

Prof. dr hab. inż. Adam Roman
Dyscyplina: zootechnika i rybactwo
Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wrocław, 15.09.2023 r.

Recenzja w postępowaniu habilitacyjnym pani dr Beaty Bąk

1. Podstawa formalna recenzji

Podstawę formalną sporządzenia niniejszej recenzji stanowi uchwała nr 26/2023 Rady Dyscypliny Naukowej Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie z dnia 21 lipca 2023 r. w sprawie powołania komisji habilitacyjnej w postępowaniu w sprawie nadania dr Beacie Bąk stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo oraz pismo z dnia 21.07.2023 r. przewodniczącej Rady Dyscypliny Naukowej Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie pani prof. dr hab. Doroty Witkowskiej, w którym zostałem poinformowany o powołaniu mnie na recenzenta w powyższym postępowaniu.

Podstawę prawną oceny osiągnięć naukowych Kandydatki ubiegającej się o stopień doktora habilitowanego jest art. 221 ust. 8 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj.: Dz. U. z dnia 10 marca 2023 r. poz. 742 ze zm.) a w zakresie kryteriów branych pod uwagę przy tej ocenie – art. 219 powyższej ustawy.

2. Życiorys zawodowy Habilitantki

Pani dr Beata Bąk w 2001 r. ukończyła studia na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, uzyskując dyplom lekarza weterynarii.

W 2004 r. ukończyła Specjalistyczne Studia Podyplomowe Choroby Owadów Użytkowych w Weterynaryjnym Centrum Kształcenia Podyplomowego, które zakończyły się zdobyciem tytułu specjalisty chorób owadów użytkowych.

Stopień naukowy doktora nauk rolniczych w dziedzinie zootechniki uzyskała w 2007 r. na Wydziale Bioinżynierii Zwierząt Uniwersytetu Warmińsko-Mazurski w Olsztynie na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Mechanizmy oporności na *Varroa destructor* (Anderson, Truman 2000) u różnych podgatunków pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L.)”. Promotorem rozprawy doktorskiej był pan prof. dr hab. Jerzy Wilde, a recenzentami pan prof. dr hab. Zygmunt Jasiński (Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie) i pan prof. dr hab. Konstanty Romaniuk (Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie).

W latach 2009-2012 zatrudniona była na stanowisku specjalisty naukowo-technicznego w Katedra Pszczelnictwa na Wydziale Bioinżynierii Zwierząt Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Następnie w latach 2017-2018 w tej samej jednostce była zatrudniona na stanowisku specjalisty. Natomiast w latach 2019-2021 zatrudniona była jako kierownik zespołu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie w projekcie naukowym NCBiR BIOSTRATEG3/343779/10/NCBR/2017 realizowanym przez Katedrę Drobnarstwa i Pszczelnictwa Wydziału Bioinżynierii Zwierząt Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie wspólnie z Politechniką Wrocławską.

3. Kwalifikacja i ocena osiągnięć naukowych

Tytuł osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego: „Wykrywanie warrozy i zgnilca amerykańskiego pszczoł z wykorzystaniem półprzewodnikowych czujników gazu”.

Prace wskazane przez Habilitantkę jako szczególne osiągnięcie naukowe:

1. **Bąk B.**, Wilk J., Artiemjew P., Wilde J., Siuda M. 2020. Diagnosis of varroosis based on bee brood samples testing with use of semiconductor gas sensors. *Sensors*: 20, 4014. <https://doi.org/10.3390/s20144014> (MSWiN=100, IF=3,576)

Wkład Habilitantki w powstanie pracy obejmował opracowanie koncepcji, planu badania, metodyki, udział w doświadczeniu i nadzór nad doświadczeniem, analizę i weryfikację wyników, wizualizację, opracowanie treści manuskryptu, korespondencję z redakcją, odpowiedź na recenzje.

2. Szczurek A., Maciejewska M., **Bąk B.**, Wilk J., Wilde J., Siuda M. 2020 Detecting varroosis using a gas sensor system as a way to face the environmental threat. *Science of the Total Environment*: 722, 137866. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137866> (MSWiN=200, IF=6,551)

W przypadku tej publikacji wkład Habilitantki w powstanie pracy obejmował współudział w opracowaniu metodyki dotyczącej części pszczelarskiej, udział w doświadczeniu i nadzór nad doświadczeniem, współudział w opracowaniu treści manuskryptu dotyczącej części pszczelarskiej.

3. **Bąk B.**; Wilk J. Artiemjew P. Wilde J. 2021. Recording the presence of *Paenibacillus larvae larvae* colonies on MYPGP substrates using a multi-sensor array based on solid-state gas sensors. *Sensors*: 21, 4917. <https://doi.org/10.3390/s21144917> (MSWiN=100, IF=3,847)

Wkład Habilitantki w powstanie pracy obejmował opracowanie koncepcji, planu badania oraz metodyki, udział w doświadczeniu i nadzór nad doświadczeniem, analizę i weryfikację wyników, wizualizację, opracowanie treści manuskryptu, korespondencję z redakcją, odpowiedź na recenzje.

4. **Bąk B.**, Szkoła J., Wilk J., Artiemjew P., Wilde J. 2022. In-Field Detection of American Foulbrood (AFB) by Electric Nose Using Classical Classification Techniques and Sequential Neural Networks. *Sensors*: 22, 1148. <https://doi.org/10.3390/s22031148> (MSWiN=100, IF=3,847)

Wkład Pani Doktor w powstanie pracy obejmował opracowanie koncepcji, planu badania, współudział w opracowaniu metodyki, udział w doświadczeniu i nadzór nad doświadczeniem, analizę i weryfikację wyników, wizualizację, współudział w opracowaniu większości treści manuskryptu i współudział w odpowiedzi na recenzje.

Habilitantka w trzech publikacjach zamieszczonych w dokumentacji habilitacyjnej jest pierwszą autorką, a w jednej trzecią. Jeśli skonfrontuje się to z oświadczeniami współautorów powyższych publikacji to można stwierdzić, że Habilitantka we wszystkich czterech publikacjach wniosła znaczący wkład w badania oraz ich powstanie. Dlatego uważam, że jest to wystarczające do uznania, że stanowią one szczególne osiągnięcia naukowe Habilitantki.

4. Omówienie szczególnego osiągnięcia naukowego

Wprowadzenie

Varroa destructor jest pasożytem pszczoł dorosłych i czerwiu pszczelego. W polskich pasiekach pojawiła się na przełomie lat 70-tych i 80-tych XX wieku, a po raz pierwszy została zdiagnozowana w 1980 roku. W latach 80-tych XX w. pasożyt ten był przyczyną ogromnych strat w polskich pasiekach – liczba rodzin pszczelich spadła z ponad 2,3 mln do ok. 650 tys. Potrzeba było wielu lat, żeby polskie pszczelarstwo odbudowało się. W tym czasie na całym świecie przeprowadzono tysiące badań biologii tego pasożyta, aby opracować skuteczne metody jego zwalczania. Testowano wiele różnych substancji naturalnych oraz tzw. ciężkiej chemii, aby opracować zabójcze dla *V. destructor* leki. Jednak kolejne lata pokazały, że *Varroa destructor* uodparnia się na środki chemiczne i konieczne jest rotacyjne ich stosowanie. Kolejny problem w pszczelarstwie zaczął się w pierwszej dekadzie XXI wieku, gdy rodziny pszczele na całym świecie zaczęły masowo zamierać [Floris i wsp. 2004; Topolska i wsp. 2010; Matheson i Reid 1992; Spleen i wsp. 2013; Vanengelsdorp 2007]. po raz pierwszy objawy tego zjawiska odnotowano w 2006 roku i nazwano je syndromem masowego ginięcia pszczoł (collony collapse disorder – CCD). Po kilku latach intensywnych badań wykazano, że CCD jest syndromem wieloczynnikowym, a inwazja *V. destructor* jest kluczowym czynnikiem nadmiernej śmiertelności rodzin pszczelich [Le Conte i wsp. 2015; Neumann i Carreck 2015; Vanengelsdorp i wsp. 2015; vanEngelsdorp i wsp. 2009].

Żerowanie pasożyta na larwach może prowadzić do różnych zaburzeń rozwojowych czerwiu - zniekształcenia ciała, deformacji skrzydeł i odnóży, zmniejszenia wymiarów ciała oraz skrócenie odwłoka i jęczyzka. Pasożytując, *V. destructor* wpływają negatywnie na skład hemolimfy, ciała białkowo-tłuszczowego i zdolności do jego regeneracji, zmniejsza się synteza lipidów oraz zaburza rozwój organów wewnętrznych. To z kolei ma negatywny wpływ na długość życia robotnic oraz zdolność ich do pracy [Garedew i wsp. 2004; Kralj i Fuchs 2006; Koch i Ritter 1991; Romero-Vera i Otero-Colina 2002; Bowen-Walker i Gunn 2001; Amdam i wsp. 2004; Schneider i Drescher 1987]. Nakłuwając powłoki ciała pszczoł i larw pasożyt tworzy ranki, które są wrotami zakażenia dla różnych patogenów, co prowadzi do infekcji bakteryjnych (np. *Paenibacillus larvae larvae*), wirusowych (wirus zdeformowanych skrzydeł) i grzybiczych (np. *Ascosphaera apis*) [Ball i Allen 1988; Gliński i Jarosz 1988; Gliński i Jarosz 1090; Pohl i Ritter 1997; Strick i Madel 1986; Martin i wsp. 1998; ; Martin 2001; Tentcheva i wsp. 2004; Carreck i wsp. 2010a; Carreck i wsp. 2010b; Martin i wsp. 2010]. Poprzez żerowanie (ślinę) roztocze hamuje system immunologiczny pszczoł, co obniża kondycję zdrowotną rodziny pszczelej [Yang i Cox-Foster 2005; Yang i Cox-Foster 2007]. Uszkodzone ciało białkowo-tłuszczowe pszczoł traci zdolności detoksykacyjne, co w efekcie zmniejsza ich tolerancję na pestycydy [Blanken i wsp. 2015; Wahl i Ulm 1983]. W związku z tym bez działań hamujących rozwój tego pasożyta, inwazja roztoczy *V. destructor* prowadzi do śmierci rodziny pszczelej w ciągu 3-4 lat [Fries i wsp. 1994; Shimanuki i wsp. 1994; Bąk i wsp. 2018].

Od kilkunastu lat obserwuje się zwiększenie zjadliwości *V. destructor* nie tylko w pasiekach polskich, ale także w wielu innych krajach [Grobělly 2013; Nowotnik 2019; Wilde 2015; Nazzi i Le Conte 2016]. W związku z tym niezbędne jest częste, systematyczne monitorowanie poziomu inwazji *V. destructor* w rodzinach pszczelich, aby jak najszybciej reagować na niebezpieczny wzrost populacji tego pasożyta, który może zagrażać życiu rodziny pszczelej. Obecnie pszczelarze mają kilka metod monitorowania stopnia inwazji tego pasożyta w rodzinach pszczelich.

Zgnilec amerykański jest chorobą bakteryjną czerwiu pszczelego (w Polsce zwalczaną z mocy prawa), a objawia się zamieraniem larw pod zasklepem i ich rozkładem gnilnym.

Rozwój tej choroby prowadzi do słabnięcia rodzin i w efekcie ich śmierci [Ebeling i wsp. 2016]. Choroba ta wywoływana jest przez bakterię *Paenibacillus larvae larvae* (White) [White 1906], która wytwarza endospory odporne na zewnętrzne czynniki środowiska, gdzie zachowuje swoje zdolności infekcyjne nawet przez 30 lat [Ebeling i wsp. 2016; Ashiralieva 2006]. Spory tej bakterii mogą być przenoszone przez pszczoły (zwłaszcza karmicielki), z pokarmem, woskiem i na sprzęcie pszczelarskim [Genersch 2010]. Badania monitoringowe skażenia miodu sporami *Paenibacillus larvae larvae* prowadzone w Polsce [Lipiński i wsp. 2007; Pohorecka i wsp. 2012] wykazały, że w większości pasiek znajdują się spory tej bakterii, a w niektórych rejonach ryzyko wystąpienia objawów zgnilca amerykańskiego jest wysokie (np. w województwie warmińsko-mazurskim obecność spor została potwierdzona niemal w 50% badanych pasiek, w tym w 20% wykazano wysoki stopień skażenia [Pohorecka i wsp. 2012]).

Zdrowa rodzina pszczela charakteryzuje się zapachem, na który wpływa wiele elementów składowych środowiska ula. Czerw pszczeli otwarty i kryty wydziela tzw. feromon czerwii, czyli zespół substancji zapachowych nielotnych, nietrwałych i szybko ulegających utlenieniu [Sagili i wsp. 2015]. Feromon czerwii może mieć różny skład i kombinację estrów, a od tego zależy, jaką pełni funkcję [Mohammedi i wsp. 1996; Mohammedi i wsp. 1998]. Dodatkowym komponentem zapachowym czerwii otwartego są odchody larw i mleczko pszczele [Bankova i wsp. 2000], którym karmione są larwy 1-3 dniowe [Isidorov i wsp. 2012], a czerwii krytego - zasklepy.

Zapach powietrza ulowego jest wzbogacony w substancje ulatniające się z wosku pszczelego [Tulloch 1980; Ferber i Nursten 1977], propolisu [Borčić i wsp. 1996; Melliou i Chinou 2004] oraz pokarmu składowanego w plastrach, szczególnie z nektaru [Starowicz i wsp. 2021]. Dlatego zapach zdrowej rodziny pszczelej zmienia się w zależności od ilości poszczególnych komponentów oraz od pory doby i sezonu (składu gatunkowego roślin pożytkowych).

Związki lotne zawarte w powietrzu ulowym można identyfikować różnymi metodami [Carroll i Duehl 2012], które jednak wymagają odpowiedniego zaplecza laboratoryjnego, są skomplikowane i dość drogie. Dlatego dobrym rozwiązaniem wydaje się użycie urządzeń wieloczujnikowych, które są systemami pomiarowymi opartymi na matrycy czujników zdolnych do identyfikacji złożonych zapachów [Gardner i Bartlett 1994]. Dużą popularność zdobyły półprzewodnikowe czujniki metalotlenkowe (MOS-metal-oxide-semiconductor), które działają poprzez reakcje utleniania redukcyjnego gazów zaadsorbowanych na warstwie sensorycznej [Zhang i wsp. 2017].

Wieloczujnikowa matryca półprzewodnikowych czujników gazów zwana elektronicznym nosem, wcześniej była wykorzystana do rozpoznawania chorób u ludzi [Ryabtsev i wsp. 1999], zwierząt [Romain i Nicolas 2010] i roślin [Ghaffari i wsp. 2010].

Problemem przy rozpoznawaniu roztocza *Varroa destructor* po zapachu jest jego mimikra zapachowa, gdyż pasożyt dostosowuje się zapachem do żywiciela, na którym się znajduje [Le Conte i wsp. 2015], do rodziny pszczelej [Kather i wsp. 2015], do gatunku pszczoły [Le Conte i wsp. 2015] również do zapachu kolejnych stadiów rozwoju czerwii [Martin i wsp. 2001], a nawet do martwego gospodarza [de Graaf i wsp. 2013]. To powoduje, że prawie niemożliwe jest bezpośrednie wykazanie obecności roztoczy w rodzinie pszczelej za pomocą półprzewodnikowych czujników gazowych. Wyjściem z sytuacji jest wykrywanie substancji zapachowych powstających w czerwii pszczelim zainfekowanym przez *V. destructor* [Martin i wsp. 2002] lub zmian w lotnej frakcji chemicznej czerwii zakażonego przez wirus zdeformowanych skrzydeł (deformed wing virus - DWV) [Schöning i wsp. 2012], który przenoszony jest przez *V. destructor*.

W przypadku zgnilca amerykańskiego pszczoł sprawa jest prostsza, gdyż rozkładający się w procesach gnilnych czerw wydziela specyficzny zapach, na który składa się mieszanina kwasów walerianowego, izokapronowego i kapronowego [Gochnauer i Shearer 1981]. Zapach ten jest na tyle intensywny i specyficzny, że wyczuwany jest przez ludzki nos [Lee i wsp. 2020], a urządzenia wieloczujnikowe są wysoce skuteczne w jego wykrywaniu [Moran i in. 2019].

Habilitantka w swoim osiągnięciu naukowym zajęła się testowaniem narzędzi, które poprzez rozpoznawanie sygnałów zapachowych płynących z chorych rodzin pozwoli pszczelarzom na szybką reakcję, a dzięki temu zapobiegnie stratom w pasiekach. Pani Doktor skupiła się na sygnałach zapachowych w postaci lotnych związków, które uwalniają chore pszczoły i czerw pszczeli.

Badania przeprowadziła w ramach projektu naukowego dofinansowanego ze środków NCBiR z Programu Strategicznego BIOSTRATEG III zatytułowanego „Opracowanie innowacyjnych, inteligentnych narzędzi monitorujących występowanie zgnilca złośliwego (amerykańskiego) oraz podwyższonego poziomu porażenia *Varroa destructor* w rodzinach pszczoły miodnej”. Projekt ten realizowany był przy współpracy z zespołem z Politechniki Wrocławskiej, a Habilitantka pełniła w nim funkcję kierownika zespołu z Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie oraz była wykonawcą.

Cel badań

Celem badań Habilitantki było określenie, czy możliwe jest rozpoznawanie warrozy i zgnilca amerykańskiego za pomocą systemu półprzewodnikowych czujników gazu.

Autorka postawiła też wiele pytań, które stanowią cele szczegółowe. Czy na podstawie badania próbek czerwiu pszczelego możliwe jest wykrycie warrozy za pomocą systemu półprzewodnikowych czujników gazu? Czy na podstawie próbki powietrza ulowego można w rodzinie pszczelej stwierdzać warrozę za pomocą systemu czujników półprzewodnikowych? Czy możliwe jest rozpoznawanie poziomu zainfekowania *V. destructor* w próbkach czerwiu krytego za pomocą systemu półprzewodnikowych czujników gazu? Stworzenie modelu pozwalającego na wyznaczenie poziomu zainfekowania rodziny pszczelej roztoczami *Varroa destructor* na podstawie reakcji matrycy czujników gazowych na powietrze pochodzące z gniazda pszczelego.

A także, czy możliwe jest wykrycie obecności *Paenibacillus larvae larvae* na podłożu MYPGP za pomocą matrycy czujników półprzewodnikowych? W jakim stadium wzrostu wykrywalne są kolonie tej bakterii w hodowli laboratoryjnej? Czy można skutecznie wykrywać zgnilca amerykańskiego w rodzinach pszczelich za pomocą systemu półprzewodnikowych czujników gazu? Które czujniki z zastosowanej matrycy są najbardziej efektywne dla określonych problemów badawczych? Które metody klasyfikacyjne najlepiej sprawdzają się w proponowanych szczegółowych celach badawczych? Jak kalibrować urządzenia bazujące na systemie czujników półprzewodnikowych służące do badania groźnych chorób pszczelich?

Omówienie cyklu publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Habilitantka wraz z zespołem w badaniach laboratoryjnych i terenowych wykorzystwała dwa urządzenia pomiarowe oparte na systemie 6 czujników półprzewodnikowych gazów firmy Figaro TGS 823, TGS 826, TGS 832, TGS 2600, TGS 2602, TGS 2603. Urządzenia zostały skonstruowane w Laboratorium Technik Sensorowych i Badań Jakości Powietrza Wewnętrznego Politechniki Wrocławskiej.

W publikacjach P1, P2 i P3 pomiary wykonywano za pomocą prototypowego urządzenia pomiarowego BEECOM, składającego się z komponentów MCA-8 (ośmiokanałowy rejestrator sygnałów czujnikowych zawierający matrycę 6-ciu czujników) i 4 sond MINS. W publikacji P4 pomiary wykonano za pomocą 3 egzemplarzy komercyjnej wersji urządzenia pomiarowego BEESENSOR V.2. Kolejnym egzemplarzom tego urządzenia przypisano nazwy: BEECOM 1, BEECOM 2, BEECOM 3 (również posiadały 8 kanałów wlotowych i 1 wylotowy oraz 6 czujników półprzewodnikowych, ale bez sond MINS).

Wszystkie pomiary, badania, interpretacje wyników oraz ich opracowania statystyczne były wykonane prawidłowo, zgodnie z przyjętą metodyką, częściowo opracowaną przez inne zespoły badawcze [Romain i Nicolas 2010; Laref i wsp. 2017; Ahmadou i wsp. 2017], a częściowo opartą na własnych założeniach wynikających z własnych doświadczeń badawczych zespołu.

Obydwie wersje urządzeń (prototypowa i komercyjna) posiadały możliwość zapisu danych na nośnikach przenośnych, a także za pośrednictwem modułu Wi-Fi na serwerze. W wersji komercyjnej umożliwiono również zapis danych w pamięci wewnętrznej urządzenia.

Publikacja 1 (P1)

Bąk B., Wilk J., Artiemjew P., Wilde J., Siuda M. 2020. Diagnosis of varroosis based on bee brood samples testing with use of semiconductor gas sensors. *Sensors*, 20, 4014.

W pracy P1 Habilitantka wraz z zespołem sprawdziła, czy system oparty na matrycy 6 półprzewodnikowych czujników gazu może wykazać zarażenie *Varroa destructor* na podstawie pomiarów krytego czerwiu pszczelego. Zespół podjął się także sformułowania odpowiedzi na pytanie, które czujniki są najbardziej efektywne w tym zakresie. Sprawdzone, czy system jest w stanie rozróżnić stopień nasilenia tej groźnej choroby pszczoł.

W związku z tym, że roztocza *V. destructor* charakteryzują się mimikrą zapachową, Habilitantka wraz z zespołem wykorzystwała zapach zainfekowanego czerwiu pszczelego. Badania wykonane zostały zgodnie z przyjętą metodyką - próbki czerwiu krytego pozyskane były z pasieki liczącej 19 rodzin pszczelech, z których 5 było zdrowych, a pozostałe charakteryzowały się różnym poziomem zainfekowania *V. destructor* (od 8,8% do 61,7%). Badanie poziomu inwazji pasożytami próbek czerwiu metodą wyplukiwania (flotacji) przeprowadzono po ich przebadaniu za pomocą urządzenia multisensorycznego [Fries i wsp. 1991; Dietemann i wsp. 2013].

W ramach badania wykonano 42 pomiary próbek gazu, które zostały podzielone na 3 klasy:

1. klasa 1 – komora pusta - 13 próbek,
2. klasa 2 – wycinki plastrów z czerwiem pszczelim zainfekowanym *V. destructor* (średni poziom zakażenia wynosił 26,8% - 19 próbek),
 - klasa 2.1 – czerw pszczeli zainfekowany *V. destructor* na poziomie od 8% do 25% (średni poziom zainfekowania wynosił 14,7 % - 7 próbek),
 - klasa 2.2 – czerw pszczeli zainfekowany *V. destructor* na poziomie powyżej 25% (średni poziom zakażenia wynosił 33,9% - 12 próbek),
3. klasa 3 – wycinki plastrów ze zdrowym czerwiem krytym - 10 próbek.

Habilitantka wraz z zespołem przeanalizowała dane dla pojedynczych czujników. Wykazała, że stabilizują się one na pewnym stałym poziomie, odpowiednio: po 250 s dla fazy ekspozycji i po 350 s dla fazy czyszczenia, co wskazuje, że czas trwania badania pojedynczej próbki można skrócić do 10 min. Analizie poddano wartości z 270 s odczytu czujnika z pomiaru próbki z różnicową korektą linii bazowej. Oceniono efektywność separacji klas oraz przeprowadzono pięciokrotny test walidacji krzyżowej 2 (5xCV2) z domyślnymi ustawieniami w narzędziu RSES (Rough set exploration system). Wykonano też testy w 5-krotnej próbie krzyżowej walidacji Monte Carlo (5xMCCV5) z wykorzystaniem zestawu dodatkowych klasyfikatorów. W części eksperymentalnej przeprowadzono test t-studenta.

Analiza średniego odczytu każdego czujnika dla danej klasy oraz wizualizacje 2D i 3D wykazała, że najlepszą separowalność klas dawały czujniki TGS826, TGS2602 oraz TGS2603. Tym samym Habilitantka wykazała, że urządzenie jest w stanie rozróżnić obiekty należące do różnych klas, a szczególnie efektywne w tym zakresie okazały się wskazane czujniki.

W pracy przedstawiono nowatorską metodę monitorowania stopnia zainfekowania rodziny pszczelej pasożytem *Varroa destructor* na podstawie badań zapachu próbek czerwiu krytego. W odróżnieniu od metody flotacji, nowatorska metoda nie wymaga otwarcia komórek z czerwem i nie powoduje jego śmierci, a po przeprowadzeniu badania czerw może wrócić do rodziny i zostać odchowany.

Matryca sześciu czujników zastosowana w urządzeniu prototypowym skutecznie rozpoznawała czerw pszczelej zainfekowany *V. destructor*. Trafność w tę klasę wyniosła 0,92, przy bardzo wysokiej dokładności zrównoważonej powyżej 0,8. Na podstawie uzyskanych wyników Habilitantka wraz z zespołem stwierdziła, że do odróżniania czerwiu zarażonego *V. destructor* od zdrowego, wystarczająca była matryca składająca się z trzech czujników: TGS 826, TGS 2602, TGS 2603. Natomiast wersja ekonomiczna tego urządzenia mogłaby być oparta na jednym czujniku TGS 2603. Badania Habilitantki i zespołu wykazały, że próbki czerwiu mogą być z powodzeniem klasyfikowane w zależności od poziomu inwazji *V. destructor* z wykorzystaniem urządzenia zwanego „elektroniczny nos”.

Publikacja 2 (P2)

Szczurek A., Maciejewska M., Bąk B., Wilk J., Wilde J., Siuda M. 2020. Detecting varroosis using a gas sensor system as a way to face the environmental threat. *Science of the Total Environment*, 722.

Badania do tej publikacji Habilitantka wraz z zespołem przeprowadziła w warunkach terenowych w pasiece, z wykorzystaniem 18 rodzin pszczelich znajdujących się na jednym pasieczysku. Połowę rodzin przebadano prototypową wersją urządzenia BEECOM 1 (grupa A), a drugą połowę urządzeniem BEECOM 2 (grupa B). Badane rodziny pszczele nie były standaryzowane, różniły się siłą, ilością czerwiu i pokarmu, a przede wszystkim poziomem zainfekowania *V. destructor*. Znajdowały się w dwukorpusowych ulach styropianowych Ostrowskiej. Punkt pomiarowy, w którym umieszczono końcówkę sondy pomiarowej znajdował się między dwoma korpusami nad plastrami z czerwem krytym. Każde urządzenie wykonywało pomiary w 3-ech rodzinach naprzemiennie przez tydzień. Następnie było przyłączone do kolejnych trzech rodzin, a po tygodniu do ostatnich trzech rodzin. Pomiary były prowadzone w sumie przez 21 dni 24 h/dobę. Ze względu na różne uwarunkowania (przrządowe oraz klimatyczne) nie wszystkie pomiary dały pełen zestaw danych. W związku z tym, wadliwe pomiary odrzucono z analiz statystycznych.

Na podstawie wyników badań Habilitantka wraz z zespołem wykazała, że zbiór sygnałów zapachowych z pojedynczego czujnika, zarejestrowanych podczas wielokrotnych pomiarów jednej rodziny był bardzo zmienny. W zależności od rodziny pszczelej i czujnika obserwowano różny zakres rozrzutu sygnałów, który wzrastał wraz z czasem pomiaru, a po minucie stabilizował się.

Dane statystycznie zespół przebadał za pomocą regresji PLS (Partial Least Squares), czyli wielowariantowej metody analizy danych ilościowych [Naes i wsp. 2017; Mutihac i Mutihac 2008]. Jako dane wejściowe do modelu Habilitantka wraz z zespołem wykorzystwała odpowiedzi czujników gazu uzyskane podczas pierwszej minuty ekspozycji na powietrze z ula. A wyjściem modelu był poziom zainfekowania rodzin pszczelich *V. destructor*. Wydajność modeli regresji PLS autorzy zbadali na dwa sposoby: wariant 1 - z wykorzystaniem wszystkich ważnych danych pomiarowych do opracowania i testowania modelu, a wariant 2 - wykorzystanie 70% wszystkich ważnych danych pomiarowych do opracowania modelu, a pozostałe 30% danych przeznaczono do testowania modelu. Zespół badawczy wykazał, że jakość badanych modeli była bardzo wysoka i porównywalna. Współczynnik determinacji wynosił $R_2=0,9987$ w przypadku modelu regresji PLS opracowanego dla rodzin pszczelich z

grupy A i $R_2=0,9999$ w przypadku rodzin pszczelich z grupy B dla wariantu 1. Jakość wykrywania zainfekowania *V. destructor* była lepsza w grupie B, gdzie błąd średniokwadratowy RMSE był niemalże 10-krotnie niższy niż w grupie A i wynosił 0,02%. Natomiast w wariancie 2 współczynnik determinacji wyniósł $R_2=0,9967$ w przypadku modelu regresji PLS w grupie A i $R_2=0,9990$ w przypadku grupy B. Na podstawie tego wskaźnika, jakość tych dwóch modeli była porównywalna. Błędy przewidywań poziomu zainfekowania pszczół *V. destructor* wynosiły $RMSE=0,40\%$ dla rodzin pszczelich z grupy A oraz $RMSE=0,06\%$ dla rodzin grupy B. W związku z tym, przewidywanie poziomu zainfekowania *V. destructor* w rodzinach pszczelich grupy A było obciążone większym błędem w porównaniu z grupą B, podobnie jak w wariancie 1. Okazało się także, że wariant 1 jest korzystniejszy w określeniu poszczególnych poziomów zainfekowania rodziny pszczelej *V. destructor*.

Habilitantka wraz z zespołem wykazała, że pojedynczy model regresji PLS (Partial Least Squares) był w stanie skutecznie reprezentować zmienność poziomu zainfekowania rodziny pszczelej *V. destructor* w zakresie od 0% do 24,76%, a na jego zmienność wpływała charakterystyka rodzin pszczelich, liczba pomiarów, warunki klimatyczne oraz pora dnia. Te uwarunkowania znajdują odzwierciedlenie w odpowiedziach półprzewodnikowych czujników gazu [Szczurek i wsp. 2019; Szczurek i wsp. 2019; Szczurek i wsp. 2020]. Autorzy zaobserwowali, że aby uzyskać wiarygodne dane konieczne jest wykonanie pomiarów w wielu rodzinach pszczelich, o tym samym poziomie zainfekowania *V. destructor* lub wykonanie wielu pomiarów w jednej rodzinie w celu doskonalenia właściwości generalizacyjnych modelu.

Habilitantka wraz z zespołem w pracy tej zaprezentowała nowatorską metodę określania poziomu zainfekowania rodzin pszczelich pasożytem *V. destructor* w warunkach terenowych. Metoda ta została oparta na wykorzystaniu czujników gazowych do badania próbki powietrza ulowego oraz regresji PLS. Wykazała, że warroza i poziom jej nasilenia mogą być efektywnie monitorowane za pomocą półprzewodnikowych czujników gazu. Jakość proponowanego modelu była wysoka, o czym świadczy współczynnik determinacji $R_2>0,99$. Również dokładność predykcji poziomu zakażenia pasożytem w rodzinach pszczelich była bardzo zadowalająca, gdyż błąd średniokwadratowy RMSE wynosił poniżej 0,5%.

Wyniki zaprezentowane w publikacji 2 są bardzo interesujące i istnieje duża szansa, że przyczynią się do wdrożenia do praktyki pszczelarskiej nowej metody wykrywania inwazji *V. destructor* oraz jej poziomu w rodzinach pszczelich. Badania są tym cenniejsze, że zostały przeprowadzone w pasiece, w warunkach terenowych, które są bardzo zmienne. Mimo to, Habilitantce wraz z zespołem udało się uzyskać zadowalające wyniki posiadające wartość utylitarną.

Publikacja 3 (P3)

Bąk B.; Wilk J. Artiemjew P. Wilde J. 2021. Recording the presence of *Paenibacillus larvae larvae* colonies on MYPGP substrates using a multi-sensor array based on solid-state gas sensors. *Sensors*, 21, 4917.

Jak wiadomo, czerw pszczeli porażony przez *Paenibacillus larvae larvae* w trakcie rozkładu gnilnego wydziela specyficzny zapach. W pracy 3 Habilitantka wraz z zespołem skupiła się na sprawdzeniu, czy żywe kolonie bakterii *Paenibacillus larvae larvae* można wykryć urządzeniem z system czujników półprzewodnikowych. W tym celu zespół przeprowadził badania laboratoryjne, w których na 64 płytkach Petriego z podłożem MYPGP wyhodowano *P. l. larvae* ATCC 9545, szczep ERIC I. Zgodnie z założeniami metodyki, inkubacja przebiegała w temperaturze 37°C. Umieszczenie płytek w cieplarni określono jako dzień 0, a począwszy od dnia następnego (czyli pierwszego dnia eksperymentu), trzy lub cztery płytki były codziennie wybierane z inkubatora i poddawane badaniu przez dziesięć dni. Kolonie bakterii badano w dwóch komorach badawczych wyłożonych wkładką

styropianową lub drewnianą za pomocą dwóch egzemplarzy urządzenia MCA-8: M1(BEECOM 1) i M2(BEECOM2). W trzecim dniu inkubacji pojawiły się żywe kolonie bakterii widoczne „gołym okiem”. Identyfikację materiału mikrobiologicznego uzyskanego podczas hodowli przeprowadzono metodą MALDI-TOFMS [Schäfer i wsp. 2014], która potwierdziła identyczność z posianym materiałem.

Próbki gazu Habilitantka wraz z zespołem pobierała z pożywki z kulturą 1- i 2-dniowych kolonii (określone jako klasa 23) oraz z widocznymi koloniami bakterii obejmujące hodowle 2-10-dniowe (kultury starsze niż 2 dni określono jako klasa 24). Jako kontrolę wykorzystano powietrze z pustej komory badawczej (klasa 1).

Na podstawie wizualizacji średnich surowych odczytów czujników Habilitantka wykazała, że klasy się wyraźnie separują. Stwierdziła również, że odczyty z dwóch egzemplarzy nie pokrywają się, gdyż wystąpił efekt dryfu czujnika [Göpel i Hesse 1991], co powoduje, że każdy egzemplarz urządzenia wymaga indywidualnego podejścia do kalibracji, na przykład poprzez zastosowanie odpowiedniego algorytmu [Haugen i wsp. 200]. Obrazy odczytów matrycy czujników uzyskanych dla komory drewnianej i styropianowej były wizualnie podobne.

Wyniki, jakie uzyskała Habilitantka wraz z zespołem wykazały, że urządzenie M1 w drewnianej komorze nie wykryło niewidocznych kultur bakterii na pożywce MYPGP, a w komorze styropianowej poziom wykrywalności był bardzo niski. Z kolei urządzenie to było doskonałe w wykrywaniu widocznych kolonii *P. l. larvae* na podłożu MYPGP - w komorze drewnianej skuteczność wynosiła 81%, a w komorze styropianowej 85%. Urządzenie M2 było dokładniejsze, gdyż wykrywalność podłożu MYPGP bez wyrosniętych kolonii bakterii w komorze drewnianej wynosiła 66%, a w styropianowej 70%. Widoczne kolonie bakterii *P. l. larvae* w obu komorach były rozpoznane przez to urządzenie ze skutecznością 88%.

Obydwa urządzenia M1 i M2 rozróżniały pustą komorę od pozostałych obiektów z dokładnością od 85% do 100%. Klasy 23 i 24 w zestawieniu z pustą komorą również były wysoko rozróżnialne na poziomie powyżej 85%, a w komorze styropianowej niejednokrotnie zespół uzyskiwał wynik 100%.

Przedstawiony przez Habilitantkę (wraz z zespołem) w publikacji 3 eksperyment przeprowadzony w warunkach laboratoryjnych zakończył się satysfakcjonującymi rezultatami. Kolonie *P. l. larvae* na podłożu MYPGP mogą być wykrywane przez matrycę 6-czujnikową ze średnią dokładnością na poziomie ponad 97%. Jest to znaczące osiągnięcie, które otwiera możliwości zastosowania tego urządzenia do wykrywania nawet początkowych stadiów rozwoju zgnilca złośliwego w rodzinach pszczelich w warunkach terenowych.

Publikacja 4 (P4)

Bąk B., Szkoła J., Wilk J., Artiemjew P., Wilde J. 2022. In-Field Detection of American Foulbrood (AFB) by Electric Nose Using Classical Classification Techniques and Sequential Neural Networks. *Sensors*: 22, 1148.

Jak wykazała Habilitantka w publikacji 3 skuteczność wykrywania bakterii *Paenibacillus larvae larvae* za pomocą czujników półprzewodnikowych w warunkach laboratoryjnych była wysoka, dlatego wraz z zespołem postanowiła sprawdzić przydatność tego urządzenia w wykrywaniu zgnilca amerykańskiego w warunkach terenowych (P4). Badania zostały przeprowadzone za zgodą właściwego powiatowego lekarza weterynarii, w pasiece, w której wystąpiły objawy tej choroby. Pasieka liczyła 18 rodzin pszczelich, z których utworzono dwie klasy rodzin:

- klasa 0 - rodziny chore na zgnilca amerykańskiego (stwierdzono objawy kliniczne, chorobę potwierdzono za pomocą laboratoryjnych badań urzędowych) – 9 rodzin

- klasa 1 – rodziny zdrowe – brak objawów klinicznych zgnilca amerykańskiego - 9 rodzin.

Zgodnie z przyjętą metodyką, rodziny pszczoły utrzymywane były w ulach warszawskich poszerzanych wykonanych z drewniana. W każdym ulu w środku gniazda pszczelego między plastrami z czerwem krytym określono punkt pomiarowy. W badaniach zespół wykorzystał trzy urządzenia do detekcji zapachów: Beecom 1, Beecom 2, Beecom 3. Każde z urządzeń stosowane było do badania po kolei naprzemiennie raz rodzinę zdrową, a raz chorą. W ten sposób każdy egzemplarz urządzenia zastosowany był do badania wszystkich rodzin. Wszystkie egzemplarze urządzenia wykonywały pomiary w tym samym czasie w różnych rodzinach. Pomiary wykonano we wrześniu 2020 r. w woj. warmińsko-mazurskim. Habilitantka wraz z zespołem stwierdziła, że aby rozpoznać rodziny pszczoły chore na zgnilca amerykańskiego, próbki gazu powinny być pobierane przez co najmniej pół godziny, gdyż warunki terenowe są niestabilne, w przeciwieństwie do laboratoryjnych [Bąk i wsp. 2020; Bąk i wsp. 2021; Wilk i wsp. 2020].

W związku z tym, że odczyty poszczególnych czujników z każdego urządzenia różniły się między sobą (wynik dryfu czujnika) [Göpel i Hesse 1991] oraz wysoką zmiennością składu powietrza ulowego, Habilitantka z zespołem musieli rozwiązać problem, w jaki sposób kalibrować urządzenia oparte na czujnikach półprzewodnikowych służące do badania rodzin pszczelich. Rozwiązaniem okazało się indywidualne podejście do każdego zestawu czujników oraz dobranie odpowiedniego klasyfikatora, tj. algorytmu uczącego się, który można „wytrenować” dla określonego problemu badawczego [Haugen i wsp. 2000]. Okazało się, że każde urządzenie można „wyczerpać” rozpoznawania choroby w ulu - im więcej danych wprowadza się do urządzenia z rodzin chorych i zdrowych, tym dokładniej urządzenie będzie rozpoznawało chorobę.

Badania zostały zrealizowane w okresie jesiennym, przy temperaturze ok. 13°C, aby wyeliminować szereg innych bodźców zapachowych (nektaru, pyłku kwiatowego, rójki, kwitnących w pasiece roślin) które mogłyby zafałszować wyniki pomiarów. Zredukowano również możliwość wywołania rabunku w pasiece, który mógłby przyczynić się do przeniesienia zgnilca amerykańskiego z rodzin chorych do zdrowych. Rezultaty badań okazały się bardzo satysfakcjonujące, gdyż sekwencyjna sieć neuronowa dała wyniki klasyfikacji na poziomie 73%.

Badania diagnostyczne zgnilca amerykańskiego w warunkach polowych nie były do tej pory prowadzone. W związku z tym, podejście Habilitantki i zespołu do problematyki diagnozowania zgnilca amerykańskiego w rodzinach pszczelich w warunkach terenowych jest całkowicie innowacyjne, a uzyskane wyniki zadawalające. Dlatego należy uznać je za przełomowe w diagnozowaniu zgnilca złośliwego. Ich dodatkową wartością jest to, że mają aspekt praktyczny. Istnieje szansa na wykorzystanie tej metody diagnostycznej w praktyce pszczelarskiej. Umożliwi to pszczelarzom szybkie wykrywanie zgnilca amerykańskiego, a tym samym zapobiegnie rozprzestrzenianiu się tej niebezpiecznej choroby w terenie. Tym samym, badania Habilitantki i zespołu mogą przyczynić się do znacznego zmniejszenia się rozprzestrzeniania tej choroby, a tym samym zredukowania ubytków rodzin pszczelich.

Podsumowanie i wnioski

Do najważniejszych osiągnięć naukowych badań Habilitantki ujętych w omawianym cyklu publikacji należy zaliczyć udowodnienie, że:

- na podstawie badania powietrza ulowego pochodzącego z centralnej części gniazda pszczelego, wykorzystując urządzenia z systemem czujników półprzewodnikowych, można wykrywać inwazję *Varroa destructor* i klasyfikować próbki czerwii krytego w zależności od poziomu zainfekowania *V. destructor*,

- pojedynczy model regresji PLS jest wystarczający do reprezentowania poziomu zainfekowania rodzin pszczelich z zakresu porażenia *V. destructor* od 0% do 25%,
- możliwe jest wykrycie dwudniowych kolonii *Paenibacillus larvae larvae* na podłożu MYPGP za pomocą matrycy półprzewodnikowych czujników gazu,
- zgnilec amerykański w rodzinach pszczelich jest skutecznie wykrywany za pomocą matrycy czujników półprzewodnikowych,
- czujniki TGS823, TGS826 , TGS2602 oraz TGS2603 są najbardziej reaktywne w stosunku do gazów badanych podczas przeprowadzonych eksperymentów,
- zastosowanie algorytmów uczących się i „trenowanie” urządzeń do danego problemu badawczego jest najlepszą metodą kalibracji urządzeń opartych na matrycy czujników półprzewodnikowych służących do rozpoznawania chorób w rodzinach pszczelich,
- możliwe jest wyznaczenie najskuteczniejszych metod klasyfikacyjnych niezbędnych w monitorowaniu warrozy i zgnilca europejskiego pszczół za pomocą systemu czujników półprzewodnikowych.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej

Zgodnie z obowiązującymi przepisami, ocena aktywności naukowej kandydatki dotyczy publikacji po wyłączeniu prac wchodzących do cyklu jako osiągnięcia naukowe, które w sumie posiadają 500 pkt. MEiN oraz IF=17,821. Dr Beata Bąk opublikowała łącznie 31 oryginalnych prac twórczych (po wyłączeniu 4-ech stanowiących osiągnięcia naukowe), których sumaryczny IF= 57,450. Indeks Hirscha według bazy Web of Science wynosi 9, natomiast sumaryczna liczba cytowań wg Web of Science – 152, w tym 14 autocytowań.

Dodatkowo aktywność naukową i popularyzatorską Habilitantki można pozytywnie ocenić na podstawie 9 referatów zaprezentowanych na konferencjach i kongresach zagranicznych, 49 doniesień na seminariach i konferencjach krajowych, 15 artykułów przeglądowych zamieszczonych w czasopismach i materiałach konferencyjnych oraz 16 artykułów popularnonaukowych.

Główny dorobek naukowy Habilitantki wpisuje się w cztery grupy tematyczne:

1. Wpływ pestycydów neonikotynoidowych, a szczególnie imidaklopridu, na pszczołę miodną (głównie fizjologię i wskaźniki biochemiczne hemolimfy), jako jednego z czynników powodujących CCD.
2. Przebieg inwazji *V. destructor* i jej wpływ na rodzinę pszczelą oraz pojedyncze osobniki pszczele (robotnice, trutnie, matka).
3. Ekspresja genów kluczowych enzymów metabolicznych a metabolizmem trehalozy i glikogenu podczas rozwoju robotnicy i tuż po jej wygryzieniu z komórki plastra.
4. Wykorzystanie urządzeń skonstruowanych na bazie półprzewodnikowych czujników gazu do detekcji zmian zachodzących w rodzinie pszczelej.

Swoją wiedzę i umiejętności Habilitantka doskonaliła w trakcie stażu naukowego (10 dni) w Greckim Instytucie Pszczelarskim (Hellenic Institute of Apiculture) w Instytucie Nauk o Zwierzętach (Grecja), a także poprzez współpracę z Katedrą Biologii na Wydziale Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie oraz z Zakładem Badania Bezpieczeństwa Żywności Instytutu Ogrodnictwa - Państwowego Instytutu Badawczego w Skierniewicach.

Ad 1. Wiele miejsca w swoim dorobku naukowym Habilitantka poświęciła badaniom ewentualnych czynników powodujących zespół masowego giniecia pszczół (CCD), który stał

się wyzwaniem dla świata naukowego na przełomie XX i XXI wieku i jest ciągle aktualny. Za jedną z przyczyn masowego ginięcia rodzin pszczelich uznano pestycydy stosowane w rolnictwie, zwłaszcza z grupy neonikotynoidów, do których zalicza się posiadający złą sławę imidaklopid (IMD). Jako agonista nikotynowego receptora acetylocholino zaburza on pracę układu nerwowego owadów, w tym pszczół, przez co wpływa negatywnie na ich zachowanie, czyniąc je niezdolnymi do pracy na roślinach.

To skłoniło Habilitantkę do podjęcia badań, których celem było sprawdzenie, jak subletalne dawki imidaklopidu wpływają na zawartość białka i aktywność proteaz u pszczoły miodnej. Efektem tych badań była 1 publikacja oryginalna i 1 doniesienie konferencyjne. Była to pierwsza praca przedstawiająca profil aktywności proteolitycznej wraz z profilem białkowym. Badania miały charakter terenowy i autorzy udowodnili w nich, że już 3-tygodniowa ekspozycja rodzin pszczelich na subletalne dawki imidaklopidu może znacząco zmniejszyć ilość białka w organizmach pszczół. Dawka imidaklopidu ma istotnie niekorzystny wpływ na aktywność proteolityczną u pszczół, przy czym czas ekspozycji nie ma znaczenia. Dzięki wynikom tych badań Habilitantka wraz z zespołem dotknęli innego problemu, czyli jak zmniejszona synteza i aktywności białek wpływa na funkcjonowanie pszczoły miodnej i rozwój rodzin pszczelich. Zasugerowali, że może to negatywnie wpływać na aktywność gruczołów gardzielowych robotnic. Tym bardziej, że inni badacze wykazali, że imidaklopid powodował zmniejszenie wielkości płatów gruczołów gardzielowych.

Osiągnięciem tych badań było lepsze poznanie zmian fizjologicznych u pszczoły miodnej zachodzących pod wpływem insektycydów neonikotynoidowych. To w znacznej mierze może przybliżyć nas do poznania przyczyn masowego zamierania rodzin pszczelich.

Współpraca Habilitantki z Katedrą Zoologii i Ekologii Zwierząt (Wydział Biologii Środowiskowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie) oraz z Katedrą Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej (Wydział Biologii Środowiskowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie) zaowocowała badaniami nad wpływem imidaklopidu na system proteolityczny hemolimfy i kutikuli, na globalną metylację DNA oraz na biomarkery: ALT, AST, ALP. Efektem tej współpracy była 1 oryginalna praca twórcza i 1 doniesienie konferencyjne.

Podobnie, jak w poprzednim eksperymencie Habilitantka wraz z zespołem stwierdziła obniżenie aktywności większości proteaz hemolimfy robotnic narażonych na imidaklopid. Pod wpływem imidaklopidu mogła zostać upośledzona efektywna proteoliza toksycznych peptydów powstających podczas aktywności antyoksydacyjnej. Wykazała, że zjawisko to jest szczególnie niebezpieczne dla zbieraczek pracujących na terenach objętych intensywnym rolnictwem. Natomiast inhibitory proteaz hemolimfy u robotnic wykazywały zwiększoną aktywność. W efekcie takich działań dochodzi do zaburzenia równowagi między proteazami, a ich inhibitorami. Habilitantka zasugerowała, że może to być pewien rodzaj mechanizmu obronnego organizmu pszczoły przed negatywnym oddziaływaniem imidaklopidu.

Podobnie zespół wykazał, że pod wpływem imidaklopidu zaburzeniu uległa aktywność proteaz kutikuli u robotnic i trutni w zależności od dawki, kasty i wieku. U matek pszczelich aktywność enzymów zmalała, a inhibitory proteaz naskórka prawie wszystkie uległy dezaktywacji. Wykazano, że imidaklopid może upośledzać obronę kutikuli, szczególnie u matek.

Aktywność proteaz i ich inhibitorów hemolimfy i kutikuli pod wpływem imidaklopidu różniła się pomiędzy kastami, szczególnie między matkami pszczelimi i robotnicami, co najprawdopodobniej jest efektem tego, że matka karmiona jest pokarmem przetworzonym przez robotnice i nie ma bezpośredniego kontaktu ze środowiskiem zewnętrznym. Badania Habilitantki udowodniły, że kontakt pszczoły z pestycydami upośledza system ochronny w postaci proteaz kutikuli i ich inhibitorów, co z kolei ułatwia infekcje różnymi patogenami.

W eksperymencie tym nie doszło do depopulacji doświadczalnych rodzin pszczelich, dlatego badacze stwierdzili, że podprogowe dawki imidaklopidu nie powodują szybkiej

śmierci rodziny pszczelej. Wywołują zmiany na poziomie biochemicznym, co sprawia, że organizm jest potencjalnie bardziej wrażliwy na patogeny oraz stresy ksenobiotyczne, co w dłuższej perspektywie prowadzi do śmierci całej rodziny pszczelej.

Wydaje się, że badania Habilitantki realizowane wraz z zespołami z innych jednostek naukowych w Polsce oraz badaczy za granicą przyczyniły się do wycofania imidaklopridu ze stosowania jako środka ochrony roślin. W ten sposób Habilitantka „w jakiejś części” przyczyniła się do ochrony pszczół przed jednym z czynników mogących wywoływać zespół masowego ginięcia pszczół.

Chęć dalszego poznania wpływu imidaklopridu na pszczołę miodną zaowocowała współpracą Habilitantki z zespołem Zakładu Biologii i Gamet Zarodka, Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności, Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie. Celem badań było rozpoznanie, w jaki sposób ten pestycyd wpływa na zdolności antyoksydacyjne robotnic. Zdolności te Habilitantka wraz z zespołem oznaczała za pomocą pomiaru całkowitego potencjału antyoksydacyjnego (TAC) w hemolimfie, co było zupełnie nowatorską metodą, gdyż do tej pory TAC był oznaczany tylko w homogenacie ciała robotnic (w hemolimfie oznaczano jedynie aktywność pojedynczych enzymów antyoksydacyjnych). Badano hemolimfę pszczół 1-dniowych i 30-dniowych z 3-ech grup rodzin pszczelich: I. rodziny karmione syropem cukrowym i pyłkiem kwiatowym bez pestycydu, II. pokarm z 5 ppb imidaklopridu i III. - pokarm z 200 ppb imidaklopridu. Wyniki uzyskane przez Habilitantkę wraz z zespołem wskazały, że starsze pszczoły z wyższą ochroną antyoksydacyjną są mniej podatne na toksyczność IMD, a także, że imidakloprid może być metabolizowany w organizmie pszczoły miodnej do pochodnych, czyli 5-hydroksy-imidakloprydu i olefiny. Również poziom białka okazał się wyższy u robotnic starszych, co było zgodne z wynikami uzyskanymi przez innych badaczy.

Wspólnie z zespołem Zakładu Biologii i Gamet Zarodka Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie Habilitantka po raz pierwszy wykonała pomiary TAC w osoczu plazmy nasiennej 15-dniowych trutni narażonych na działanie imidaklopridu. Wyniki badań wykazały niższe stężenia TAC w plazmie nasienia niż w hemolimfie robotnic, co może wskazywać, że TAC w hemolimfie pszczoły miodnej może składać się z wyższych stężeń nieenzymatyczne antyoksydantów niż w osoczu plazmy. Wyniki powyższych badań zaowocowały 1 publikacją oryginalną w czasopiśmie *Apidologie* oraz 1 prezentacją na konferencji pszczelarskiej.

W dalszych badaniach, wspólnie prowadzonych z Zakładem Biologii i Gamet Zarodka Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie, Habilitantka zajęła się wpływem ekspozycji rodzin pszczelich na imidakloprid na jakość nasienia trutni. Metodyka zakładała grupy eksperymentalne, jak w poprzednich badaniach, tylko materiałem doświadczalnym nie były robotnice tylko trutnie. Po wygryzieniu trutnie zostały oznakowane i przetrzymywane w rodzinach, w których przebiegał ich rozwój. Nasienie pobierano w 15-tym dniu życia trutnia. Badaniom podlegało kilka parametrów charakteryzujących jakość plemników, tj. koncentrację, ruchliwość, żywotność plemników oraz potencjał mitochondrialny (MMP). Badania nie wykazały istotnego wpływu stężenia imidaklopridu na koncentrację plemników w nasieniu. Natomiast ruchliwość plemników była istotnie niższa w grupie otrzymującej pokarm z 200 ppb imidaklopridu w porównaniu z grupą kontrolną. Habilitantka wraz z zespołem wykazała, że wystąpiła istotna interakcja pomiędzy koncentracją imidaklopridu a efektem rodziny pszczelej. Wykazała również wpływ poziomu imidaklopridu na żywotność plemników w nasieniu trutni – z tym, że u trutni z jednych rodzin zanotowano spadek żywotności plemników, a z innych wzrost tego parametru w zależności od stężenia imidaklopridu. Stwierdziła też istotną interakcję między stężeniem imidaklopridu a efektem rodziny pszczelej.

Nowatorską częścią tych badań były pomiary potencjału błonowego mitochondriów plemników trutni, które Habilitantka wraz z zespołem wykonała po raz pierwszy. Parametr ten

pozwała dokładnie ocenić funkcję mitochondriów, które są odpowiedzialne za produkcję energii podczas ruchu plemników. Badania wykazały, że koncentracja imidaklopridu wpływa istotnie na potencjał mitochondrialny plemników. Zespół wykazał też istotną korelację między stężeniem imidaklopridu a efektem rodziny pszczołej. Habilitantka stwierdziła także, że efekt toksyczny imidaklopridu na nasienie trutnia zależy też od wrażliwości rodziny pszczołej na ekspozycję na imidakloprid. Jest to dość optymistyczne, gdyż matka pszczoła kopuluje z wieloma trutniami, które najczęściej pochodzą z różnych rodzin pszczelich i różnych pasiek. Dlatego autorzy nie przewidują niekorzystnego wpływu imidaklopridu na proces unasieniania się matek pszczelich i rozwoju rodzin pszczelich, w których te matki będą czerwiły. Jednak nie zmienia to powyższych ustaleń, że narażenie rodziny pszczołej na działanie neonikotynoidów może zaburzać potencjał reprodukcyjny pojedynczych trutni. Rezultaty powyższych badań zostały przedstawione w 1 oryginalnej pracy naukowej.

Ad 2. Przedmiotem badań naukowych Habilitantki był także przebieg infekcji *V. destructor* i jej wpływ na rodzinę pszczołą oraz pojedyncze osobniki. Badania z tej grupy tematyczne Pani Doktor również realizowała wraz z zespołem z Zakładu Biologii i Gamet Zarodka Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie. Wynikiem tej współpracy były badania, których celem było sprawdzenie, jakie zmiany zachodzą w proteomie hemolimfy młodych robotnic rozwijających się w towarzystwie pasożytów.

W celu realizacji eksperymentu Habilitantka wraz z zespołem stworzyła trzy grupy: hemolimfa pszczoł niezainfekowanych, hemolimfa pszczoł rozwijających się w towarzystwie jednej samicy założycielki i jej potomstwa oraz hemolimfa pszczoł rozwijających się w towarzystwie 2-3 samic założycielek i ich potomstwa. Wykonane analizy jakościowe i ilościowe białek pozwoliły zidentyfikować zmiany w 44 białkach hemolimfy w odpowiedzi na obecność pasożyta. Autorzy stwierdzili szereg niekorzystnych zmian biochemicznych w hemolimfie i fizjologicznych (metabolicznych) w organizmach zainfekowanych pszczoł. Na przykład, po zakażeniu pasożytem nastąpił jeden z najbardziej znaczących spadków prekursorów białek wiążących się z olfaktorem, co wg Habilitantki sugeruje, że infekcja *V. destructor* może upośledzać system węchowy pszczoł miodnych i w efekcie może prowadzić do zakłóceń chemosensorycznych i komunikacji chemicznej w rodzinie pszczołej.

W hemolimfie robotnic zainfekowanych roztoczami Habilitantka wraz z zespołem wykryła zwiększoną ekspresję kilku białek zaangażowanych w metabolizm łańcucha aminokwasów (BCAA) i metabolizm lipidów. Z kolei obniżyła się ekspresja białek zaangażowanych w szlaki metaboliczne związane z przetwarzaniem informacji genetycznej takich, jak: translacja, transkrypcja, synteza białek. To sugeruje, że obecność *V. destructor* podczas rozwoju osobniczego pszczoły może negatywnie wpływać zarówno na ekspresję informacji genetycznej, jak i na utrzymanie optymalnej struktury białek.

Wyniki badań przeprowadzonych przez Habilitantkę wraz z zespołem PAN udowodniły, że z zainfekowanego przez *V. destructor* czerwiu rozwijają się pszczoły silnie upośledzone na wielu poziomach fizjologicznych i biochemicznych. Na skutek zmian w proteomie hemolimfy zaburzeniu może ulegać metabolizm węglowodanów, detoksykacja, odpowiedź na stres oksydacyjny, aktywność rezerwuaru składników odżywczych, aktywność oksydoreduktaz, układ węchowy, aktywność genowa czy budowa egzoszkieletu robotnicy. Efektem tych badań było opublikowanie jednej oryginalnej pracy twórczej.

Ad 3. Kolejnym etapem rozwoju naukowego Habilitantki była współpraca z zespołem z Katedry Biochemii Wydział Biologii i Biotechnologii UWM w Olsztynie, a którym przeprowadziła badania powiązań między zmianami ekspresji genów kluczowych enzymów metabolicznych a metabolizmem trehalozy i glikogenu podczas rozwoju osobniczego robotnicy i tuż po jej wygryzieniu z komórki płastra. Badania miały charakter typowo poznawczy.

Glikogen i trehaloza pełnią kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy energetycznej u owadów, co jest podstawowym warunkiem przetrwania organizmu. Zespół poddał badaniom różne stadia rozwojowe czerwiu pszczelego oraz świeżo wygryzione robotnice. W wyniku badań Habilitantka wraz z zespołem wykazała, że poziomy ekspresji genów kodujących syntezę glikogenu i fosforylaze glikogenu różniły się w poszczególnych stadiach rozwojowych. W stadiach L4 i L7 względna ekspresja genu GS była około 5-6 razy wyższa niż w larwach L1/2, a ekspresja genu GP była tylko około 2-krotnie wyższa niż w larwach L1/2. U poczwerek P1 i P4 ekspresja genu GS była znacznie wyższa w porównaniu z genem GP. Odwrotną sytuację Habilitantka zaobserwowała u poczwerek P5 i nowo powstałych robotnic. Interesującym jest fakt, że fosforylaza glikogenu nigdy nie została wyizolowana z *A. mellifera*, a jej struktura i właściwości pozostają nieznanymi. Zespół wykazał wysoką korelację ($r=0,797$) pomiędzy ekspresją mRNA, a aktywnością GS.

Habilitantka wraz z zespołem zaobserwowała, że pszczoły miodne są prawdopodobnie pozbawione specyficznych fosfataz trehalozo-6-fosforanu (TPP), co jest zgodne z wnioskami innych badaczy. Autorzy przypuszczają, że u pszczoł miodnych, TPP ściśle specyficzne dla T-6-P zostały zastąpione fosfatazami o szerszej specyficzności. W trakcie doświadczenia autorzy również wykazali, że syntaza trehalozo-6-fosforanu (TPS) ulegała ekspresji i była aktywna przez cały czas rozwoju czerwiu. Aktywność rozpuszczalnej trehalazy stanowiła od 56% całkowitej aktywności trehalazy w poczwarcie P3 do 93% w L1/2 i prawie 100% w L7 larwach. Zmiany w ekspresji obu genów trehalazy były podobne na etapie wszystkich stadiów rozwojowych, co może sugerować wspólną kontrolę ekspresji genów trehalazy rozpuszczalnej (thr 1) i związanej z błoną (thr 2) w czerwiu pszczoły miodnej. Fluktuacje w ekspresji obu genów trehalazy były bardziej wyraźne w stadium larwalnym niż podczas przepoczwarczenia się. W przypadku ekspresji genu TPS, autorzy zaobserwowali odwrotną prawidłowość, czyli fluktuacje były wyższe w stadium poczwarki niż larwy.

Zaobserwowane przez Habilitantkę wraz z zespołem zmiany w ekspresji fosforylazy glikogenu i genów TPS w trakcie rozwoju osobniczego pszczoły były spójne. Fosforylaza glikogenu jest odpowiedzialna za dostarczanie glukozy do syntezy trehalozy; dlatego zintegrowana regulacja genów kodujących oba enzymy wydaje się być uzasadniona. Ten fakt prawdopodobnie przyczynia się do utrzymania niemal stabilnego poziomu trehalozy podczas głodówki (około 1 mg/100 mg BW) kosztem metabolizmu glikogenu. Wyniki uzyskane przez autorów mogą również sugerować, że geny metabolizmu węglowodanów mogą być regulowane inaczej podczas karmienia w rozwoju larwalnym, a inaczej w fazach poczwarki, zwłaszcza w metamorfozie, ale konieczne są dalsze badania w celu potwierdzenia tego założenia.

Efektem współpracy Habilitantki z zespołem z Katedry Biochemii Wydział Biologii i Biotechnologii UWM w Olsztynie była 1 publikacja oryginalna.

Ad. 4. We współpracy z zespołem z Katedrą Metod Matematycznych Informatyki Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie Habilitantka przeprowadziła badania na temat wykorzystania półprzewodnikowych czujników gazu w rozpoznawaniu biologicznego statusu robotnic. Ten zakres tematyczny badań miał charakter całkowicie nowatorski. Eksperyment został przeprowadzony w warunkach laboratoryjnych. Jedną klasę reprezentowały robotnice młode (1- i 2-dniowe), które wygryzły się w cieplarni. Drugą klasę stanowiły robotnice starsze - ponad 21-dniowe pozyskiwane ze skrajnych plastrów z miodem, a trzecią stanowiły potencjalne trutówki, czyli robotnice pochodzące z rodzin długotrwałe pozbawionych matek pszczelich (w rodzinach tych w komórkach plastrów były jaja składane przez robotnice oraz czerw garbaty i duża liczba trutni). Przebadano po 10 prób w każdej klasie, każdą próbę stanowiło 100 robotnic, które umieszczano w komorze drewnianej oraz styropianowej. Powietrze z nad robotnic było zasysane jednocześnie do dwóch urządzeń

Beecom - bliźniaczych prototypów detektorów wieloczujnikowych M1 i M2. Jako kontrolę utworzona została klasa „pusta komora”, gdzie zasysano powietrze z pustych komór. W komorze drewnianej dla urządzenia M1, Habilitantka wraz z zespołem uzyskała dokładność zrównoważoną (accuracy balanced) 0,76, a wskaźnik True Positive Rate (TPR) dla klasy trutówek w porównaniu z pozostałymi klasami wyniósł 0,74.

Na podstawie uzyskanych wyników Habilitantka wykazała, że zestaw przetestowanych półprzewodnikowych czujników gazu ma potencjał do wykrywania stanów anormalnych w rodzinach pszczelech. To dało impuls do dalszych badań nad wykorzystaniem tych czujników w pszczelarstwie. Efektem przeprowadzonych badań było doniesienie konferencyjne oraz opublikowana 1 praca oryginalna.

W ramach tej grupy tematycznej Habilitantka podjęła także współpracę z Katedrą Klimatyzacji, Ogrzewnictwa, Gazownictwa i Ochrony Powietrza Wydziału Inżynierii Środowiska Politechniki Wrocławskiej. Wspólnie z zespołem z tej jednostki zrealizowała projekt Biostrateg finansowany ze środków NCBiR pt. „Opracowanie innowacyjnych, inteligentnych narzędzi monitorujących występowanie zgnilca złośliwego (amerykańskiego) oraz podwyższonego poziomu porażenia *Varroa destructor* w rodzinach pszczoły miodnej”. Tę część osiągnięć Habilitantki omówiłem już powyżej.

Wykorzystanie tego narzędzia przez pszczelarzy, służby weterynaryjne, czy też naukowców pozwoli na szybkie wykrycie niebezpiecznych dla rodziny pszczelej poziomów inwazji *V. destructor* i usprawni działania prowadzące do ich obniżenia. Dzięki temu możliwe będzie opracowanie metod wczesnego zapobiegania znacznej depopulacji pasiek. A co za tym idzie, pozwoli utrzymać populację pszczoły miodnej na odpowiednio wysokim poziomie lub nawet w dłuższej perspektywie przyczynić się do jej wzrostu. Może to być jednym z czynników wpływających korzystnie na poprawę sytuacji pszczelarstwa nie tylko w Polsce. Globalną korzyścią płynącą z takiego stanu rzeczy może być zwiększone zapylenie roślin upraw uprawnych i dziko rosnących. To z kolei wpłynie pozytywnie na bioróżnorodność oraz może zwiększyć i zróżnicować produkcję żywności. Wyniki wspólnie prowadzonych badań zostały opublikowane w materiałach konferencyjnych oraz 3 publikacje w czasopiśmie naukowych oraz 3 opracowań zaprezentowanych na konferencjach zagranicznych.

Pozostałe działania o charakterze naukowym podejmowane przez Habilitantkę można zakwalifikować do trzech grup tematycznych:

1. Mechanizmy oporności pszczoły miodnej na *V. destructor* i lekooporność tego pasożyta oraz metody jego zwalczania w pasiekach polskich i ich skuteczność.
2. Gospodarka pasieczna.
3. Dzikie pszczołowate.

Z wykształcenia Habilitantka jest lekarzem weterynarii ze specjalizacją choroby owadów użytkowych. Dlatego w Jej dorobku dominują badania i prace związane tematycznie z chorobami pszczoły miodnej. A szczególne miejsce zajmuje tematyka związana z warrozą i skutecznymi metodami jej leczenia. Z tego zakresu tematyczne pozyskała i zrealizowała grant promotorski „Mechanizmy oporności na *Varroa destructor* (*Mesostigmata: Varroidae*) u różnych podgatunków pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L., *Hymenoptera: Apidae*)” finansowany przez Komitet Badań Naukowych. Wynikiem realizacji tego tematu była też Jej rozprawa doktorska. Jako doktorantka zrealizowała stypendium w ramach projektu „Wzmocnienie współpracy UWM z gospodarką regionu poprzez stypendia doktoranckie” z Zintegrowanego Programu Operacyjnego Rozwoju Regionalnego 2004-2006 współfinansowanego z Europejskiego Funduszu Społecznego EFS.

W 2009 roku Habilitantka była pomysłodawcą oraz autorką metodyki i wykonawcą części projektu dotyczącej zwalczania pasożyta *Varroa destructor* oraz zapobieganiu

masowym ginięciom rodzin pszczelich grantu uzyskanego w ramach programu COST Action FA0803 „COLOSS: Prevention of honeybee Colony Losses” przez Katedrę Pszczelnictwa pt. „Technologie pasieczne, pokarmy dla pszczół oraz zwalczanie pasożyta *Varroa destructor* w zapobieganiu masowym ginięciom rodzin pszczelich”. Jako praktykujący lekarz weterynarii Habilitantka porównała trzy schematy zwalczania *Varroa destructor* w oparciu o leki przeciwwarrozowe powszechnie stosowane w naszym kraju. Uzyskane wyniki pozwoliły wskazywać pszczelarzom właściwe sposoby postępowania z inwazją *V. destructor*. Okazało się bowiem, że pełną kontrolę nad populacją tego pasożyta w pasiece uzyskuje się poprzez zintegrowany system jego zwalczania, bez względu na to, czy to są leki z „ciężką chemią” czy ekologiczne.

Pod afiliacją Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego Habilitantka wraz z zespołem z Katedry Pszczelnictwa przetestowała skuteczność kilku leków przeciwwarrozowych. A obecnie w Katedrze Drobiarstwa i Pszczelnictwa zajmuje się badaniami preparatu opartego na kwasach organicznych. Podczas oceny leków służących do zwalczania pasożyta w rodzinach pszczelich oprócz skuteczności sprawdza także wpływ na czerw i pszczoły oraz kontroluje pozostałości substancji czynnych w produktach pszczelich.

W 2009 roku w ramach realizacji grantu „Oporność *Varroa destructor* na akarycydy na terenie północno-wschodniej Polski” Habilitantka zajmowała się badaniami pasiek w Polsce północno-wschodniej pod kątem obecności pasożytów lekoopornych.

W ramach realizacji grantu „Technologie pasieczne, pokarmy dla pszczół oraz zwalczanie pasożyta *Varroa destructor* w zapobieganiu masowym ginięciom rodzin pszczelich” Habilitantka wraz z zespołem z Katedry Pszczelnictwa UWM w Olsztynie przeprowadziła badania nad wpływem rodzaju pokarmu węglowodanowego podawanego pszczołom na zimę na ich zimowlę i rozwój wiosenny oraz wpływ późnego wychowu czerwiu na zdrowie i produktywność rodzin pszczelich. Wielokrotnie, usługowo testowała także różne suplementy diety dla pszczół miodnych firmy BioHayat.

Poza pszczołą miodną Habilitantka interesuje się również innymi gatunkami pszczołowatych, ze szczególnym uwzględnieniem murarki ogrodowej. Zajmowała się badaniami nad aktywnością lotną oraz behawiorem rozrodu tej pszczoły. Część swoich badań ukierunkowała też na sprawdzenie jak obecność pszczoły miodnej wpływa na miejscową apifaunę w odniesieniu do konkurencji pokarmowej.

Habilitantka była wykonawcą lub głównym wykonawcą w 7 projektach badawczych finansowanych ze źródeł zewnętrznych. Co jest godne podkreślenia, Pani Doktor jest autorką aż 6 spośród tych projektów.

Należy stwierdzić, że działalność naukowa Habilitantki jest znaczna, a jej współpraca z zespołami badawczymi z różnych jednostek świadczy o dojrzałości naukowej. Na podkreślenie zasługuje to, że wiele z prowadzonych przez Habilitantkę badań było i jest nowatorskich. Pani Doktor podejmuje się coraz nowszych wyzwań badawczych, w tym także mających wartość utylitarną, przynoszących pszczole miodnej i praktyce pszczelarskiej korzyści. Nie stroni od bardzo trudnych tematów, chociażby wykorzystania półprzewodnikowych czujników gazu do detekcji groźnych chorób pszczół oraz stanu rodziny, a także wyjaśnienia przyczyn CCD. To z pewnością świadczy o ogromnym potencjale naukowym Habilitantki.

4. Osiągnięcia dydaktyczne

Habilitantka swoją współpracę z zespołem z Katedry Pszczelnictwa (obecnie Katedry Drobiarstwa i Pszczelnictwa) rozpoczęła bardzo wcześnie, gdyż już na IV roku studiów. Była członkinią i prezeską Naukowego Koła Pszczelarskiego. Wielokrotnie aktywnie uczestniczyła

konferencjach i seminariach studenckich kół naukowych (pod panińskim nazwiskiem: Masłowska). Po ukończeniu studiów Habilitantka w 2002 r. rozpoczęła studia doktoranckie, w czasie których pełniła funkcję zastępcy naukowego opiekuna Naukowego Koła Pszczelarskiego działającego przy Katedrze Pszczelnictwa, Wydziału Bioinżynierii Zwierząt (UWM Olsztyn). Przez kolejne lata aktywnie współpracowała ze studentami ukierunkowując i nadzorując ich pracę w kole naukowym, pomagając w organizacji obozów naukowych, w tym za granicą. Pomagała studentom w przygotowywaniu prezentacji i wystąpień na seminaria kół naukowych, co owocowało wieloma wyróżnieniami i nagrodami dla studentów.

Przez wiele lat jako doktorantka, a następnie pracownica Katedry Pszczelnictwa na stanowisku specjalisty, Habilitantka prowadziła zajęcia dydaktyczne dla studentów, głównie kierunku zootechnika, na Wydziale Bioinżynierii Zwierząt Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, z przedmiotów:

1. Pszczelarstwo – II rok studiów,
2. Chów i hodowla wybranych gatunków owadów – III rok studiów,
3. Ekologiczne i ekonomiczne aspekty pszczelarstwa - III rok studiów,
4. Chów jedwabników i dziko żyjących owadów zapylających – V rok studiów.

Sprawowała też opiekę nad jedną pracą magisterską pt. "Intensywność i sukces oczyszczania się pszczół z samicy *V. destructor*".

W latach 2008-2013 Habilitantka współpracowała z Okręgową Komisją Egzaminacyjną w Łomży, m.in. tworzyła testy zawodowe do techników pszczelarskich. Była również recenzentem takich testów, tworzonych przez innych autorów. W 2008 roku pracowała w składzie państwowej komisji egzaminacyjnej podczas egzaminu państwowego na „technika pszczelarza”. Była też zatrudniona jako nauczycielka w dwóch technikach zawodowych w Olsztynie i w Tucholi do prowadzenia zajęć z pszczelnictwa na kursach rocznych i dwuletnich na technika pszczelarza.

W 2014 roku wchodziła w skład komisji egzaminacyjnej w eliminacjach okręgowych młodzieży szkół średnich do XXXVIII edycji Olimpiady Wiedzy i Umiejętności Rolniczych, bloku tematycznego „produkcja zwierzęca” prowadzonych na Wydziale Bioinżynierii Zwierząt.

Podsumowując tę część dorobku, należy stwierdzić, że Habilitantka posiada znaczne doświadczenie dydaktyczne, gdyż prowadziła zajęcia na poziomie szkoły ponadgimnazjalnej (ponadpodstawowej) oraz wyższym ze studentami. Szkoda tylko, że mając tak duże doświadczenie zawodowe i praktyczne z zakresu pszczelnictwa nie była opiekunką większej liczby prac magisterskich. Jednak jest to zrozumiałe, gdyż nie była zatrudniona na stanowisku badawczo-dydaktycznym tylko inżynieryjno-technicznym, co nie dawało Jej zbyt wielu możliwości w tym zakresie. Jednak mimo tego, że Habilitantka nie była na etacie nauczyciela akademickiego, Jej dorobek dydaktyczny jest znaczny, co także wykorzystywała będąc prelegentką na licznych warsztatach, kursach i szkoleniach dla pszczelarzy.

5. Osiągnięcia organizacyjne Habilitantki

Habilitantka jest członkinią dwóch towarzystw naukowych, tj.: od 2006 - Pszczelniczego Towarzystwa Naukowego, a od 2008 – członkinią COLOSS (Honey Bee Research Association).

Pani dr Beata Bąk dość skromnie udzielała się jako recenzentka publikacji w czasopiśmie międzynarodowych i krajowych, gdyż wykonała tylko 2 recenzje:

- Journal of Apicultural Science – 1

- Journal of Apicultural Research - 1.

Ten aspekt Jej działalności też wynika z zajmowanego stanowiska inżynierjno-technicznego, które nie stwarza zbyt wielu możliwości do aktywności w tym zakresie.

6. Osiągnięcia popularyzatorskie

Habilitantka jest bardzo aktywna w popularyzowaniu wiedzy pszczelarskiej wśród pszczelarzy praktyków i lekarzy weterynarii w całej Polsce. Jednak szczególnie aktywna jest w Polsce północno-wschodniej, co nie dziwi, zważywszy na Jej miejsce zamieszkania i pracy zawodowej. W ramach różnych szkoleń, każdego roku, prowadziła i prowadzi po kilka prelekcji na tematy związane z: chorobami pszczół, gospodarką pasieczną, biologią pszczół, anatomią i fizjologią pszczoły miodnej, a także dzikich pszczołowatych. Ważną częścią takich szkoleń i spotkań z pszczelarzami jest popularyzowanie wyników badań naukowych Habilitantki i zespołu pszczelarskiego z Katedry Drobniarstwa i Pszczelnictwa. Często prowadzi wykłady 8-godzinne oraz weekendowe. Na tego typu spotkania przygotowuje szereg materiałów szkoleniowych liczących po kilkadziesiąt stron. Prowadzi także zajęcia praktyczne na zamówienie organizacji pszczelarskich, szczególnie z zakresu chorób pszczół. Wiedzę pszczelarską również popularyzuje w branżowych czasopismach pszczelarskich, takich jak Pszczelarstwo oraz Pasięka.

7. Podsumowanie i wniosek końcowy

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawione mi do oceny osiągnięcia naukowe oraz aktywność naukowa, dydaktyczna i organizacyjna dr Beaty Bąk spełniają ustawowe wymagania stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego. Oceniane osiągnięcia naukowe mają znaczący wkład w rozwój wiedzy z zakresu różnych aspektów związanych z pszczelnictwem. Pionierskie są badania nad wykrywaniem warrozy i zgnilca amerykańskiego pszczół z wykorzystaniem półprzewodnikowych czujników gazu, a także do detekcji zmian zachodzących w rodzinie pszczelej. Habilitantka wzbogaciła także wiedzę na temat wpływu pestycydów neonikotynoidowych, a szczególnie imidaklopridu, na pszczołę miodną (głównie fizjologię i wskaźniki biochemiczne hemolimfy) oraz przebiegu inwazji *V. destructor* i jej wpływu na rodzinę pszczełą i pojedyncze osobniki pszczele. Habilitantka ma też swój wkład w wykrywanie czynników powodujących zespół nagłego giniecia rodzin pszczelich (CCD). Przyczyniła się także do wzbogacenia wiedzy na temat wpływu ekspresji genów kluczowych enzymów metabolicznych na metabolizm trehalozy i glikogenu podczas rozwoju robotnicy i tuż po jej wygryzieniu z komórki plastra.

Na podstawie przedstawionych mi dokumentów stwierdzam, że dr Beata Bąk jest osobą w pełni przygotowaną do samodzielnej pracy naukowej i spełnia kryteria określone w art. 219 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj.: Dz. U. z 10 marca 2023 r. poz. 742 ze zm.) do nadania stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Dlatego jako członek komisji habilitacyjnej i recenzent w postępowaniu habilitacyjnym (Uchwała Rady Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego z dnia 21 lipca 2023 r.) zwracam się do komisji habilitacyjnej o pozytywną rekomendację oraz do Rady Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o nadanie dr Beacie Bąk stopnia doktora habilitowanego.

Sporządził

Prof. dr hab. inż. Adam Roman