

**Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie**  
**ul. Michała Oczapowskiego 2**  
**10-719 Olsztyn**

(nazwa i dane adresowe podmiotu habilitującego, wybranego do przeprowadzenia postępowania)

za pośrednictwem:

**Rady Doskonałości Naukowej**

pl. Defilad 1

00-901 Warszawa

(Pałac Kultury i Nauki, p. XXIV, pok. 2401)

**Beata Bąk**

(imię i nazwisko wnioskodawcy)

**Katedra Drobiarstwa i Pszczelnictwa,**

**Wydział Bioinżynierii Zwierząt**

**UWM Olsztyn, ul. Słoneczna 48, 10-710 Olsztyn**

**(obecnie niezatrudniona)**

(miejsce pracy/jednostka naukowa)

## **Wniosek**

z dnia 13.04.2023.

o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie  
**nauk rolniczych** w dyscyplinie<sup>1</sup>: **zootechnika i rybactwo.**

Określenie osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego:

### **WYKRYWANIE WARROZY I ZGNILCA AMERYKAŃSKIEGO PSZCZÓŁ Z WYKORZYSTANIEM PÓLPRZEWODNIKOWYCH CZUJNIKÓW GAZU**

Wnioskuje – na podstawie art. 221 ust. 10 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.) – aby komisja habilitacyjna podejmowała uchwałę w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w głosowaniu **tajnym/jawnym**\*2

*Zostałem poinformowany, że:*

*Administratorem w odniesieniu do danych osobowych pozyskanych w ramach postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego jest Przewodniczący Rady Doskonałości Naukowej z siedzibą w Warszawie (pl. Defilad 1, XXIV piętro, 00-901 Warszawa).*

*Kontakt za pośrednictwem e-mail: kancelaria@rdn.gov.pl , tel. 22 656 60 98 lub w siedzibie organu. Dane osobowe będą przetwarzane w oparciu o przesłankę wskazaną w art. 6 ust. 1 lit. c) Rozporządzenia UE 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w związku z art. 220 - 221 oraz art. 232 – 240 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, w celu przeprowadzenie postępowania*

*o nadanie stopnia doktora habilitowanego oraz realizacji praw i obowiązków oraz środków odwoławczych przewidzianych w tym postępowaniu.*

*Szczegółowa informacja na temat przetwarzania danych osobowych w postępowaniu dostępna jest na stronie [www.rdn.gov.pl/klauzula-informacyjna-rodo.html](http://www.rdn.gov.pl/klauzula-informacyjna-rodo.html)*

.....  
(podpis wnioskodawcy)

Załączniki:

Załącznik nr 1 – Dane wnioskodawcy

Załącznik nr 2 – Kopia dyplomu posiadania stopnia doktora

Załącznik nr 3 – Autoreferat

Załącznik nr 4 – Wykaz osiągnięć naukowych

Załącznik nr 5 - Oświadczenie współautorów określające ich wkład w powstanie prac stanowiących jednotematyczny cykl publikacji

Załącznik nr 6 - Kopia dyplomu specjalisty chorób owadów użytkowych

## **Załącznik 3**

do wniosku z dnia 13.04.2023  
o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego

Dr Beata Bąk, lek.wet.

Katedra Drobiarstwa i Pszczelnictwa, Wydział Bioinżynierii Zwierząt

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

# **AUTOREFERAT OPIS DOROBKU I OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH**

**Olsztyn, 2023**

## Spis treści

1. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE LUB ARTYSTYCZNE – Z PODANIEM PODMIOTU NADAJĄCEGO STOPIEŃ, ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ .....	3
2. INFORMACJA O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH LUB ARTYSTYCZNYCH. ....	3
3. OMÓWIENIE OSIĄGNIĘĆ, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1 PKT. 2 USTAWY Z DNIA 20 LIPCA 2018 R. PRAWO O SZKOLNICTWIE WYŻSZYM I NAUCE (Dz. U. z 2020 R. POZ. 85 Z PÓŹN. ZM.) .....	4
3.1 Tytuł osiągnięcia naukowego .....	4
3.2 Omówienie szczególnego osiągnięcia naukowego.....	5
3.2.1 Wprowadzenie .....	5
3.2.2 Cel badań.....	12
3.2.3 Omówienie cyklu publikacji.....	13
3.2.4 Podsumowanie i wnioski .....	33
3.2.5. Piśmiennictwo .....	34
4. INFORMACJA O WYKAZYWANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ ALBO ARTYSTYCZNĄ REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ LUB INSTYTUCJI KULTURY, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ.....	44
5. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ LUB SZTUKĘ.....	60
5.1 Osiągnięcia dydaktyczne .....	60
5.3. Osiągnięcia organizacyjne .....	62
5.4. Osiągnięcia popularyzatorskie.....	62
6. INNE WAŻNE INFORMACJE DOTYCZĄCE KARIERY ZAWODOWEJ.....	63

## **1. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE LUB ARTYSTYCZNE – Z PODANIEM PODMIOTU NADAJĄCEGO STOPIEŃ, ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

**2007 - Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, uzyskanie tytułu doktora nauk rolniczych w dziedzinie zootechniki na podstawie rozprawy doktorskiej pt. obrona pracy doktorskiej n.t.: “Mechanizmy oporności na *Varroa destructor* (Anderson, Truman 2000) u różnych podgatunków pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L.)” uwieńczona zdobyciem stopnia naukowego doktora**

**2004 - Weterynaryjne Centrum Kształcenia Podyplomowego Specjalistyczne Studia Podyplomowe Choroby Owadów Użytkowych zakończone zdobyciem tytułu Specjalisty Chorób Owadów Użytkowych**

**2001 - Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, uzyskanie dyplomu lekarza weterynarii**

## **2. INFORMACJA O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH LUB ARTYSTYCZNYCH.**

**2009-2012 – Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Katedra Pszczelnictwa - specjalista naukowo techniczny**

**2017-2018 – Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Katedra Pszczelnictwa, specjalista**

**2019-2021 – Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Katedra Drobiarstwa i Pszczelnictwa, kierownik zespołu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie projektu naukowego NCBiR BIOSTRATEG3/343779/10/NCBR/2017**

### **3. OMÓWIENIE OSIĄGNIĘĆ, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1 PKT. 2 USTAWY Z DNIA 20 LIPCA 2018 R. PRAWO O SZKOLNICTWIE WYŻSZYM I NAUCE (DZ. U. Z 2020 R. POZ. 85 Z PÓŹN. ZM.).**

#### 3.1 Tytuł osiągnięcia naukowego

#### **WYKRYWANIE WARROZY I ZGNILCA AMERYKAŃSKIEGO PSZCZÓŁ Z WYKORZYSTANIEM PÓLPRZEWODNIKOWYCH CZUJNIKÓW GAZU**

#### **Prace wskazane 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)

*Mój wkład 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)

*Mój wkład w powstanie pracy obejmował współpracowanie metodyki dotyczącej części pszczelarskiej, udział w doświadczeniu i nadzór nad doświadczeniem, współpracowanie części treści manuskryptu dotyczącej części pszczelarskiej.*

3. Bąk B.; Wilk J. Artiemjew P. Wilde J. 2021. Recording the presence of *Peenibacillus 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)

*Mój wkład 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)

*Mój wkład w powstanie pracy obejmował opracowanie koncepcji, planu badania, współpracowanie metodyki, udział w doświadczeniu i nadzór nad doświadczeniem, analizę i weryfikację wyników, wizualizację, współpracowanie większości treści manuskryptu, współodpowiedź na recenzje.*

## 3.2 Omówienie szczególnego osiągnięcia naukowego

### 3.2.1 Wprowadzenie

Pasożyt pszczoł i czerwiu pszczelego, *Varroa destructor* pojawił się w polskich pasiekach w 1980 roku i w ciągu kilku lat spowodował bardzo drastyczne straty w pogłowiu pszczoł w kraju [1]. Potrzeba było kilku lat, żeby polskie pszczelarstwo dźwignęło się z kolan. W celu skutecznego leczenia warrozy przeprowadzono liczne badania biologii pasożyta na całym świecie, co pozwoliło ustalić model rozwoju jego populacji w pasiekach [2] [3] [4]. Wskazano również różne substancje zabójcze dla *V. destructor* obejmujące zarówno ciężką chemię [5] [6] [7] jak i substancje naturalne [8] [9] [10] [11] [12] [13] [14] [15]. Dzięki temu udało się wypracować skuteczne metody zwalczania tego groźnego pasożyta [16] [17] [18] [19] [20]. Wydawało się zatem, że warroza jest już pod kontrolą, a pszczoła miodna jest w miarę bezpieczna. Jednak w pierwszej dekadzie XXI wieku rodziny pszczele na całym świecie zaczęły masowo się zamierać [21] [11] [22] [23] [24]. Określono to zjawisko syndromem masowego ginięcia pszczoł (collony collapse disorder – CCD). Po kilku latach badań ustalono, że przyczyn CCD jest wiele, ale główną jest inwazja *V. destructor* [25] [26] [27] [28] .

Mechanizm patogeny *V. destructor* w stosunku do pszczoły i czerwiu jest złożony. Poprzez nakłuwanie powłok ciała gospodarza roztoc ten tworzy ranki, które są wrotami zakażenia dla różnych patogenów, co indukuje określone reinfekcje [29] [30] [31] [32] [33]. Udowodniono, że *V. destructor* jest wektorem zakażeń dla wielu niebezpiecznych dla rodzin pszczelich wirusów [34] [35] [36] [37] [38] [39]. Pasożyt może na swoim ciele przenosić spory *Peanibacillus larvae larvae* oraz *Ascospaera apis* [33].

Roztocz odżywia się ciałkiem białkowo-tłuszczowym pszczoł i czerwiu [40], co powoduje ubytek i uszkodzenie tego ważnego organu u pszczoł [41] [42] [43] [44]. Może to prowadzić do zniekształcenia ciała rozwijających się pszczoł. Następują deformacje skrzydeł i odnóży, zmniejszenie wymiarów ciała oraz skrócenie odwłoka i języczka. To ma negatywny wpływ na długowieczność robotnic oraz zdolność ich do pracy [45] [46] [47] [48] [49] [50]. Poprzez żerowanie *V. destructor* wpływają negatywnie na skład hemolimfy, obniżają zawartość białka i zdolność do jego regeneracji, zmniejszają syntezę lipidów oraz zaburzają rozwój organów wewnętrznych [51] [49]. Ślina roztoczy hamuje system immunologiczny pszczoł poprzez negatywny wpływ na ekspresję genów związanych z układem odpornościowym, co obniża kondycję zdrowotną rodziny pszczelej [52] [53]. Uszkodzone ciałko-białkowo tłuszczowe pszczoł nie jest w stanie utrzymywać zdolności detoksykacyjnych, w efekcie czego zmniejsza się u nich tolerancja na pestycydy [54] [55]. Ze względu na tak silne działanie patogenne na osobniki pszczoły miodnej, inwazja roztoczy *V. destructor* prowadzi do śmierci rodziny pszczelej w ciągu 3-4 lat [56] [57] [58].

W polskich pasiekach od pewnego czasu obserwuje się zwiększenie zjadliwości *V. destructor* [59] [60] [61]. Początkowo niektórzy uważali, że przyczyną takiego stanu rzeczy jest niedostateczny brak wiedzy u pszczelarzy w zakresie walki z tym roztoczem. Jednak dzięki unijnym programom wsparcia polegającym na finansowaniu licznych szkoleń pszczelarzy z zakresu chorób pszczoł, poziom wiedzy na temat warrozy znacznie się poprawił. Mimo to pszczelarze coraz częściej informują lekarzy weterynarii i naukowców o tym, że silna inwazja tego pasożyta ich zaskoczyła. Często z tego powodu dochodzi do upadku rodzin pszczelich [21] [62]. Podobne problemy obserwuje się również w innych krajach [63]. W związku z powyższym niezbędne jest częste monitorowanie poziomu inwazji *V. destructor* w rodzinach pszczelich, aby względnie szybko reagować na niebezpieczne wzrosty populacji tego pasożyta zagrażające pszczołom.

Monitorowanie poziomu inwazji *V. destructor* pozwala również wskazać odpowiednie metody leczenia warrozy [16] [18] [20] [18], ocenić ich skuteczność [16] [64] [65] [66] [67] oraz w porę wykryć reinwazję pasożyta w rodzinach pszczelich [68]. Pszczelarz ma do wyboru wiele metod monitorowania poziomu inwazji *V. destructor*. Najdokładniejsze są badania laboratoryjne próbek pszczoł, czerwiu oraz osypu zimowego przeprowadzone metodą wyflukiwania, wykorzystującą zjawisko flotacji [8] [17]. Badania takie wymagają od pszczelarza konieczności pobierania próbek, ich odpowiedniego zabezpieczenia,



przetransportowania do laboratorium i wniesienia opłaty za badanie każdej próbki. Zdarza się, że pszczelarze sami we własnym zakresie takie badania przeprowadzają. W warunkach terenowych można badać próbki pszczoł przyżyciowo metodą na cukier puder [69]. Metoda ta daje wyniki porównywalne z metodą flotacji [70]. Bardzo dużą dokładność szacowania poziomu inwazji daje też metoda monitorowania naturalnego osypu pasożyta [71] [72] [69] oraz osypu *Varroa* zabitych po zastosowaniu zabiegów przeciwwarrozowych [73]. W swojej pasiece pszczelarz może ponadto, przeprowadzić również mniej precyzyjne badanie poziomu inwazji pasożyta w rodzinach pszczelich za pomocą urządzeń typu easy-check wykorzystujących uproszczoną metodę wyflukiwania, na cukier puder lub usypianie pasożytów za pomocą CO<sub>2</sub> [74].

Zgnilec amerykański objawia się zamieraniem larw pszczelich pod zasklepami i gniciem czerwii. W konsekwencji ta choroba prowadzi do słabnięcia silnej rodziny i jej śmierci [75]. Zgnilec wywołany jest przez bakterię *Paenibacillus larvae larvae* (White) [76], która wytwarza endospory odporne na zewnętrzne czynniki środowiska. Z tego powodu bakteria ta jest zdolna utrzymywać zdolności infekcyjne przez ponad 30 lat [75] [77]. Spory *P. l. larvae* mogą być przenoszone przez pszczoły, z pokarmem, woskiem i na sprzęcie pszczelarskim [78].

Zgnilec amerykański na tę chwilę jest w Polsce chorobą zwalczaną z urzędu. Obowiązuje *Rozporządzenie* Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 11 lipca 2016 r. w sprawie zwalczania *zgnilca amerykańskiego* pszczoł (Dz.U. 2016/ 1123), które w sposób szczegółowy przedstawia wytyczne jak postępować z chorą pasieką i daje pszczelarzowi pomoc ze strony państwa w zwalczaniu tej groźnej choroby. Za diagnostykę zgnilca amerykańskiego odpowiedzialni są Powiatowi Lekarze Weterynarii i pszczelarz nie ponosi tu kosztów. Za likwidowane chore rodziny pszczele ich właściciel otrzymuje odszkodowanie. Jednak wydane przez Komisję EU *Rozporządzenie* wykonawczym Komisji (UE) 2018/1882 z dnia 3 grudnia 2018 r. w sprawie stosowania niektórych przepisów dotyczących zapobiegania chorobom oraz ich zwalczania do kategorii chorób umieszczonych w wykazie oraz ustanawiające wykaz gatunków i grup gatunków, z którymi wiąże się znaczne ryzyko rozprzestrzeniania się chorób umieszczonych w tym wykazie narzuca na nasz kraj zmianę przepisów związanych ze zwalczaniem zgnilca amerykańskiego pszczoł. Spowoduje, to że pszczelarz będzie zdany sam na siebie w zwalczaniu tej choroby. Po dostosowaniu naszych przepisów do *Rozporządzenia* Komisji (EU) 2018/1882 z dnia 3 grudnia 2018 r. na pszczelarza spadną wszelkie obowiązki i koszty związane ze zwalczaniem zgnilca amerykańskiego pszczoł (diagnostyka kliniczna i

laboratoryjna, utrata rodzin pszczelich, straty związane z produkcją miodu i zapylaniem, nakłady czasu i pracy).

Badania monitoringowe skażenia miodu sporami *P.l. larvae* prowadzone w Polsce [79] [80] wykazały że istnieją rejony, gdzie ryzyko wystąpienia objawów zgnilca amerykańskiego jest wysokie. Przykładem jest województwo warmińsko-mazurskie, gdzie obecność spor została potwierdzona niemal w 50% badanych pasiek, z czego 20% wykazywało wysoki stopień skażenia [80]. Wyniki tych badań przełożyły się na sytuację epizootyczną (moje wyniki obserwacji podczas terenowej pracy jako lekarza weterynarii i inspektora weterynaryjnego w niektórych powiatach województwa warmińsko-mazurskiego).

W Polsce zgnilec amerykański uważany jest przez pszczelarzy często za chorobę wstydliwą, dlatego niechętnie jest przez nich zgłaszany do powiatowych lekarzy weterynarii. Pszczelarze próbują ją zwalczać na własną rękę, często z fatalnym skutkiem. Efektem jest dalsze rozprzestrzenianie się choroby w terenie. Dodatkowym problemem jest nieumiejętność rozpoznawania objawów lub niemożność z powodu osłabionego wzroku starszych ludzi zajmujących się pszczelarstwem. W efekcie pszczelarz zauważa, że coś złego dzieje się z jego rodzinami pszczelimi, gdy te zaczynają gwałtownie słabnąć, co przekłada się na niską produkcję. Ostatecznie rodziny chore zamierają, w międzyczasie będąc źródłem zakażenia pozostałych rodzin pszczelich w danej pasiece i sąsiadujących pasiekach.

Po zaobserwowaniu objawów gnicia czerwiu krytego należy przeprowadzić badania laboratoryjne, aby potwierdzić lub wykluczyć zgnilca amerykańskiego. W tym celu należy wysłać do określonego laboratorium próbki do badań. Może to być wycinek plastra o powierzchni co najmniej 20 cm<sup>2</sup> zawierający w komórkach jak najwięcej chorobowo zmienionego lub martwego czerwiu lub inny materiał wskazany w załączniku 2 do Rozporządzenia w sprawie zwalczania zgnilca amerykańskiego pszczół. Badania laboratoryjne bazują na technikach mikrobiologicznych [81], [82]. Kolonie *P. l. larvae* w hodowli na różnych podłożach tworzą bezbarwne, przezroczyste, szarobiałe kolonie, a na agarze z dodatkiem krwi kolonie są śluzowate. Wygląd kolonii bakteryjnych nie jest wystarczający do identyfikacji gatunku patogenu. Uzyskuje się ją poprzez pracochłonne metody chemiczne [81] [82] [83]. Identyfikację można również uzyskać poprzez analizę struktury DNA. Pozwala to wyróżnić pięć genotypów: ERIC I-V, z których ERIC I i ERIC II są najczęściej obecne w materiale zakaźnym [81] [82] [84].

Do diagnozowania zgnilca amerykańskiego pszczoł opracowano również metody oparte na przeciwciałach: test immunodyfuzji [85], test immunofluorescencyjny [86] oraz test immunoabsorpcji enzymatycznej [87]. Obecnie w Polsce dla lekarzy weterynarii dostępne są szybkie testy kasetowe do diagnozowania zgnilca amerykańskiego (Vita AFB Diagnostic Kit) [88].

Zdrowa rodzina pszczela charakteryzuje się zapachem, na który wpływa wiele jej elementów składowych środowiska ula. Funkcjonowanie rodziny pszczelej oparte jest na komunikacji poszczególnych jej osobników za pomocą sygnałów chemicznych [89] [90]. Feromony są substancjami, które pozwalają porozumiewać się wszystkim owadom, a w szczególności systematyzują zachowania owadów społecznych [91]. Czerw pszczeli jest jednym ze składników rodziny pszczelej. Zarówno czerw pszczeli otwarty jak i czerw kryty wydziela zespół substancji nazwany: feromonami czerwiu [92]. Skład tego kompleksu sygnałowego okazał się mieszaniną 10 -metylowych lub -etylowych estrów wyższych kwasów tłuszczowych C16 i C18: palmitynowego, stearynowego, oleinowego, linolonowego, i linolewego [93]. Powstają one w gruczołach ślinowych larw [94]. Substancje te są nietlne i często nietrwałe, bo szybko ulegają utlenieniu. Feromon czerwiu może mieć różny skład i kombinację estrów, a od tego zależy jaką pełni funkcję [95] [96]. Dodatkowymi komponentami zapachowymi czerwiu otwartego są odchody larw, a także mleczko pszczele [97], w którym zanurzone są larwy 1-3 dniowe [98]. W przypadku czerwiu krytego dodatkowym elementem zapachowym będą zasklepy.

Zapach powietrza ulowego jest również wzbogacony w substancje ulatniające się z wosku pszczelego, który jest głównym budulcem gniazda pszczoł [99] [100] [100]. Garnitur zapachowy powietrza ulowego wzbogacony jest również w substancje lotne pochodzące z propolisu [101] [102] [97] oraz pokarmu składowanego w plastrach [103]. Szczególne znaczenie mają tu substancje aromatyczne pochodzące z roślin, z których zbierany jest nektar [104]. Zapach zdrowej rodziny pszczelej będzie zatem się zmieniał w zależności od ilości jej komponentów oraz od pory dnia i roku.

Substancje lotne tworzące powietrze ulowe mogą być identyfikowane różnymi metodami [105]. Dotychczas stosowano m.in. analizatory w podczerwieni; spektrometry w podczerwieni z transformacją Fouriera (ang. Fourier transform infrared spektrometry (FT-IR spectrometry)) czy chromatografy gazowe z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID), ze spektrometrem masowym (MS) lub innymi detektorami masowo-selektywnymi [106]. Metody

te w praktyce pszczelarskiej okazały się nieoptymalne i skomplikowane w stosowaniu. Dobrym rozwiązaniem w tym przypadku wydaje się użycie urządzeń wieloczujnikowych, które są systemami pomiarowymi opartymi na matrycy czujników zdolnych do identyfikacji złożonych zapachów [107]. Czujniki substancji lotnych są klasyfikowane w czterech kategoriach. Różnią się one mechanizmem działania, który oparty jest na przewodnictwie elektrochemicznym, grawimetrycznym, optycznym i termicznym właściwości badanej próbki.

Dużą popularność zdobyły półprzewodnikowe czujniki metalotlenkowe (MOS-metal-oxide-semiconductor), które działają poprzez reakcje utleniania redukcyjnego gazów zaadsorbowanych na warstwie sensorycznej [108]. Klasyfikacja zapachu odbywa się wówczas na podstawie wartości odczytów czujnika wyrażających jego oporność [109] [110]. Do skomplikowanych mieszanin gazów szczególnie pożądanym jest system kilku, a nawet kilkudziesięciu czujników. Wówczas zbiorowa odpowiedź matrycy czujników może być przełożona na jakościową i ilościową informację o mieszaninie gazów. Układy czujników chemicznych w połączeniu z wielowariantową analizą danych, wspomaganą różnymi metodami klasyfikacyjnymi i modelami okazują się wysoce skutecznymi narzędziami do szczegółowego określania mieszanin gazów [111], [112].

Pojedyncza dana pomiarowa odpowiada średniemu napięciu zarejestrowanemu na czujniku w okresie 1 s przed zapisaniem wyniku pomiaru. Najpopularniejsze obecnie na rynku, tanie i powszechnie dostępne są grubowarstwowe sensory z powłoką SnO<sub>2</sub> firmy Figaro (Japonia)[113]. Są one przeznaczone do pracy ciągłej i są w stanie wykonywać pomiary w trybie dynamicznym. Czujniki te są tanie, dostępne stale na rynku, optymalne, niezawodne, mają szybki czas reakcji, mogą być obsługiwane na miejscu, dostarczają dane w czasie rzeczywistym oraz mają wysoką czułość na poziomie ppm [114].

Elektroniczne nosy (e-nosy), utworzone przez wieloczujnikową matrycę półprzewodnikowych czujników gazu, zostały wcześniej wykorzystane do rozpoznawania chorób u ludzi [115], zwierząt [116] i roślin [117]. Są one tak czułe, że mogą być wykorzystane do rozpoznawania biotycznych przyczyn różnych chorób [118].

Warroza pod względem zapachowym okazuje się być wyzwaniem dla naukowców. Rostocznik *V. destructor* charakteryzują się bowiem mimikrą zapachową, która polega na dostosowaniu zapachu pasożyta do żywiciela, na którym się znajduje [25]. Opisany pasywny kamuflaż pozwala roztoczowi dostosować swój zapach do stadium rozwoju czerwiu, do martwego gospodarza [119] [83], do innej rodziny pszczołej [120], a nawet do innego gatunku pszczoły

[25]. Jest zatem mało prawdopodobne, aby wykazać obecność roztoczy w rodzinie pszczelej za pomocą półprzewodnikowych czujników gazowych. Jednakże duże nadzieje pokłada się w substancjach zapachowych powstających w czerwiu pszczelim zainfekowanym przez *V. destructor* [121]. Nazi i in. [122] wykazali, że ważną rolę w tym procesie odgrywiają krótkołańcuchowe nienasycone węglowodory, w tym szczególnie izomerów Z-pentadecenów i heptadecenów alken Z-6-pentadeken.

Inną chorobą pszczół, o której warto wspomnieć, jest choroba zdeformowanych skrzydeł, wywoływana przez wirus zdeformowanych skrzydeł (Deformed Wing Virus - DWV). Wirus ten przenoszony jest przez pasożyta *V. destructor*, dlatego też u pszczół często się go spotyka. Pohorecka i in. w 2011 przebadali 1000 rodzin z 142 pasiek z całej Polski i stwierdzili, że zainfekowanych pasożytem było 88,7% z nich, a nosicielem DWV było 76% [123]. Wirus ten powoduje zmiany w lotnej frakcji chemicznej czerwiu nim zakażonego [124]. Wynika to z wyższej ekspresji takich związków, jak: 2- an 3-butanodiol oraz kwas 2- i 3-metylobutanowy. Te wskaźniki zapachowe powodują, że pszczoły linii higienicznych intensywniej usuwają chory czerw [125].

W przypadku warrozy zaproponowano zastosowanie czujnika gazu do wykrywania pozostałości kwasu mrówkowego stosowanego do zwalczania *V. destructor*. Miało to na celu monitorowanie skuteczności tego środka w leczeniu warrozy [41].

Garrido i Rosenkranz (2004) [126] zasygnalizowali, że zmiany chemiczne zachodzące w powietrzu ulowym mogłyby być potencjalnie podstawą do ilościowego określenia stopnia zaawansowania warrozy. Zasadnym zatem wydaje się wykorzystanie półprzewodnikowych czujników gazu w wykrywaniu warrozy, a nawet w ilościowym określaniu poziomu infestacji rodzin pszczelich pasożytem *V. destructor*.

Podobnie jest w przypadku zgnilca amerykańskiego pszczół, ponieważ gnijący czerw wydziela mieszaninę kwasów walerianowego, izokapronowego i kapronowego [127]. W efekcie w chorej rodzinie pszczelej powstaje specyficzny zapach. Jest on wyczuwalny nawet przez ludzki nos [128]. O wysokiej skuteczności urządzenia wieloczujnikowego w wykrywaniu zgnilca amerykańskiego wstępnie informował zespół Moran i in. (2019) [129].

Wyniki licznych badań wskazują, że półprzewodnikowe czujniki gazów (MOS) z powodzeniem mogą być stosowane do wykrywania i identyfikacji bakterii [130] [131] [132]. Niewątpliwie jest to dobry sygnał, wskazujący na możliwość wykorzystania elektronicznego nosa do wykrywania bakterii *P. I. larvae*.

Straty w polskich pasiekach wywoływane groźnymi chorobami pszczoł były zawsze dla mnie jako naukowca impulsem do poszukiwania rozwiązań zapobiegającym takim sytuacjom. Pracując w terenie jako lekarz weterynarii wolnej praktyki i inspektor weterynaryjny uznałam, że poważnym czynnikiem stwarzającym ryzyko osypania rodzin pszczelich jest nieumiejętność rozpoznawania przez pszczelarzy objawów warrozy i zgnilca. Postanowiłam, znaleźć narzędzie, które poprzez rozpoznawanie sygnałów płynących z chorych rodzin pozwoli pszczelarzom na szybką reakcję. Pozwoli to zapobiec stratom w pasiekach. Przeprowadzone przeze mnie szerokie badania literaturowe wskazały mi kierunek działań. Skupiłam się na sygnałach zapachowych w postaci lotnych związków, które uwalniają chore pszczoły i czerw pszczeli. W rozróżnianiu gazów, bez konieczności identyfikowania ich składu jakościowego i ilościowego świetnie sprawdzają się półprzewodnikowe czujniki gazów. Badania przeprowadziłam 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”, w którym pełniłam funkcję kierownika zespołu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie i byłam wykonawcą.

### 3.2.2 Cel badań

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

Szczegółowe cele badawcze:

- czy na podstawie badania próbek czerwii pszczelego możliwe jest wykrycie warrozy za pomocą systemu półprzewodnikowych czujników gazu,
- czy na podstawie próbki gazu będącego powietrzem ulowym można w rodzinie pszczelej stwierdzić warrozę za pomocą systemu czujników półprzewodnikowych,
- czy możliwe jest rozpoznawanie poziomu infestacji *V. destructor* w próbkach czerwii 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,

- czy możliwe jest wykrycie obecność *P.I. 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

### 3.2.3 Omówienie cyklu publikacji

W badaniach wykorzystano dwa urządzenia pomiarowe które zawierały system 6 czujników półprzewodnikowych gazów firmy Figaro TGS 823, TGS 826, TGS 832, TGS 2600, TGS 2602, TGS 2603 (tab. 1). Urządzenia zostały skonstruowane w Politechnice Wrocławskiej w Laboratorium Techniki Sensorowych i Badań Jakości Powietrza Wewnętrznego.

Tab. 1. Czujniki użyte w matrycy urządzeń i ich charakterystyka z uwzględnieniem wykrywanych substancji i zakresem detekcji

Czujnik	Wykrywane substancje	Przykładowe zakresy detekcji
TGS 823	opary rozpuszczalników organicznych oraz inne zanieczyszczenia powietrza (H <sub>2</sub> , CO...)	50 ppm ~ 5,000 ppm etanol, n-heksan, benzen, aceton
TGS 826	lotne związki organiczne (LZO), gaz amoniakalny	30 ppm ~ 300 ppm etanol, amoniak, izobutan
TGS 832	odory, gazy chłodnicze, chlorofluorowęglowodory	100 ppm ~ 3,000 ppm R-407c, R-134a, R-410a, R-404a, R-22
TGS 2600	freony, zanieczyszczenia powietrza (H <sub>2</sub> , CO i inne)	1 ppm ~ 100 ppm R-134a, R-22, 1 ~ 10 ppm wodór, 1~ 30 ppm etanol
TGS 2602	lotne związki organiczne, alkohole	1~ 30 ppm etanol, amoniak, toluen
TGS 2603	amoniak, gazy aminowe i siarkowe, alkohole	1 ppm – 30 ppm etanol 0,1 ppm – 3 ppm trimetyloamina

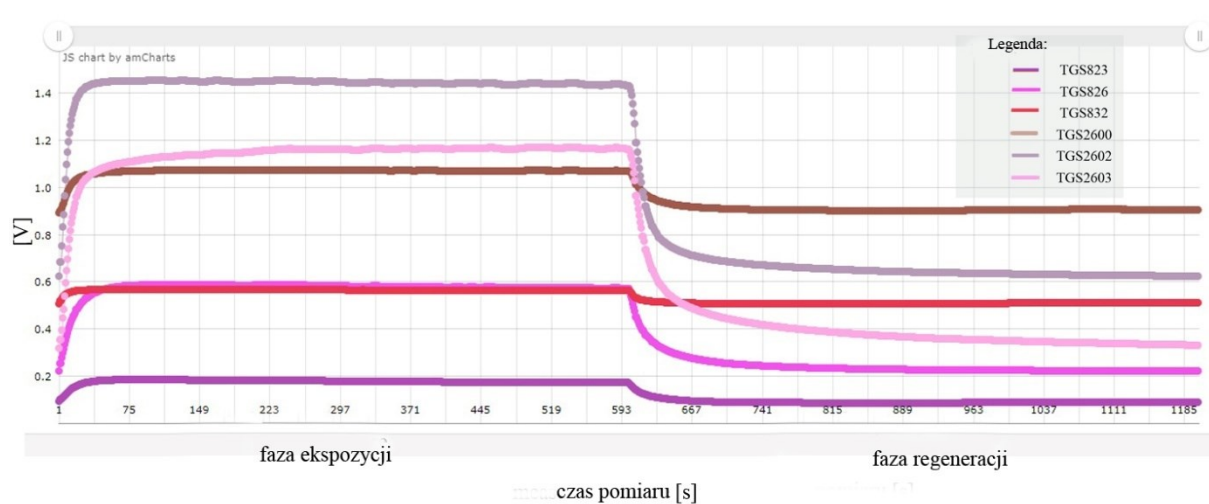
		0,3 ppm – 2 ppm merkaptan metylu
--	--	----------------------------------

W publikacjach P1, w P2 i w P3 pomiary wykonano za pomocą prototypu urządzenia pomiarowego BEECOM. Składa się ono z komponentów MCA-8 i 4 sond MINS. MCA-8 to ośmiokanałowy rejestrator sygnałów czujnikowych zawierający matrycę 6-u czujników. 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. Urządzenie to również posiadało 8 kanałów wlotowych oraz 1 wylotowy raz 6 czujników półprzewodnikowych, natomiast nie posiadało sond MINS.

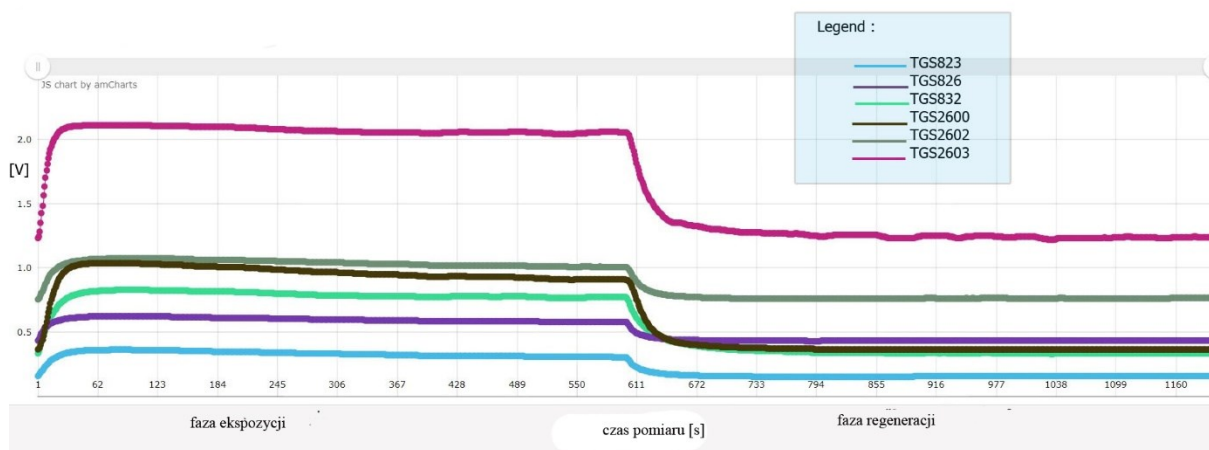
W obu wersjach urządzeń próbki gazów znad badanych obiektów oraz czyste powietrze służące do regeneracji czujników były zasysane do systemu czujników w sposób dynamiczny za pomocą pompy membranowej o maksymalnym przepływie powietrza 5 l/min. Gaz wędrował przez rurkę polipropylenową stanowiącą sondę, podłączoną do określonego kanału wlotowego. Po przejściu przez matrycę czujników gaz opuszczał urządzenie pomiarowe kanałem wylotowym. Na drodze badanej próbki gazu zawsze znajdował się filtr cząstek stałych i pyłu, a na drodze czystego powietrza służącego do regeneracji czujników zastosowano filtr węglowy. Praca urządzeń była sterowana plikiem konfiguracyjnym odpowiednio zaprojektowanym do określonego tematu badawczego.

Pojedynczy pomiar składał się z fazy ekspozycji (pomiar gazu znad badanego obiektu) oraz fazy regeneracji (pomiar czystego powietrza). Dane z odczytów czujników z drugiej fazy posłużyły do zmniejszenia wpływu czynników otoczenia na odczyty czujników uzyskane w pierwszej fazie pomiaru poprzez zastosowanie korekty różnicowej linii bazowej [116] [133] [134]. Czas pojedynczego pomiaru był różny w poszczególnych publikacjach. W **P1** i w **P3** pomiar trwał 20 min., z czego 10 min. stanowiła faza ekspozycji, a 10 min. faza regeneracji (ryc. 1). W **P2** pojedynczy pomiar trwał 25 minut (10 minut faza ekspozycji i 15 minut faza regeneracji). W **P4** pomiar jednej rodziny trwał 45 minut i składał się z 5 minut fazy regeneracji oraz z czterech 10 minutowych pomiarów, które były złożone z 5 minutowej fazy ekspozycji i 5 minutowej fazy regeneracji. Do analiz brano dane po ustabilizowaniu się sygnału pomiarowego. Moment stabilizacji był wskazywany na podstawie wykresu liniowego pomiaru (ryc. 1a i 1b).





a)



b)

Ryc. 1. Przykładowy wykres pomiarowy a) próbki zdrowego czerwiu pszczelego, b) 6-dniowej kolonii bakterii *Peanbacillus larvae larvae* na podłożu MYPGP. Widać wyraźnie, że odczyty większości czujników stabilizowały się z reguły po minucie pomiaru.

Dodatkowo w przypadku badań prowadzonych w warunkach laboratoryjnych, przedstawionych w publikacjach **P1** i **P3** wykorzystano komorę badawczą o wymiarach 32 cm x 22 cm x 32 cm skonstruowaną z pleksiglasu, w celu ujednoczenia warunków badań. W skład stanowiska pomiarowego w laboratorium wchodził prototyp urządzenia pomiarowego BEECOM połączony za pomocą rurki z polietylenu z komorą badawczą.

Obydwe wersje urządzeń: prototypowa oraz komercyjna posiadały możliwość zapisu danych na nośnik przenośny oraz za pośrednictwem modułu Wi-Fi na serwerze. W wersji komercyjnej umożliwiono również zapis danych w pamięci wewnętrznej urządzenia.

*Publikacja 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.

W pracy tej sprawdzono czy system oparty na matrycy 6 półprzewodnikowych czujników gazu wspomagany określonymi klasyfikatorami może wykazać infestację *Varroa destructor* na podstawie pomiarów krytego czerwiu pszczelego. Podjęto również próbę odpowiedzi na pytanie, które czujniki są najbardziej efektywne w tym zakresie. Sprawdzono, czy system jest w stanie rozróżnić stopień nasilenia tej groźnej choroby pszczoł.

W związku z tym, że roztocza *V. destructor* charakteryzują się mimikrą zapachową, co wskazuje na utrudnienia w wykrywaniu substancji zapachowych mogących świadczyć o obecności samych roztoczy, postanowiono wykorzystać inne markery zapachowe pomocne w diagnozowaniu warrozy. Wykorzystano tu zapach chorego czerwiu pszczelego. Badaniu poddano próbki czerwiu krytego pozyskany z pasieki liczącej 19 rodzin pszczelich rasy kraińskiej, linii Kortówka. 5 rodzin pszczelich było zdrowych (średnio 0% zakażonych komórek czerwiu). Tu pozyskano 10 próbek (po 2 próbki z każdej rodziny). Czerw w pozostałych rodzinach pszczelich charakteryzował się różnym poziomem zainfekowania *V. destructor* (od 8,8% do 61,7%). W celu uzyskania próbek do badań z opisywanych rodzin pszczelich, całe plastry z zasklepionym czerwiem były przywiezione do laboratorium i umieszczone w cieplarni w temp. 35°C. Fragmenty zasklepionego czerwiu o średniej powierzchni wynoszącej 64 cm<sup>2</sup> wycinano z plastrów za pomocą skalpela. Świeżo wycięty fragment plastra zawierał na brzegach uszkodzone fragmenty czerwiu, które usuwano pęsetą. Komórki plastra mokre od wyciekającej hemolimfy osuszano ponadto przy użyciu bezzapachowego ręcznika papierowego. Następnie tak przygotowane próbki trafiały ponownie do cieplarki, skąd były stopniowo wyjmowane do badań. Badanie poziomu inwazji pasożytami próbek czerwiu

metodą wyflukowania (flotacji) przeprowadzono po ich przebadaniu za pomocą urządzenia multisensorycznego [8] [17].

W ramach badania wykonano 42 pomiary próbek gazu (obiektów) sklasyfikowanych w 3-ech klasach:

klasa 1 – komora pusta (13 obiektów)

klasa 2 – wycinki plastrów z czerwiem pszczelim zainfekowanym *V. destructor* (średni poziom infestacji wynosił 26,8% , 19 obiektów)

klasa 3 – wycinki plastrów ze zdrowym czerwiem krytym (10 obiektów)

Przy czym w 2. klasie wyszczególniono dwie podklasy:

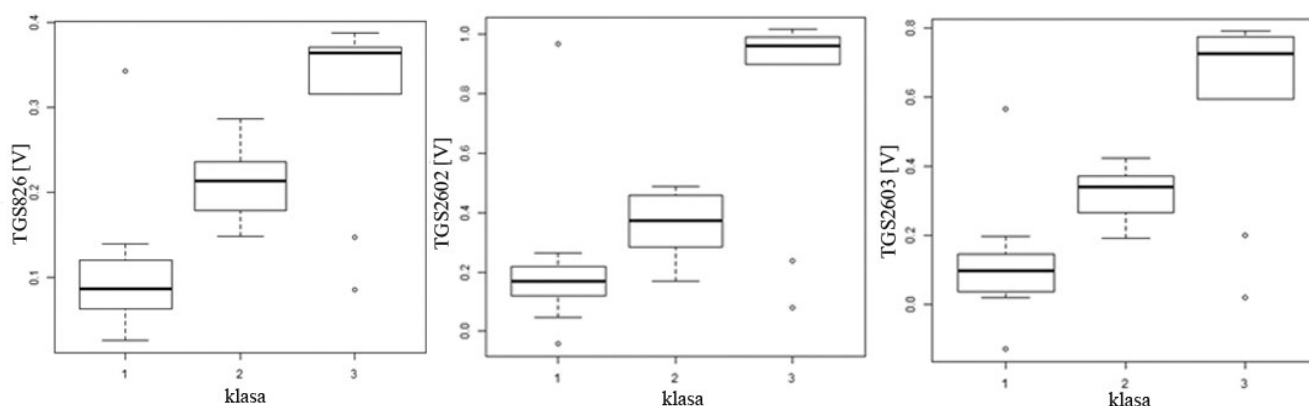
klasa 2.1 – czerw pszczeli zainfekowany *V. destructor* na poziomie od 8% do 25% (średni poziom infestacji wynosił 14,7 %, 7 obiektów)

klasa 2.2 – czerw pszczeli zainfekowany *V. destructor* na poziomie powyżej 25% (średni poziom infestacji wynosił 33,9%, 12 obiektów)

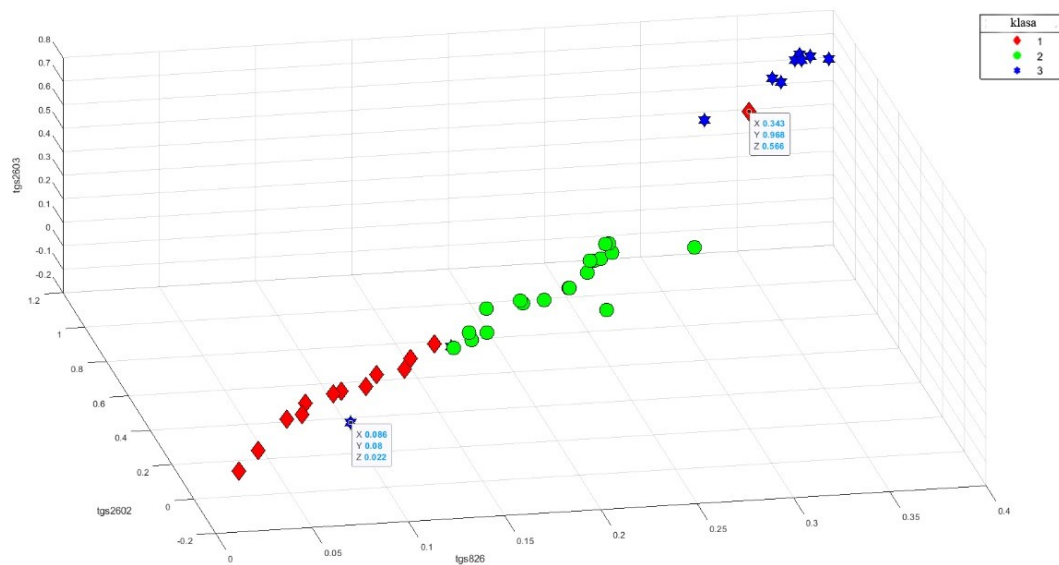
Dane analizowano dla pojedynczych czujników. Wykresy liniowe uzyskane z odczytów czujników na podstawie analizy wizualnej wskazują, że stabilizują się one na pewnym stałym poziomie, odpowiednio: po 250 s dla fazy ekspozycji i po 350 s dla fazy czyszczenia. Wskazuje to nam, że czas trwania badania pojedynczej próbki można byłoby skrócić do 10 min.

Analizie poddano wartości z 270 s odczytu czujnika z pomiaru próbki z różnicową korektą linii bazowej. Na podstawie wizualizacji oceniono efektywność separacji klas oraz przeprowadzono pięciokrotny test walidacji krzyżowej 2 (5xCV2) z domyślnymi ustawieniami w narzędziu RSES (Rough set exploration system). Dodatkowo wykonano 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 (Ryc. 2a i 2b). Tym samym wykazano, że urządzenie jest w stanie rozróżnić obiekty należące do różnych klas, a szczególnie efektywne w tym zakresie okazały się wskazane czujniki.



a



b

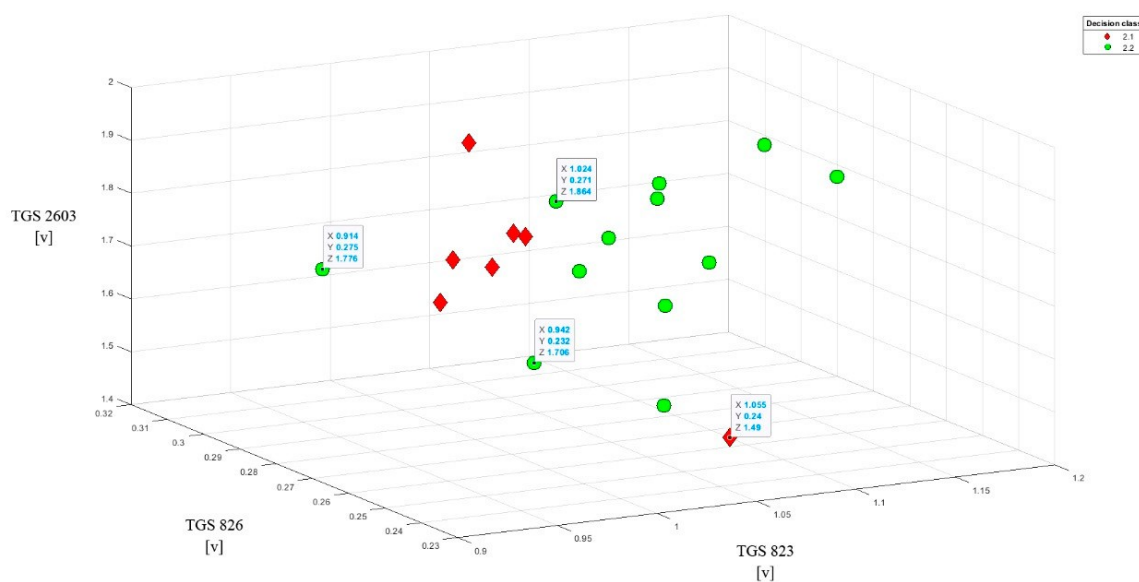
Ryc. 2. a) Analiza średnich odczytów czujnika dla danej klasy oraz b) wizualizacja 3D dla czujników TGS826, TGS2603, TGS2603 wykazały wysoką separowalność klas, co świadczy o zadawalającej skuteczności rozróżniania czerwiu chorego na warzotę od zdrowego i komory pustej

Średnia dokładność zrównoważona klasyfikacji (accuracy balanced) z wykorzystaniem wszystkich czujników w modelu 5xCV2 wynosiła 0.834. TPR dla klasy 1 wynosi 0,836, dla klasy 2 - 0,920, a dla klasy 3 - 0,640. Stosując analogiczny model dla odczytów czujnika TGS2603, średnie wyniki testów są następujące: dokładność zrównoważona wynosi 0,804, TPR klasy 1 wynosi 0,802, klasy 2 - 0,930, a klasy 3 - 0,770. W testach 5xMCCV2 sprawdzało się wiele klasyfikatorów kNN. W tabeli 2 zaprezentowano wyniki dla metod euclidean 2nn oraz nb.num.

Tab. 2. Średnia dokładność zrównoważona klasyfikacji (balanced accuracy) oraz czułość (TPR- true positive rate) dla całej matrycy czujników oraz dla jednego czujnika w klasyfikowaniu próbki gazu

	accuracy balanced	TPR klasa 1	TPR klasa 2	TPR klasa 3
5xCV2 wszystkie czujniki	0,834	0,836	0,920	0,640
5xMCCV2, euclidean 2nn wszystkie czujniki	0,801	0,895	0,880	0,768
5xCV2, TGS2603	0,804	0,802	0,930	0,770
5xMCCV2, nb.num TGS2603	0,822	0,824	0,884	0,838

Na ryc. 3 można zauważyć, że klasy 2.1. i 2.2 grupują się w liniowo separowalne podgrupy. Tylko dwa obiekty są odstające i wchodzą w obszar poza swoimi klasami. Podobne efekty uzyskano analizując następujące zestawy odczytów czujników w wizualizacji 3D: TGS 823 vs. 2600 vs. TGS 2602; TGS 823 vs. TGS 826 vs. 2600, oraz TGS 823 vs. TGS 826 vs. TGS 832.



Ryc. 3 Wizualizacja 3D odczytów czujników z TGS 823, TGS 826, TGS 2603 dla próbek czerwii przynależących do dwóch różnych klas poziomu infekcji *V. destructor*; widoczna wyraźna separacja klas

W pracy przedstawiono nowatorskie podejście do zagadnienia monitorowania warrozy na podstawie badań próbek czerwiu krytego. W przeciwieństwie do metody flotacji metoda ta nie wymaga otwarcia komórek z czerwiem i nie powoduje jego śmierci. Po zbadaniu czerw może być przywrócony do rodziny pszczelej i zostać pomyślnie odchowany.

Zastosowana w prototypie matryca sześciu czujników skutecznie rozpoznaje czerw pszczeli dotknięty warrozą. Trafność w tę klasę wyniosła 0,92, przy bardzo wysokiej dokładności zrównoważonej powyżej 0,8. Wyniki pokazują, że gdyby prototyp miał być wykorzystywany tylko do odróżniania czerwiu zarażonego *V. destructor* od zdrowego, to matryca mogłaby składać się z trzech czujników: TGS 826, TGS 2602, TGS 2603. Jeśli jednak detektor miałby być oparty ze względów ekonomicznych na jednym czujniku, świetnie sprawdziłby się tu TGS 2603, w accuracy balanced i TPR w klasę czerwiu chorego i zdrowego pokrywały się z wartościami tych parametrów obliczonymi dla wszystkich czujników łącznie. Wykazano również że próbki czerwiu mogą być z powodzeniem klasyfikowane w zależności od poziomu inwazji *V. destructor*.

#### Publikacja 2:

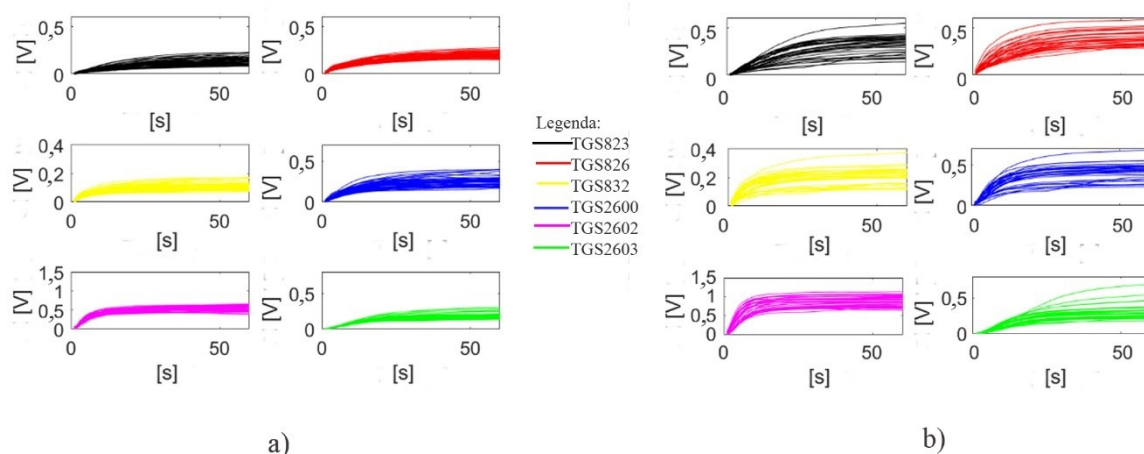
Szczurek A., Maciejewska M., Bąk B., Wilk J., Wilde J., Siuda M. 2020. Detecting varroosis using a gas sensor system as a way to face the environmental threat. *Science of the Total Environment* 722.

Eksperyment przeprowadzono w maju 2019r w miejscowości Dywity (pow. olsztyński, woj. warmińsko-mazurskie). Pomiarów wykonano w 18 rodzinach pszczelich znajdujących się na jednym pasieczysku z czego pierwszą 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*. Badane rodziny znajdowały się w dwukorpusowych ulach styropianowych Ostrowskiej. Punkt pomiarowy (punkt, w którym umieszczono końcówkę sondy pomiarowej) znajdował się między dwoma korpusami nad plastrami z czerwiem 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. Zatem z każdej rodziny powinniśmy uzyskać 19 prawidłowych pomiarów na 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 (tab. 3).

Tab. 3. Poziom zainfekowania *V.destructor* (%) oraz liczba prawidłowych pomiarów dla poszczególnych rodzin pszczelech

nr rodziny grupa A	poziom infestacji <i>V.destructor</i> (%)	liczba prawidłowych pomiarów	nr rodziny grupa B	poziom infestacji <i>V.destructor</i> (%)	liczba prawidłowych pomiarów
1A	24,76	45	1B	2,36	29
2A	0,00	47	2B	0,00	6
3A	3,45	6	3B	6,50	23
4A	2,20	123	4B	2,04	22
5A	0,00	33	5B	0,00	19
6A	1,30	31	6B	1,16	4
7A	2,21	70	7B	3,40	50
8A	0,00	66	8B	0,00	39
9A	2,00	45	9B	1,13	92



Ryc. 4. Przykładowe zbiory sygnałów z pojedynczego czujnika w pierwszej minucie pomiaru w fazie ekspozycji w rodzinach charakteryzujących się zerowym poziomem infestacji *V. destructor*. Rycina a) przedstawia pomiary z rodziny 2A, a rycina b) przedstawia pomiary z rodziny 5A.

Wizualizacje liniowe zbioru sygnałów z pojedynczego czujnika, zarejestrowanych podczas wielokrotnych pomiarów jednej rodziny wykazały się znaczną zmiennością. W zależności od rodziny pszczelej i czujnika obserwowano różny zakres rozrzutu sygnałów. Stwierdzono, że rozrzut sygnału wzrastał wraz z czasem pomiaru, ale po minucie się stabilizował (Ryc. 4).

Dane statystycznie przebadano za pomocą regresji PLS (Partial Least Squares). Jest to wielowariantowa metoda analizy danych ilościowych [135] [136]. Zbadano jakość modeli regresji PLS oraz jakość predykcji opartej na tych modelach. Jako dane wejściowe do modelu wykorzystano odpowiedzi czujników gazu uzyskane podczas pierwszej minuty ekspozycji na powietrze z ula. Wyjściem modelu był poziom zainfekowania rodzin pszczelich *V. destructor*. Współczynnik determinacji  $R^2$  został użyty jako wskaźnik jakości modelu, a błąd średniokwadratowy RMSE został zastosowany do określenia jakości predykcji poziomu infestacji *V. destructor* przy użyciu modelu regresji PLS. Analiza regresji PLS została przeprowadzona dla każdej grupy rodzin pszczelich oddzielnie. Wydajność modeli regresji PLS badano na dwa sposoby. Wariant pierwszy polegał na wykorzystaniu wszystkich ważnych danych pomiarowych do opracowania i testowania modelu. Wariant drugi polegał na wykorzystaniu 70% wszystkich ważnych danych pomiarowych do opracowania modelu, a pozostałe 30% danych przeznaczono do testowania modelu.

Tab. 4. Współczynnik determinacji  $R^2$  użyty jako wskaźnik jakości modelu regresji PLS oraz błąd średniokwadratowy RMSE zastosowany do określenia jakości predykcji poziomu infestacji *V. destructor* w poszczególnych grupach rodzin pszczelich i dla dwóch wariantów traktowania danych

	wariant 1		wariant 2	
	$R^2$	RMSE	$R^2$	RMSE
Grupa A	0,9987	0,25	0,9967	0,40
Grupa B	0,9999	0,02	0,9990	0,06

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. W przypadku rodzin pszczelich z grupy B współczynnik determinacji wynosił  $R^2=0,9999$  dla wariantu 1. Jakość predykcji poziomu infestacji *V. destructor* była lepsza w



grupie B, gdzie błąd średniokwadratowy RMSE był niemalże 10 krotnie niższy niż w grupie A i wynosił 0,02%.

W wariancie 2 traktowania danych współczynnik determinacji wyniósł  $R^2=0,9967$  w przypadku modelu regresji PLS opracowanego dla rodziny pszczelej grupy A, a w przypadku modelu regresji PLS dla rodzin pszczelich z grupy B wynosił  $R^2=0,9990$ . 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 (tab. 4). W związku z tym, przewidywanie poziomu infestacji *V. destructor* w rodzinach pszczelich grupy A było obciążone większym błędem w porównaniu z grupą B, podobnie jak w wariancie 1.

Przeanalizowano również błędy średniokwadratowe RMSE związane z określeniem poszczególnych poziomów infestacji *V. destructor*. Wykazano, że wariant 1 okazał się korzystniejszy, ponieważ dawał niższe błędy średniokwadratowe RMSE. Mimo to, pojedynczy model regresji PLS jest w stanie skutecznie reprezentować zmienność poziomu infestacji *V. destructor* w zakresie od 0% do 24,76%.

Zmienność danych pomiarowych związanych z pojedynczym poziomem infestacji *V. destructor* zależy od charakterystyki rodzin pszczelich, od liczby pomiarów oraz od warunków klimatycznych czy od pory dnia. Te uwarunkowania znajdują odzwierciedlenie w odpowiedziach półprzewodnikowych czujników gazu [137] [138] [139]. Dlatego wskazane jest wykonanie pomiarów w wielu rodzinach pszczelich, o tym samym poziomie infestacji *V. destructor* lub wykonanie wielu pomiarów w jednej rodzinie w celu doskonalenia właściwości generalizacyjnych modelu. Jednak w takich okolicznościach istnieje ryzyko wzrostu poziomu błędów predykcji zmiennych wyjściowych. Oznacza to, że błędy związane z przewidywaniem różnych poziomów infestacji mogą być nierówne, jeśli wskaźniki te były reprezentowane przez zestawy danych pomiarowych o bardzo różnej zmienności. W naszych badaniach ta reguła nie potwierdziła się. W grupie A, dla 0% poziom infestacji zarejestrowano największą liczbę prawidłowych pomiarów (146), a drugi najszerzej reprezentowany poziom infestacji wynosił 2,22% (123 pomiary). Jednakże, błąd predykcji RMSE nie był w tych przypadkach najwyższy. Podobną sytuację odnotowano dla rodzin pszczelich z grupy B, gdzie najliczniej reprezentowane były wskaźniki porażenia 1,13% (93 pomiary), 0% (64 pomiarów) oraz 3,4 (50 pomiarów). Również w tym przypadku błędy predykcji dla tych wskaźników porażenia nie należały do najwyższych. Co ciekawe, w przypadku rodzin pszczelich z grupy A najniższy RMSE

był związany z poziomem infestacji *V. destructor* wynoszącym 4,5%, reprezentowanym przez zaledwie 6 pomiarów. Wyraźnie zatem widać, że błędy nie były proporcjonalne do ilości danych pomiarowych.

W pracy przedstawiono nowatorską metodę oznaczania poziomu infestacji *V. destructor* w rodzinach pszczelich. Metoda ta została oparta na odpowiedziach czujników gazowych na podstawie badania próbki powietrza ulowego oraz regresji PLS (Partial Least Squares). Wykazano, że warroza i poziom jej nasilenia mogą być efektywnie monitorowane za pomocą półprzewodnikowych czujników gazu. Jakość proponowanego modelu jest wysoka, o czym świadczy współczynnik determinacji  $R^2 > 0,99$ . Również dokładność predykcji poziomu infestacji pasożytem w rodzinach pszczelich jest bardzo atrakcyjna, o czym świadczy błąd średniokwadratowy  $RMSE < 0,5\%$ .

#### Publikacja 3:

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

W pracy tej sprawdzono, czy żywe kolonie bakterii *Peenibacillus larvae larvae* są możliwe do wykrycia przez system czujników półprzewodnikowych. W tym celu na 64 płytkach Petriego z podłożem MYPGP wyhodowano *P. l. larvae* ATCC 9545, szczep ERIC I. Inkubacja zachodziła w temperaturze 37° C. Umieszczenie płytek w cieplarnie było uważane za dzień 0. Począwszy od następnego dnia (uznanego za pierwszy dzień 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).

Podczas inkubacji żywe kolonie bakterii widoczne gołym okiem pojawiały się w 3-cim dniu. Miały średnicę 1-3 mm; gładką, błyszczącą i śliską konsystencję oraz były bezbarwne. W celu identyfikacji materiału mikrobiologicznego uzyskanego podczas hodowli wykonano badanie MALDI-TOFMS [140], które potwierdziło identyczność z posianym materiałem.

Badano próbki gazu znad pożywki z kulturą jedno- i dwudniowych kolonii (klasa 23) oraz z widocznymi koloniami bakterii obejmujące hodowle 2-10 dniowe (kultury starsze niż 2 dni

(klasa 24)). Jako kontrolę zastosowano powietrze z pustej komory badawczej (klasa 1). Liczbę obiektów w określonej klasie i wariancie przedstawiono w tab. 5.

Tab. 5. Liczba obiektów z określonej klasy przebadanych przez poszczególne urządzenia w komorze styropianowej i drewnianej

Wariant	klasa 1	klasa 23	klasa 24
M1, komora drewniana	14	12	49
M1, komora styropianowa	14	11	49
M2, komora drewniana	9	11	50
M2, komora styropianowa	9	11	49

Wizualizacja średnich surowych odczytów czujników wykazała, że klasy się wyraźnie separują. Stwierdzono również, że odczyty z dwóch egzemplarzy nie pokrywają się. Mówimy tu o efekcie dryfu czujnika [141], co powoduje, że każdy egzemplarz urządzenia wymaga indywidualnego podejścia do kalibracji, na przykład poprzez zastosowanie odpowiedniego algorytmu [142]. Obrazy odczytów matrycy czujników uzyskanych dla komory drewnianej i styropianowej były wizualnie podobne.

Surowe dane wykorzystane do analiz poddano różnicowej korekcie linii bazowej. W celu uzyskania prostej i efektywnej techniki klasyfikacji zaprojektowano klasyfikator dla numerycznego systemu decyzyjnego z małymi niezerównoważonymi klasami decyzyjnymi, którymi charakteryzowały się badane dane. Zastosowano metodę k-najbliższych sąsiadów, metodę naiwnego Bayesa oraz własną technikę głosowania ważonego algorytm 811 [143]. W sumie sprawdzono 15 metod klasyfikacyjnych.

Wyniki klasyfikacji walidacyjnej 5 x MCCV-5 w układzie określona klasa vs. inne klasy wskazały metodę canberra.811 jako najlepszą. Nie zawsze jednak dawała ona satysfakcjonujące rezultaty. Zaobserwowano bardzo niski tpr23, poniżej 0,3 dla obu urządzeń. Mimo to acc<sub>balanced</sub> było w większości przypadków satysfakcjonujące i poza jednym przypadkiem dawało wartości powyżej 0,6.

W związku z niekorzystną separowalnością klasy 23, zbadano również wyniki 5 x MCCV-5 walidacji w konfiguracji jeden vs jeden (określona klasa vs inna klasa). Spośród 15 klasyfikatorów metody canberra.1nn oraz manhattan.1nn okazały się być najbardziej efektywne. W zestawieniu danych klasy 23 z klasą 24 wykazano, że urządzenie M1 w

drewnianej komorze nie mogło wykryć pożywki MYPGP z kulturą, ale bez widocznych kolonii (TPR = 0,14), a w komorze styropianowej poziom wykrywalności był bardzo niski (TPR=0,42). W przeciwieństwie do tego, urządzenie M1 było doskonałe w wykrywaniu widocznych kolonii *P. l. larvae* na podłożu MYPGP. W komorze drewnianej skuteczność wynosiła 0,81%, a w komorze styropianowej 0,85%. Urządzenie M2 w konfiguracji klas (23 vs. 24) było dokładniejsze. Wykrywalność podłoża MYPGP bez wyrośniętych kolonii bakterii w komorze drewnianej wynosiła 66%, a w styropianowej 70%. Widoczne kolonie bakterii *P. l. larvae* w obu komorach zostały rozpoznane przez urządzenie M2 ze skutecznością 88% (tab. 6).

Tab. 6. Uzyskane wartości tpr dla klasy 23 i 24 oraz acc<sub>balanced</sub> w teście walidacyjnym 5 x MCCV-5 w konfiguracji klasa 23 vs klasa 24 dla testu manhattan.1nn, urządzenia M1 i M2 w komorze drewnianej i styropianowej

Urządzenia	M1		M2	
	drewniana	styropianowa	drewniana	styropianowa
tpr <sub>23</sub>	0,138	0,423	0,657	0,702
tpr <sub>24</sub>	0,806	0,849	0,877	0,880
acc <sub>balanced</sub>	0,450	0,596	0,676	0,695

Obydwa urządzenia 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 uzyskano wynik 100% (tab. 7).

Tab. 7. Uzyskane wartości tpr dla klasy 1 i 24 oraz acc<sub>balanced</sub> w teście walidacyjnym 5 x MCCV-5 w konfiguracji klasa 1 vs klasa 24 dla testu canberra.1nn, urządzenia M1 i M2 w komorze drewnianej i styropianowej

urządzenia	M1		M2	
	drewniana	styropianowa	drewniana	styropianowa
tpr <sub>1</sub>	0,913	1,000	0,973	1,000
tpr <sub>24</sub>	0,914	0,997	0,992	0,958
acc <sub>balanced</sub>	0,826	0,996	0,977	0,894

Półprzewodnikowe czujniki gazu (MOS) zostały już wcześniej wykorzystane z sukcesem do wykrywania i identyfikacji bakterii [131] [130]. Bakterie *Listeria monocytogenes* i *Bacillus cereus* inkubowane w bulionie sojowym Tryptic (TSB) były identyfikowane przez zestaw czujników półprzewodnikowych z 98% skutecznością [132]. *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* i *Micrococcus varians* zostały sklasyfikowane przez urządzenie z sześcioczujnikową matrycą TGSXXX z 90,5% skutecznością [144]. Przedstawiony w P3 eksperyment pozwolił uzyskać równie satysfakcjonujące rezultaty. Kolonie *P. l. larvae* na podłożu MYPGP przez matrycę 6-czujnikową w warunkach laboratoryjnych mogą być wykryte ze średnią dokładnością na poziomie ponad 97%.

#### Publikacja 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.

Badanie skuteczności wykrywania za pomocą czujników półprzewodnikowych bakterii *P. l. larvae* w warunkach laboratoryjnych przyniosło obiecujące rezultaty. Dało to przesłanki do sprawdzenia możliwości tego narzędzia w wykrywaniu zgnilca amerykańskiego w warunkach terenowych. Do tego celu, po uzyskaniu zgody właściwego powiatowego lekarza weterynarii, wykorzystano pasiekę, w której wystąpiły objawy tej choroby. Pasieka liczyła 18 rodzin pszczelich, z czego utworzono dwie klasy rodzin:

- klasa 0 - rodziny chore na zgnilca amerykańskiego (stwierdzono objawy kliniczne, chorobę potwierdzono za pomocą laboratoryjnych badań urzędowych) – 9 obiektów
- klasa 1 – rodziny zdrowe – 9 obiektów, brak objawów klinicznych zgnilca amerykańskiego.

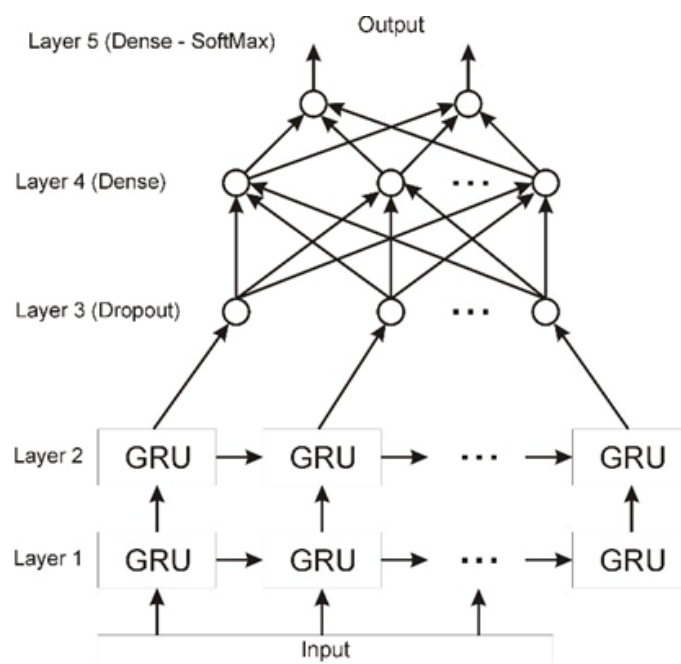
Rodziny pszczele znajdowały się w ulach drewnianych warszawskich poszerzanych. Punkt pomiarowy (punkt w którym umieszczano końcówkę sondy) znajdował się w środku gniazda pszczelego między plastrami z czerwiem krytym. W eksperymencie wykorzystano 3 egzemplarze urządzenia: Beecom 1, Beecom 2, Beecom 3. Każde urządzenie badało po kolei naprzemiennie raz rodzinę zdrową, a raz chorą. W ten sposób każdy egzemplarz przebadał wszystkie rodziny. Wszystkie egzemplarze urządzenia wykonywały pomiary w tym samym

czasie w różnych rodzinach. Pomiary wykonano we wrześniu 2020 r. w woj. warmińsko-mazurskim.

Każdy pomiar pozwolił uzyskać 4 pliki pomiarowe obejmujące kolejne 10-minutowe sekwencje składające się łącznie na 40 min pomiaru. Każdy plik pomiarowy obejmował 5 min. fazę ekspozycji oraz 5 min. fazę regeneracji obiektu. Do analiz wybrano trzeci i czwarty plik pomiarowy jako pomiary referencyjne, ponieważ wykazały one wzorową stabilność odczytów w stosunku do pierwszego i drugiego pomiaru. W związku z tym możemy stwierdzić, że aby rozpoznać rodziny pszczoły chore na zgnilca amerykańskiego, powinniśmy pobierać próbki gazu przez co najmniej pół godziny. Należy pamiętać, że są to warunki polowe. Inaczej jest w przypadku testów laboratoryjnych, gdzie matryca tych samych czujników dała stabilne odczyty już w pierwszym i jedynym pomiarze (10 min sesji pomiarowej) [145] [146] [147].

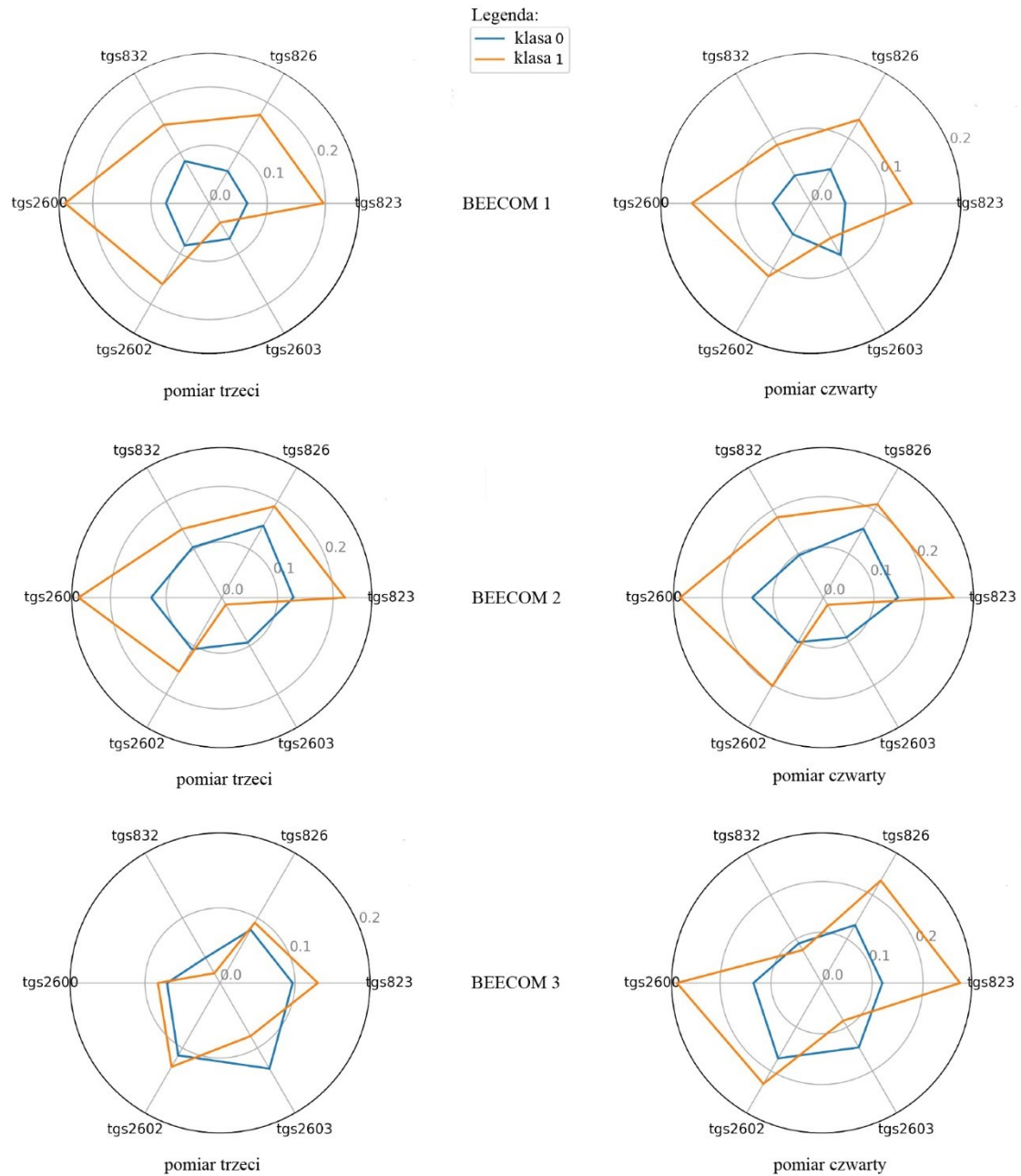
Dane poddano działaniom przedprocesowym w 6-ciu wariantach. Wykonano wizualizację średnich odczytów czujników. Zweryfikowano 12 metod klasyfikacyjnych, posługując się testem Monte Carlo w walidacji krzyżowej (MCCV). Określone sekwencje danych poddano również analizie z wykorzystaniem sieci neuronowych. Dane wejściowe to zbiór próbek zawierających wielowymiarowe wartości zmiennych w czasie. Dla każdej sekwencji danych o długości 600 s zawierających atrybuty w postaci wartości z 6 czujników mieliśmy jedną decyzję, która jednoznacznie określała, czy próbka należy do zdrowej rodziny pszczoły lub czy mamy do czynienia z jednostką chorobową.

W badaniach zastosowano sieci neuronowe sekwencyjne oparte o komórki GRU (GatedRecurrent Unit). Architektura sieci jaka została zastosowana do przedstawionego problemu, była architekturą wielowarstwową, składającą się z dwóch warstw wejściowych sekwencyjnych, warstwy regularyzacji opartej na technice dropout, oraz wyjścia składającego się z warstwy Dense, oraz Softmax (ryc. 5).



Ryc. 5. Model użytej sieci neuronowej

Przeanalizowano matrycowy obraz skomplikowanego gazu pochodzącego z rodzin chorych i zdrowych. Wizualizacje średnich odczytów czujników poddane sześciu różnym wariantom działań przedprocesowych pokazały, że klasy wyraźnie się separują. Na ryc. 6 przedstawiono wyniki wizualizacji danych surowych podniesionych do kwadratu. Taka klarowna separacja klas potwierdza zdolność matrycy sześcioczujnikowej do odróżniania rodzin chorych na zgnilca amerykańskiego od zdrowych. Zauważono również, że odczyty poszczególnych czujników z każdego urządzenia różnią się między sobą, co wynika z dryfu czujnika [141]. Ten fakt oraz wysoka zmienność składu gazu, jakim jest powietrze ulowe postawiły przed naszym zespołem badawczym pytanie, w jaki sposób kalibrować urządzenia oparte na czujnikach półprzewodnikowych służące do badania rodzin pszczelich. Nie da się przecież w tym wypadku stworzyć wzorcowej próbki powietrza ulowego dla wszystkich urządzeń. Doszliśmy do wniosku, że jedynym słusznym rozwiązaniem jest indywidualne podejście do każdego zestawu czujników oraz dobranie odpowiedniego klasyfikatora dla określonego problemu badawczego. Klasyfikatory są algorytmami uczącymi się, które można wytrenować [142]. Zatem każde urządzenie można wyuczyć rozpoznawać chorobę w ulu. Czym więcej danych będzie wprowadzone do urządzenia z rodzin chorych i zdrowych, tym urządzenie będzie dokładniej rozpoznawać chorobę.



Ryc. 6. Wizualizacja średnich odczytów czujników podniesionych do kwadratu dla poszczególnych egzemplarzy urządzenia i określonych pomiarów

Najlepszą metodą klasyfikacji okazała się technika `svm_linear`, która działała skutecznie i stabilnie we wszystkich testowanych wariantach działań przedprocesowych. Najkorzystniejsze accuracy balanced (od 0,62 do 0,75) uzyskiwano w wariancie 4, w którym surowe dane poddano korekcie różnicowej polegającej na odjęciu od maksymalnego odczytu fazy ekspozycji minimalnego odczytu fazy regeneracji (Tab. 8).



Tab. 8. Wyniki działania klasyfikatora svm\_linear dla danych z określonych pomiarów przygotowanych według wariantu 4; pogrubiona czcionka wyszczególnia satysfakcjonujące rezultaty

urządzenie i pomiar	accuracy <i>balanced</i>	accuracy <sub>0</sub>	accuracy <sub>1</sub>
BEECOM 1 pomiar trzeci	<b>0,75</b>	0,67	0,83
BEECOM 1 pomiar czwarty	<b>0,69</b>	0,55	0,83
BEECOM 2 pomiar trzeci	<b>0,74</b>	0,67	0,8
BEECOM 2 pomiar czwarty	<b>0,69</b>	0,60	0,77
BEECOM 3 pomiar trzeci	0,51	0,34	0,68
BEECOM 3 pomiar czwarty	<b>0,62</b>	0,52	0,72

W omawianym zagadnieniu stosowano klasyfikację binarną, dla której wartość wyjściowa 0 oznaczała próbkę z rodziny chorej, a wartość wyjściowa 1 oznaczała próbkę z rodziny zdrowej. W przedstawionej sieci posiadamy na wyjściu dwa sygnały, aktywacja tylko pierwszego z nich oznacza próbkę chorą [1 0], aktywacja tylko drugiego oznacza próbkę zdrową [0 1] (tylko w idealnych warunkach) (Tab. 9). Dla rzeczywistych danych na podstawie wyników predykcji można ocenić, w jakim stopniu próbki przystają do modelu, czy wskazują na preferencję dla wybranej klasy czy są neutralne. Kolejną istotną korzyścią z przyjętego modelu była możliwość analizy w każdym kolejnym kroku czasowych danych n-wymiarowych, w naszym przypadku 6-wymiarowych.

Tab. 9. Wyniki dla próby TRN-TST (w stosunku 90% do 10 %). Seria z numerem oznacza kolejne urządzenie Beesensor V.2. Pozostała część nazwy jest związana z wewnętrzną organizacją programu

seria1.2_1: [1 0] -> [0.7803 0.2197]
seria1.2_10: [1 0] -> [0.84 0.1597]
seria1.2_13: [0 1] -> [0.8584 0.1415]
seria2.2_11: [1 0] -> [0.7495 0.2502]
seria2.2_14: [0 1] -> [0.8613 0.139 ]
seria2.2_17: [0 1] -> [0.849 0.1508]
seria3.2_1.: [1 0] -> [0.8296 0.1704]
seria3.2_10: [1 0] -> [0.8496 0.15 ]

seria3.2_11: [0 1] -> [0.4597 0.54 ]
seria3.2_12: [1 0] -> [0.8364 0.1636]
seria3.2_13: [0 1] -> [0.003414 0.996]
Accuracy: 72.73

Czujniki oparte na tlenkach metali (MOS) zostały użyte z dobrymi wynikami do detekcji dla wielu chorób człowieka, takich jak: infekcje dróg moczowych [148], rak [149], cukrzyca [150], czy choroby jelit [151], [14]. Sprawdzają się one również w wykrywaniu chorób zwierząt. Fend i wsp. 2005 [152] z powodzeniem wykorzystali matrycę czujników do diagnozowania zakażenia *Mycobacterium bovis* u borsuków i bydła. Urządzenia oparte na czujnikach półprzewodnikowych gazu odniosły również sukces w diagnostyce weterynaryjnej w przypadkach: ostrej niewydolności wątroby szczurów [153], grzybicy skóry u owiec [154], czy zespołu białego nosa u nietoperzy żyjących w jaskiniach [155]. Nasze badania wykrywania zgnilca amerykańskiego w warunkach terenowych w żywych rodzinach pszczelich dały zadowalające wyniki. Badania diagnostyczne zgnilca amerykańskiego w warunkach polowych nie były do tej pory przez nikogo prowadzone. Są to badania całkowicie innowacyjne.

Zespół naukowców Moran i in. (2019) [129] wykonał, metodą chromatografii gazowej spektrometrii masowej (GC-MS), wstępną identyfikację związków lotnych (VC). Miały one stać się m.in. lotnymi biomarkerami AFB i być w przyszłości wykorzystane jako wskaźniki diagnostyczne przez urządzenie typu „elektroniczny nos”. Dalsze wyniki badań nie zostały jednak przedstawione. Nie wiadomo również na którego typu czujnikach miałyby być oparte urządzenie.

Celowo przeprowadzono eksperyment w miesiącach jesiennych i w chłodne dni (13°C). Aktywność pszczół była wtedy niska i nie było dodatkowych czynników zapachowych zarówno wewnątrz gniazda pszczół (np. napływ świeżego nektaru i rójka), jak i poza ulem (kwitnienie intensywnie pachnących roślin), które mogłyby zakłócić odczyty czujników. Pora przeprowadzenia eksperymentu pozwoliła dodatkowo, zredukować do zera możliwość wywołania rabunku w pasiece, który mógłby przyczynić się do przeniesienia zgnilca amerykańskiego z rodzin chorych do zdrowych. Uzyskano bardzo satysfakcjonujące rezultaty. Sekwencyjna sieć neuronowa dała nam zadowalające wyniki klasyfikacji na poziomie 73%. Wynik ten był porównywalny ze średnim wynikiem klasyfikacji uzyskanym za pomocą metody svm\_linear dla dwóch egzemplarzy urządzenia wynoszącym 72%.

Badania te są przełomowe, a wyniki mają aspekt czysto praktyczny. Umożliwią pszczelarzom szybkie wykrywanie zgnilca amerykańskiego, a tym samym zapobiegną rozprzestrzenianiu się tej niebezpiecznej choroby w terenie.

#### 3.2.4 Podsumowanie i wnioski

Do najważniejszych osiągnięć naukowych badań ujętych w omawianym cyklu publikacji można zaliczyć

1. Wykazanie że warroza może być z powodzeniem rozpoznawana na podstawie badania próbek czerwiu krytego za pomocą sytemu czujników półprzewodnikowych.
2. Udowodnienie, iż możliwe jest klasyfikowanie próbek czerwiu krytego w zależności od poziomu infestacji *V. destructor* na podstawie wyników badań ich za pomocą systemu czujników półprzewodnikowych.
3. Wykazanie, że wykrywanie warrozy w rodzinach pszczelich na podstawie badania powietrza ulowego pochodzącego z centralnej części gniazda pszczelego za pomocą sytemu czujników półprzewodnikowych jest możliwe.
4. Wskazanie, że pojedynczy model regresji PLS jest wystarczający do reprezentowania poziomu infestacji rodzin pszczelich z zakresu porażenia *V. destructor* od 0% do 25%.
5. Udowodnienie, że możliwe jest wykrycie kolonii *P.l. larvae* na podłożu MYPGP za pomocą matrycy czujników półprzewodnikowych.
6. Wykazanie, że dopiero dwudniowe kolonie *P.l. larvae sa wykrywalne* za pomocą systemu czujników gazu.
7. Udowodnienie, że zgnilec amerykański w rodzinach pszczelich jest skutecznie wykrywany za pomocą matrycy czujników półprzewodnikowych.
8. Wykazanie, że czujniki TGS823, TGS826 , TGS2602 oraz TGS2603 są najbardziej reaktywne w stosunku do gazów badanych podczas przeprowadzonych eksperymentów.
9. Wyznaczenie najskuteczniejszych metod klasyfikacyjnych niezbędnych w monitorowaniu warrozy i zgnilca europejskiego pszczół za pomocą systemu czujników półprzewodnikowych.
10. Wskazanie, że 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.

### 3.2.5. Piśmiennictwo

1. Kostecki, R. Warroza - nowa choroba roztoczowa pszczoły miodnej w Polsce. *Medycyna Weterynaryjna* **1981**, 37, 272–277.
2. Fries, I.; Camazine, S.; Sneyd, J. Population Dynamics of *Varroa jacobsoni*: A Model and a Review. <http://dx.doi.org/10.1080/0005772X.1994.11099190> **2015**, 75, 5–28, doi:10.1080/0005772X.1994.11099190.
3. Calis, J.N.M.; Fries, I.; Ryrie, S.C. Population modelling of *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* **1999**, 30, 111-124.
4. Maidana, N.A.; Benavente, M.A.; Eguaras, M. A Model in Differential Equations to Describe the Mite *Varroa Destructor* Population Dynamic in *Apis Mellifera* Colonies. *Foro-Red-Mat: Revista electrónica de contenido matemático*, **2005** ISSN , 16 (9), 1405-1745.
5. Taylor, K.S.; Waller, G.D.; Crowder, L.A. Impairment of a classical conditioned response of the honey bee (*Apis mellifera* L.) by sublethal doses of synthetic pyrethroid insecticides. *Apidologie* **1987**, 18, 243–252, doi:10.1051/APIDO:19870304.
6. Collins, A.M.; Pettis, J.S.; Wilbanks, R.; Feldlaufer, M.F. Performance of honey bee (*Apis mellifera*) queens reared in beeswax cells impregnated with coumaphos. <http://dx.doi.org/10.1080/00218839.2004.11101123> **2015**, 43, 128–134, doi:10.1080/00218839.2004.11101123.
7. Haarmann, T.; Spivak, M.; Weaver, D.; Weaver, B.; Glenn, T. Effects of fluvalinate and coumaphos on queen honey bees (Hymenoptera: Apidae) in two commercial queen rearing operations. *Journal of economic entomology* **2002**, 95, 28–35, doi:10.1603/0022-0493-95.1.28.
8. Fries, I.; Aarhus, A.; Hansen, H.; Korpela, S. Comparison of diagnostic methods for detection of low infestation levels of *Varroa jacobsoni* in honey-bee (*Apis mellifera*) colonies. *Experimental and Applied Acarology* **1991**, 10, 279-287, doi:10.1007/BF01198656.
9. Underwood, R.M.; Currie, R.W. The effects of temperature and dose of formic acid on treatment efficacy against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), a parasite of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Experimental and Applied Acarology* **2003**, 29, 303–313, doi:10.1023/A:1025892906393.
10. Strachecka, A.J.; Paleolog, J.; Borsuk, G.; Olszewski, K. The influence of formic acid on the body surface proteolytic system at different developmental stages in *Apis mellifera* L. workers. <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.51.3.06> **2015**, 51, 252–262, doi:10.3896/IBRA.1.51.3.06.
11. Floris, I.; Satta, A.; Cabras, P.; Garau, V.L.; Angioni, A. Comparison between two thymol formulations in the control of *Varroa destructor*: effectiveness, persistence, and residues. *Journal of economic entomology* **2004**, 97, 187–191, doi:10.1093/JEE/97.2.187.
12. Masry, S.H.D.; Abd El-Wahab, T.E.; Rashad, M. Evaluating the impact of jatropha oil extract against the *Varroa* mite, *Varroa destructor* Anderson & Trueman (Arachnida: Acari: Varroidae), infesting honeybee colonies (*Apis mellifera* L.). *Egyptian Journal of Biological Pest Control* **2020**, 30, 1–7, doi:10.1186/S41938-020-00292-3/TABLES/5.

13. Škerl, M.I.S.; Rivera-Gomis, J.; Gajger, I.T.; Bubnič, J.; Talakić, G.; Formato, G.; Baggio, A.; Mutinelli, F.; Tollenaers, W.; Laget, D.; et al. Efficacy and Toxicity of VarroMed® Used for Controlling Varroa destructor Infestation in Different Seasons and Geographical Areas. *Applied Sciences* **2021**, *11*, 8564 - 8564, doi:10.3390/APP11188564.
14. Covington, J.A.; Westenbrink, E.W.; Ouaret, N.; Harbord, R.; Bailey, C.; O'Connell, N.; Cullis, J.; Williams, N.; Nwokolo, C.U.; Bardhan, K.D.; et al. Application of a Novel Tool for Diagnosing Bile Acid Diarrhoea. *Sensors* **2013**, *13*, 11899-11912, doi:10.3390/S130911899.
15. Imdorf, A.; Bogdanov, S.; Ochoa, R.I.; Calderone, N.W. Use of essential oils for the control of Varroa jacobsoni Oud. in honey bee colonies. *Apidologie* **1999**, *30*, 209–228, doi:10.1051/APIDO:19990210.
16. Bąk, B.; Wilde, J.; Siuda, M. Efficiency of Varroa destructor management with medications used in Poland. *Medycyna Weterynaryjna* **2013**, *69*, 744-748.
17. Dietemann, V.; Nazzi, F.; Martin, S.J.; Anderson, D.L.; Locke, B.; Delaplane, K.S.; Wauquiez, Q.; Tannahill, C.; Frey, E.; Ziegelmann, B.; et al. Standard methods for varroa research. *Journal of Apicultural Research* **2013**, 52.
18. Delaplane, K.S.; Berry, J.A.; Skinner, J.A.; Parkman, J.P.; Hood, W.M. Integrated pest management against varroa destructor reduces colony mite levels and delays treatment threshold. *Journal of Apicultural Research* **2005**, *44*, 157–162, doi:10.1080/00218839.2005.11101171.
19. Jack, C.J.; Ellis, J.D. Integrated Pest Management Control of Varroa destructor (Acari: Varroidae), the Most Damaging Pest of (Apis mellifera L. (Hymenoptera: Apidae)) Colonies. *Journal of Insect Science (Online)* **2021**, *21*, 1-32, doi:10.1093/JISESA/IEAB058.
20. Sammataro, D.; Hoffman, G.D.; Wardell, G.; Finley, J.; Ostiguy, N. Testing a combination of control tactics to manage varroa destructor (acari: Varroidae) population levels in honey bee (hymenoptera: Apidae) colonies. *International Journal of Acarology* **2004**, *30*, 71–76, doi:10.1080/01647950408684371.
21. Topolska, G.; Gajda, A.; Pohorecka, K.; Bober, A.; Kasprzak, S.; Skubida, M.; Semkiw, P. Winter colony losses in Poland. *Journal of Apicultural Research* **2010**, *49*, 126–128, doi:10.3896/IBRA.1.49.1.27.
22. Matheson, A.; Reid, M. Bee Mortality and Bee Surveillance in Europe; Bee Mortality and Bee Surveillance in Europe. *American Bee Journal* **1992**, *132*, 6–8, doi:10.2903/sp.efsa.2009.EN-27.
23. Spleen, A.M.; Lengerich, E.J.; Rennich, K.; Caron, D.; Rose, R.; Pettis, J.S.; Henson, M.; Wilkes, J.T.; Wilson, M.; Stitzinger, J.; et al. A national survey of managed honey bee 2011-12 winter colony losses in the United States: Results from the bee informed partnership. *Journal of Apicultural Research* **2013**, *52*, 44–53, doi:10.3896/IBRA.1.52.2.07.
24. Vanengelsdorp, D.; Underwood, R.; Caron, D.; Hayes, J. An Estimate of Managed Colony Losses in the Winter of 2006-2007: A Report Commissioned by the Apiary Inspectors of America. **2007**.
25. Le Conte, Y.; Huang, Z.Y.; Roux, M.; Zeng, Z.J.; Christidès, J.P.; Bagnères, A.G. Varroa destructor changes its cuticular hydrocarbons to mimic new hosts. *Biology Letters* **2015**, *11*, doi:10.1098/rsbl.2015.0233.
26. Neumann, P.; Carreck, N.L. Honey bee colony losses. **2015**, *49*, 1–6, doi:10.3896/IBRA.1.49.1.01.
27. Vanengelsdorp, D.; Caron, D.; Hayes, J.; Underwood, R.; Henson, M.; Rennich, K.; Spleen, A.; Andree, M.; Snyder, R.; Lee, K.; et al. A national survey of managed honey bee 2010–11 winter

- colony losses in the USA: results from the Bee Informed Partnership. <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.51.1.14> **2015**, *51*, 115–124, doi:10.3896/IBRA.1.51.1.14.
28. vanEngelsdorp, D.; Evans, J.D.; Saegerman, C.; Mullin, C.; Haubruge, E.; Nguyen, B.K.; Frazier, M.; Frazier, J.; Cox-Foster, D.; Chen, Y.; et al. Colony Collapse Disorder: A Descriptive Study. *PLOS ONE* **2009**, *4*, e6481, doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0006481.
  29. BALL, B. V.; ALLEN, M.F. The prevalence of pathogens in honey bee (*Apis mellifera*) colonies infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni*. *Annals of Applied Biology* **1988**, *113*, 237–244, doi:10.1111/J.1744-7348.1988.TB03300.X.
  30. Gliński, Z.; Jarosz, J. Deleterious effects of *Varroa jacobsoni* on the honey bee. *Apiacta* **1988**, *23*, 42–55.
  31. Gliński, Z.; Jarosz, J. Microorganisms associated fortuitously with *Varroa jacobsoni* mite. *Microbios* **1990**, *62*.
  32. Pohl, F.; Ritter, W. New results of two virus disease (AVP, SBV) of the host in sexual maturation and oviposition of *Varroa jacobsoni* (Acari: Mesostigmata, Varroidae). *Revista de Biologia Tropical* **1997**, *34*, 157–160.
  33. Strick, H.; Madel, G. Varroatose und bakterielle Sekundarseuchen. *ADIZ* **1986**, *20*, 321–325.
  34. Martin', S.; Hogarth, A.; Van Breda, J.; Perrett, J. Scientific note A scientific note on *Varroa jacobsoni* Oudemans and the collapse of *Apis mellifera* L. colonies in the United Kingdom, *Apidologie* **1998**, *29*, 369-370.
  35. Martin, S.J. The role of *Varroa* and viral pathogens in the collapse of honeybee colonies: a modelling approach. *Journal of Applied Ecology* **2001**, *38*, 1082–1093, doi:10.1046/J.1365-2664.2001.00662.X.
  36. Tentcheva, D.; Gauthier, L.; Zappulla, N.; Dainat, B.; Cousserans, F.; Colin, M.E.; Bergoin, M. Prevalence and seasonal variations of six bee viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* mite populations in France. *Applied and Environmental Microbiology* **2004**, *70*, 7185–7191, doi:10.1128/AEM.70.12.7185-7191.2004/ASSET/399A694D-EAA1-47D5-A1A4-4DE48D51C781/ASSETS/GRAPHIC/ZAM0120450270005.JPEG.
  37. Carreck, N.L.; Ball, B. V.; Martin, S.J. Honey bee colony collapse and changes in viral prevalence associated with varroa destructor. *Journal of Apicultural Research* **2010**, *49*, 93-94, doi:10.3896/IBRA.1.49.1.13.
  38. Carreck, N.L.; Ball, B. V.; Martin, S.J. The epidemiology of cloudy wing virus infections in honey bee colonies in the UK. *Journal of Apicultural Research* **2010**, *49*, 66-71, doi:10.3896/IBRA.1.49.1.09.
  39. Martin, S.J.; Ball, B. V.; Carreck, N.L. Prevalence and persistence of deformed wing virus (DWV) in untreated or acaricide-treated *Varroa destructor* infested honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Journal of Apicultural Research* **2010**, *49*, 72–79, doi:10.3896/IBRA.1.49.1.10.
  40. Ramsey, S.D.; Ochoa, R.; Bauchan, G.; Gulbranson, C.; Mowery, J.D.; Cohen, A.; Lim, D.; Joklik, J.; Cicero, J.M.; Ellis, J.D.; et al. *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2019**, *116*, 1792–1801, doi:10.1073/PNAS.1818371116/SUPPL\_FILE/PNAS.1818371116.SAPP.PDF.
  41. Genath, A.; Hofmann, M.; Tiebe, C.; Einspanier, R. Proof-of-concept trial of the portable electronic nose PEN3 for detection of formic acid concentration in the beehive. **2019**, 794-799,

- doi:10.5162/sensoren2019/P3.10.
42. Donzé, G.; Fluri, P.; Imdorf, A.; Rayner, R.; Crocker, R. A. look under the cap: The reproductive behavior of *Varroa* in the capped brood of the honey bee. *scientificbeekeeping.com* **1998**.
  43. Beetsma, J.; Boot, W.; Calis J. Invasion behaviour of *Varroa jacobsoni* Oud.: from bees into brood cells. *Apidologie* **1999**, 30, 125-40.
  44. Stiven, M.; A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Ecological Modelling* **1998**, 109, 267-281.
  45. Garedew, A.; Schmolz, E.; Lamprecht, I. The energy and nutritional demand of the parasitic life of the mite *Varroa destructor*. *Apidologie* **2004**, 35, 419 - 430, doi:10.1051/apido:2004032.
  46. Kralj, J.; Fuchs, S. Parasitic *Varroa destructor* mites influence flight duration and homing ability of infested *Apis mellifera* foragers. *Apidologie* **2006**, 37, 577-587, doi:10.1051/apido:2006040.
  47. Koch, W.; Ritter, W. Experimental Examinations Concerning the Problem of Deformed Emergin Bees after Infestation with *Varroa jacobsoni*. *Journal of Veterinary Medicine, Series B* **1991**, 38, 337-344, doi:10.1111/j.1439-0450.1991.tb00880.x.
  48. Romero-Vera, C.; Otero-Colina, G. Effect of single and successive infestation of *Varroa destructor* and *Acarapis woodi* on the longevity of worker honey bees *Apis mellifera*. *American Bee Journal* **2002**, 142, 54-57.
  49. Bowen-Walker, P.L.; Gunn, A. The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence weights, water, protein, carbohydrate, and lipid levels. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **2001**, 101, 207-17, doi:10.1046/j.1570-7458.2001.00905.x.
  50. Amdam, G.; Hartfelder, K.; ... K.N.-J. of economic; 2004, undefined Altered Physiology in Worker Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) Infested with the Mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae): A Factor in Colony Loss During. *academic.oup.com* **2004**, doi:10.1603/0022-0493(2004)097[0741:APIWHB]2.0.CO;2.
  51. Schneider, P.; Drescher, W. The influence of *Varroa jacobsoni* OUD. on weight, development of weight and hypopharyngeal glands, and longevity of *Apis mellifera* L. *Apidologie* **1987**, 18, 101-110.
  52. Yang, X.; Cox-Foster, D.L. Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: Evidence for host immunosuppression and viral amplification. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2005**, 102, 7470-7475, doi:10.1073/pnas.0501860102.
  53. Yang, X.; Cox-Foster, D. Effects of parasitization by *Varroa destructor* on survivorship and physiological traits of *Apis mellifera* in correlation with viral incidence and microbial challenge. *Parasitology* **2007**, 134, 405-412, doi:10.1017/S0031182006000710.
  54. Blanken, L.J.; van Langevelde, F.; van Dooremalen, C. Interaction between *Varroa destructor* and imidacloprid reduces flight capacity of honeybees. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **2015**, 282, doi:10.1098/RSPB.2015.1738.
  55. Wahl, O.; Ulm, K. Influence of pollen feeding and physiological condition on pesticide sensitivity of the honey bee *Apis mellifera carnica*. *Oecologia* **1983**, 59, 106-128, doi:10.1007/BF00388082.
  56. Fries, I.; Camazine, S.; Sneyd, J. Population dynamics of *Varroa jacobsoni*: a model and review. *Bee World* **1994**, 75, 5-28.

57. Shimanuki, H.; Calderone, N.W.; Knox, D.A. Parasitic mite syndrome: the symptoms. *American Bee Journal* **1994**, *134*.
58. Bąk, B.; Wilde, J.; Siuda, M. The condition of honey bee colonies (*Apis mellifera*) treated for *Varroa destructor* by different methods. *Journal of Apicultural Research* **2018**, *57*, 674-681, doi:10.1080/00218839.2018.1495440.
59. Grobelny, P. Co z tą warrozą? - Pasieka24 - portal dla pszczelarzy z pasją. *Pasieka* **2013**, *5*.
60. Nowotnik, P. Niebezpieczne zmiany w biologii *Varroa destructor*. *Pasieka* **2019**, *1*, 26.
61. Wilde, J. *Nauka w Polsce*. 2015, <https://naukawpolsce.pl/aktualnosci/news%2C404781%2Cprof-wilde-warroza-zdziesiatkowala-wiele-pasiek-powodem-lagodna-zima.html>
62. Pohorecka, K.; Bober, A.; Skubida, M.; Zdańska, D.; Torój, K. A comparative study of environmental conditions, Bee management and the epidemiological situation in apiaries varying in the level of colony losses. *Journal of Apicultural Science* **2014**, *58*, 107-132, doi:10.2478/JAS-2014-0027.
63. Nazi, F.; Le Conte, Y. Ecology of *Varroa destructor*, the Major Ectoparasite of the Western Honey Bee, *Apis mellifera*. *Annual Review of Entomology* **2016**, *61*, 417-432, doi:10.1146/annurev-ento-010715-023731.
64. Skubida, P.; Semkiw, P. Comparison of efficiency of preparations against *Varroa destructor* in 2007-2009 in organic apiary. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering* **2010**, *55*, 94–98.
65. Chuda-Mickiewicz, B.; Prabucki, J.; Kazimierczak, J.; Samborski, J. The varroacidal efficacy of Apitraz. *Medycyna Weterynaryjna* **2007**, *63*, 110–112.
66. Chuda-Mickiewicz, B.; Prabucki, J.; Samborski, J.; Rostecki, P. Evaluation of varroacidal efficacy of biowar preparation. *Journal of Apicultural Science* **2007**, *51*, 47–53.
67. Bieńkowska, M.; Pohorecka, K. Ocena terenowej skuteczności warrozabójczej preparatów Biowar i Apitraz. *Pasieka* **2005**, *2*, 13–15.
68. Shabo, T.I. Rate of infestation of *Varroa jacobsoni* in honey bee colonies. *American Bee Journal* **1994**, *134*, 837–828.
69. Pietropaoli, M.; Gajger, I.T.; Costa, C.; Gerula, D.; Wilde, J.; Adjlane, N.; Sánchez, P.A.; Škerl, M.I.S.; Bubnič, J.; Formato, G. Evaluation of Two Commonly Used Field Tests to Assess *Varroa destructor* Infestation on Honey Bee (*Apis mellifera*) Colonies. *Applied Sciences* **2021**, *11*, 4458-4467, doi:10.3390/APP11104458.
70. Bąk, B.; Wilde, J.; Siuda, M.; Kobylińska, M. Comparison of two methods of monitoring honeybee infestation with *Varroa destructor* mite. *Annals of warsaw University of Life Sciences, Animal Science* **2009**, *46*, 33-38.
71. Liebig, G.; Schlipf, U.; Fremuth, W.; Ludwig, W. Ergebnisse der untersuchungen über die befallsentwicklung der *Varroa*-Milbe in Stuttgart-Hohenheim 1983. *Allg. Dtsch. Imkerztg.* **1984**, *18*, 185–190.
72. Fries, I.; Perez-Escala, S. Mortality of *Varroa destructor* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies during winter. *Apidologie* **2001**, *32*, 223–229, doi:10.1051/APIDO:2001124.
73. Branco, M.R.; Kidd, N.A.C.; Pickard, R.S. A comparative evaluation of sampling methods for *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) population estimation. *Apidologie* **2006**, *37*, 452–461,



- doi:10.1051/APIDO:2006010.
74. Test and Control varroa infestation | Varroa EasyCheck | France Available online: <https://www.varroa-easycheck.com/> (accessed on Apr 19, 2022).
  75. Ebeling, J.; Knispel, H.; Hertlein, G.; Fünfhaus, A.; Genersch, E. Biology of *Paenibacillus* larvae, a deadly pathogen of honey bee larvae. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2016**, *100*, 7387–7395.
  76. White, G.F. The bacteria of the apiary with special reference to bee disease. *Bureau of Entomology* **1906**, *14*, 1–50.
  77. Ashiralieva, A.; Genersch, E. Reclassification, genotypes and virulence of *Paenibacillus* larvae, the etiological agent of American foulbrood in honeybees - A review. *Apidologie* **2006**, *37*, 411–420.
  78. Genersch, E. American Foulbrood in honeybees and its causative agent, *Paenibacillus* larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* **2010**, *103*, 10–19, doi:10.1016/j.jip.2009.06.015.
  79. Lipiński, Z.; Szubstarski, J.; Szubstarska, D.; Kasztelewicz, J. The contamination of winter stores and early spring honey with spores of *Paenibacillus* larvae larvae in Polish apiaries of the Malopolska Province - - Tom 10, Numer 2 (2007) - AGRO - Yadda. *Polish Journal of Veterinary Sciences* **2007**, *10*, 71–74.
  80. Pohorecka, K.; Skubida, M.; Bober, A.; Zdańska, D. Screening of *Paenibacillus* larvae spores in apiaries from eastern Poland. Nationwide survey. Part I. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* **2012**, *56*, 539–545, doi:10.2478/v10213-012-0095-0.
  81. De Graaf, D.C.; Alippi, A.M.; Antúnez, K.; Aronstein, K.A.; Budge, G.; De Koker, D.; De Smet, L.; Dingman, D.W.; Evans, J.D.; Foster, L.J.; et al. Standard methods for American foulbrood research. *Journal of Apicultural Research* **2013**, *52*.
  82. Health Standards. American foulbrood of honey bees (infection of honey bees with *Paenibacillus* larvae); WOAHA **2018**, [https://www.woah.org/fileadmin/Home/fr/Health\\_standards/tahm/3.02.02\\_AMERICAN\\_FOULBROOD.pdf](https://www.woah.org/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.02.02_AMERICAN_FOULBROOD.pdf)
  83. de Graaf, D.C.; Alippi, A.M.; Antúnez, K.; Aronstein, K.A.; Budge, G.; De Koker, D.; De Smet, L.; Dingman, D.W.; Evans, J.D.; Foster, L.J.; et al. Standard methods for American foulbrood research. *Journal of Apicultural Research* **2013**, *52*, 1–28, doi:10.3896/IBRA.1.52.1.11.
  84. Beims, H.; Bunk, B.; Erler, S.; Mohr, K.I.; Spröer, C.; Pradella, S.; Günther, G.; Rohde, M.; von der Ohe, W.; Steinert, M. Discovery of *Paenibacillus* larvae ERIC V: Phenotypic and genomic comparison to genotypes ERIC I-IV reveal different inventories of virulence factors which correlate with epidemiological prevalences of American Foulbrood. *International Journal of Medical Microbiology* **2020**, *310*, 151394, doi:10.1016/j.ijmm.2020.151394.
  85. Peng, Y. shin; Peng, K. yat A study on the possible utilization of immunodiffusion and immunofluorescence techniques as the diagnostic methods for American foulbrood of honeybees (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology* **1979**, *33*, 284–289, doi:10.1016/0022-2011(79)90028-4.
  86. Otte, E. Contribution to the laboratory diagnosis of American foulbrood of the honey bee with particular reference to the fluorescent antibody technique. *Apidologie* **1973**, *4*, 331–339.
  87. Olsen, P.E.; Grant, G.A.; Nelson, D.L.; Rice, W.A. Detection of American foulbrood disease of the honeybee, using a monoclonal antibody specific to *Bacillus* larvae in an enzyme-linked

- immunosorbent assay. *Canadian Journal of Microbiology* **1990**, *36*, doi:10.1139/m90-124.
88. De Graaf, D.C.; Alippi, A.M.; Brown, M.; Evans, J.D.; Feldlaufer, M.; Gregorc, A.; Hornitzky, M.; Pernal, S.F.; Schuch, D.M.T.; Tišra, D.; et al. Diagnosis of American foulbrood in honey bees: A synthesis and proposed analytical protocols. *Letters in Applied Microbiology* **2006**, *43*, 583–590, doi:10.1111/J.1472-765X.2006.02057.X.
89. Slessor, K.N.; Winston, M.L.; Le Conte, Y. Pheromone communication in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Journal of Chemical Ecology* **2005**, *31*, 2731-2745, doi:10.1007/s10886-005-7623-9.
90. Slessor, K.N.; Kaminski, L.A.; King, G.G.S.; Borden, J.H.; Winston, M.L. Semiochemical basis of the retinue response to queen honey bees. *Nature* **1988**, *332*, 354-356, doi:10.1038/332354a0.
91. Winston, M.L.; Slessor, K.N. Honey bee primer pheromones and colony organization: Gaps in our knowledge. *Apidologie* **1998**, *29*, 81-95.
92. Sagili, R.R.; Breece, C.R.; Simmons, R.; Borden, J.H. Potential of honeybee brood pheromone to enhance foraging and yield in hybrid carrot seed. *HortTechnology* **2015**, *25*, 98-104, doi:10.21273/horttech.25.1.98.
93. Le Conte, Y.; Arnold, G.; Trouiller, J.; Masson, C.; Chappe, B. Identification of a brood pheromone in honeybees. *Naturwissenschaften* **1990**, *77*, 334-336, doi:10.1007/BF01138390.
94. Conte, Y. Le; Bécard, J.M.; Costagliola, G.; De Vaublanc, G.; El Maâtaoui, M.; Plettner, D.C.E.; Slessor, K.N. Larval salivary glands are a source of primer and releaser pheromone in honey bee (*Apis mellifera* L.). *Naturwissenschaften* **2006**, *93*, 237-241, doi:10.1007/s00114-006-0089-y.
95. Mohammedi, A.; Crauser, D.; Paris, A.; Le Conte, Y. Effect of a brood pheromone on honeybee hypopharyngeal glands. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences - Serie III* **1996**, *319*, 217-287.
96. Mohammedi, A.; Paris, A.; Crauser, D.; Le Conte, Y. Effect of aliphatic esters on ovary development of queenless bees (*Apis mellifera* L.). *Naturwissenschaften* **1998**, *85*, 455-458, doi:10.1007/s001140050531.
97. Bankova, V.S.; De Castro, S.L.; Marcucci, M.C. Propolis: Recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* **2000**, *31*, 3-15.
98. Isidorov, V.A.; Bakier, S.; Grzech, I. Gas chromatographic-mass spectrometric investigation of volatile and extractable compounds of crude royal jelly. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* **2012**, *885–886*, doi:10.1016/j.jchromb.2011.12.025.
99. Tulloch, A.P. Beeswax—Composition and Analysis. *Bee World* **1980**, *61*, 47-62, doi:10.1080/0005772x.1980.11097776.
100. Ferber, C.E.M.; Nursten, H.E. The aroma of beeswax. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **1977**, *28*, doi:10.1002/jsfa.2740280608.
101. Borčić, I.; Radonić, A.; Grzunov, K. Comparison of the volatile constituents of propolis gathered in different regions of Croatia. *Flavour and Fragrance Journal* **1996**, *11*, doi:10.1002/(SICI)1099-1026(199609)11:5<311::AID-FFJ581>3.0.CO;2-X.
102. Melliou, E.; Chinou, I. Chemical analysis and antimicrobial activity of Greek propolis. *Planta Medica* **2004**, *70*, 515-519, doi:10.1055/s-2004-827150.
103. Starowicz, M.; Hanus, P.; Lamparski, G.; Sawicki, T. Characterizing the volatile and sensory

- profiles, and sugar content of beeswax, beebread, bee pollen, and honey. *Molecules* **2021**, *26*, 3410, doi:10.3390/molecules26113410.
104. F, S.; Fredes, C.; Nuñez, G.; Casaubon, G.; Espinoza, M.; Montenegro, G. Volatile compounds of unifloral honey and floral nectar from *Quillaja saponaria*. *Phyton* **2014**, *83*, 17-26, doi:10.32604/phyton.2014.83.017.
105. Carroll, M.J.; Duehl, A.J. Collection of volatiles from honeybee larvae and adults enclosed on brood frames. *Apidologie* **2012**, *43*, 715–730, doi:10.1007/s13592-012-0153-x.
106. Lodge, J.P. *Methods of Air Sampling and Analysis*. Lewis Publishers **2020**, 29.
107. Gardner, J.W.; Bartlett, P.N. A brief history of electronic noses. *Sensors and Actuators: B. Chemical* **1994**, 210-211, doi:10.1016/0925-4005(94)87085-3.
108. Zhang, J.; Qin, Z.; Zeng, D.; Xie, C. Metal-oxide-semiconductor based gas sensors: Screening, preparation, and integration. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2017**, *19*, 6313–6329.
109. Szczurek, A.; Maciejewska, M.; Bąk, B.; Wilk, J.; Wilde, J.; Siuda, M. Gas Sensor Array and Classifiers as a Means of Varroosis Detection. *Sensors* **2019**, *20*, 117, doi:10.3390/s20010117.
110. Szczurek, A.; Maciejewska, M.; Bąk, B.; Wilk, J.; Wilde, J.; Siuda, M. Detecting varroosis using a gas sensor system as a way to face the environmental threat. *Science of the Total Environment* **2020**, *722*, 137866, doi:10.1016/j.scitotenv.2020.137866.
111. Kiselev, I.; Sysoev, V.; Kaikov, I.; Koroncz, I.; Tegin, R.A.A.; Smanalieva, J.; Sommer, M.; Ilicali, C.; Hauptmann, M. On the temporal stability of analyte recognition with an e-nose based on a metal oxide sensor array in practical applications. *Sensors (Switzerland)* **2018**, *18*, 3525, doi:10.3390/s18020550.
112. Ghasemi-Varnamkhasti, M.; Mohammad-Razdari, A.; Yoosefian, S.H.; Izadi, Z.; Rabiei, G. Selection of an optimized metal oxide semiconductor sensor (MOS) array for freshness characterization of strawberry in polymer packages using response surface method (RSM). *Postharvest Biology and Technology* **2019**, *151*, 53-60, doi:10.1016/j.postharvbio.2019.01.016.
113. Gas Sensors / FIGARO Engineering inc. World leader in gassensing innovation Available online: <https://www.figarosensor.com/> (accessed on Jul 1, 2020).
114. Szulczyński, B.; Gębicki, J. Currently commercially available chemical sensors employed for detection of volatile organic compounds in outdoor and indoor air. *Environments - MDPI* **2017**, *4*, 21, doi:10.3390/environments4010021.
115. Ryabtsev, S. V.; Shaposhnick, A. V.; Lukin, A.N.; Domashevskaya, E.P. Application of semiconductor gas sensors for medical diagnostics. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **1999**, *59*, 26–29, doi:10.1016/S0925-4005(99)00162-8.
116. Romain, A.C.; Nicolas, J. Long term stability of metal oxide-based gas sensors for e-nose environmental applications: An overview. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2010**, *146*, 502–506, doi:10.1016/j.snb.2009.12.027.
117. Ghaffari, R.; Zhang, F.; Iliescu, D.; Hines, E.; Leeson, M.; Napier, R.; Clarkson, J. Early detection of diseases in tomato crops: An electronic nose and intelligent systems approach. In Proceedings of the Proceedings of the International Joint Conference on Neural Networks; Spain, Barcelona, **2010**, 1-6.
118. Wilson, A.D.; Lester, D.G.; Oberle, C.S. Development of conductive polymer analysis for the rapid detection and identification of phytopathogenic microbes. *Phytopathology* **2004**, *94*, 419–431, doi:10.1094/PHTO.2004.94.5.419.

119. Martin, C.; Salvy, M.; Provost, E.; Bagnères, A.G.; Roux, M.; Crauser, D.; Clement, J.L.; Le Conte, Y. Variations in chemical mimicry by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* according to the developmental stage of the host honey-bee *Apis mellifera*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* **2001**, *31*, 365-379, doi:10.1016/S0965-1748(00)00130-2.
120. Kather, R.; Drijfhout, F.P.; Shemilt, S.; Martin, S.J. Evidence for Passive Chemical Camouflage in the Parasitic Mite *Varroa destructor*. *Journal of Chemical Ecology* **2015**, *41*, 178–186, doi:10.1007/S10886-015-0548-Z.
121. Martin, C.; Provost, E.; Bagnères, A.G.; Roux, M.; Clément, J.L.; Le Conte, Y. Potential mechanism for detection by *Apis mellifera* of the parasitic mite *Varroa destructor* inside sealed brood cells. *Physiological Entomology* **2002**, *27*, 175–188, doi:10.1046/j.1365-3032.2002.00284.x.
122. Nazi, F.; Brown, S.P.; Annoscia, D.; Del Piccolo, F.; Di Prisco, G.; Varricchio, P.; Della Vedova, G.; Cattonaro, F.; Caprio, E.; Pennacchio, F. Synergistic Parasite-Pathogen Interactions Mediated by Host Immunity Can Drive the Collapse of Honeybee Colonies. *PLoS Pathogens* **2012**, *8*, e1002735, doi:10.1371/journal.ppat.1002735.
123. Pohorecka, K.; Bober, A.; Skubida, M.; Zdańska, D. Epizootic status of apiaries (PDF)with massive losses of bee colonies (2008-2009). *Journal of Apicultural Science* **2011**, *55*, 137–151.
124. Schöning, C.; Gisder, S.; Geiselhardt, S.; Kretschmann, I.; Bienefeld, K.; Hilker, M.; Genersch, E. Evidence for damage-dependent hygienic behaviour towards *Varroa destructor*-parasitised brood in the western honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Experimental Biology* **2012**, *215*, 264-271, doi:10.1242/jeb.062562.
125. Bowen-Walker, P.L.; Martin, S.J.; Gunn, A. The Transmission of Deformed Wing Virus between Honeybees (*Apis mellifera*L.) by the Ectoparasitic Mite *Varroa jacobsoni* Oud. *Journal of Invertebrate Pathology* **1999**, *73*, 101-106, doi:10.1006/jipa.1998.4807.
126. Garrido, C.; Rosenkranz, P. Volatiles of the honey bee larva initiate oogenesis in the parasitic mite *Varroa destructor*. *Chemoecology* **2004**, *14*, 193–197, doi:10.1007/s00049-004-0278-0.
127. Gochnauer, T.A.; Shearer, D.A. Volatile Acids from Honeybee Larvae Infected with *Bacillus* Larvae and from a Culture of the Organism. *Journal of Apicultural Research* **1981**, *20*, 104–109, doi:10.1080/00218839.1981.11100481.
128. Lee, S.; Lim, S.; Choi, Y.S.; Lee, M. Iyeol; Kwon, H.W. Volatile disease markers of American foulbrood-infected larvae in *Apis mellifera*. *Journal of Insect Physiology* **2020**, *122*, 104040, doi:10.1016/j.jinsphys.2020.104040.
129. Moran, M.J.; Melonek, J.; Putrino, G.; Leyland, D.; Small, I.; Grassl, J. *Towards an electronic nose for American foulbrood (poster)*; Conference Montreal Canada Apimondia **2019**.
130. Liao, Y.H.; Shih, C.H.; Abbod, M.F.; Shieh, J.S.; Hsiao, Y.J. Development of an E-nose system using machine learning methods to predict ventilator-associated pneumonia. *Microsystem Technologies* **2020**, 1–11, doi:10.1007/s00542-020-04782-0.
131. Astuti, S.D.; Mukhammad, Y.; Duli, S.A.J.; Putra, A.P.; Setiawatie, E.M.; Triyana, K. Gas sensor array system properties for detecting bacterial biofilms. *Journal of Medical Signals and Sensors* **2019**, *9*, 158–164, doi:10.4103/jmss.JMSS\_60\_18.
132. Astantri, P.F.; Prakoso, W.S.A.; Triyana, K.; Untari, T.; Airin, C.M.; Astuti, P. Lab-Made Electronic Nose for Fast Detection of *Listeria monocytogenes* and *Bacillus cereus*. *Veterinary Sciences* **2020**, *7*, 20-28, doi:10.3390/vetsci7010020.
133. Laref, R.; Ahmadou, D.; Losson, E.; Siadat, M. Orthogonal Signal Correction to Improve Stability

- Regression Model in Gas Sensor Systems. *Journal of Sensors* **2017**, 6, 1-8. doi:10.1155/2017/9851406.
134. Ahmadou, D.; Laref, R.; Losson, E.; Siadat, M. Reduction of drift impact in gas sensor response to improve quantitative odor analysis. In Proceedings of the Proceedings of the IEEE International Conference on Industrial Technology; Institute of Electrical and Electronics Engineers Inc., **2017**; pp. 928–933.
135. Næs, T.; Isaksson, T.; Fearn, T.; Davies, T. A user-friendly guide to Multivariate Calibration and Classification. *Journal of Chemometrics* **2017**, 17, 571-572.
136. Mutihac, L.; Mutihac, R. Mining in chemometrics. *Analytica Chimica Acta* **2008**, 612, 235-278.
137. Szczurek, A.; Maciejewska, M.; Bąk, B.; Wilde, J.; Siuda, M. Semiconductor gas sensor as a detector of Varroa destructor infestation of honey bee colonies – Statistical evaluation. *Computers and Electronics in Agriculture* **2019**, 162, 405–411, doi:10.1016/j.compag.2019.04.033.
138. Szczurek, A.; Maciejewska, M.; Bąk, B.; Wilk, J.; Wilde, J.; Siuda, M. Detection of honeybee disease: Varroosis using a semiconductor gas sensor array. In Proceedings of the SENSORNETS 2019 - Proceedings of the 8th International Conference on Sensor Networks; **2019**, 58-66.
139. Szczurek, A.; Maciejewska, M.; Zajiczek, Ż.; Bąk, B.; Wilk, J.; Wilde, J.; Siuda, M. The effectiveness of varroa destructor infestation classification using an e-nose depending on the time of day. *Sensors (Switzerland)* **2020**, 20, 2532, doi:10.3390/S20092532.
140. Schäfer, M.O.; Genersch, E.; Fünfhaus, A.; Poppinga, L.; Formella, N.; Bettin, B.; Karger, A. Rapid identification of differentially virulent genotypes of *Paenibacillus* larvae, the causative organism of American foulbrood of honey bees, by whole cell MALDI-TOF mass spectrometry. *Veterinary Microbiology* **2014**, 170, 291–297, doi:10.1016/j.vetmic.2014.02.006.
141. Göpel, J.W.; Hesse, N.Z. A comprehensive survey. In *Sensors*; Verlag, V., Ed.; Darmstadt, Germany, **1991**, 341–428.
142. Haugen, J.E.; Tomic, O.; Kvaal, K. A calibration method for handling the temporal drift of solid state gas-sensors. *Analytica Chimica Acta* **2000**, 407, 23–39, doi:10.1016/S0003-2670(99)00784-9.
143. Polkowski, L.; Artiemjew, P.; Application, A.; Mereology, R. *Granular Computing in Decision Approximation*; **2015**; Vol. 1; ISBN 9783319128795.
144. Rossi, V.; Talon, R.; Berdagué, J.L. Rapid discrimination of Micrococcaceae species using semiconductor gas sensors. *Journal of Microbiological Methods* **1995**, 24, 183–190, doi:10.1016/0167-7012(95)00069-0.
145. Bak, B.; Wilk, J.; Artiemjew, P.; Wilde, J.; Siuda, M. Diagnosis of Varroosis Based on Bee Brood Samples Testing with Use of Semiconductor Gas Sensors. *Sensors* **2020**, 20, 4014, doi:10.3390/S20144014.
146. Bak, B.; Wilk, J.; Artiemjew, P.; Wilde, J. Recording the presence of *Paenibacillus* larvae colonies on MYPGP substrates using a multi-sensor array based on solid-state gas sensors. *Sensors* **2021**, 21, 4917, doi:10.3390/s21144917.
147. Wilk, J.T.; Bąk, B.; Artiemjew, P.; Wilde, J.; Siuda, M. Classifying the Biological Status of Honeybee Workers Using Gas Sensors. *Sensors* **2020**, 21, 166, doi:10.3390/S21010166.
148. Roine, A.; Saviauk, T.; Kumpulainen, P.; Karjalainen, M.; Tuokko, A.; Aittoniemi, J.; Vuento, R.; Lekkala, J.; Lehtimäki, T.; Tammela, T.L.; et al. Rapid and Accurate Detection of Urinary

- Pathogens by Mobile IMS-Based Electronic Nose: A Proof-of-Principle Study. **2014**, doi:10.1371/journal.pone.0114279.
149. Uk Jeh, S.; Do Jung, H.; Kyou Kwon, J.; Won Kang, H.; Yong Lee, J.; Su Cho, K.; Sik Ham, W.; Jin Kang, Y.; Deuk Choi, Y.; Horstmann, M.; et al. PD25-02 diagnostic accuracy of probe based confocal laser endomicroscopy in bladder cancer an electronic nose system detects bladder cancer in urine specimen: first results of a pilot study *Journal of Urology* **2015**, *193*, e560–e561, doi:10.1016/j.juro.2015.02.1652.
150. Ping, W.; Yi, T.; Haibao, X.; Farong, S. A novel method for diabetes diagnosis based on electronic nose. *Biosensors and Bioelectronics* **1997**, *12*, 1031–1036, doi:10.1016/S0956-5663(97)00059-6.
151. Arasaradnam, R.P.; Ouaret, N.; Thomas, M.G.; Gold, P.; Quraishi, M.N.; Nwokolo, C.U.; Bardhan, K.D.; Covington, J.A. Evaluation of gut bacterial populations using an electronic e-nose and field asymmetric ion mobility spectrometry: further insights into ‘fermentonomics.’ <http://dx.doi.org/10.3109/03091902.2012.690015> **2012**, *36*, 333–337, doi:10.3109/03091902.2012.690015.
152. Fend, R.; Geddes, R.; Lesellier, S.; Vordermeier, H.M.; Corner, L.A.L.; Gormley, E.; Costello, E.; Hewinson, R.G.; Marlin, D.J.; Woodman, A.C.; et al. Use of an Electronic Nose To Diagnose Mycobacterium bovis Infection in Badgers and Cattle. *Journal of Clinical Microbiology* **2005**, *43*, 1745, doi:10.1128/JCM.43.4.1745-1751.2005.
153. Wlodzimirow, K.A.; Abu-Hanna, A.; Schultz, M.J.; Maas, M.A.W.; Bos, L.D.J.; Sterk, P.J.; Knobel, H.H.; Soers, R.J.T.; Chamuleau, R.A.F.M. Exhaled breath analysis with electronic nose technology for detection of acute liver failure in rats. *Biosensors and Bioelectronics* **2014**, *53*, 129–134, doi:10.1016/J.BIOS.2013.09.047.
154. Cramp, A.P.; Sohn, J.H.; James, P.J. Detection of cutaneous myiasis in sheep using an “electronic nose.” *Veterinary Parasitology* **2009**, *166*, 293–298, doi:10.1016/j.vetpar.2009.08.025.
155. Wilson, A.D.; Forse, L.B. Sensors & Transducers Differences in VOC-Metabolite Profiles of Pseudogymnoascus destructans and Related Fungi by Electronic-nose/GC Analyses of Headspace Volatiles Derived from Axenic Cultures. *Sensors & Transducers* **2018**, *220*, 9–19.

#### **4. INFORMACJA O WYKAZYWANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ ALBO ARTYSTYCZNĄ REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ LUB INSTYTUCJI KULTURY, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ.**

Zespół masowego ginieć pszczół stał się wyzwaniem dla naukowców z całego świata. Ja również dorzuciłam cegiełkę do rozwikłania zagadki, co jest przyczyną tego zjawiska i jak można jemu zapobiegać. W tym celu odbyłam 10 dniowy staż w Greckim Instytucie Pszczelarskim (Hellenic Institute of Apiculture ) w Instytucie Nauk o Zwierzętach (Grecja) Następnie podjęłam również współpracę z Katedrą Biologii na Wydziale Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, a także z Zakładem

Badania Bezpieczeństwa Żywności Instytutu Ogrodnictwa-Państwowego Instytutu Badawczego w Skierniewicach. Wielu badaczy wskazywało już wówczas, że pszczoły znikają z powodu powszechnego stosowania w rolnictwie pestycydów, szczególnie z grupy neonikotynoidów. Na początku XXI wieku do ochrony roślin powszechnie stosowany był imidaklopyrd (IMD), który był zarejestrowany wtedy w 120 krajach. Jako agonista nikotynowego receptora acetylocholinyl zaburza on pracę układu nerwowego owadów. Przez taki mechanizm działania neonikotynoid ten staje się szczególnie niebezpieczny dla pszczoły miodnej, ponieważ wpływa negatywnie na jej zachowanie, czyniąc ją niezdatną do zapylania roślin. Różni badacze wykazali, że subletalne dawki IMD negatywnie oddziałują na zmysł węchu i pamięć pszczoły, zmniejszają jej intensywność żerowania, a nawet zaburzają orientację w terenie, czym tłumaczono zanikanie pojedynczych rodzin pszczelich. Wykazano również, że subletalne dawki imidaklopridu powodują zmniejszenie gruczołów gardzielowych robotnic oraz zaburzają ich oddychanie. Niebezpieczne dla metabolizmu pszczół okazały się również produkty rozkładu imidakloprydu. Wskazano również, iż subletalne dawki neonikotynoidów upośledzają rozwój larwalny i skracają długość życia robotnic. Udowodniono też, że IMD w małych dawkach oddziałuje na pszczoły zmniejszając u nich odporność na stres biotyczny. Paradoksalnie imidaklopyrd upośledza również mechanizmy detoksykacji, co w konsekwencji czyni pszczoły bardziej podatne na działanie tego pestycydu oraz innych ksenobiotyków. Przez IMD obniżeniu ulega immunokompetencja, a konsekwencją jest ułatwiona inwazję patogenów do organizmów pszczół. Wykazano też, że imidaklopyrd powoduje zmniejszenie masy ciała matek pszczelich i upośledza ich cechy reprodukcyjne.

Celem naszych badań było sprawdzenie jak subletalne dawki imidakloprydu wpływają na zawartość białka i aktywność proteaz u pszczoły miodnej. Nasza praca jest pierwszym badaniem przedstawiającym profil aktywności proteolitycznej wraz z profilem białkowym. Eksperyment miał charakter terenowy. Robotnice do badań pozyskiwano z rodzin pszczelich należących do trzech grup. Pierwsza grupa kontrolna BE była karmiona czystym syropem cukrowym i pyłkiem. W drugiej grupie BE-5 rodziny pszczoły otrzymywały pokarm skażony imidaklopyrdem w stężeniu 5ppb. Trzeciej grupie BE -200 podawano pokarm z 200 ppb imidakloprydu. Pojedyncza rodzina pszczoły otrzymała w sumie 5,5 kg syropu cukrowego i 0,3 kg pyłku w dwóch porcjach. Próbkę pszczół pobierano po 3 i 10 tygodniach od rozpoczęcia karmienia.

Wykazaliśmy, że zarówno dawka IMD, jak i czas ekspozycji na ten pestycyd wpływa istotnie statystycznie na zawartość białka u pszczoły miodnej. Robotnice z grupy BE-5 wykazały obniżony poziom białka o 7% już po 3 tygodniach i o 10% po 10 tygodniach ekspozycji w porównaniu do kontroli. U pszczoł z grupy BE-200 stwierdzono dalszy spadek stężenia białek. Po 3-ech tygodniach nastąpił spadek o 15%, a po 10 tygodniach o kolejne 8%. Tym samym udowodniliśmy, że już 3-tygodniowa ekspozycja rodzin pszczelich na subletalne dawki imidaklopyrydu może znacząco zmniejszyć ilość białka w pszczołach.

Średnia aktywność proteolityczna po 10 tygodniach eksperymentu różniła się w grupach na poziomie statystycznym i wahała się od 0,18 U/100 mg dla BE-200 do 0,26 U/100 mg dla BE. Badając ekspresję białek w próbkach potwierdziliśmy obecność 9 aktywnych frakcji o masach cząsteczkowych w zakresie od 32,5 do 198 kDa w grupie BE. Wyraźny spadek aktywności proteaz zaobserwowaliśmy w BE-5, gdzie nastąpiła redukcja dwóch białek 41kDa i 198 kDa w porównaniu z grupą BE. A u pszczoł poddawanych ekspozycji 200 ppb IMD nastąpiła utrata kolejnych 2 frakcji aktywnych proteaz, o masach cząsteczkowych 32,5 i 34 kDa. Nasze badanie wykazało, że dawka imidaklopyrydu ma istotnie niekorzystny wpływ na aktywność proteolityczną u pszczoł, przy czym czas ekspozycji nie ma znaczenia.

Po podsumowaniu wyników naszego eksperymentu zrodziło się pytanie: jaki jest wpływ zmniejszonej syntezy i aktywności białek na funkcjonowanie pszczoły miodnej i rozwój rodzin pszczelich. Sugeruje się, że może to negatywnie wpływać na aktywność gruczołów gardzielowych robotnic. Przyczyny tego zjawiska leżą prawdopodobnie w zmniejszeniu wielkości płatów tych gruczołów pod wpływem IMD, co wcześniej wykazali inni badacze. Uzyskane w tym badaniu wyniki przyczyniły się do lepszego poznania zmian fizjologicznych indukowanych u pszczoł miodnych przez insektycydy neonikotynoidowe, co w dużej mierze może również przybliżyć poznanie przyczyn zamierania rodzin pszczelich. Wyniki prezentowano na konferencji naukowej, a efektem przeprowadzonych badań była publikacja:

Wilde J., Siuda M., **Bąk B.**, Miszczak A. **2014.** Wstępne wyniki karmienia pszczoł pokarmami skażonymi imidaklopyrydem i jego pozostałości w produktach pszczelich. Materiały z LI Naukowej Konferencji Pszczelarskie, Szczyrk, 11-13 marca: 110-111.



Wilde J., Frączek R. J., Siuda M., **Bąk B.**, Hatjina F., Miszczak A. 2016. The influence of sublethal doses of imidacloprid on protein content and proteolytic activity in honey bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Apicultural Research*, 55(2): 212-220. DOI: 10.1080/00218839.2016.1211394, IF –1,364

Kontynuując moje zainteresowanie tematem badania neonikotynoidów, jako potencjalnego czynnika depopulacyjnego rodzin pszczelich podjęłam współpracę 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). W ramach tej współpracy sprawdziliśmy wpływ imidaklopyrydu na system proteolityczny hemolimfy i kutikuli, na globalną metylację DNA oraz na biomarkery: ALT, AST, ALP.

Podobnie jak w poprzednim eksperymencie pszczoły do badań pochodziły z rodzin należących do 3-ech grup: wolnych od imidaklopyrydu, otrzymujących pokarm z IMD w stężeniu 5ppb oraz otrzymujących pokarm z IMD w stężeniu 200ppb.

Tu podobnie jak w poprzedniej badaniach stwierdziliśmy obniżenie aktywności większości proteaz hemolimfy robotnic narażonych na IMD. Wykazaliśmy, że efektywna proteoliza toksycznych peptydów powstających podczas aktywności antyoksydacyjnej może być pośrednio upośledzona przez IMD. Szczególnie 20-dniowe robotnice wykazywały taką reakcję, co powoduje, że zjawisko to jest szczególnie niebezpieczne dla zbieraczek pracujących na terenach objętych intensywnym rolnictwem. W przypadku inhibitorów proteaz hemolimfy szczególnie u robotnic obserwowaliśmy zwiększoną aktywność. Wskazuje, to na wyraźne zaburzenie równowagi między proteazami, a ich inhibitorami. Podejrzewaliśmy, że jest to pewien rodzaj mechanizmu obronnego przed negatywnym oddziaływaniem imidaklopyrydu.

Kontakt pszczoły z pestycydami upośledza ten system ochronny w postaci proteaz kutikuli i ich inhibitorów, co z kolei ułatwia infekcje różnych patogenów. Wykazaliśmy, że aktywność proteaz kutikuli była zaburzona przez IMD u robotnic i trutni w zależności od dawki, kasty i wieku. U matek aktywność enzymów zmalała, natomiast inhibitory proteaz naskórka prawie wszystkie uległy dezaktywacji. Tak więc IMD może upośledzać obronę kutikuli, szczególnie u matek.

Aktywność proteaz i ich inhibitorów zarówno hemolimfy jak i kutikuli pod wpływem IMD różniła się pomiędzy kastami, szczególnie między matkami pszczelimi i robotnicami. Może

to wynikać z faktu, że matki pszczoły są ekspozowane na mniejsze ilości imidaklopyrydu, ponieważ otrzymują pokarm przetworzony przez robotnice.

Poziomy enzymów ALT, AST i ALP pod wpływem pestycydu ulegały obniżeniu, niezależnie od kasty i wieku. Wynik ten potwierdził szkodliwe fizjologiczne efekty IMD na pszczoły, co korelowało z wynikami uzyskanymi wcześniej przez innych badaczy.

Ekspozycja pszczoły miodnej na subletalne dawki IMD wywołała wyraźny wzrost globalnej metylacji DNA. Podobne efekty innych pestycydów na pszczoły obserwowano już wcześniej. Przy czym należy podkreślić, że nasz zespół badawczy po raz pierwszy zbadał wpływ imidaklopyrydu na globalną metylację DNA u pszczół. Stwierdziliśmy, że proces ten nasila się wraz z wiekiem robotnicy. Tak więc, IMD wydaje się przyspieszać senescencję na poziomie epigenetycznym. W naszym eksperymencie nie doszło do depopulacji rodzin pszczelich. Możemy zatem wyraźnie stwierdzić, iż podprogowe dawki imidaklopyrydu nie powodują szybkiej śmierci rodziny pszczoły. Jednak zmiany, które wykazaliśmy na poziomie biochemicznym sprawiają, że jest ona potencjalnie bardziej wrażliwa na patogeny oraz stresy ksenobiotyczne, co w dłuższej perspektywie prowadzi do zagłady. Nasze badania przeprowadzone we współpracy z naukowcami z innych jednostek naukowych w Polsce i za granicą przyczyniły się do wycofania imidaklopyrydu ze stosowania jako środka ochrony roślin. W ten sposób ochroniliśmy pszczoły przed jednym z czynników mogących wywoływać zespół masowego ginięcia pszczół. Wyniki prezentowano na konferencji naukowej oraz efektem przedstawionych badań była publikacja:

Paleolog J., Wilde J., Siuda M., **Bąk B.**, Wójcik Ł., Strachecka A. **2019**. Imidaklopyryd zaburza proteolizę i aktywność biomarkerów w hemolimfie, zwiększa metylowanie dna i uszkadza warstwę proteolityczną kutikuli u *Apis mellifera*. Materiały z LVI Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Puławy, 5-6 marca: 52-53.

Paleolog J., Wilde J., Siuda M., **Bąk B.**, Wójcik Ł., Strachecka A. 2020. Imidacloprid markedly affects hemolymph proteolysis, biomarkers, DNA global methylation, and the cuticle proteolytic layer in western honeybees. *Apidologie* 51, 620–630 (2020). <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00747-4>, IF – 2,318

W ramach dokładniejszego poznania wpływu imidaklopyrydu na pszczołę miodną, postanowiłam nawiązać współpracę 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 oznaczaliśmy w laboratorium Zakładu Biologii i Gamet Zarodka za pomocą pomiaru całkowitego potencjału antyoksydacyjnego (TAC) w hemolimfie. Było to podejście zupełnie nowatorskie, ponieważ do tej pory TAC był oznaczany tylko w homogenacie ciała robotnic. Natomiast w hemolimfie oznaczano jedynie aktywność pojedynczych enzymów antyoksydacyjnych. Okazywała się ona jednak niska, co przekreślało możliwości wykorzystania tej metody do szacowania potencjału antyoksydacyjnych pszczoł. Mając na względzie wyniki innych badaczy, stwierdziliśmy, że tylko pomiar TAC w hemolimfie pozwoli na pełną ocenę ochrony antyoksydacyjnej zarówno enzymatycznej jak i nieenzymatycznej. TAC monitoruje się poprzez kontrolę poziomu kwasu ( $\pm$ )-6-hydrokso-2,5,7,8-tetrametylochromano-2-karboksyłowego (Trolox).

Robotnice pozyskiwano z rodzin pszczelich należących do 3-ech grup. I-a grupa rodzin była karmiona syropem cukrowym i pyłkiem pszczelim wolnym od pestycydu, w drugiej grupie pokarmy te zawierały 5ppb imidaklorydu, a w trzeciej 200 ppb imidaklopyrydu. Przy czym badano hemolimfę pszczoł 1-dniowych i 30-dniowych. Wykazaliśmy, że TAC w hemolimfie wzrastał wraz z wiekiem pszczoł. U 1-dniowych robotnic wynosił 1,18 mM Troloxu, a u 30-dniowych 1,97 mM Troloxu. Różnica była istotna statystycznie. Ekspozycja na imidaklopyryd (IMD) wpływała istotnie na TAC w hemolimfie pszczoł 1-dniowych, ale nie 30-dniowych. TAC w hemolimfie pszczoł 1-dniowych był niższy (1,57 mM Troloxu) w stosunku do kontroli (1,46mM Troloxu). Uzyskane wyniki wyraźnie wskazały, że starsze pszczoły z wyższą ochroną antyoksydacyjną są mniej podatne na toksyczność IMD. Ponadto wykazaliśmy, że imidaklopyryd może być metabolizowany w organizmie pszczoły miodnej do pochodnych: 5-hydrokso-imidaklopyrydu i olefiny.

Wykonaliśmy również pomiar stężenia białka całkowitego w hemolimfie robotnic 1-dniowych i 30-dniowych. Stwierdziliśmy, że poziom białka jest wyższy u robotnic starszych. Dane te były zgodne z wynikami uzyskanymi przez innych badaczy.

Wspólnie z zespołem Zakładu Biologii i Gamet Zarodka, Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie w celu lepszego zrozumienia mechanizmu ochrony plemników ochrony przed stresem oksydacyjnym po raz pierwszy wykonaliśmy pomiary TAC w osoczu plazmy nasiennej trutni. Nasienie pozyskiwano od trutni 15-dniowych. Uzyskaliśmy niższe stężenia TAC w plazmie nasienia niż w hemolimfie robotnic. Sugeruje to, że TAC w hemolimfie pszczoły

miodnej może składać się z wyższych stężeń nieenzymatyczne antyoksydantów niż w osoczu plazmy. Konieczne są zatem dalsze badania, aby porównać ilości nieenzymatycznych i enzymatycznych związków antyoksydacyjnych w hemolimfie i nasieniu. Wyniki badań prezentowano na konferencji pszczelarskiej, a szczegółowe omówienie przedstawionych badań znalazło się w publikacji:

Słowińska M., Nynca J., Wilde J., **Bąk B.**, Siuda M., Ciereszko A. **2015**. Całkowita pojemność antyoksydacyjna hemolimfy pszczoły miodnej w zależności od wieku, ekspozycji na pestycydy oraz porównanie do całkowitej pojemności antyoksydacyjnej plazmy nasienia trutni. Materiały z LII Naukowej Konferencji Pszczelarskie, Puławy, 11-12 marca: 20-21.

Słowińska M., Nynca J., Wilde J., **Bąk B.**, Siuda M., Ciereszko A.; 2015. Total antioxidant capacity of honey bee hemolymph in relation to age and exposure to pesticides, and comparison to antioxidant capacity of seminal plasma. *Apidologie*, 47, 227–236: DOI: 10.1007/s13592-015-0391-9; IF – 1,655

W dalszych wspólnie prowadzonych z Zakładem Biologii i Gamet Zarodka, Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności, Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie badaniach przyjrzeliliśmy się wpływowi ekspozycji rodzin pszczelich na imidaklopyryd na jakość nasienia trutni. Trutnie, od których pobierano nasienie do badań zostały wychowane w 18 rodzinach pszczelich w Katedrze Pszczelnictwa w Olsztynie, zakwalifikowanych do 3-ech grup: rodziny karmione pokarmem wolnym od imidaklopyrydu (grupa kontrolna), rodziny karmione syropem i pyłkiem o koncentracji 5 ppb IMD, oraz rodziny karmione syropem i pyłkiem o koncentracji 200 ppb IMD. Po wygryzieniu trutnie oznakowano i przetrzymywano w rodzinach, w których przebiegał ich rozwój. Nasienie pobierano w laboratorium Zakładu Biologii i Gamet Zarodka w 15 dniu życia trutnia. Badano kilka parametrów charakteryzujących jakość plemników: ich koncentrację, ruchliwość, żywotność oraz potencjał mitochondrialny (MMP).

Nie stwierdzono istotnego wpływu stężenia imidaklopyrydu na koncentracje plemników. Stwierdzono, że ruchliwość plemników była istotnie niższa w grupie 200ppb IMD od grupy kontrolnej. Nie bez znaczenia był tu czynnik, z której rodziny w grupie pochodziły trutnie. Zatem wystąpiła istotna interakcja pomiędzy koncentracją IMD, a efektem rodziny pszczelej.

Badania nasze wykazały również wpływ poziomu IMD na żywotność plemników w nasieniu trutni. Przy czym efektem nie zawsze był spadek żywotności plemników. W niektórych rodzinach obserwowano bowiem wzrost tego parametru w zależności od stężenia imidaklopyrydu. Tu również stwierdzono istotną interakcję między czynnikami: stężenie IMD, a efekt rodziny pszczelej.

Pomiary potencjału błonowego mitochondriów plemników trutni zostały przez nasz zespół wykonane po raz pierwszy. Zatem było to nowatorskie badanie. Parametr ten pozwala dokładnie ocenić funkcję mitochondriów, które są odpowiedzialne za produkcję energii podczas ruchu plemników.

Średni potencjał mitochondrialny plemników, w grupach doświadczalnych wahał się od 66 dla grupy 0 ppb IMD do 93 % w grupie 200ppb IMD. Badania wykazały, że koncentracja imidaklopyrydu wpływa istotnie na ten parametr. Czynnikiem pochodzenia z określonej rodziny w grupie też miał wpływ na potencjał mitochondrialny nasienia trutni. Wystąpiła istotna korelacja między stężeniem IMD, a efektem rodziny pszczelej.

Badania nasze wykazały, że efekt toksyczny imidaklopyrydu na nasienie trutnia zależy również od wrażliwości rodziny pszczelej na ekspozycję IMD. Biorąc pod uwagę powyższe oraz to, że matka kopuluje z kilkunastoma trutniami, które mogą pochodzić z różnych rodzin pszczelich oraz różnych pasiek, nie przewidujemy niekorzystnego wpływu imidaklopyrydu na proces samego unasieniania się matek pszczelich i rozwoju rodzin pszczelich, w których będą czerwić te matki. Nie zmienia to faktu, że narażenie pszczoły miodnej na działanie neonikotynoidów może zaburzać potencjał reprodukcyjny pojedynczych trutni. Rezultaty omówionych badań przedstawiono w publikacji:

Ciereszko A., Wilde J., Dietrich G.J., Siuda M., **Bąk B.**, Judycka S., Karol H. 2017. Sperm parameters of honeybee drone exposed to imidacloprid. *Apidologie* 48: 211-222, DOI: <https://doi.org/10.1007/s13592-016-0466-2>, IF-2,856

Przebieg infekcji *V. destructor* i wpływ jej na rodzinę pszczelą oraz pojedyncze osobniki był również przedmiotem moich naukowych badań. W związku z tym zaproponowałam zespołowi Zakładu Biologii i Gamet Zarodka, Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie współpracę

celem sprawdzenia, jakie zmiany zachodzą w proteomie hemolimfy młodych robotnic rozwijających się w towarzystwie pasożytów.

W tym celu stworzono 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. Wykonano zarówno jakościowe (za pomocą spektrometrii mas laserowej desorpcji/ionizacji wspomaganą matrycą (MALDI)) jak i ilościowe oznaczenie białek (za pomocą dwuwymiarowej elektroforezy żelowej (2DDIGE)). Badanie pozwoliło zidentyfikować zmiany w 44 białkach hemolimfy w odpowiedzi na obecność pasożyta.

Stwierdziliśmy wzrost poziomu poliproteiny ASU06760.1 pochodzącej z wirusa zdeformowanych skrzydeł (DWV) w hemolimfie pszczoły miodnej po zakażeniu jedną lub 2-3 samicami *V. destructor* w porównaniu z pszczołami nie zarażonymi. Uznaliśmy, że ta poliproteina mogłaby być potencjalnym biomarkerem infestacji pszczoł tym pasożytem.

W hemolimfie pszczoł zainfekowanych *V. destructor* stwierdziliśmy duży wzrost niektórych heksameryn i białek kutikularnych. Wykazaliśmy też, że infekcja roztoczem może wpływać na ATP, wapń i wiązanie węglowodanów poprzez zmianę ekspresji fibryliny-1-podobnej i aldozy 1-epimerazy izoformy Xa, co może wywoływać zaburzenia w egzoszkielecie pszczoły. Zarejestrowaliśmy również wzrost poziomu białek uczestniczących w glikolizie, glukoneogenezie i syntezie glikogenu. W tym wzrosły poziomy białka podobnego do peroksidoksygenu i S-transferaza glutationu S1, które są odpowiedzią na stres oksydacyjny. Dodatkowo podczas infekcji *V. destructor* podwyższeniu uległa karboksyloesteraza, która wraz z S-transferazą glutationu jest zaangażowana w detoksykację niskich dawek insektycydów. Infekcja pasożytem spowodowała również większą aktywność pięciu enzymów zaliczanych do oksydoreduktaz. Hemolimfa robotnic zainfekowanych *V. destructor* miała obniżony poziom neutralnej alfa-glukozydazy AB i disulfidowej izomerazy białkowej A3, które są zaangażowane w metabolizm cukrów i detoksykację u owadów. Jeden z najbardziej znaczących spadków po zakażeniu pasożytem wykazały prekursor białka wiążące się z olfaktorem, co sugeruje, że infekcja *V. destructor* może upośledzać system węchowy pszczoł miodnych i może prowadzić do zakłóceń chemosensorycznych i komunikacji chemicznej.

Ponadto w hemolimfie robotnic zainfekowanych roztoczami zaobserwowaliśmy zwiększoną ekspresję kilku białek zaangażowanych w metabolizm łańcucha aminokwasów (BCAA) i metabolizm lipidów. Natomiast obniżyła się ekspresja białek zaangażowanych w szlaki

metaboliczne związane z przetwarzaniem informacji genetycznej, takie jak: translacja, transkrypcja, synteza białek. To sugeruje, że obecność *V. destructor* podczas rozwoju pszczoły może negatywnie wpływać zarówno na ekspresję informacji genetycznej, jak i na utrzymanie optymalnej struktury białek.

Podjęte wraz z zespołem PAN badania pokazały, że z zainfekowanego przez *V. destructor* czerwiu wygryzają się pszczoły silnie upośledzone na wielu poziomach fizjologicznych i biochemicznych. Na skutek wykazanych w naszych badaniach zmian w proteomie hemolimfy zaburzeniu mogą ulec metabolizm węglowodanów, detoksykacja, odpowiedź na stres oksydacyjny, aktywność rezerwuaru składników odżywczych, aktywność oksydoreduktaz, układ węchowy, aktywność genowa czy budowa egzoszkieletu robotnicy. W wyniku tych wspólnych badań powstała publikacja:

Słowińska, M., Nynca, J., **Bąk, B.**, Wilde J., Siuda M., Ciereszko A. 2019. 2D-DIGE proteomic analysis reveals changes in haemolymph proteome of 1-day-old honey bee (*Apis mellifera*) workers in response to infection with *Varroa destructor* mites. *Apidologie*, 50: 632–656. <https://doi.org/10.1007/s13592-019-00674-z>, IF-1,828

Podjęłam wspólne badania z Katedrą Biochemii Wydział Biologii i Biotechnologii UWM w Olsztynie. Celem badań było przeanalizowanie i przedstawienie powiązań między zmianami ekspresji genów kluczowych enzymów metabolicznych a metabolizmem trehalozy i glikogenu podczas rozwoju robotnicy, a także świeżo po jej wygryzieniu z komórki plastra. Badania miały charakter typowo poznawczy.

Utrzymanie homeostazy energetycznej jest podstawowym warunkiem przetrwania organizmu. Glikogen i trehaloza pełnią w tym zakresie kluczową rolę u owadów. Cukry te są syntezowane i gromadzone w ciałach tłuszczowych, a także w mięśniach skrzydeł, jajnikach, tchawkach i cewkach Malpighiego. Glikogen jest dominującym cukrem we wszystkich stadiach rozwojowych *Apis mellifera* i stanowi od 66% wszystkich cukrów u świeżo wygryzionych robotnic do 77% u 4- i 6-dniowych larw zwiniętych. Natomiast trehaloza stanowi 9,6-16,4% wszystkich cukrów rozpuszczalnych.

Metabolizm glikogenu wymaga dwóch enzymów: syntazy glikogenu (GS) do syntezy i fosforylasy glikogenu (GP) do rozkładu. Stężenie trehalozy jest uzależnione od aktywności kluczowych enzymów metabolizmu trehalozy. Dwa z nich są związane z syntezą trehalozy:

syntaza trehalozo-6-fosforanu (TPS), oraz fosfataza trehalozo-6-fosforanu (TPP). Rozkład trehalozy jest katalizowany przez specyficzną  $\alpha$ -glukozydazę-trehalazę (Tre). Ekspresja genów kodujących poszczególne enzymy zmienia się w trakcie rozwoju pszczoł, zależy również od wielu innych czynników.

Badaniu poddano różne stadia rozwojowe robotnic oraz świeżo wygryzione robotnice. Wykazano iż poziomy ekspresji genów kodujących syntazę 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 dwukrotnie wyższa niż w larwach L1/2. U poczwerek P1 i P4 ekspresja genu GS była znacznie wyższa w porównaniu z genem GP. Odwrotną sytuację zaobserwowano 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 nieznane. Wykazaliśmy wysoką korelację ( $r = 0,797$ ) pomiędzy ekspresją mRNA, a aktywnością GS.

Nasze obserwacje wskazują, że pszczoły miodne są prawdopodobnie pozbawione specyficznych TPP, co jest zgodne z wnioskami innych badaczy. Podejrzewamy, że u pszczoł miodnych, TPP ściśle specyficzne dla T-6-P zostały zastąpione fosfatazami o szerszej specyficzności. W trakcie badania wykazaliśmy, że 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.

Ponadto, w naszych badaniach 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 metamorfozy. W przypadku ekspresji genu TPS, zaobserwowano odwrotną prawidłowość, fluktuacje były wyższe w stadiach poczwarkowych niż larwalnych.

Zmiany zaobserwowane w ekspresji fosforylazy glikogenu i genów TPS w trakcie rozwoju 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. Nasze wyniki 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 wspólnych prac była publikacja:

Łopieńska-Biernat, E., Żółtowska, K., Zaobidna, Dimitryjuk M., Bąk B. 2018. Developmental changes in gene expression and enzyme activities of anabolic and catabolic enzymes for storage carbohydrates in the honeybee, *Apis mellifera*. *Insectes Sociaux*, 65, 571–580. <https://doi.org/10.1007/s00040-018-0648-1>, IF-1,412

Wykazana wcześniej skuteczność w wykrywaniu chorób pszczół przez czujniki półprzewodnikowe gazu dała mi impuls do podjęcia następnego kroku. Mianowicie postanowiłam sprawdzić czy czujniki mogą mieć również zastosowanie w innych aspektach pszczelarstwa. W tym celu podjęłam współpracę z Katedrą Metod Matematycznych Informatyki (Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie). Postawiliśmy wspólnie pytanie: jak będą zachowywały się odczyty czujników w rozpoznawaniu biologicznego statusu robotnic?. Badanie miało charakter całkowicie nowatorski. Eksperyment przeprowadzono w laboratorium. Jedną klasę reprezentowały robotnice młode (1-2 dniowe), które wygryzły się w cieplarni. Drugą klasę stanowiły robotnice starsze ponad 21 dniowe kolekcjonowane ze skrajnych plastrów z miodem, a trzecią stanowiły robotnice pochodzące z rodzin długotrwanie pozbawionych matek pszczelich czyli potencjalne trutówki. Rodziny pszczele, z których pozyskiwano trutówki posiadały w komórkach plastrów jaja składane przez robotnice. W rodzinach tych obserwowano czerw garbaty oraz dużą ilość trutni. Przebadano po 10 prób w każdej klasie. Pojedynczą próbę stanowiło 100 robotnic, które umieszczano w komorze drewnianej oraz styropianowej. Powietrze z nad robotnic zasysano jednocześnie do dwóch urządzeń Beecom. Były to dwa bliźniacze prototypy detektorów wieloczujnikowych M1 i M2. Dodatkowo stworzono również jako kontrolę klasę „pusta komora”, gdzie zasysano powietrze z pustych komór. Każda próba była mierzona przez 10 min (faza ekspozycji), a następnie przez 10 min czujniki były płukane przez zasysanie powietrza spoza komory badawczej (faza regeneracji). Faza regeneracji posłużyła korekcie różnicowej linii bazowej. Wyniki analizowano przy użyciu 10 różnych klasyfikatorów. Najlepszym dedykowanym dla problemu badawczego klasyfikatorem okazał się euclidean.1nn. W komorze drewnianej dla urządzenia M1 uzyskano dokładność zrównoważoną (accuracy balanced) 0,76, a TPR dla klasy trutówek vs. pozostałe

klasy wyniósł 0,74. Uzyskane wyniki pokazały, że zestaw przetestowanych czujników półprzewodnikowych ma potencjał do wykrywania stanów anormalnych w rodzinach pszczelich. To daje impuls do dalszych badań nad wykorzystaniem czujników półprzewodnikowych gazu w pszczelarstwie. Wyniki badań zostały przedstawione na konferencji naukowej oraz opublikowane w naukowym czasopiśmie:

**Bąk B.**, Wilk J., Wilde J., Siuda M., 2019. Zastosowanie półprzewodnikowych czujników lotnych związków organicznych w klasyfikowaniu statusu biologicznego robotnic pszczelich. Materiały z LVI Naukowej Konferencji Pszczelarskie, Puławy, 5-6 marca: 18.

Wilk J, **Bąk B.**, Artiemjew P., Wilde J, Siuda M. 2020. Classifying the Biological Status of Honeybee Workers Using Gas Sensors. *Sensors*, 21(166), DOI: 10.3390/s21010166, IF-IF=3,576

Wraz z Katedrą Klimatyzacji, Ogrzewnictwa, Gazownictwa i Ochrony Powietrza (Wydział Inżynierii Środowiska, Politechnika Wrocławska we Wrocławiu) w ramach projektu Biostrateg finansowanego ze środków NCBiR „Opracowanie innowacyjnych, inteligentnych narzędzi monitorujących występowanie zgnilca złośliwego (amerykańskiego) oraz podwyższonego poziomu porażenia *Varroa destructor* w rodzinach pszczoły miodnej” przez 3 lata prowadziliśmy badania nad możliwością wykorzystania półprzewodnikowych czujników gazu do wykrywania warrozy. Byliśmy pierwsi na świecie, którzy zgłębiali to zagadnienie. W projekcie tym pełniłam rolę kierownika zespołu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Prowadzenie tych badań wymagało ode mnie kilku wyjazdów do Politechniki Wrocławskiej we Wrocławiu w celu zapoznania się z strukturą urządzeń używanych w trakcie badań i mechanizmami ich działania. Ponad to opracowywano wspólnie plany badań i metodyki.

Wykorzystywanie półprzewodnikowych czujników gazów w wykrywaniu chorób nie jest nowością. Z powodzeniem można za ich pomocą diagnozować schorzenia u ludzi, zwierząt oraz roślin. Matryce wieloczujnikowe tworzą rdzeń urządzeń zwanych e-nosami. Są one na tyle czułe, że mogą być używane do rozpoznawania przyczyn biotycznych różnych schorzeń.

W przypadku chorób pszczoł jak na razie nie udało się wykorzystać czujników półprzewodnikowych do wykrywania samych patogenów zagrażających rodzinie pszczelej. W

przypadku warrozy mało prawdopodobne jest wykazywanie obecności samych roztoczy w rodzinie pszczelej za pomocą e-nosów z powodu mimikry zapachowej.

W ramach wspólnie przeprowadzanych eksperymentów jako pierwsi wykazaliśmy, że w odczytach czujników półprzewodnikowych powietrze ulowe rodziny pszczelej zainfekowanej tym pasożytem różni się od powietrza ulowego rodziny zdrowej. Próbowaliśmy sobie odpowiedzieć również na szereg pytań związanych z tym zagadnieniem. Pierwsze i najważniejsze to, czy możliwe jest rozróżnianie poziomu infestacji *V. destructor* w rodzinach pszczelich. Kolejne pytanie, to które czujniki są najczulsze. Również interesowało nas, jakie algorytmy są w stanie wspierać urządzenia i jak je kalibrować.

Wszystkie eksperymenty wykonaliśmy w warunkach terenowych z użyciem rodzin pszczelich *Apis mellifera carnica*, linii Kortówka. Testowano prototypowe urządzenia wytworzone i dostarczone przez Laboratorium Techniki Sensorowych i Badań Jakości Powietrza Wewnętrznego w Instytucie Klimatyzacji i Ogrzewnictwa Politechniki Wrocławskiej. Sercem tych urządzeń była matryca 6 czujników: TGS 823, TGS 826, TGS 832, TGS 2600, TGS 2602, TGS 2603 firmy Figaro.

Wstępnie przeprowadzone badania na 6-u rodzinach pszczelich, jeszcze przed rozpoczęciem projektu dały zadawalające rezultaty. Trzy badane rodziny charakteryzowały się poziomem infestacji *V. destructor* mieszczącym się w przedziale od 0% do 2,1%. Trzy kolejne rodziny pszczele miały poziom zarażenia pasożytem wyższy niż 11%. Pomiar prowadzono przez 12 godzin. Pojedynczy pomiar trwał 30 minut, z czego połowa stanowiła fazę ekspozycji, a druga część to faza regeneracji czujników. Analizowaliśmy odczyty czujników ze 180 sekundy fazy ekspozycji poddane różnicowej korekcie linii bazowej. Stwierdziliśmy, że odpowiedzi czujników półprzewodnikowych korelowały z poziomem infestacji *V. destructor*. Wartości odczytów czujników rosły wraz ze wzrostem poziomu infestacji pszczoł roztoczem. Analizy statystyczne wskazały, że różnice między odpowiedziami czujników gazu w porównywanych dwóch rodzinach pszczelich były istotne, gdy różnica w poziomie zarażenia *V. destructor* była większa niż 9.1%. Natomiast, jeżeli rodziny pszczele różniły się w poziomie infestacji *V. destructor* o 4,2% lub mniej to różnice w odczytach czujników były nieistotne.

W kolejnych badaniach, którymi objęto 18 rodzin pszczelich o poziomie zarażenia pasożytem od 0 – 24,76% wykazaliśmy, że na skuteczność detekcji warrozy wpływają takie czynniki jak: liczba i rodzaj czujników, klasyfikator, przynależność rodziny pszczelej do określonego zakresu infestacji oraz bilans zbioru danych do klasyfikacji. Wykazaliśmy, że

bardziej skuteczna od pojedynczego czujnika jest matryca kilku czujników, przy czym musi ich być co najmniej 4.

Porównaliśmy dwie metody klasyfikacyjne. Lepsze wyniki detekcji uzyskano przy użyciu maszyny wektorowej (SVM) w porównaniu z algorytmem k-najbliższych sąsiadów (k-NN). Wskaźniki True Positive Rate (TPR) i True Negative Rate (TNR) różniły się o kilka procent między wyznaczonymi grupami rodzin pszczelich w zależności od poziomu infestacji *V. destructor*. Średnie wyniki klasyfikacji, dla zbalansowanego zestawu danych, wyniosły: TPR = 0,93 i TNR = 0,95, a dla niezrównoważonego zestawu danych: TPR = 0,95 i TNR = 0,53. Dobór rodzin pszczelich oraz równowaga zbioru danych klasyfikacyjnych muszą być kontrolowane w celu osiągnięcia wysokiej wydajności proponowanej metody detekcji.

Wraz z zespołem badawczym prowadziliśmy również detekcję poziomu infestacji *V. destructor* w 44 rodzinach pszczelich. Najpierw pobieraliśmy z tych rodzin próbki pszczoł do badań metodą wyflukowania (flotacji). Uzyskaliśmy w ten sposób informację, że 15 rodzin pszczelich wykazywało poziom infestacji 0% , stanowiły one klasę „rodziny niezainfekowane”. Pozostałe 29 rodziny pszczele kwalifikowały się jako „rodziny zainfekowane”. W ciągu dwóch dni od pobrania próbki z rodzin pszczelich były do nich podłączane detektory gazu z matrycą sześcioczujnikową: TGS832, TGS2602, TGS823, TGS826, TGS2603 i TGS2600. Pomiar w każdej rodzinie trwał minimum 24 godziny. W ten sposób uzyskano 111 (38%) ważnych pomiarów dla klasy „nie zainfekowane” oraz a 181 (62%) pomiarów należących do klasy "zainfekowane". Celem badań było sprawdzenie czy odczyty czujników różnią się dla poszczególnych klas. Podstawą klasyfikacji były wektory cech złożone z odpowiedzi matrycy czujników gazowych. Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdzono, że najniższy błąd klasyfikacji wyniósł 17% i został osiągnięty przy zastosowaniu klasyfikatora k-NN. Biorąc pod uwagę, że eksperyment prowadzono w warunkach terenowych, w różnych rodzinach pszczelich o niestandardowych parametrach, umieszczonych na różnych pasieczyskach wynik ten należy uznać za bardzo dobry i wskazujący na duży potencjał selekcyjny matrycy sześcioczujnikowej w klasyfikowaniu rodzin zdrowych i chorych na warrozę. Uzyskane wyniki w tym eksperymencie dały impuls do dalszych prac nad doskonaleniem metody detekcji z uwzględnieniem przededefiniowania problemu klasyfikacji.

W kolejnym eksperymencie pomiary prowadziliśmy już w 15 rodzinach pszczelich zaklasyfikowanych wg 3-ech poziomów infestacji *V. destructor*: grupa A -słabo zainfekowane (0%-0,6%) – 5 rodzin, grupa B-średnio zainfekowane (3,8%-4,9%) – 5 rodzin, grupa C -silnie

zainfekowane (11%-52%) – 5 rodzin. Wydajność matrycy czujnikowej w wykrywaniu warrozy była oceniana na podstawie wskaźników TPR (true positive rate) i TNR (true negative rate). TPR był najniższy w grupie B i wynosił 0,65, a najwyższy w grupie A i wynosił 0,75. Natomiast TPN był bardzo wysoki we wszystkich grupach, ponad 0,92. Przy okazji zaobserwowaliśmy, iż odpowiedzi czujników na gaz pobierany z rodziny pszczelej o określonym poziomie infestacji *V. destructor* zbierane w ciągu 24 godz. charakteryzowały się zmiennością czasową. Wykazaliśmy, że skuteczność oceny poziomu warrozy przez urządzenia z matrycą sześciu czujników półprzewodnikowych zmienia się w ciągu doby. Okazało się, że zależy również od grupy. Najwyższa skuteczność pomiaru w grupie A uzyskiwano w godzinach między 23:00 a 8:00, następnie między 11:00 a 13:00 oraz między 15:00 a 20:00. W grupie B najkorzystniejsze do pomiaru były następujące przedziały czasowe: między 2:00 a 10:00 oraz między 16:00 a 22:00. W grupie rodzin pszczelich o wysokim poziomie infestacji *V. destructor* preferowane były pomiary między 2:00 a 22:00. To odkrycie, potwierdziło tylko, że odczyty czujników z pomiarów rodzin pszczelich zależą nie tylko od poziomu infestacji pszczoł *V. destructor*, ale również od innych czynników.

Uzyskane wraz z zespołem Katedry Klimatyzacji, Ogrzewnictwa, Gazownictwa i Ochrony Powietrza wyniki wskazały na duży potencjał metody pomiarowej opartej na czujnikach gazu jako rozwiązania kandydującego do wykrywania *V. destructor* i detekcji poziomu infestacji. Matryca 6-u półprzewodnikowych czujników może okazać się skutecznym narzędziem do wykrywania tej choroby w rodzinach pszczelich. Wykorzystanie jego przez pszczelarzy, służby weterynaryjne, czy też naukowców może pozwolić na szybki wykrycie niebezpiecznych dla rodziny pszczelej poziomów inwazji *V. destructor* i usprawnić działania prowadzące do ich obniżenia. Zapobiegnie to drastycznym depopulacjom pasiek, co pozwoli utrzymać populację pszczoł na wysokim poziomie, a może nawet przyczynić się w dłuższej perspektywie do jej wzrostu. Przyczyni się to do poprawienia sytuacji pszczelarstwa nie tylko w Polsce ale także na świecie. Globalną korzyścią płynącą z takiego stanu rzeczy będzie zwiększone zapylenie dzikich roślin i upraw rolnych. To z kolei wpłynie na bioróżnorodność oraz zwiększy produkcję żywności. Wyniki wspólnie prowadzonych badań opublikowano w materiałach konferencyjnych i czasopismach naukowych:

Szczurek, A.; Maciejewska, M.; Bąk, B.; Wilde, J.; Siuda, M. 2019. Semiconductor gas

sensor as a detector of *Varroa destructor* infestation of honey bee colonies – Statistical evaluation. *Computers Electronics Agriculture*, 162. doi:10.1016/j.compag.2019.04.033, IF-5,591.

Szczurek A.; Maciejewska M. ;**Bąk B.**, Wilk J., Wilde J., Siuda M. **2019**. Detection Level of Honeybee Disease: Varroosis Using a Gas Sensor Array. *In Proceedings Conference: 5th International Conference on Sensors And Electronic Instrumentation Advances (Seia' 19)*, 255-256.

Szczurek, A.; Maciejewska, M.; **Bąk, B.**; Wilk, J.; Wilde, J.; Siuda, M. **2019**. Gas Sensor Array and Classifiers as a Means of Varroosis Detection. *Sensors*, 20: 117. doi:10.3390/s20010117, IF-3,275

Szczurek, A.; Maciejewska, M.; **Bąk, B.**; Wilk, J.; Wilde, J.; Siuda, M. 2019. Detection of Honeybee Disease: Varroosis using a Semiconductor Gas Sensor Array. Proceedings of the 8th International Conference on Sensor Networks. *Sensornets*: 58- 66. DOI: 10.5220/0007575600580066

Szczurek A, Maciejewska M, Zajiczek Ż, **Bąk B**, Wilk J, Wilde J, Siuda M. 2020. The Effectiveness of *Varroa destructor* Infestation Classification Using an E-Nose Depending on the Time of Day. *Sensors* . 29, 20(9): 2532. doi: 10.3390/s20092532., IF-3,576

Szczurek A.; Maciejewska M., **Bąk B.**; Wilk J.; Wilde J., Siuda M. 2020. Classification of honeybee infestation by *Varroa destructor* using gas sensor array. Proceedings of the 9th International Conference on Sensor Networks. *Sensornets*: 61-68. DOI: 10.5220/0009171100610068

## **5. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ LUB SZTUKĘ.**

### 5.1 Osiągnięcia dydaktyczne

Moja współpraca wcześniej z Katedrą Pszczelnictwa, która przekształciła się w obecną Katedrę Drobiarstwa i Pszczelnictwa rozpoczęła się, gdy byłam na IV-ym roku studiów. Wówczas zapisałam się do Naukowego Koła Pszczelarskiego, gdzie w ciągu roku zostałam prezesiną tego koła. Była to kolejna moja naukowa działalność, bo wcześniej (od I-ego roku studiów) aktywnie uczestniczyłam w spotkaniach Naukowego Koła Chiropterologicznego, którego też byłam prezesiną. W obydwu kołach naukowych prowadziłam tematyczne badania naukowe, których wyniki z sukcesami prezentowałam na Ogólnopolskich Seminariach Kół Naukowych (pod panińskim nazwiskiem: Masłowska). Listę moich doniesień seminaryjnych z czasów studenckich zawarłam w załączniku 4 (poz.2.4.1-2.4.9).

Po zakończeniu studiów objęłam funkcję zastępcy opiekuna naukowego Naukowego Koła Pszczelarskiego działającego przy Katedrze Pszczelnictwa, Wydziału Bioinżynierii Zwierząt (UWM Olsztyn). Przez kolejne lata pomagałam studentom w organizacji corocznych obozów naukowych, w tym za granicą. Angażowałam studentów w badania naukowe prowadzone przez Katedrę Pszczelnictwa, ukierunkowywałam i nadzorowałam ich pracę. Następnie pomagałam im przygotować wystąpienia na Seminaria Kół Naukowych, z których zawsze wracali z sukcesami stając z reguły na podium. Praca dydaktyczna z młodzieżą ukierunkowaną na działalność naukową z pszczelnictwa dawała mi zawsze satysfakcję. Udało mi się zaszczepić miłość do pszczół u studentów różnych wydziałów, nie koniecznie związanych z hodowlą zwierząt. Wielu moich wychowanków z Naukowego Koła Pszczelarskiego prowadzi w tej chwili pasieki, niektórzy zawodowe.

Również przez wiele lat jako doktorantka oraz specjalista prowadziłam w Katedrze Pszczelnictwa zajęcia dla studentów wydziału Bioinżynierii Zwierząt Uniwersytetu Warmińsko - Mazurskiego w Olsztynie z następujących przedmiotów:

1. Pszczelarstwo – II rok wydziału Bioinżynierii Zwierząt, kier. Zootechnika
2. Chów i hodowla wybranych gatunków owadów – III rok wydziału Bioinżynierii Zwierząt, kier. Zootechnika
3. Ekologiczne i ekonomiczne aspekty pszczelarstwa -III rok wydziału Bioinżynierii Zwierząt, kier. zootechnika
4. Chów jedwabników i dziko żyjących owadów zapylających – V rok wydziału Bioinżynierii Zwierząt, kier. zootechnika

Sprawowałam opiekę nad jedną pracą magisterską:

2005 - Andrzej Prońcio: "Intensywność i sukces oczyszczania się pszczół z samic *V. destructor*"

W latach 2008-2013 współpracowałam również z Okręgową Komisją Egzaminacyjną w Łomży. Tworzyłam wówczas testy zawodowe do techników pszczelarskich. Byłam również recenzentem takich testów, tworzonych przez innych autorów. W 2008 roku miałam przyjemność być w składzie państwowej komisji egzaminacyjnej podczas egzaminu państwowego na „technika pszczelarza”. Zatrudniono mnie też jako nauczyciela 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 wchodziłam 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.

### 5.3. Osiągnięcia organizacyjne

#### 5.3.1. Członkostwo w towarzystwach naukowych:

2006 – obecnie -Członkini Pszczelniczego Towarzystwa Naukowego

2008 – obecnie Członkini COLOSS (Honey Bee Research Association)

#### 5.3.2. Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych i krajowych:

- Journal of Apicultural Science – 1
- Journal of Apicultural Research - 1.

### 5.4. Osiągnięcia popularyzatorskie

Popularyzuję wiedzę pszczelarską wśród pszczelarzy oraz lekarzy weterynarii w całej Polsce ze szczególnym naciskiem na Polskę północno-wschodnią. W ramach tego co roku prowadzę po kilka prelekcji na temat: chorób pszczół, gospodarki pasiecznej, biologii pszczół, anatomii pszczół, fizjologii pszczół i dzikich pszczołowatych. Na takich spotkaniach popularyzuję wyniki badań naukowych osiągnięte przeze mnie oraz zespół naukowy Katedry Drobiarstwa i Pszczelnictwa. Często są to prelekcje 8 godzinne i weekendowe. W ramach tych



spotkań stworzyłam szereg materiałów szkoleniowych liczących po kilkadziesiąt stron. Prowadzę również zajęcia praktyczne na zamówienie organizacji pszczelarskich, szczególnie z chorób pszczół. Wiedzę pszczelarską również popularyzuję w branżowych czasopismach pszczelarskich: Pszczelarstwo oraz Pasieka (załącznik 4, pkt. 3).

## 6. INNE WAŻNE INFORMACJE DOTYCZĄCE KARIERY ZAWODOWEJ.

Od rozpoczęcia studiów doktoranckich w 2002 r. stale podejmuję w Katedrze Drobiarstwa i Pszczelnictwa (dawniej Katedrze Pszczelnictwa) szereg działań o charakterze naukowym, które mogę zakwalifikować do następujących grup tematycznych:

1. Mechanizmy oporności pszczoły miodnej na *V. destructor*
2. Metody zwalczania pasożyta *V. destructor* w pasiekach polskich i ich skuteczność
3. Lekooporność *V. destructor*
4. Gospodarka pasieczna
5. Dzikie pszczołowate

Ad. 1. Jako lekarz weterynarii, specjalista chorób owadów użytkowych od początku mojej kariery naukowej intensywnie zgłębiałam tematykę chorób pszczół. Szczególnie skupiam się na temacie warrozy i skutecznych metodach jej leczenia. Temat mojego doktoratu nosił tytuł: „Mechanizmy oporności na *Varroa destructor* (Anderson, Truman 2000) u różnych podgatunków pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L.)”. Porównałam w nim stopnie nasilenia takich mechanizmów obrony pszczół przed pasożytem jak: grooming behaviour, cleaning behaviour, skrócony okres czerwiu zasklepionego oraz współczynnik przyrostu populacji *V. destructor* u 5 użytkowanych podgatunków i linii hodowlanych pszczół w Polsce. Na badania te uzyskałam w 2005 r. grant promotorski „Mechanizmy oporności na *Varroa destructor* (*Mesostigmata: Varroidae*) u różnych podgatunków pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L., *Hymenoptera: Apidae*)” finansowany przez Komitet Badań Naukowych oraz 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. Wyniki uzyskane w ramach

tych badań prezentowałam na licznych konferencjach naukowych (załącznik 4: poz. 2.4.13, 14, 15, 18, 20) oraz opublikowałam w czasopismach naukowych (Załącznik 4: poz. 2.1.7, 10, 12, 13, 17).

Ad. 2 W 2009 roku w ramach programu COST Action FA0803 „COLOSS: Prevention of honeybee Colony Losses” Katedra Pszczelnictwa uzyskała 3-letni grant naukowy zatytułowany: „Technologie pasieczne, pokarmy dla pszczół oraz zwalczanie pasożyta *Varroa destructor* w zapobieganiu masowym ginięciom rodzin pszczelich”. Byłam pomysłodawcą oraz autorem metodyki i wykonawcą trzeciej części projektu. Jako już praktykujący lekarz weterynarii spotykałam się często z pytaniem jak skutecznie leczyć warrozę. Postanowiłam zatem porównać trzy schematy zwalczania *Varroa destructor* w oparciu o leki przeciwwarrozowe powszechnie stosowane w naszym kraju. Uzyskane wyniki pozwoliły z pełną konsekwencją 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 (załącznik 4: poz. 2.1. 14, 21, poz. 2.4.23, 26, 29, poz. 2.5.4).

Usługowo pod auspicjami Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego przebadalam wraz z zespołem Katedry Pszczelnictwa skuteczność kilku leków przeciwwarrozowych. Badano preparat tureckiej firmy BioHayat (załącznik 4: poz. 3.2.2) oraz niemieckiej firmy Bayer (załącznik 4: poz. 3.2.4). W obecnej chwili w Katedrze Drobiarstwa i Pszczelnictwa badam preparaty oparte na kwasach organicznych. Podczas oceny leków służących do zwalczania pasożyta w rodzinach pszczelich oprócz skuteczności sprawdzam też wpływ na czerw i pszczoły, oraz badam pozostałości substancji czynnych w produktach pszczelich. Wyniki przedstawiam na konferencjach pszczelarskich (załącznik 4: poz. 2.4.33,38) oraz publikuje w czasopismach popularnonaukowych (załącznik 4: poz. 2.3.16).

Ad. 3 W 2009 roku badałam pasieki w Polsce północno-wschodniej pod kątem obecności pasożytów lekoopornych. Badania były finansowane z grantu „Oporność *Varroa destructor* na akarycydy na terenie północno-wschodniej Polski”. Uzyskane rezultaty prezentowałam na konferencji pszczelarskiej (załącznik 4: poz. 2.4.27) oraz opublikowałam w czasopiśmie naukowym jako praca oryginalna (załącznik 4: poz 2.1. 11).

Ad. 4 W ramach grantu „Technologie pasieczne, pokarmy dla pszczoł oraz zwalczanie pasożyta *Varroa destructor* w zapobieganiu masowym ginięciom rodzin pszczelich”. Wspólnie z zespołem Katedry Pszczelnictwa prowadziłam badania dotyczące wpływu rodzaju pokarmu węglowodanowego podawanego pszczołom na zimę na ich zimowlę i rozwój wiosenny oraz wpływ późnego wychowu czerwiu na zdrowie i produktywność rodzin pszczelich. Usługowo testowałam ponadto różne suplementy diety firmy BioHayat dla pszczoł (załącznik 4: poz. 3.2.1). Wyniki zaprezentowaliśmy na konferencjach naukowych (załącznik 4: 2.4.24, 25, 28, 32) oraz w publikacjach naukowych (załącznik 4: poz. 2.1.15).

Ad. 5 Jako osoba, której od dziecka była bliska przyroda, w swojej działalności naukowej nie skupiam się wyłącznie na pszczole miodnej, ale również interesują mnie inne gatunki pszczołowatych. Szczególnie zainteresowała mnie murarka ogrodowa. Badałam jej aktywność lotną oraz behavior rozrodu. Ponad to sprawdzałam jak wpływa obecność pszczoły miodnej na miejscową apifaunę w kontekście konkurencji pokarmowej. (załącznik 4: poz. 2.1.5, 6, poz. 2.4.8, 11, 35 poz. 2.5.1,2).

Jestem głównym autorem większości wniosków projektowych, które aplikowała Katedra Pszczelnictwa w celu pozyskania dofinansowania na badania naukowe (załącznik 4: poz. 2.6).

## Wykaz osiągnięć naukowych albo artystycznych, stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny

### 1. WYKAZ OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH ALBO ARTYSTYCZNYCH, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1. PKT 2 USTAWY

#### 1.1. Cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2b ustawy:

##### PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA

- 1.1.1. **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(14): 4014. DOI: 10.3390/s20144014, **IF-3,576**
- 1.1.2. 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. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137866>, **IF-6,551**
- 1.1.3. **BĄK B.**, WILK J., ARTIEMJEW P., WILDE J. **2021**. Recording the presence of *Peanibacillus 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>, **IF-3,847**
- 1.1.4. **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>, **IF – 3,847**

### 2. WYKAZ AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ ALBO ARTYSTYCZNEJ

#### 2.1. Wykaz opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt 1.1):

##### PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA

- 2.1.1. **BĄK B.**, WILDE J., RYKOWSKI D. **2002**. Techniki komputerowe w dydaktyce pszczelarskiej. *Biuletyn Naukowy*, 19(6): 55-64.
- 2.1.2. **BĄK B.**, BRATKOWSKI J., WILDE J. **2002**. Następstwa ograniczonego zwalczania *Varroa* w rodzinach pszczelich. *Biuletyn Naukowy*, 18(5): 123-130.
- 2.1.3. **BĄK B.**, BRATKOWSKI J., WILDE J. **2002**. Pszczelarstwo w opinii studentów Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego. *Biuletyn Naukowy*, 18(5): 35-44.

- 2.1.4. WILDE J., ROMANIUK K., SIUDA M., **BĄK B.** 2003. Ocena atrakcyjności niektórych podgatunków pszczoły miodnej dla samic *Varroa destructor*. *Medycyna Weterynaryjna*, 59(8): 726-727, **IF – 0,236**
- 2.1.5. **BĄK B.**, WILDE J. 2003. Tempo rozwoju populacji murarki ogrodowej - *Osmia rufa* (L.) (Hymenoptera: Apidae) w sztucznych gniazdach trzcinowych. *Wiadomości Entomologiczne*, 22(3): 161-167.
- 2.1.6. **BĄK B.**, WILDE J. 2003. The monitoring of the fly activity of red mason bee (*Osmia rufa* L.). *Acta Biologica Universitatis Daugavpiliensis*, 3(2): 97-100.

## PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA

- 2.1.7. SIUDA M., **BĄK B.**, WILDE J., BRATKOWSKI J. 2007. Oczyszczanie komórek plastra z zamarłego czerwiu pszczelego przez robotnice europejskich podgatunków pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L.). *Biuletyn Naukowy*, 28: 23-27.
- 2.1.8. **BĄK B.**, WILDE J., SIUDA M., KOBYLIŃSKA M. 2009. Comparison of two methods of monitoring honeybee infestation with *Varroa destructor* mite. *Ann. Warsaw Agricult. Univ. – SGGW, Animal Science*, 46: 33-38.
- 2.1.9. SIUDA M., WILDE J., **BĄK B.**, KOBYLIŃSKA M. 2009. Impact of sequence of particular drones semen administration on quantify of their own progeny after instrumental insemination. *Annals of Warsaw Agricultural University – SGGW, Animal Science*, 46: 109-114.
- 2.1.10. **BĄK B.**, WILDE J., SIUDA M. 2010. Comparison of hygienic behaviour between five honey bee breeding lines. *Journal of Apicultural Science*, 54(2): 17-24, **IF-0,674**
- 2.1.11. **BĄK B.**, WILDE, J., SIUDA M. 2012. Characteristics of north-eastern population of *Varroa destructor* resistant to synthetic pyrethroids *Medycyna Weterynaryjna*, 68(10): 603-606, **IF- 0,203**
- 2.1.12. **BĄK B.**, SIUDA M., WILDE J. 2012. Comparison of post-capping period in different subspecies of honey bee. *Medycyna Weterynaryjna* 68 (10): 612-614, **IF-0,203**
- 2.1.13. **BĄK B.**, WILDE J., SIUDA M. 2013. Effect of the honey bee subspecies on *Varroa destructor* population growth and brood infestation. *Medycyna Weterynaryjna*, 69(12): 741-743, **IF – 0,196**
- 2.1.14. **BĄK B.**, WILDE J., SIUDA M. 2013. Efficiency of *Varroa destructor* management with medications used in Poland. *Medycyna Weterynaryjna*, 69(12): 744-748, **IF-0,196**
- 2.1.15. WILDE J., **BĄK B.**, SIUDA M. 2014. Development and productivity of honeybee colonies administered food supplements in spring. *Medycyna Weterynaryjna*, 70 (12): 750-753, **IF-0,218**

- 2.1.16. SŁOWIŃSKA M., NYNCA J., WILDE J., **BĄK B.**, SIUDA M., CIERESZKO A. **2015**. Total antioxidant capacity of honey bee hemolymph in relation to age and exposure to pesticides, and comparison to antioxidant capacity of seminal plasma. *Apidologie*, 47: 227–236. DOI: 10.1007/s13592-015-0391-9, **IF-1,655**
- 2.1.17. **BĄK B.**, WILDE J. **2016**. Grooming behavior by worker bees of various subspecies of honey bees to remove *Varroa destructor* mites. *Journal of Apicultural Research*, 54: 1-9. 10.1080/00218839.2016.1147791, **IF-1,364**
- 2.1.18. WILDE J., FRĄCZEK R. J., SIUDA M., **BĄK B.**, HATJINA F., MISZCZAK A. **2016**. The influence of sublethal doses of imidacloprid on protein content and proteolytic activity in honey bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Apicultural Research*, 55(2): 212-220. DOI: 10.1080/00218839.2016.1211394, **IF-1,364**
- 2.1.19. CIERESZKO A., WILDE J., DIETRICH G.J., SIUDA M., **BĄK B.**, JUDYCKA S., KAROL H. **2017**. Sperm parameters of honeybee drone exposed to imidacloprid. *Apidologie*, 48: 211-222. <https://doi.org/10.1007/s13592-016-0466-2>, **IF-2,856**
- 2.1.20. ŁOPIEŃSKA-BIERNAT, E., ŻÓLTOWSKA, K., ZAOBIDNA, DIMITRYJUK M., **BĄK B.** **2018**. Developmental changes in gene expression and enzyme activities of anabolic and catabolic enzymes for storage carbohydrates in the honeybee, *Apis mellifera*. *Insectes Sociaux*, 65: 571–580. <https://doi.org/10.1007/s00040-018-0648-1>, **IF-1,412**
- 2.1.21. **BĄK B.**, WILDE J., SIUDA M. **2018**. The condition of honey bee colonies (*Apis mellifera*) treated for *Varroa destructor* by different methods. *Journal of Apicultural Research*, 57 (5): 674-681. DOI: 10.1080/00218839.2018.1495440, **IF-1,752**
- 2.1.22. SŁOWIŃSKA, M., NYNCA, J., **BĄK B.**, WILDE J., SIUDA M., CIERESZKO A. **2019**. 2D-DIGE proteomic analysis reveals changes in haemolymph proteome of 1-day-old honey bee (*Apis mellifera*) workers in response to infection with *Varroa destructor* mites. *Apidologie*, 50: 632–656. <https://doi.org/10.1007/s13592-019-00674-z>, **IF- 1,828**
- 2.1.23. SZCZUREK A., MACIEJEWSKA M., **BĄK B.**, WILDE J., SIUDA M. **2019**. Semiconductor gas sensor as a detector of *Varroa destructor* infestation of honey bee colonies – Statistical evaluation. *Computers and Electronics in Agriculture*, 162: 405-411. [doi.org/10.1016/j.compag.2019.04.033](https://doi.org/10.1016/j.compag.2019.04.033), **IF-5,591**
- 2.1.24. SZCZUREK A., MACIEJEWSKA M., **BĄK B.**, WILK J., WILDE J., SIUDA M. **2019**. Detection Level of Honeybee Disease: Varroosis Using a Gas Sensor Array. *In Proceedings Conference: 5th International Conference on Sensors And Electronic Instrumentation Advances (Seia' 19)*, 255-256.
- 2.1.25. SZCZUREK, A., MACIEJEWSKA, M., **BĄK B.**, WILK, J., WILDE, J. AND SIUDA, M. **2019**. Detection of honeybee disease: Varroosis using a

Semiconductor Gas Sensor Array. In Proceedings of the 8th International Conference on Sensor Networks. *Sensornets*, 58-66. DOI: 10.5220/0007575600580066.

- 2.1.26. SZCZUREK A., MACIEJEWSKA M., BĄK B., WILK J., WILDE J., SIUDA M. **2019**. Gas Sensor Array and Classifiers as a Means of Varroosis Detection. *Sensors*, 20(1): 117. doi:10.3390/s20010117, **IF – 3,275**
- 2.1.27. SZCZUREK A., MACIEJEWSKA M., BĄK B., WILK J., WILDE J., SIUDA M. **2020**. Classification of honeybee infestation by *Varroa destructor* using gas sensor array. Proceedings of the 9th International Conference on Sensor Networks. *Sensornets*, 61-68. DOI: 10.5220/0009171100610068
- 2.1.28. SZCZUREK A., MACIEJEWSKA M., ZAJICZEK Ż., BĄK B., WILK J., WILDE J., SIUDA M. **2020**. The Effectiveness of *Varroa destructor* Infestation Classification Using an E-Nose Depending on the Time of Day. *Sensors (Basel)*, 20(9): 2532. doi: 10.3390/s20092532. PMID: 32365639; PMCID: PMC7248774, **IF-3,576**
- 2.1.29. WILK J., BĄK B., ARTIEMJEW P., WILDE J., SIUDA M. **2020**. Classifying the Biological Status of Honeybee Workers Using Gas Sensors. *Sensors*, 21(166). DOI: 10.3390/s21010166, **IF-3,576**
- 2.1.30. PALEOLOG J., WILDE J., SIUDA M., BĄK B., WÓJCIK Ł., STRACHECKA A. **2020**. Imidacloprid markedly affects hemolymph proteolysis, biomarkers, DNA global methylation, and the cuticle proteolytic layer in western honeybees. *Apidologie*, 51: 620–630. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00747-4>, **IF-2,318**
- 2.1.31. BĄK B., WILDE J., SIUDA M., WILK J. **2021**. Varroacide effectiveness of Polyvar Yellow® (flumethrin 275 mg) preparation. *Journal of Apicultural Science*, 65: 189-193. DOI: 10.2478/jas-2021-0011, **IF – 1,526**

## 2.2. Artykuły przeglądowe w czasopismach i materiałach konferencyjnych:

### PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA

- 2.2.1. BĄK B., WILDE J. **2001**. Czerw pszczeli – niekonwencjonalne źródło białka zwierzęcego. VII Krajowa Naukowo-Techniczna Konferencja Pszczelarska: „Pozyskiwanie i zagospodarowanie mlecza pszczelego i czerwia”. 6 grudnia 2001. Częstochowa: 68-80.
- 2.2.2. BĄK B., WILDE J. **2001**. Mleczko i czerw pszczeli w diecie człowieka. VII Krajowa Naukowo-Techniczna Konferencja Pszczelarska: „Pozyskiwanie i zagospodarowanie mlecza pszczelego i czerwia”. 6 grudnia 2001. Częstochowa: 51-67.
- 2.2.3. BĄK B., WILDE J. **2002**. Czerw pszczeli – niekonwencjonalne źródło białka zwierzęcego. *Biuletyn Naukowy*, 18(5): 229-238.
- 2.2.4. BĄK B., WILDE J. **2002**. Mleczko pszczele jako produkt dietetyczny i leczniczy. *Biuletyn Naukowy*, 18(5): 201-214.

- 2.2.5. **BĄK B., WILDE J. 2002.** Biologia wypacania, właściwości fizykochemiczne oraz szkodniki wosku różnych pszczołowatych. VIII Krajowa Naukowo-Techniczna Konferencja Pszczelarska: „Pozyskiwanie i zagospodarowanie wosku pszczelego”. 6 grudnia 2001. Częstochowa: 17-27.
- 2.2.6. **BĄK B., SIUDA M., WILDE J. 2002.** Wosk pszczeli ogniwem w przenoszeniu chorób pszczół. VIII Krajowa Naukowo-Techniczna Konferencja Pszczelarska: „Pozyskiwanie i zagospodarowanie wosku pszczelego”. 6 grudnia 2001. Częstochowa: 64-65.
- 2.2.7. **BRATKOWSKI J., BĄK B., WILDE J. 2002.** Wosk źródłem skażenia gniazda pszczelego pozostałościami po lekach. VIII Krajowa Naukowo-Techniczna Konferencja Pszczelarska: „Pozyskiwanie i zagospodarowanie wosku pszczelego.” 6 grudnia 2001. Częstochowa: 71-79.
- 2.2.8. **BĄK B., WILDE J. 2002.** Amatorska hodowla murarki ogrodowej (*Osmia rufa* L.) sposobem na ochronę i ekspansję tego gatunku. Ogólnopolska konferencja naukowa „Ochrona owadów w Polsce – ekologiczne i gospodarcze konsekwencje wymierania i ekspansji gatunków”. PTE Poznań i UWM Olsztyn, 21-23.09.2002. Olsztyn: 5.
- 2.2.9. **BĄK B., WILDE J. 2003.** Jakość miodu pszczelego w świetle najnowszych przepisów. Materiały z IX Krajowej Naukowo-Technicznej Konferencji Pszczelarskiej: „Pozyskiwanie i zagospodarowanie miodu pszczelego”. 6 grudnia 2003. Częstochowa. Pszczelarski Dom Sprzedaży Wysyłkowej „Darz miód”: 33-44.
- 2.2.10. **BĄK B., WILDE J. 2003.** Miód wolny od pozostałości leków to atut pszczelarzy prowadzących prawidłową walkę z chorobami pszczół. Materiały z IX Krajowej Naukowo-Technicznej Konferencji Pszczelarskiej: „Pozyskiwanie i zagospodarowanie miodu pszczelego”. 6 grudnia 2003. Częstochowa. Pszczelarski Dom Sprzedaży Wysyłkowej „Darz miód”: 61-77.
- 2.2.11. **BĄK B. 2004.** Rola matki w rodzinie pszczelej. III Ogólnopolska Konferencja Pszczelarska pt: „Pszczelarstwo – hobby i biznes”. Olsztyn, 07 luty.
- 2.2.12. **BĄK B. 2004.** Następstwa chorób pszczół. III Ogólnopolska Konferencja Pszczelarska pt: „Pszczelarstwo – hobby i biznes”. Olsztyn, 07 luty.
- 2.2.13. **BĄK B., WILDE J. 2004.** *Varroa destructor* w świetle najnowszych badań. Materiały z 19. Naukowej Konferencji Pszczelarskiej: „Warroza pszczół i gospodarka pasieczna”. XI. Olsztyn: 12
- 2.2.14. **BĄK B., WILDE J. 2004.** Nadzór weterynaryjny nad pasiekami gwarancją dobrej jakości miodu i innych produktów pasiecznych. Produkty pszczele w świetle wymagań Unii Europejskiej. X Krajowa Naukowo-Techniczna Konferencja Pszczelarska. Częstochowa, 2004: 67-77.

## PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA



- 2.2.15. WILDE J., BĄK B., SIUDA M. 2012. Pozyskanie funduszy od sponsora na obóz naukowy za granicą szansą na rozwój naukowy i zawodowy studentów Naukowego Koła Pszczelarskiego „Dzikie pszczoły” Aktualne problemy i wyzwania w dydaktyce Katedry Pszczelnictwa WBZ UWM w Olsztynie. 4-5 października Kiry k/ Zakopanego. X Spotkanie Dydaktyczne Katedr, Zakładów Pszczelnictwa, Pracowni Hodowli oraz Pracowni Chorób Owadów Użytkowych „Problemy nauczania pszczelnictwa po ostatnich zmianach prawnych dotyczących szkolnictwa wyższego”: 6-8.

### 2.3. Artykuły popularnonaukowe:

#### PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA

- 2.3.1. BĄK B., BRATKOWSKI J., WILDE J. 2001. Pszczelnictwo wśród studentów. *Pszczelarstwo*, 52 (10):5-6.
- 2.3.2. BĄK B., BRATKOWSKI J., WILDE J. 2003. Następstwa ograniczonego leczenia rodzin pszczelich przeciwko warrozie. *Pszczelarstwo*, 54 (10): 4-6.
- 2.3.3. BRATKOWSKI J., WILDE J., BĄK B. 2003. Wrażliwość wosku pszczelego na skażenie pozostałościami po lekach. *Pasieka*, 3 (3): 52-56.
- 2.3.4. BĄK B., WILDE J. 2003. Czerw pszczeli - niekonwencjonalne źródło białka zwierzęcego. *Pszczelarstwo*, 54 (2): 16-17.
- 2.3.5. BĄK B., SIUDA M., WILDE J. 2004. Choroby pszczół przenoszone przez plastry i wosk. *Pszczelarstwo*, 55 (1): 4-5.
- 2.3.6. BĄK B., WILDE J. 2004. Najnowsze przepisy dotyczące jakości handlowej i zdrowotnej miodu pszczelego (część I). *Pszczelarstwo*, 55 (2): 2-44.
- 2.3.7. BĄK B., WILDE J. 2004. Najnowsze przepisy dotyczące jakości handlowej i zdrowotnej miodu pszczelego (część II). *Pszczelarstwo*, 55 (3): 2-44.
- 2.3.8. BĄK B., SIUDA M., WILDE J. 2004. Wosk pszczołowatych. *Pasieka*, 1 (5): 56-60.
- 2.3.9. BĄK B., SIUDA M., WILDE J., BRATKOWSKI J. 2004. Linie pszczół odporne na choroby szansą na lepsze funkcjonowanie pasiek. *Pszczelarstwo*, 55 (9): 2-4.
- 2.3.10. LIPIŃSKI Z., BĄK B. 2004. Metody jakościowego i ilościowego badania miodów na obecność antybiotyków. *Pszczelarstwo*, 55 (6): 7.
- 2.3.11. BĄK B., LIPIŃSKI Z. 2004. Pozostałości chemioterapeutyków w miodzie. *Pszczelarstwo*, 55 (5): 7-8.

- 2.3.12. **BĄK B., WILDE J. 2004.** Jak zmniejszyć ryzyko wystąpienia pozostałości leków w miodzie. *Pasieka*, 3 (7): 32-35.
- 2.3.13. **BĄK B., WILDE J. 2005.** *Varroa destructor* w świetle najnowszych badań. *Pszczelarstwo*, 56 (2): 2-3.
- 2.3.14. **BĄK B., WILDE J. 2005.** Amatorski chów murarki ogrodowej (*Osmia rufa* L.). *Pszczelarstwo*, 56 (6): 2-4.

#### PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA

- 2.3.15. **BĄK B. 2008.** Kwas szczawiowy w walce z *Varroa destructor*. *Pasieka* (2): 32-36.
- 2.3.16. **BĄK B., WILK J., SIUDA M., WILDE J. 2022.** Stworzenie receptury oraz rekomendacji wdrożeniowych dla preparatu do zwalczania *Varroa destructor* o działaniu długookresowym na nośniku stałym, na bazie kwasów organicznych i porównanie go z innym tego typu preparatem stosowanym przez pszczelarzy na terenie Polski. *Pasieka*: <https://pasieka24.pl/index.php/pl-pl/wiedza-w-komorce/porady-pszczelarskie-w-pasiece/3538-stworzenie-receptury-oraz-rekomendacji-wdrozeniowych-dla-preparatu-do-zwalczania-varroa-destructor-o-dzialaniu-dlugookresowym-na-nosniku-stalym-na-bazie-kwasow-organicznych-i-porownanie-go-z-innym-tego-typu-preparatem-stosowanym-przez-pszczelarzy-na-terenie-polski>

#### 2.4. Uczestnictwo w seminariach i konferencjach krajowych:

##### PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA

- 2.4.1. **MASŁOWSKA B., OGIŃSKA J., MANIAK M. 1998.** Wstępne badania składu gatunkowego nietoperzy Nadmorskiego Parku Krajobrazowego. XXVII Seminarium Studenckich Kół Naukowych Olsztyn 14 maja.
- 2.4.2. **MASŁOWSKA B., OGIŃSKA J., MANIAK M. 1999.** Wstępne badania składu gatunkowego nietoperzy na terenie Iławskiego Parku Krajobrazowego. XXVIII Ogólnopolskie Seminarium Studenckich Kół Naukowych, Olsztyn 06 maja.
- 2.4.3. **DURIASZ J., KOZIRÓG L., MASŁOWSKA B. 2000.** Nietoperze Olsztyna - badania wstępne. XIV Ogólnopolska Konferencja Chiropterologiczna, Rogów, 10-12 listopada.
- 2.4.4. **BRATKOWSKI J., WILDE J., MASŁOWSKA B. 2000.** Ograniczenia zwalczania warrozy a stan zdrowotny i produktywność rodzin pszczoł. 16. Naukowa Konferencja Pszczelarska: „Warroza pszczoł i gospodarka pasieczna”. 15 maja 2000. Olsztyn. Materiały z konferencji: 6-7.

- 2.4.5. **MASŁOWSKA B., ZAŁĘSKA M., SPICA B. 2000.** Spożywanie produktów pszczelich przez studentów Kortowa. Materiały z XXIX Międzynarodowego seminarium Kół Naukowych, 9-10 maja, Olsztyn, (98-103)
- 2.4.6. **MASŁOWSKA B., TARNOWSKI P., GACKOWSKA K. 2000.** Stan zdrowotny rodzin leczonych i nie leczonych na warrozę. Materiały z XXIX Międzynarodowego seminarium Kół Naukowych, 9-10 maja, Olsztyn, (182-184)
- 2.4.7. **RÓŻAŃSKA M., WASIELEWSKI M., BĄK B., DURIASZ J. 2001.** Występowanie nietoperzy na terenie Olsztyna. XV Ogólnopolska Konferencja Chiropterologiczna, Gdańsk 9-11 listopada 2001 r. -
- 2.4.8. **MASŁOWSKA B., CENIUK W. 2001.** Aktywność lotna pszczół samotnic w zależności od temperatury i pory dnia. Materiały z XXX Ogólnopolskiego Seminarium Kół Naukowych, 10-11 maja, Olsztyn: 161
- 2.4.9. **BĄK B. 2001.** Skłonność rodzin pszczelich do wychowywania i akceptowania trutni. Materiały z VI Międzynarodowej Konferencji Studenckich Kół Naukowych, Wrocław.
- 2.4.10. **LIPIŃSKI Z., WILDE J., MASŁOWSKA B. 2001.** Obserwacje nad zachowaniem się pszczół krajńskich *Apis mellifera carnica* (Poll.) w warunkach ograniczenia objętości gniazda. Materiały XVII Naukowej Konferencji: „Warroza pszczół i gospodarka pasieczna”, 7 maja, Olsztyn: 17-18.
- 2.4.11. **BĄK B., WILDE J., BRATKOWSKI J. 2002.** Charakterystyka aktywności lotnej murarki ogrodowej (*Osmia rufa* L.) w zależności od temperatury i pory dnia. 12-13 marca Puławy. Materiały z 39. Naukowej Konferencji Pszczelarskiej: 111-112.
- 2.4.12. **WILDE J., ROMANIUK K., SIUDA M., BĄK B. 2002.** Does *Varroa destructor* prefer larvae of particular race of *Apis mellifera* L? 5<sup>th</sup> International Conference on the Black Bee *Apis mellifera mellifera*. 2-6.09. Wierzba, Poland. Summaries: 36.
- 2.4.13. **BĄK B., WILDE J. 2003.** Oporność europejskich pszczół na inwazję *Varroa destructor*. Materiały z 18. Naukowej Konferencji Pszczelarskiej: „Warroza pszczół i gospodarka pasieczna”. 23.09.2003. OLSZTYN: 12
- 2.4.14. **BĄK B., Wilde J. 2004.** Intensywność i sukces oczyszczania się pszczół z samic *V. destructor*. Materiały z XLI Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Puławy:
- 2.4.15. **BĄK B., WILDE J. 2005.** Oczyszczanie się krajowych podgatunków pszczoły miodnej (*A. mellifera*) z roztocza *V. destructor*. Materiały z XLII Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Puławy.
- 2.4.16. **BĄK B. 2005.** Wymogi weterynaryjne obowiązujące pszczelarzy w świetle najnowszych przepisów prawnych. XXIII Ogólnopolskie Dni Pszczelarza, Olsztyn, 16-18 września.

- 2.4.17. **BĄK B., WILDE J. 2005.** Zainteresowanie studentów Wydziału Bioinżynierii Zwierząt chowem dzikich pszczołowatych. Wrocław – Konferencja Dydaktyczna
- 2.4.18. **BĄK B., WILDE J. 2006.** Porównanie zdolności oczyszczania komórek pszczelich z zamarłego czerwiu przez robotnice europejskich podgatunków pszczoły miodnej. The comparison of a hygienic behavior of the european bee subspecies. International Apicultural Scientific Conference in centenary of Jan Dzierżon's death. Puławy 25-27.04.2006. Materiały konferencyjne: 38-42.

#### PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA

- 2.4.19. BRATKOWSKI J., WILDE J., **BĄK B. 2007.** Przebieg inwazji sporowca *Nosema apis* w produkcyjnych rodzinach pszczelich przy ograniczaniu ilości pszczoł i czerwiu. Puławy 24-25 kwietnia. Materiały z 44. Naukowa Konferencja Pszczelarska: 61.
- 2.4.20. WILDE J., SIUDA M., **BĄK B. 2007.** Oporność powszechnie użytkowanych podgatunków pszczoł w Polsce na inwazję *Varroa destructor*. Puławy 24-25 kwietnia. Materiały z 44. Naukowa Konferencja Pszczelarska: 82-84.
- 2.4.21. **BĄK B., WILDE J., SIUDA M. 2010.** Lekooporność roztoczy *Varroa destructor* na akarycydy w pasiekach północno-wschodniej Polski. Puławy 24-25 kwietnia. Materiały z XLVII. Naukowej Konferencji Pszczelarskiej: 75-76.
- 2.4.22. WILDE J., SIUDA M., **BĄK B. 2010.** Technologie pasieczne, pokarmy dla pszczoł oraz zwalczanie pasożyta *Varroa destructor* w zapobieganiu masowym ginięciom rodzin pszczelich. Puławy 24-25 kwietnia. Materiały z XLVII. Naukowej Konferencji Pszczelarskiej: 61.
- 2.4.23. **BĄK B., SIUDA M., WILDE J. 2011.** Porównanie trzech schematów zwalczania *Varroa destructor*. 48 Naukowa Konferencja Pszczelarska w 200. rocznicę urodzin ks. dr. Jana Dzierżona 5-7 kwietnia Pszczyna: 61-62.
- 2.4.24. SIUDA M., WILDE J., **BĄK B. 2011.** Wpływ późnego wychowu czerwiu na zdrowie i produktywność rodzin pszczelich. 48 Naukowa Konferencja Pszczelarska w 200. rocznicę urodzin ks. dr. Jana Dzierżona 5-7 kwietnia Pszczyna: 29-30.
- 2.4.25. WILDE J., SIUDA M., **BĄK B. 2011.** Wpływ rodzaju pokarmu na zimowanie i produktywność rodzin pszczelich. 48 Naukowa Konferencja Pszczelarska w 200. rocznicę urodzin ks. dr. Jana Dzierżona 5-7 kwietnia Pszczyna: 40-41.
- 2.4.26. **BĄK B., SIUDA M., WILDE J. 2011.** Various methods of *Varroa destructor* control. COLOSS Workshop WG4. Honey bee vitality and diversity – Field observations of experimental GEI colonies. 26-29.07. Research Institute of Horticulture, Apiculture Division, Puławy, Poland. Proceedings: 9-10.

- 2.4.27. **BĄK B., WILDE J., SIUDA M. 2012.** Oporność roztoczy *Varroa destructor* na syntetyczne pyretroidy w pasiekach północno-wschodniej Polski. Puławy 13-14 marca. Materiały z XLVII. Naukowej Konferencji Pszczelarskiej: 66.
- 2.4.28. SIUDA M., WILDE J., **BĄK B. 2012.** Wpływ metod przygotowania rodzin pszczelich do zimowania na ich produktyjność i ilość odchowywanego czerwiu. Puławy 13-14 marca. Materiały z XLVII. Naukowej Konferencji Pszczelarskiej: 72-73.
- 2.4.29. **BĄK B., WILDE J. SIUDA M. 2013.** Skuteczność różnych sposobów zwalczania *Varroa destructor* oraz ich wpływ na kondycję i zdrowotność rodzin pszczelich. Materiały z L Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Puławy, 16-18 kwietnia: 51.
- 2.4.30. WILDE J., SIUDA M., **BĄK B. 2013.** Zimowanie rodzin z matkami zamkniętymi w izolatorach. Materiały z L Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Puławy, 16-18 kwietnia: 77.
- 2.4.31. WILDE J., SIUDA M., **BĄK B., MISZCZAK A. 2014.** Wstępne wyniki karmienia pszczół pokarmami skażonymi imidaklopydem i jego pozostałości w produktach pszczelich. Materiały z LI Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Szczyrk, 11-13 marca: 110-111.
- 2.4.32. WILDE J., SIUDA M., **BĄK B. 2014.** Wpływ suplementów diety: beetonic, beedine i immunbee solution na rozwój, produktyjność i zdrowotność rodzin pszczelich. Materiały z LI Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Szczyrk, 11-13 marca: 82-83.
- 2.4.33. **BĄK B., BERECKA B., WILDE J., SIUDA M. 2015.** Analiza pozostałości kumafosu w produktach pszczelich pochodzących z rodzin leczonych na warrozę preparatami zawierającymi ten pestycyd. Materiały z LII Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Puławy, 11-12 marca: 94-95.
- 2.4.34. SŁOWIŃSKA M., NYNCA J., WILDE J., **BĄK B., SIUDA M., CIERESZKO A. 2015.** Całkowita pojemność antyoksydacyjna hemolimfy pszczoły miodnej w zależności od wieku, ekspozycji na pestycydy oraz porównanie do całkowitej pojemności antyoksydacyjnej plazmy nasienia trutni. Materiały z LII Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Puławy, 11-12 marca: 20-21.
- 2.4.35. **BĄK B., DZIKOWSKA A., KACZMAREK A., LEJMAN A., PRZYGODA P., WILEŃSKI M., SIUDA M., WILDE J. 2015.** Wpływ obecności pszczoły miodnej w środowisku leśnym na plonowanie różnych gatunków malin oraz miejscową apifaunę. Materiały z LII Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Puławy, 11-12 marca: 63.
- 2.4.36. SIUDA M., **BĄK B., WILDE J. 2016.** Wpływ rozwoju wiosennego rodzin pszczelich na populację roztoczy *Varroa destructor*. Materiały z LIII Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Puławy, 8-9 marca: 43.
- 2.4.37. WILDE J. SIUDA M., **BĄK B. 2017.** Ozonowanie rodzin – cudowna broń na *Varroa* czy mistyfikacja? Materiały z LIV Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Puławy, 7-8 marca: 31.

- 2.4.38. WILDE J., **BĄK B.**, SIUDA M. **2018**. Bezpieczeństwo stosowania przeciwwarrozowego preparatu AbVar C dla pszczoł . Materiały z LV Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Kazimierz Dolny, 6-7 marca: 50.
- 2.4.39. SIUDA M., WILDE J., **BĄK B.** **2018**. Zwiększenie efektywności zwalczania varroa poprzez okresowe ograniczenie czerwienia matki w izolatorze chmary. Materiały z LV Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Kazimierz Dolny, 6-7 marca: 51.
- 2.4.40. PALEOLOG J., WILDE J., SIUDA M., **BĄK B.**, WÓJCIK Ł, STRACHECKA A. **2019**. Imidaklopyrd zaburza proteolizę i aktywność biomarkerów w hemolimfie, zwiększa metylowanie dna i uszkadza warstwę proteolityczną kutikuli u *Apis mellifera*. Materiały z LVI Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Puławy, 5-6 marca: 52-53.
- 2.4.41. **BĄK B.**, WILDE J., SIUDA M., WILK J. **2019**. Skuteczność preparatu PolyVar Yellow® (flumetryna 275mg) w zwalczaniu inwazji Varroa destructor w rodzinach pszczelich – dr Beata Bąk, prof. dr hab. Materiały z LVI Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Puławy, 5-6 marca: 38.
- 2.4.42. **BĄK B.**, WILK J., WILDE J., SIUDA M., **2019**. Zastosowanie półprzewodnikowych czujników lotnych związków organicznych w klasyfikowaniu statusu biologicznego robotnic pszczelich. Materiały z LVI Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Puławy, 5-6 marca: 18.
- 2.4.43. WILK J., **BĄK B.**, ARTIEMJEW P., WILDE J., SIUDA M., SZCZUREK A., MACIEJEWSKA M. **2020**. Zastosowanie klasycznych metod klasyfikacyjnych dla rozróżniania elementów składowych gniazda pszczelego przy użyciu półprzewodnikowych czujników gazów. Materiały konferencyjne z 57 Konferencji Pszczelarskiej, Cieszyn, 10-12 marca; 57-58.
- 2.4.44. **BĄK B.**, WILK J., ARTIEMJEW P., WILDE J., SIUDA M., SZCZUREK A., MACIEJEWSKA M. **2020**. Diagnostowanie warrozy na podstawie badania próbek czerwii pszczelego za pomocą półprzewodnikowych czujników gazów. Materiały konferencyjne z 57 Konferencji Pszczelarskiej, Cieszyn, 10-12 marca 2020; 35-36.
- 2.4.45. **BĄK B.**, WILK J., ARTIEMJEW P., WILDE J., SIUDA M., **2021**. Diagnostowanie zgnilca amerykańskiego za pomocą elektronicznego nosa opartego na półprzewodnikowych czujnikach gazów. Materiały z LVIII Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Puławy, 9-10 marca: 38-39.
- 2.4.46. WILK J., **BĄK B.**, ARTIEMJEW P., WILDE J., SIUDA M. **2021**. Strojenie urządzeń opartych o półprzewodnikowe czujniki lotnych związków organicznych poprzez właściwy dobór klasyfikatorów prowadzi do zwiększenia skuteczności rozróżniania obiektów w pszczelarstwie. Materiały z LVIII Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Puławy, 9-10 marca: 39-40.
- 2.4.47. **BĄK B.**, WILK J., ARTIEMJEW P., WILDE J. **2022**. Wykrywanie zawartości komórek plastra pszczelego za pomocą elektronicznego nosa bazującego na

czujnikach półprzewodnikowych gazów: Materiały z LIX Naukowej Konferencji Pszczelarskie, Puławy, 14-15 marca: 16-17

- 2.4.48. SZKOŁA J., ARTIEMJEW P., **BĄK B.**, WILK J., WILDE J. **2022**. Sekwencyjne sieci neuronowe w analizie danych uzyskanych z pomiarów przeprowadzonych za pomocą elektronicznego nosa opartego na półprzewodnikowych czujnikach gazu w pasiece ze zgnilcem amerykańskim. Materiały z LIX Naukowej Konferencji Pszczelarskie, Puławy, 8-9 marca: 53-54.
- 2.4.49. WILK J., **BĄK B.**, KUBEŁ A., SIUDA M., WILDE. J. **2023**. Kontrola poziomu inwazji *Varroa destructor* w rodzinach pszczelich za pomocą preparatów zawierających kwasy organiczne w porównaniu z preparatem przeciwwarrozowym o potwierdzonej skuteczności opartym na twardej chemii. Materiały z LX Naukowej Konferencji Pszczelarskie, Puławy, 14-15 marca: 60.

## 2.5. Uczestnictwo w konferencjach i kongresach zagranicznych :

### PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA

- 2.5.1. **BĄK B.**, WILDE J., KRYSA D. **2002**. Biology of settling trap-nests by females of red mason bee (*Osmia rufa* L.). 2<sup>nd</sup> European Scientific Apicultural Conference. 11-13.09. Balatonlelle, Hungary. Summaries: 10.
- 2.5.2. **BĄK B.** **2003**. The mating behaviour of the red mason bee (*Osmia rufa* L.) (*Megachilidae*). 38<sup>th</sup> International Apimondia Congress in Ljubljana. p00-323: 1-6.
- 2.5.3. JASIŃSKI Z., PRABUCKI J., WILDE J., WOYKE J., CHUDA-MICKIEWICZ B., SIUDA M., MADRAS-MAJEWSKA B., SAMBORSKI J., BRATKOWSKI J., JOJCZYK A., **BĄK B.** **2006**. Study on factors accelerating oviposition of instrumentally inseminated queen bees. Proceedings of the Second European Conference of Apidology EurBee Prague (Czech Republic) 10-16 September 2006: 57.

### PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA

- 2.5.4. **BĄK B.**, SIUDA M., WILDE J. **2011**. *Varroa destructor* control methods applied in Poland. 42. International Apicultural Congress Apimondia. Buenos Aires, Argentina. 21-25 September. Abstracts book and Poster list: 232.
- 2.5.5. **BĄK B.**, WILDE, J. **2011**. Infection of bees from winter hive debris with *Nosema* sp. spores in bee colonies treated for varroosis with various methods. WG2 Workshop: *Nosema*, from knowledge to experimental setup – Istanbul, Turkey 3rd-4th of March 2012. Proceedings: 8.
- 2.5.6. **BĄK B.**, WILK J., WILDE J., SIUDA M., SZCZUREK A., MACIEJEWSKA M. **2019**. Detecting colonies of *Peanibacillus larvae larvae* on MYPGP medium by semiconductor sensors of volatile organic compounds. 46th International Apicultural Congress, Montreal, 8-12 September.

- 2.5.7. **BĄK B., WILK J., WILDE J., SIUDA M., SZCZUREK A., MACIEJEWSKA M. 2019.** Distinguishing the components of a bee's nest by semiconductor sensors of volatile organic compounds. 46th International Apicultural Congress, Montreal, 8-12 September.
- 2.5.8. **BĄK B., WILK J., WILDE J., SIUDA M., SZCZUREK A., MACIEJEWSKA M. 2019.** The use of semiconductor sensors of volatile organic compounds (VOCs) in classification of bee brood infestation affected with *Varroa destructor* mite. XIXth International Congress of ISAH, Wrocław, Poland, September 8th - 12th,: 113.
- 2.5.9. **BĄK B., WILK J., WILDE J., SIUDA M. 2019.** The efficiency comparison of the in vivo and post mortem diagnostic methods for establishing the level of *Varroa destructor* mite infestation of bee samples from parasitized bee colonies. . XIXth International Congress of ISAH, Wrocław, Poland, September 8th - 12th: 116.

**2.6. Wykaz uczestnictwa w pracach zespołów badawczych realizujących projekty finansowane w drodze konkursów krajowych lub zagranicznych, z podziałem na projekty zrealizowane i będące w toku realizacji, oraz z uwzględnieniem informacji o pełnionej funkcji w ramach prac zespołów:**

**PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA**

- 2.6.1. (KBN 2P06Z 062 28). Resistance of different subspecies of honey bee (*Apis mellifera* L., *Hymenoptera: Apidae*) to *Varroa destructor* (*Mesostigmata: Varroidae*). 2005-2006 (**123 500 PLN**) – grant promotorski, kierownik projektu: prof. Jerzy Wilde, Beata Bąk funkcja: **autor projektu i główny wykonawca.**
- 2.6.2. EFS S1/97/2005/U/05/05. „Wzmocnienie współpracy UWM z gospodarką regionu poprzez stypendia doktoranckie” z Zintegrowanego Programu Operacyjnego Rozwoju Regionalnego 2004 - 2006 współfinansowanego z Europejskiego Funduszu Społecznego EFS.2005. (**6750 PLN**), stypendium doktoranckie, promotor: prof. Jerzy Wilde, doktorant Beata Bąk funkcja: **autor projektu i główny wykonawca.**
- 2.6.3. ARR - Projekt badawczy i ekspertyzy w ramach: Mechanizmów wsparcia rynku produktów pszczelich. Selekcja powszechnie użytkowanych podgatunków pszczół w Polsce w kierunku zwiększenia oporności na warrozę. 2007. (**101 540 PLN**). Kierownik Projektu: Jerzy Wilde. Beata Bąk funkcja: **autor projektu i główny wykonawca.**

**PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA**

- 2.6.4. (KBN nr N N311 311136) Oporność *Varroa destructor* na akarycydy w północno-wschodniej Polsce. 2009–2012 ( **269 700 PLN**), kierownik



projektu: prof. Jerzy Wilde, Beata Bąk funkcja: **autor projektu i główny wykonawca.**

2.6.5. International project COST Action FA0803 "Prevention of honeybee Colony Losses (COLOSS), Technologie pasieczne, pokarmy dla pszczół oraz zwalczanie pasożyta *Varroa destructor* w zapobieganiu masowym ginięciom rodzin pszczelich, 2009-2012, **(1 329 513 PLN)**, kierownik projektu: prof. dr hab. Jerzy Wilde, Beata Bąk funkcja: **wykonawca.**

2.6.6. BIOSTRATEG3/343779/10/NCBR/2017, "Opracowanie innowacyjnych, inteligentnych narzędzi monitorujących występowanie zgnilca złośliwego (amerykańskiego) oraz podwyższonego poziomu porażenia *Varroa destructor* w rodzinach pszczoły miodnej", Kierownik projektu: prof. dr hab. Jerzy Wilde, 2019-2021 **(5 313 908 PLN)**, Beata Bąk funkcja: **Kierownik Zespołu UWM Olsztyn, autor 1/3 części projektu (projekt konsorcjalny) oraz wykonawca.**

2.6.7. KOWR, Wsparcie Naukowo badawcze w ramach Mechanizmów wsparcia rynku produktów pszczelich. Stworzenie receptury oraz rekomendacji wdrożeniowych dla preparatu do zwalczania *Varroa destructor* o działaniu długookresowym na nośniku stałym, na bazie kwasów organicznych i porównanie go z innym tego typu preparatem stosowanym przez pszczelarzy na terenie Polski. 2022. **(198 000 PLN)**. Kierownik projektu: prof. dr hab. Jerzy Wilde, Beata Bąk funkcja: **autor projektu i wykonawca.**

## 2.7. Wykaz członkostwa w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych wraz z informacją o pełnionych funkcjach:

2.7.1. 2006 – obecnie -Członkini Pszczelniczego Towarzystwa Naukowego

2.7.2. 2009 – obecnie Członkini COLOSS (Honey Bee Research Association)

## 2.8. Wykaz staży w instytucjach naukowych lub artystycznych, w tym zagranicznych, z podaniem miejsca, terminu, czasu trwania stażu i jego charakteru:

2.8.1. Lipiec 2012 r , Hellenic Institute of Apiculture (Greece.), 10 dniowy staż finansowany z funduszy pochodzących z międzynarodowego programu COLOSS „Prevention of honeybee Colony Losses”. Prowadzenie doświadczeń naukowych dotyczących *Nosema ceranae* oraz imidaklopyrydu jako czynników podejrzewanych w tamtym czasie za przyczynianie się do masowego ginięcia pszczół.

## 2.9. Wykaz recenzowanych prac naukowych lub artystycznych, w szczególności publikowanych w czasopismach międzynarodowych:

- 2.9.1. Tejerina M., Ahrendts M. **2021**. First Record of *Ascosphaera apis* Isolated from Commercial Pollen from Northern Argentinian Provinces. Journal of Apicultural Science. 65. 147-161. 10.2478/jas-2021-0007.
- 2.9.2. Papežíková I., & Palíková M., Kremserova Gajdova S., Zachová A., Peterová H, Babák V., Navrátil S. **2017**. Effect of oxalic acid on the mite *Varroa destructor* and its host the honey bee *Apis mellifera*. Journal of Apicultural Research. 56. 1-9. 10.1080/00218839.2017.1327937.

### 3. WSPÓLPRAC Z OTOCZENIEM SPOŁECZNYM I GOSPODARCZYM

#### 3.1. Współpraca z sektorem gospodarczym:

- 3.1.1. Współpraca z firmą COMTEGRA w formie konsorcjum w latach 2018-2021– w ramach projektu BIOSTRATEG3/343779/10/NCBR/2017, „Opracowanie innowacyjnych, inteligentnych narzędzi monitorujących występowanie zgnilca złośliwego (amerykańskiego) oraz podwyższonego poziomu porażenia *Varroa destructor* w rodzinach pszczoły miodnej”

#### 3.2. Wykaz wykonanych ekspertyz lub innych opracowań wykonanych na zamówienie instytucji publicznych lub przedsiębiorców:

- 3.2.1. Firma BioHayat – 2013 r. - The Assessment of the Growth and Productivity of Bee Colonies Administered the Feed Additives Beetonic, Beeodine and Immunbee Solution in Spring
- 3.2.2. Firma BioHayat – 2014 r. - The effect of ABVar C and VitafBee Plus on the health of honey bee colonies
- 3.2.3. Firma BioHayat – 2015 r. - The field estimation of the effectiveness of Nosembee plus in Nosema spp. control, and the influence of this preparation on the development and productivity of honey bee colonies
- 3.2.4. Firma Bayer - (zamówienie nr 4501910152) – 2019-Skuteczność Varroa- bójcza preparatu PolyVar Yelow® (flumetryna 275mg),

#### 3.3. Wykaz udziału w zespołach eksperckich lub konkursowych:

- 3.3.1. W 2009 r. członek państwowej komisji egzaminacyjnej podczas egzaminu państwowego na „technika pszczelarza”
- 3.3.2. 2014 r. członek składu 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.

### 4. DANE NAUKOMETRYCZNE

Źródło: Web of Science:

- 4.1. Impact Factor (w dziedzinach i dyscyplinach, w których parametr ten jest powszechnie używany jako wskaźnik naukometryczny): IF sumaryczny: **IF=57,450**
- 4.2. Liczba cytowań publikacji wnioskodawcy, z oddzielnym uwzględnieniem autocytowań: **152 cytowania, w tym: 14 autocytowań**
- 4.3. Indeks Hirscha = **9**

.....

(podpis wnioskodawcy)