altura, la longitud y la anchura son establecidas típicamente por las dimensiones de la colmena. El ancho de las cámaras es típicamente de aproximadamente 2,0 a 15,0 cm, con una cámara dispensadora en promedio de alrededor de 5,0 hasta alrededor de 15,0 cm y la segunda cámara en promedio de alrededor de 2,0 hasta alrededor de 5,0 cm. La altura de las cámaras debe ser tal que evite que las abejas vuelen típicamente es de alrededor de 1,0 a alrededor de 15,0 cm con un promedio de altura de alrededor 3,0 hasta 4,0 cm. No debe ser un obstáculo para las abejas que entran o salen de las cámaras, las aberturas deben estar cerca de los miembros de suelo y estar elevadas hasta alrededor de 0,5 cm por encima de dichos miembros de suelo, con diámetros que van desde la anchura de las cámaras hasta alrededor de 1,0 cm.

Las dos cámaras según se describen en la presente memoria pueden ser cámaras independientes y separadas pero preferiblemente tomadas en conjunto forman un solo alojamiento tal como por ejemplo el proporcionado en las diferentes realizaciones descritas a continuación. Como tal, el alojamiento 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 comunicar con la entrada o salida de la colmena son típicamente seleccionados a partir de tubos flexibles, tubos rígidos, puertas abatibles o tubos cónicos.

Esta invención será mejor comprendida mediante referencia a los Detalles Experimentales que siguen, pero los expertos en la materia podrán apreciar fácilmente que éstos son únicamente ilustrativos de la invención como se define en las reivindicaciones que siguen a continuación.

Ejemplos

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

Según se proporciona con mayor detalle en los ejemplos que siguen, la eficacia de los diseminadores para colmena, es decir los dispensadores, fue evaluada mediante:

determinación de la carga de abejorros con ACM, evaluando la UFC que pudo ser recuperada de las abejas;

determinación del impacto del dispensador sobre la intensidad de forrajeo, contando la frecuencia de entrada y salida durante 30 minutos en diferentes puntos de tiempo del día, y

determinación de la cantidad de ACM dispersada en las flores cuando se probaron bajo condiciones prácticas en un invernadero cerrado. La cantidad de ACM dispersada en las flores fue evaluada como la UFC que pudo ser recuperada de las mismas.

5

Ejemplo 1. Dispensador de embudo

En todos los experimentos con el dispensador F, el ACM consistió en semillas/propágulos de cepas de hongos *Trichoderma atroviride* y *Hypocrea parasilulifera* a una concentración mínima de 1.000.000 de UFC (Unidades Formadoras de Colonias)/gramo. Este ACM está, por ejemplo, disponible como producto comercial bajo el nombre BINAB® T Vector (Bio-Innovation AB, Suecia) Sin embargo, se puede utilizar cualquier agente de control que no interfiera con el comportamiento normal de las abejas.

10

Diseño del dispensador de embudo

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

15

- Es un dispensador de doble sentido con una base trapezoidal, hecha de PVC de 3 mm de espesor, con un compartimento de salida y uno de entrada separados ((2) y (1), respectivamente)

- La base trapezoidal tiene una anchura de 7.2 cm a 18 cm

20

- 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 está conectada con el nido a través de un tubo corto de plástico con un cerradero-de-abejorros y 3 aberturas de salida (5), con un cerradero-de-abejorros. Los cerraderos-de-abejorros se utilizan para evitar que los abejorros regresen al nido a través de la abertura equivocada

- Las aberturas de salida se colocan lo más cercanas posible a la abertura de entrada, ya que se ha observado que los abejorros que salen del dispensador a través de una abertura de salida situada lejos de la abertura de entrada pierden más tiempo para encontrar la abertura de entrada correcta.

25

- El compartimento (1) (Longitud alrededor de 20-30 cm x Anchura alrededor de 3,0 cm x Altura de 5,3 cm) tiene dos aberturas, una está conectada con el nido (3) a través de un tubo corto de plástico, con un cerrador-de-abejorros en la parte interna de la colmena para evitar que los abejorros salgan del nido a través de la abertura equivocada y la otra es la abertura de entrada. Esta última abertura (6) está marcada por el exterior con el color azul para atraer a los abejorros que van a entrar

30

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

Eficiencia del dispensador de embudo para la carga de abejorros

Para determinar la longitud mínima óptima del dispensador de embudo, para obtener una carga óptima del conjunto de abejorros, dibujamos líneas en el dispensador (de 25 cm de longitud) a 5, 10, 15, 20 y 25 cm. El dispensador se llenó con BINAB® T Vector. Abejorros de la misma edad y tamaño se mantuvieron individualmente en un tubo Falcon cubierto con papel aluminio para mantenerlo oscuro. Entonces, se conectó el tubo Falcon con el dispensador, y se permitió que los abejorros obreros caminaran a través del dispensador. Se capturó a las obreras a diferentes distancias después de 5, 10, 15, 20 ó 25 cm de haber caminado a través del dispensador bajo oscuridad completa (luz roja) para evitar la perturbación del comportamiento de caminar de las obreras debido a la presencia de luz. Después de la captura, se dio muerte a las abejas, y se analizó la cantidad de UFC presente en sus cuerpos. Para cada distancia, se agitaron 10 abejorros en una solución fisiológica a 200 rpm durante 60 minutos. Se analizó la cantidad de UFC recubriendo placas con una serie de diluciones de la solución obtenida sobre medios selectivos y se usaron 4 placas para cada disolución. Se incubaron placas de Petri a temperatura ambiente y después de 36 horas se evaluaron las colonias individuales. El experimento se repitió tres veces.

35

40

45

Como se muestra en la figura 2, la mejor carga se obtuvo cuando las abejas caminaron durante 20 ó 25 cm a través del dispensador. Los datos sugieren que la carga alcanzó su carga máxima/saturada con 20 y 25 cm de caminata a través del dispensador. A menores distancias se recuperó una cantidad significativamente menor ($p < 0.05$) de UFC.

50

Además, la eficiencia del dispensador F para la carga de abejorros se comparó con la del dispensador SSP previamente descrito. Para un dispensador F, el compartimento que se usó lleno con el ACM medía 25 cm de largo. El dispensador F pareció ser mucho más efectivo en la carga de 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 usadas en ambos dispensadores fue comparable: $362,8 \pm 19,6 \text{ mm}^2$ para el dispensador SSP y $356,7 \pm 59,0 \text{ mm}^2$, que indica que la diferencia en UFC/abeja se debe a una eficiencia más alta del dispensador R en la

carga de abejorros.

Efecto del dispensador de embudo en el forrajeo de los abejorros

El propósito de este experimento fue comprobar si fijar el dispensador de embudo frente a una colmena de abejorros afecta a la actividad de forrajeo de los abejorros en cinco diferentes nidos. Para determinar el periodo en que las abejas están más activas, la actividad de los abejorros (entrada/salida de los nidos) 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 lo tanto, se decidió que para el análisis adicional se trabajaría con 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 de embudo, situado frente a la colmena. Las mediciones se hicieron el día después de la colocación del dispensador. Como se muestra en la figura 5, aún cuando la actividad de los abejorros fue ligeramente más baja en los nidos con un dispensador F, este efecto no fue significativo, lo que indica que el dispensador F no afecta significativamente a 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 sobre 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 la carga del dispensador en comparación con un dispensador vacío (Fig. 3), siendo incluso comparable con la actividad de los abejorros sin el dispensador F a las 11 AM. Además, se observó un nivel de actividad comparable también 24 horas después de cargar el dispensador F.

Evaluación del dispensador de embudo en un invernadero cerrado

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

Para determinar la medida en la que forrajean los abejorros para inocular flores con ACMs, marcamos en el suelo de cada invernadero tres círculos con el nido de abejorros en el centro, y con un diámetro 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 un tubo Falcon. Esto se hizo semanalmente durante 3 semanas. Se agregaron 50 ml de solución fisiológica por tubo Falcon a las flores, y estas se agitaron a 120 rpm durante 60 minutos. Se preparó una serie de disoluciones (1/1, 1/5, 1/10—1/100,000) con la solución obtenida y se colocaron en placas sobre MST (William et al., *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69, pág. 4190-4191). Para cada concentración se utilizaron 4 placas. Después de 36 horas de incubación a temperatura ambiente, se evaluaron los números de colonias.

De manera interesante, se contaron más UFCs por zona con el uso del dispensador de embudo en comparación 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 indican claramente que el dispensador F no afecta significativamente a la actividad de los abejorros y que muestra mejores números en la carga de ACM sobre los abejorros y en la deposición de ACM en las flores, comparado en el dispensador SSP.

Ejemplo 2. Dispensador rectangular

En los experimentos con el dispensador R, la ACM consiste de en:

- 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. Este ACM está disponible, por ejemplo, como producto comercial bajo la marca de BINAB® T Vector (Bio-Innovation AB, Suecia), o
- 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 disponible, por ejemplo, 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 comportamiento 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 uno de 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 un ancho de alrededor de 10,0 cm.
- 5 - El compartimento (2), se llena con ACM y tiene aproximadamente 4,0 cm de altura, 5,0 cm de anchura y 20-25 cm de largo. Este compartimento contiene una abertura (4) que está en contacto directo con el nido y 2 aberturas de salida (5), con un cerrador-de-abejorros. Los cerraderos-de-abejorros se utilizan para evitar que los abejorros regresen al nido a través de la abertura equivocada.
- 10 - Las aberturas de salida están colocadas lo más cerca posible de la abertura de entrada, ya que se ha observado que los abejorros que salen del dispensador a través de una abertura de salida situada lejos de la abertura de entrada pierden más tiempo para encontrar la abertura de entrada correcta.
- El compartimento (1) (Longitud alrededor de 8,0 cm x Ancho alrededor de 2,5 cm x Altura 4,0 cm) tiene dos aberturas, una está en comunicación directa con el nido (3) y cuenta con un cerrador interno de abejorros, para evitar que los abejorros salgan del nido a través de la abertura equivocada y la otra está en comunicación con la abertura de entrada (6) de la colmena a través de un tubo corto de plástico. Esta última abertura está marcada por el exterior con un color azul para atraer a las abejas para que entren.
- 15 - Para evitar el movimiento del polvo, como consecuencia del movimiento de los abejorros, se ha puesto una malla en la parte inferior del dispensador.

Eficiencia del dispensador R en la carga de abejorros

- 20 SE investigó la eficiencia del dispensador R para cargar abejorros. Para ello, el dispensador, lleno de Prestop Mix® (0,11 g/cm²), se conectó a un 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 se conectó un tubo Falcon con un ángulo de 45 grados a la abertura de entrada/salida para capturar las abejas obreras que dejaban el dispensador. Se capturó un total de 10 abejorros y se les dio muerte. A continuación, los abejorros fueron agitados en una solución fisiológica a 200 rpm durante 60 minutos. Se analizó la cantidad de UFC mediante el recubrimiento de placas con una serie de diluciones de la solución obtenida sobre medios selectivos (APD) 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 al área superficial. El experimento se repitió dos veces.
- 25
- 30 La media de carga de UFC por cada abejorro obrero fue de 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 alrededor 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).

Evaluación del efecto del dispensador R sobre la actividad de forrajeo en un invernadero cerrado

- 35 El propósito de este experimento fue comparar el efecto del dispensador R y del 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, consistiendo cada una de ellas en una reina y 50 obreros. El grupo de control consistió en 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, se realizaron 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.
- 40

Los resultados siguieron 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 intervalos de 30 minutos fue significativamente ($p < 0.05$) diferente entre el dispensador R y el dispensador SSP. Además, no se observó ningún efecto significativo sobre la media de la intensidad de forrajeo por cada 30 minutos entre los controles y los nidos que contenían un dispensador R.

45

Evaluación del efecto de carga del dispensador R sobre la actividad forrajera

- El propósito de este experimento fue probar si cargar el dispensador R afecta a la actividad forrajera de las abejas. Para ello, se utilizaron 10 nidos que contenían un dispensador R. En la tarde del siguiente día (10 PM) los dispensadores R de cinco nidos se cargaron con 10g Binab® T-vector y 5 se dejaron vacíos. El recuento de la siguiente mañana se hizo a las 7 AM, 11 AM y 4 PM para determinar el efecto de un dispensador cargado con polvo y sin polvo. Cualquier reducción en la actividad fue atribuida al efecto del polvo. Los datos se analizaron para una distribución normal con una prueba de Kolmogorov-Smirnov. Después, se determinó la relevancia entre los nidos con una prueba-t independiente.
- 50
- 55

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

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

Ejemplo 3. Evaluación del efecto del dispensador Superpuesto (S) sobre la actividad forrajera en condiciones exteriores.

- 10 El propósito de este experimento fue evaluar el efecto de la presencia del 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 (véase la Figura 10), para evitar que las abejas cargadas regresen al nido. Cada tipo de dispensador se probó en tres réplicas, conteniendo cada una de ellas una reina y alrededor de 50 obreras. El grupo de control consistió en 3 colmenas regulares de abejorros. Las colmenas fueron colocadas en una fila en el exterior en alternancia. El día cero, los dispensadores se montaron en colmenas regulares y se llenaron de Maízena para mimetizar la presencia de una formulación en polvo. Después de 5 días, se rellenaron los dispensadores y se hicieron recuentos de 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 las 2:30 PM. Se calcularon los errores medios y los estándar.

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

- 20 En resumen, los resultados indican claramente que el dispensador S no afecta significativamente a la actividad de los abejorros.

25

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una colmena que comprende un dispositivo diseminador, en donde dicho dispositivo diseminador comprende una cámara dispensadora (2) para mantener una sustancia que va a ser diseminada, comprendiendo dicha cámara dispensadora una entrada (4) y una salida (5), caracterizada por que la colmena comprende una malla superior (0) de cobertura de la colmena, y por que el dispositivo diseminador es parte integral de la malla superior de la colmena.
2. La colmena de la reivindicación 1, en donde el miembro superior de la cámara dispensadora consiste en la malla superior de cobertura (0) de la colmena.
- 10 3. La colmena de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la cámara dispensadora puede ser rellenada a través de una perforación en la parte superior de la cámara dispensadora.
4. La colmena de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la cámara dispensadora puede ser rellenada a través de una tapa extraíble (7) abisagrada o conectada de otro modo a la malla superior de la colmena.
5. La colmena de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además medios para cerrar la entrada de la cámara dispensadora.
- 15 6. La colmena de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además medios para inmovilizar la sustancia que va a ser diseminada en el miembro de suelo de la cámara dispensadora.
7. La colmena de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además una entrada unidireccional para las abejas que entran en la colmena.
- 20 8. La colmena de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además un camino de salida unidireccional para las abejas que salen de la colmena.
9. La colmena de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además abejas o abejorros, en particular abejorros.
10. Un método para distribuir un agente de control biológico, comprendiendo dicho método:
- 25 - proporcionar una colmena según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9,
- llenar la cámara dispensadora con un agente de control biológico, y
- permitir que las abejas, tal como las abejas meleras o los abejorros, pasen a través de dicha cámara dispensadora, distribuyendo con ello dicho agente de control biológico cuando las abejas forrajeen fuera de la colmena.

30

Figura 1

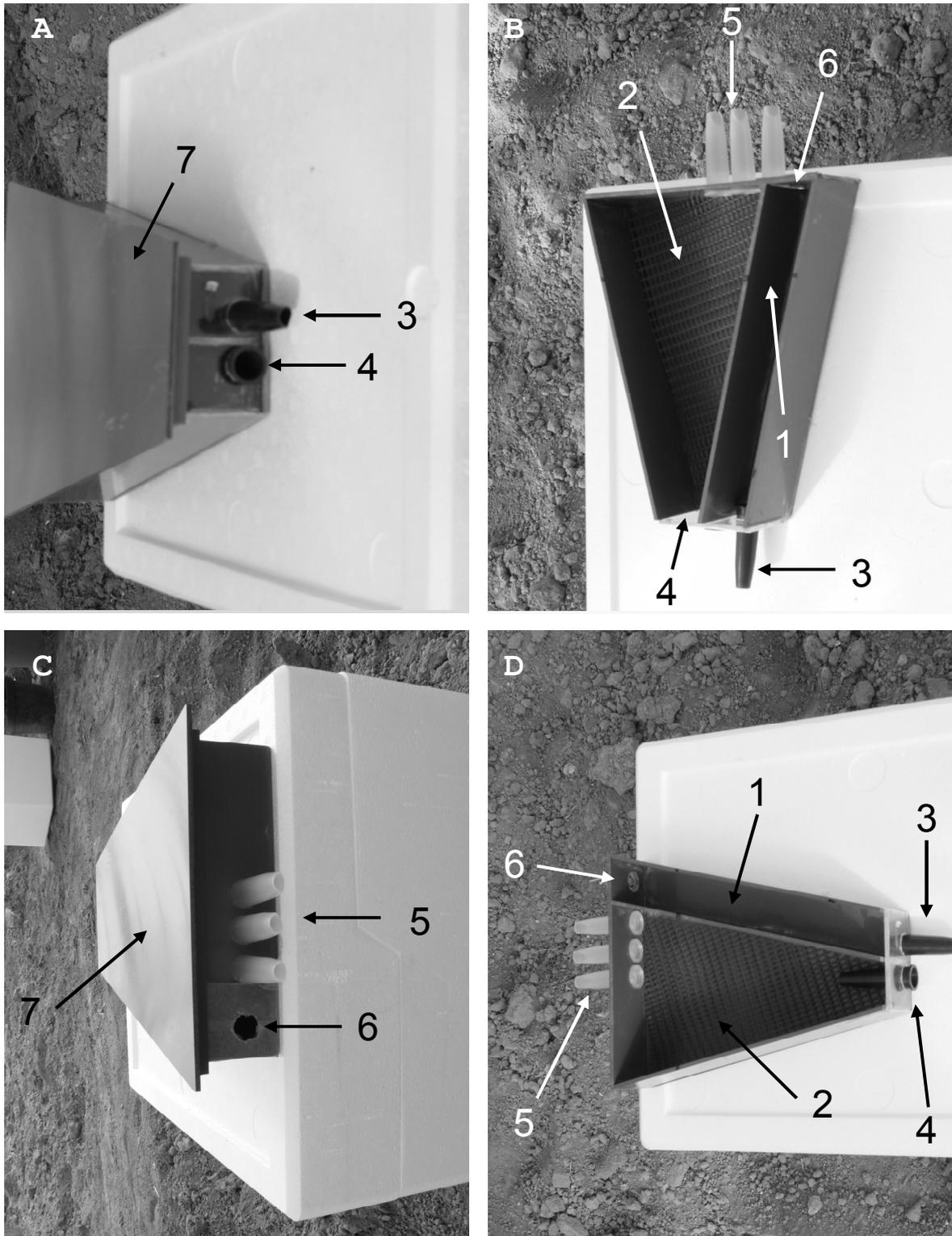


Figura 2

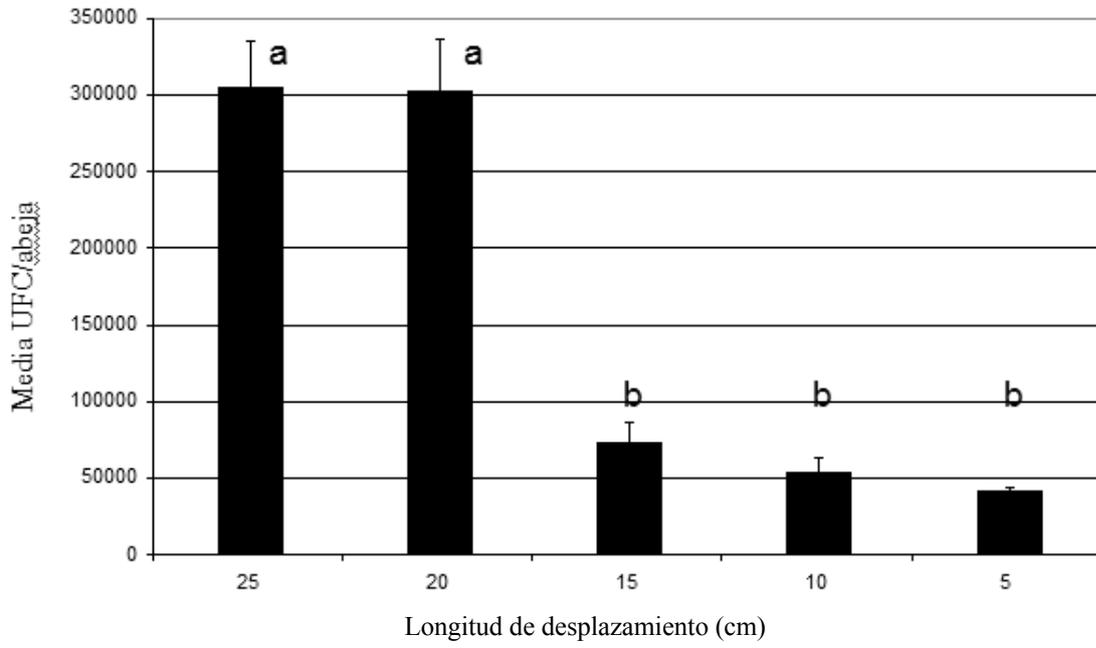


Figura 3

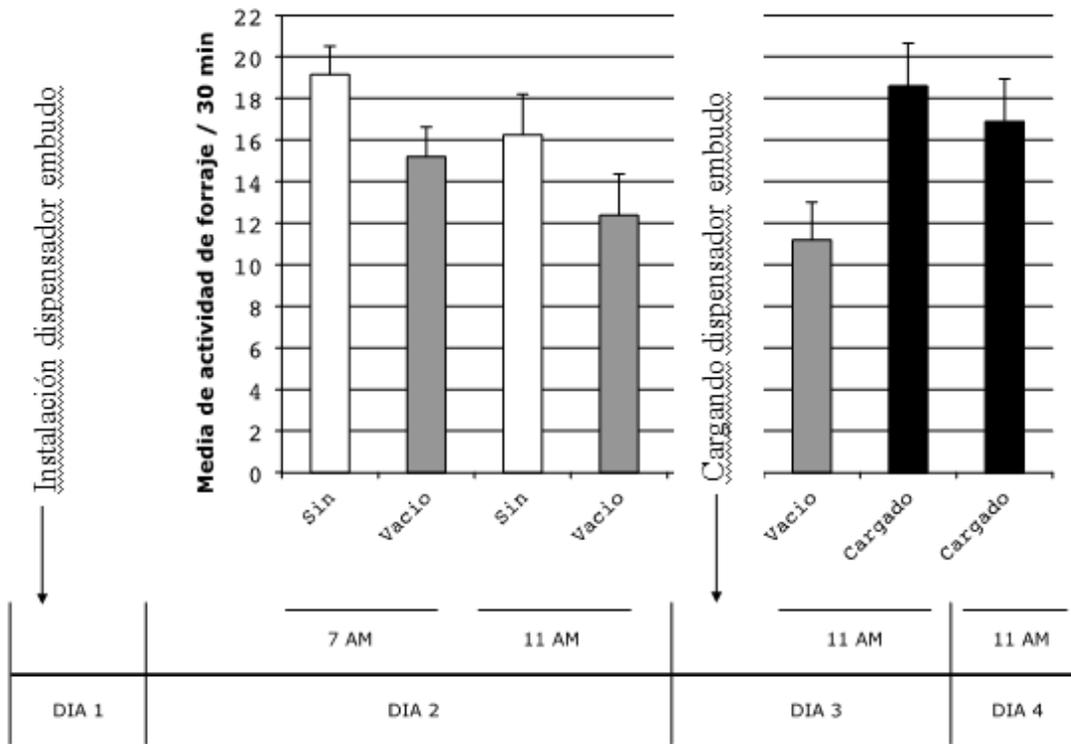


Figura 4

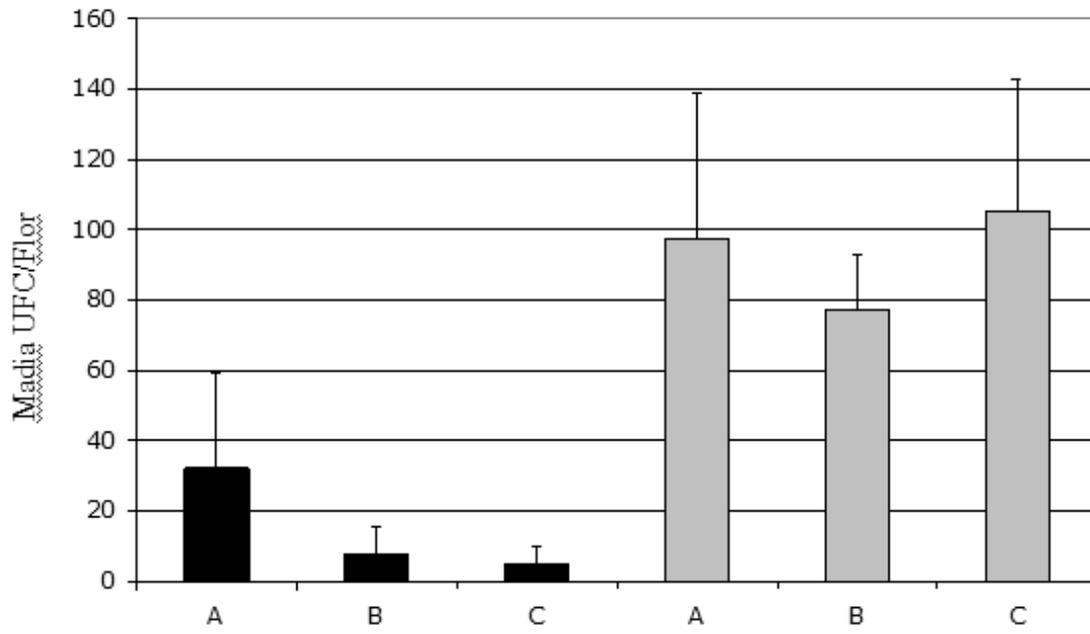


Figura 5

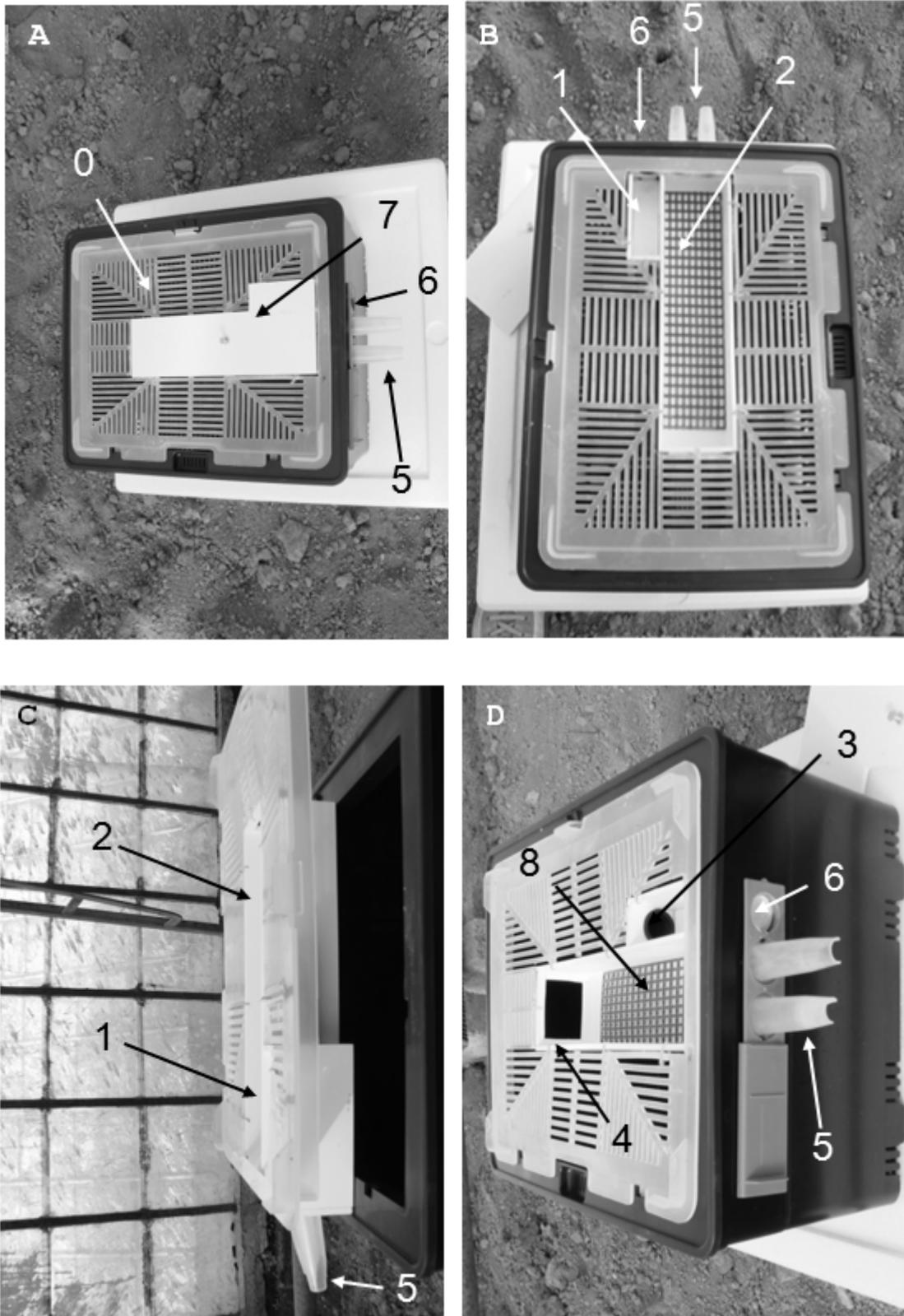


Figura 6

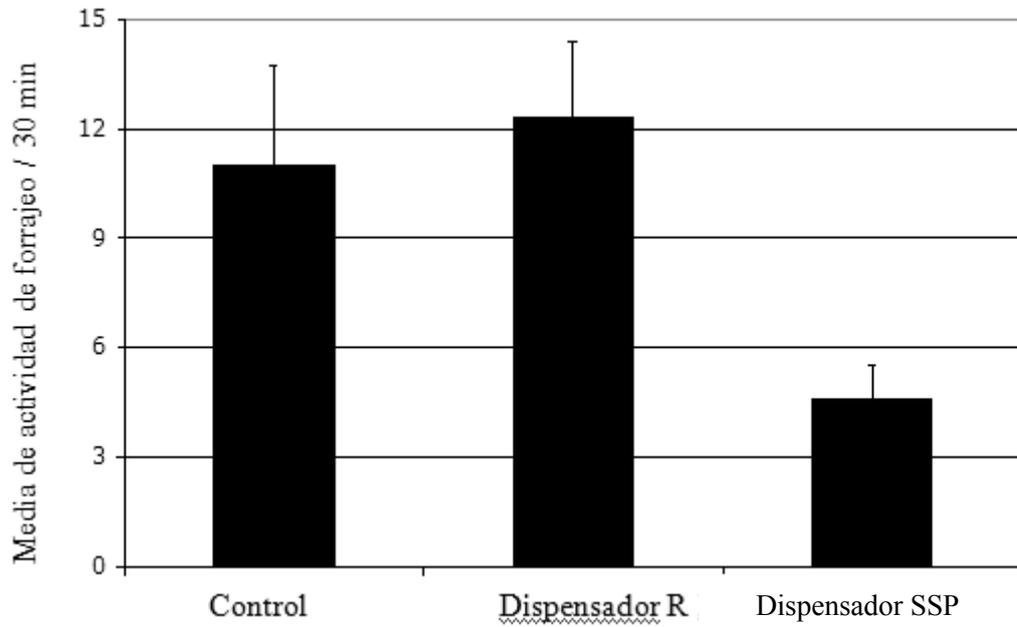


Figura 7

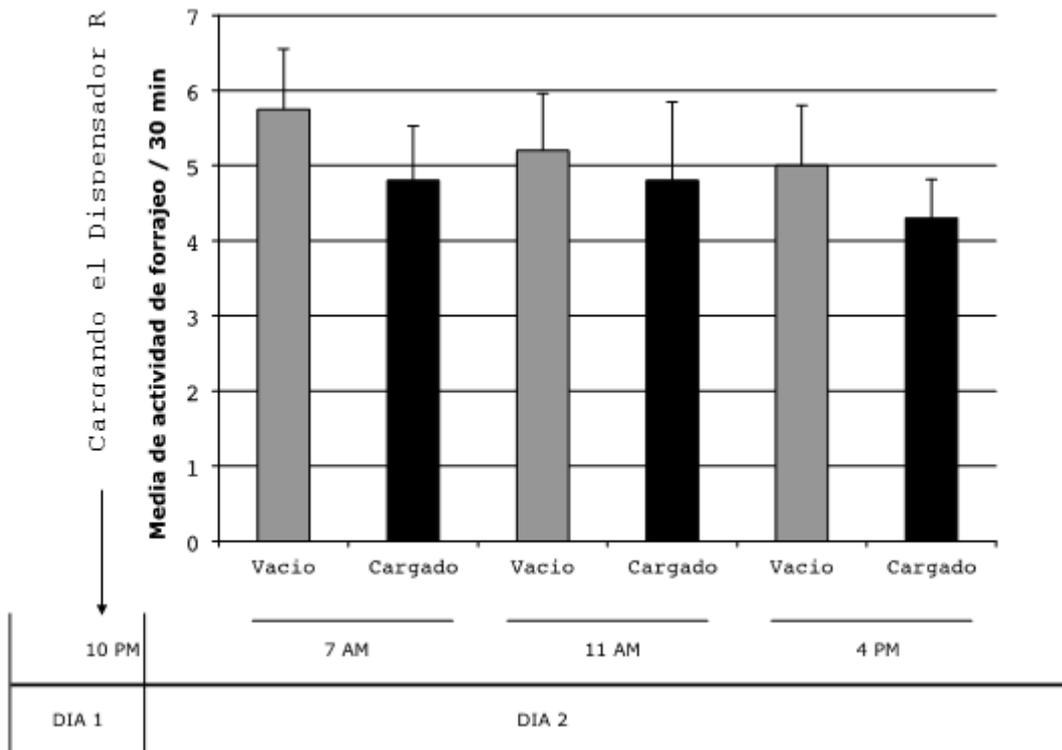


Figura 8

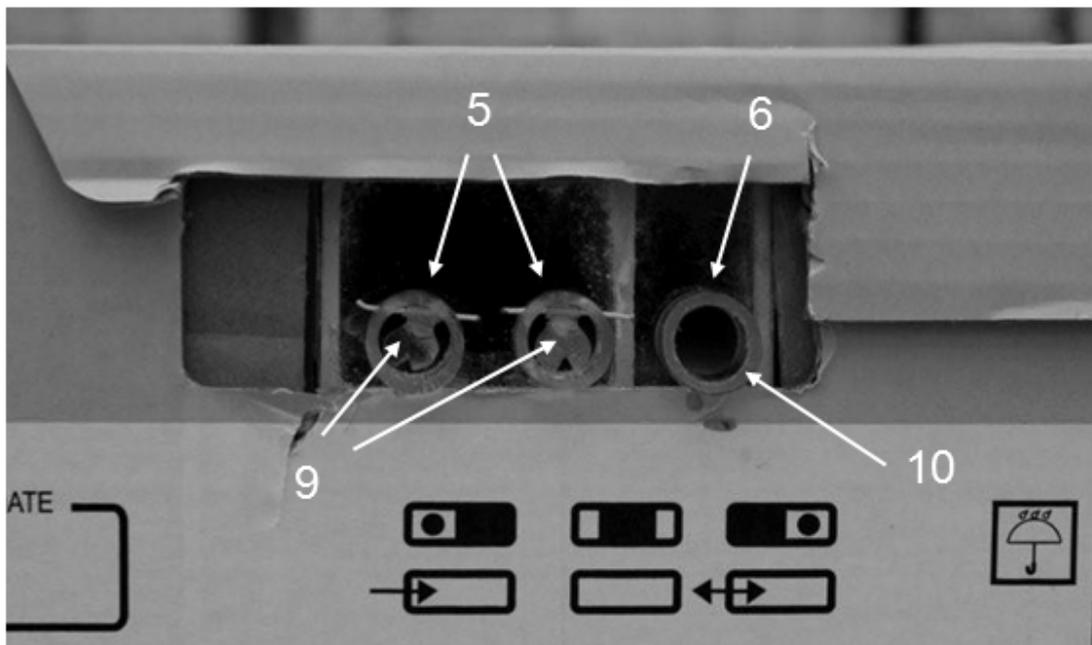
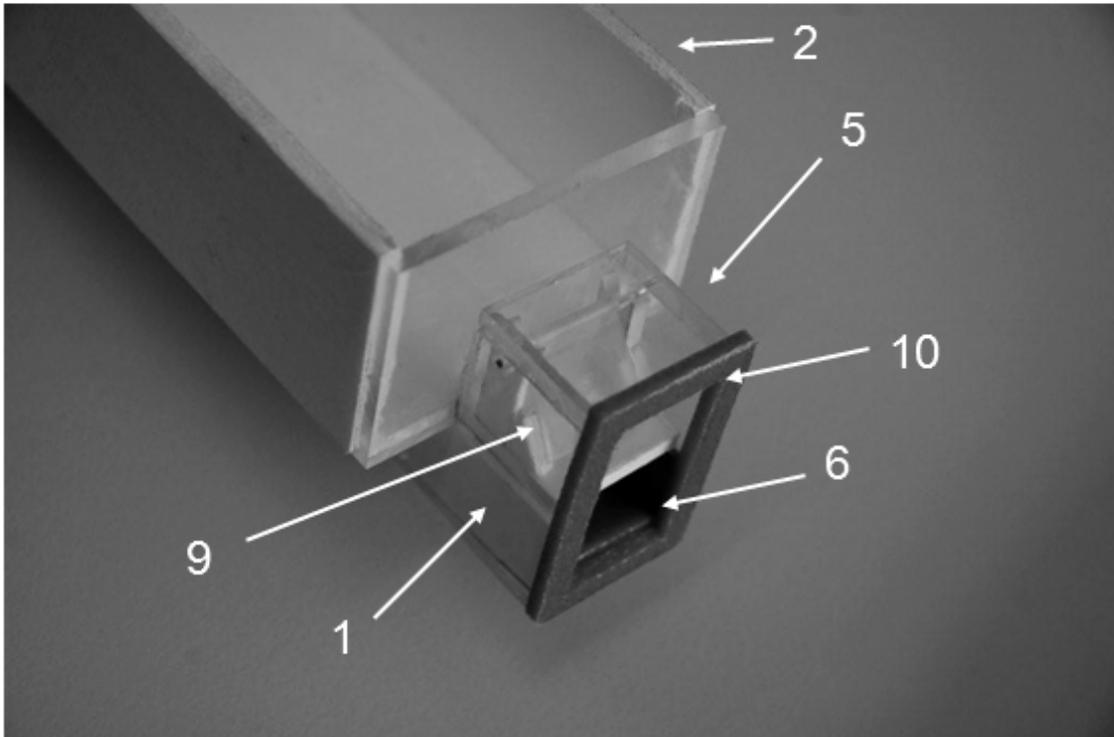


Figura 9

A



B

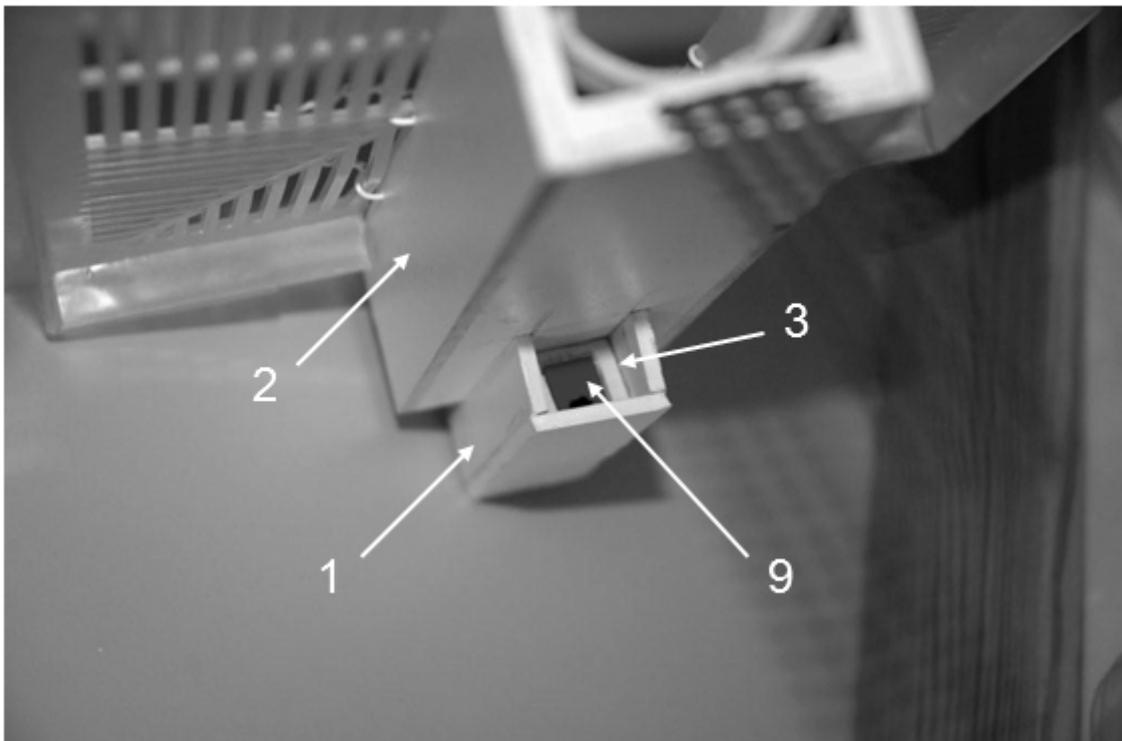


Figura 9 – Continuación

c

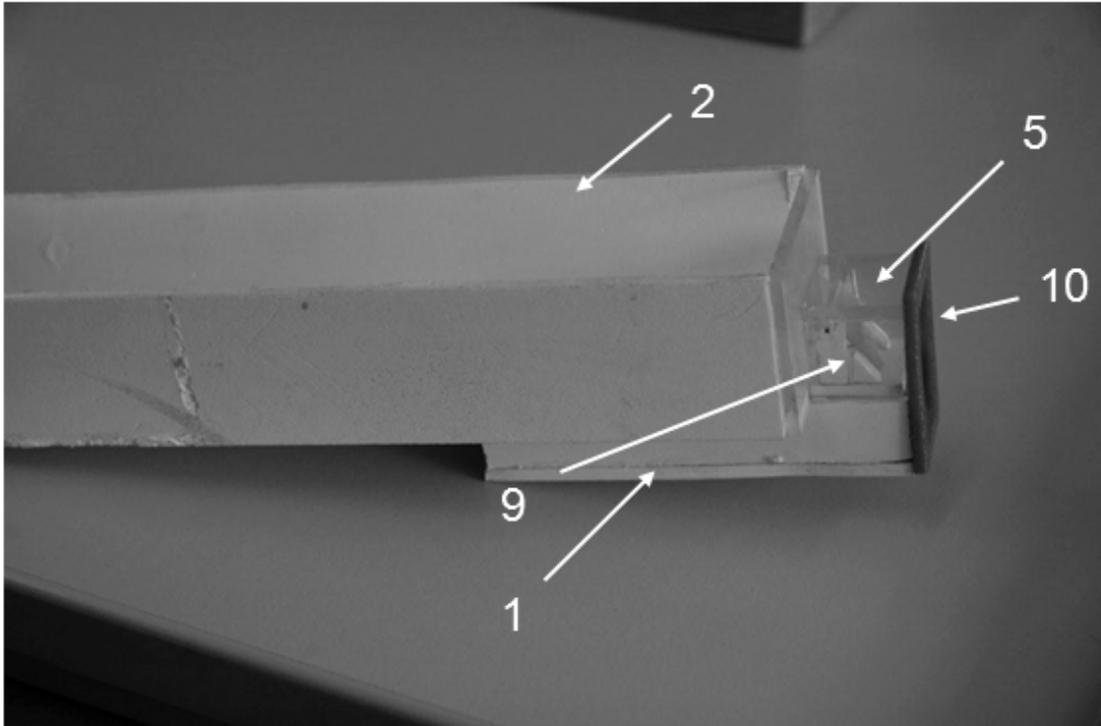


Figura 9 – Continuación

D

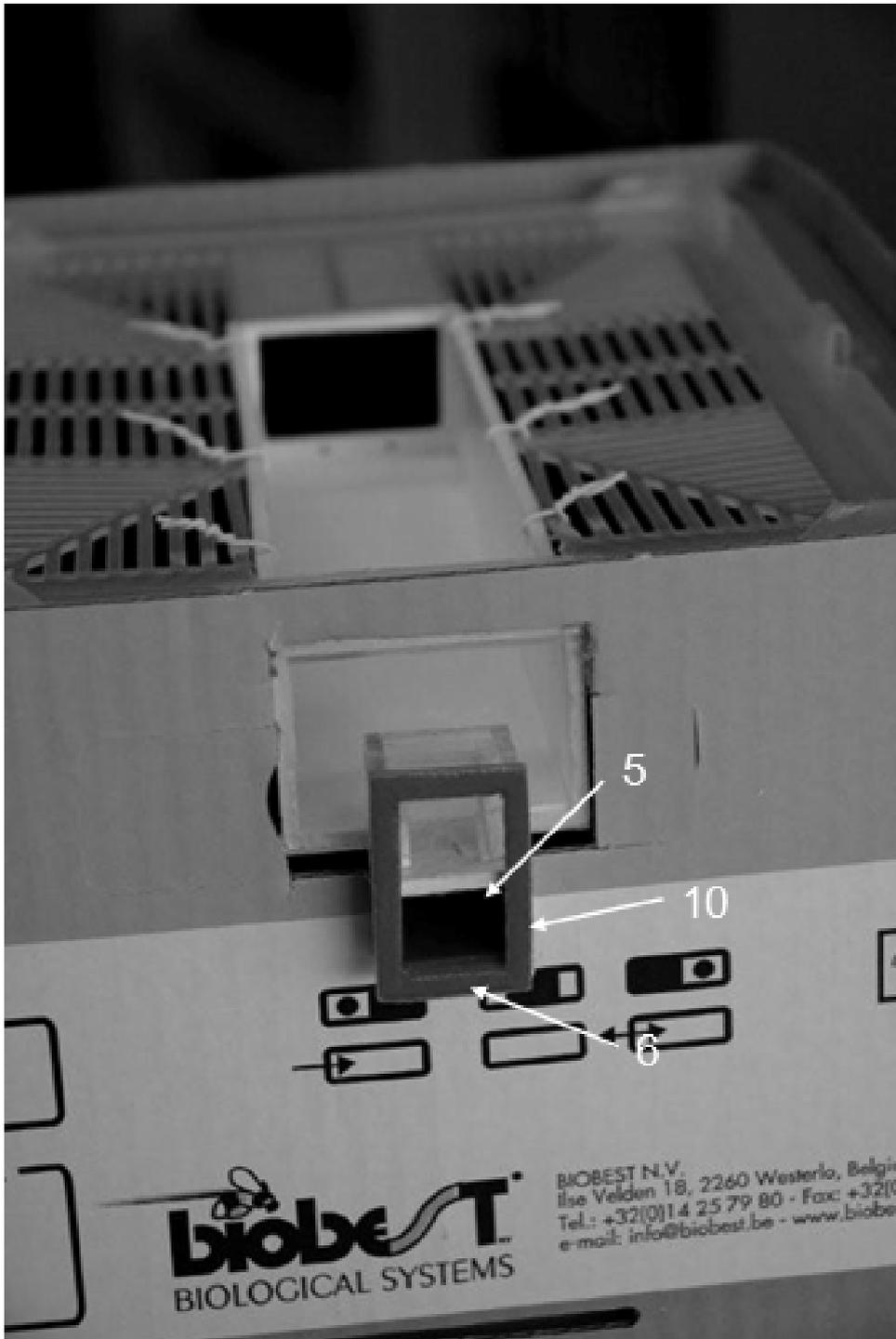


Figura 9 – Continuación

E

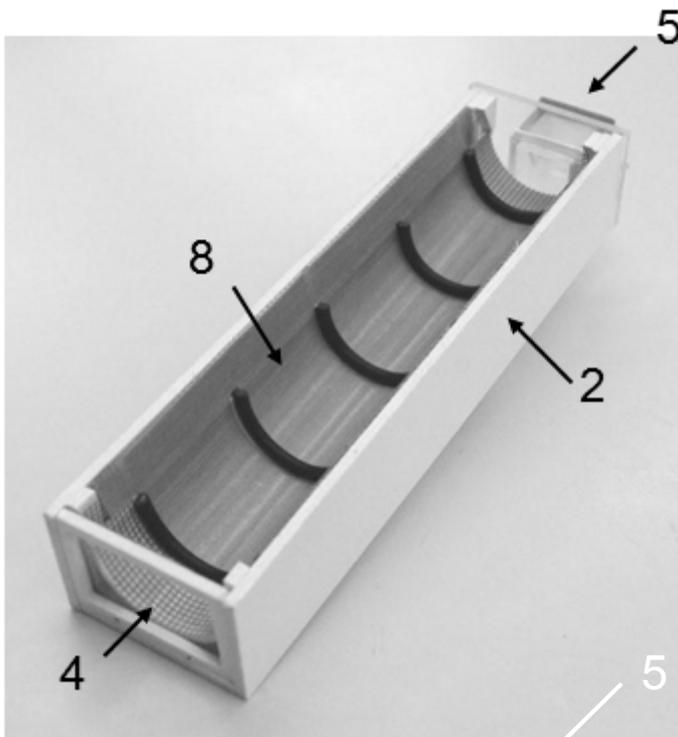


Figura 10

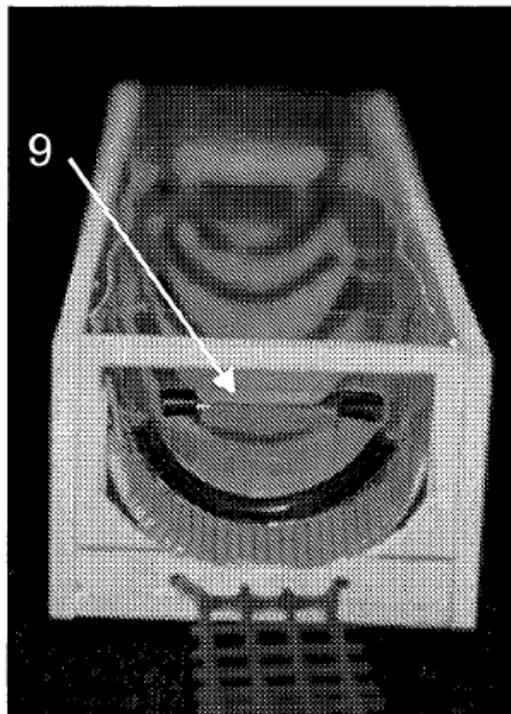


Figura 11

