
Załącznik nr 2a

Autoreferat

Opis osiągnięć i dorobku naukowego

Dr inż. Dariusz Gerula

*Instytut Ogrodnictwa
Zakład Pszczelnictwa
ul. Kazimierska 2A
24-100 Puławy*

*Biologiczne i techniczne uwarunkowania rozrodu
pszczół wpływające na efektywność sztucznego
unasieniania matek pszczelich*

Puławy 2019

Spis treści

<i>Dane personalne</i>	3
<i>Posiadane stopnie naukowe i dyplomy</i>	3
<i>Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych</i>	3
<i>Wskazanie osiągnięcia naukowego</i>	4
<i>Tytuł osiągnięcia naukowego</i>	4
<i>Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego</i>	4
<i>Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.</i>	6
<i>Wstęp</i>	6
<i>Cel badań</i>	7
<i>Omówienie prac</i>	7
<i>Podsumowanie</i>	18
<i>Cytowana literatura</i>	18
<i>Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych</i>	23
<i>Zestawienie oryginalnych publikacji z listy JCR i z listy MNiSW</i>	30
<i>Podsumowanie dorobku naukowego</i>	31

1. Dane personalne:

Imię i nazwisko:	Dariusz Gerula
Data urodzenia:	21.02.1972
Miejsce pracy:	Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach, Zakład Pszczelnictwa w Puławach, Pracownia Hodowli Pszczół, ul. Kazimierska 2, 24-100 Puławy

2. Posiadane stopnie naukowe i dyplomy:

2006	Doktor nauk rolniczych, w zakresie ogrodnictwa. Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa w Skierniewicach. Tytuł pracy doktorskiej: „Następstwa uszkodzeń matek pszczelich sztucznie unasienionych w procesie wychowu, na ich wartość użytkową”. Promotor: doc. dr hab. Zofia Konopacka
1997	Magister inżynier zootechniki. Wydział Zootechnika. Akademia Rolnicza w Lublinie. Tytuł pracy magisterskiej: „Przydatność użytkowa mieszańców pszczół kaukaskich, kraińskich oraz linii Buckfast na terenie Pogórza Przemyskiego. Promotor : dr Ryszard Jagiełło

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

2011- obecnie	Instytut Ogrodnictwa, Zakład Pszczelnictwa w Puławach, Pracownia Hodowli Pszczół, adiunkt
2007-2010	Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa w Skierniewicach, Oddział Pszczelnictwa w Puławach, Zakład Hodowli Pszczół, adiunkt
1997-2006	Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa w Skierniewicach, Oddział Pszczelnictwa w Puławach, Zakład Biologii i Fizjologii Pszczół, Zakład Hodowli Pszczół, asystent

4. Wskazanie osiągnięcia

Zgodnie z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.) wskazuję jako osiągnięcie naukowe jednotematyczny cykl publikacji naukowych wydanych po uzyskaniu stopnia doktora.

4.1 Tytuł osiągnięcia naukowego¹: **Biologiczne i techniczne uwarunkowania rozrodu pszczoł wpływające na efektywność sztucznego unasieniania matek pszczelich.**

4.2 Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

L.p.	Tytuł
B.1	<p>Gerula D., Bieńkowska M., Panasiuk B. 2011- Instrumental insemination of honey bee queens during flight activity predisposition period 1. onset of oviposition. <i>Journal of Apicultural Science</i> 55(2):53-66.</p> <p>(IF=0,674, MNiSW=20, cytowania WoS=2)</p> <p><i>Indywidualny wkład 80%: pomysłodawca, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, wykonanie w znacznej części pracy eksperymentalnej t.j. obserwacji pasiecznych, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu, redakcja ostatecznej wersji pracy, autor korespondencyjny</i></p>
B.2	<p>Gerula D., Panasiuk B., Węgrzynowicz P., Bieńkowska M., 2012- Instrumental insemination of honey bee queens during flight activity predisposition period 2. number of sperms in spermathecae. <i>Journal of Apicultural Science</i> 56(1):159-167.</p> <p>(IF=0,529, MNiSW=20, cytowania WoS=3)</p> <p><i>Indywidualny wkład 80%: pomysłodawca, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, wykonanie w znacznej części pracy eksperymentalnej t.j. obserwacji pasiecznych, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu, redakcja ostatecznej wersji pracy, autor korespondencyjny</i></p>
B.3	<p>Gerula D., Węgrzynowicz P., Panasiuk B., Bieńkowska M., Skowronek W. 2014- Performance of bee colonies headed by queens instrumentally inseminated with semen of drones who come from a single colony or many colonies. <i>Journal of Apicultural Science</i> 58(2):87-97.</p>

¹ Oświadczenia o indywidualnym wkładzie wszystkich współautorów stanowią załącznik 4 do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego

(IF=1,0, MNiSW=20, cytowania WoS=1)

Indywidualny wkład 80%: wiodący udział w planowaniu doświadczeń, wykonanie w znacznej części pracy eksperymentalnej t.j. pomiarów i obserwacji pasiecznych, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu, redakcja ostatecznej wersji pracy, autor korespondencyjny

Gerula D., Węgrzynowicz P., Panasiuk B, Bieńkowska M., Skowronek W. 2015- Hygienic behaviour of honeybee colonies with different levels of polyandry and genotypic composition. *Journal of Apicultural Science* 59(2):107-113

B.4 (IF=0,571, MNiSW=25, cytowania WoS=3)

Indywidualny wkład 80%: wiodący udział w planowaniu doświadczeń, wykonanie w znacznej części pracy eksperymentalnej t.j. pomiarów i obserwacji pasiecznych, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu, redakcja ostatecznej wersji pracy, autor korespondencyjny

Gerula D., Węgrzynowicz P., Panasiuk B, Bieńkowska M., Skowronek W. 2016- Productivity and longevity of honey bee queens inseminated with freshly collected and diluted semen. *Journal of Apicultural Research* 55(2):130-136.

B.5 (IF=2,084, MNiSW=35, cytowania WoS=1)

Indywidualny wkład 80%: wiodący udział w planowaniu doświadczeń, wykonanie w znacznej części pracy eksperymentalnej t.j. pomiarów i obserwacji pasiecznych, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu, redakcja ostatecznej wersji pracy, autor korespondencyjny

Podsumowanie wskaźników bibliograficznych publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego:

Imfact Factor (IF)² = **4,858**

Punkty MNiSW³ = **120**

Cytowania według Web of Science⁴ = **10**

² Wg listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania.

³ Wg wykazów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, zgodnie z rokiem wydania

⁴ Cytowania według Web of Science bez autocytowań stan z dnia 7.02.2019

4.3 Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

4.3.1 Wstęp

Rodzina pszczela w ciągu roku składa się z kilkunastu do kilkudziesięciu tysięcy osobników. Jednym z warunków dynamicznego rozwoju rodzin pszczelich jest posiadanie zdrowej i pełnej matki. W warunkach klimatycznych Polski matki pszczele składają jaja przez 7-8 miesięcy w roku, w pełni sezonu osiągając liczbę nawet 2 tysięcy jaj na dobę. Królowa jest najważniejszą z kast, bez której rodziny pszczele nie tylko nie mogą się rozmnażać, ale giną już po kilku tygodniach. Nowoczesne pszczelarstwo narzuca częstszą niż kiedyś wymianę starych matek na nowe, aby zapewnić ciągłość intensywnego czernienia i rozwoju rodzin pszczelich, zwłaszcza w pasiekach wędrownych korzystających z wielu pożytków w ciągu roku. Wartość matek pszczelich determinują trzy podstawowe kryteria: kondycja fizyczna i atrakcyjność wyrażona ilością wydzielanej substancji macecznej, płodność wyrażona liczbą składanych jaj i liczbą plemników w zbiorniczku nasiennym oraz genotyp, czyli zespół cech, które mogą przekazać potomstwu.

W latach 70-tych ubiegłego stulecia sprzedaż matek pszczelich w Polsce kształtowała się na poziomie około 20 tys. rocznie, by w 2005 osiągnąć 80 tys. Dynamiczny wzrost produkowanych i sprzedawanych matek obserwuje się od roku 2006 dzięki dofinansowaniu do zakupu matek pszczelich, w ramach mechanizmu „Wsparcia rynku produktów pszczelich”. W 2009 roku było to 120 tys, a w 2018 roku ponad 283 tysiące rocznie (Bieńkowska, 2018). Około połowę matek w obrocie stanowią matki nieunasienione, które są najtańsze, ale jednocześnie odnotowuje się wśród nich najwyższe straty po poddaniu do rodzin. Wielkość strat podczas naturalnego unasieniania oceniana jest na różnym poziomie, od niewielkich 3-30,2% (Woyke i in., 2001; Schlüns i in., 2005; Heidinger i in., 2014; Gąbka, 2018; Gerula i in., 2018), do osiągających 50-99% (Czekońska, 2000; Al-Ghzawi i Zaitoun, 2008). Drugą połowę sprzedawanych matek stanowią matki unasienione naturalnie bądź sztucznie. Szacuje się, że w Polsce rocznie unasienia się sztucznie ponad 23 tysiące matek pszczelich, to jest więcej niż w pozostałych krajach świata (Cobey i in. 2019). Sztuczne unasienianie jest metodą rozrodu pozwalającą na osiągnięcie postępu w hodowli wielu gatunków zwierząt, w tym również pszczół. W przypadku tego gatunku ma szczególne znaczenie, ponieważ w naturze matki kopulują w powietrzu z wieloma trutniami o nieznanym pochodzeniu a inseminacja jest jedynym narzędziem pozwalającym na kontrolowany dobór. Inseminacja

matek pszczelich stosowana jest na świecie już od ponad 70 lat. W Polsce technika sztucznego unasieniania jest doskonale opanowana i stosowana w niemal wszystkich pasiekach hodowlanych. Używa się jej w produkcji matek czystorasowych oraz matek użytkowych, najczęściej mieszańców, co jest pewnym precedensem w skali światowej. Od samego początku metoda jest udoskonalana, a prace badawcze i wdrożeniowe dążą do zwiększania efektywności unasieniania i podnoszenia jakości matek. Najwięcej uwagi poświęca się przyspieszaniu rozpoczęcia czerwienia przez matki po inseminacji oraz stwarzaniu takich warunków, w których jak najwięcej plemników z nasienia wprowadzonego do jajowodów przedostaje się do zbiorniczków nasiennych matek. Zarówno naturalne, jak i sztuczne unasienianie następuje u matek w pierwszych tygodniach życia, a zgromadzony w ich procesie zapas plemników musi im wystarczyć na całe życie.

4.3.2 Cel badań

Celem pracy była analiza fizjologicznych, genetycznych i technicznych aspektów sztucznego unasieniania, badanie ich wpływu na plenność i żywotność matek oraz produktywność rodzin pszczelich. Zgromadzone wyniki przedstawiono w cyklu pięciu publikacji realizujących trzy główne cele naukowe:

1. Sprawdzenie, czy aktywność lotna matek pszczelich jest okresem, w którym w ich organizmach następują zmiany fizjologiczne inicjujące rozpoczynanie składanie jaj [B.1].
2. Analiza czynników wpływających na wypełnienie zbiorniczków nasiennych matek pszczelich i rozpoczynanie przez nie czerwienia [B.2, B.5].
3. Określenie wpływu różnorodności genetycznej robotnic wewnątrz rodzin pszczelich na cechy biologiczne i behawioralne, oraz sprawdzenie, czy użycie nasienia rozcieńczonego do inseminacji matek wpływa na ich wartość rozrodczą [B.3, B.4, B5].

4.3.3 Omówienie prac

Rozpoczęcie składania jaj u matek poprzedza wzrost aktywności hormonalnej komórek neurosekrecyjnych zwojów nerwowych (Herrman, 1969). Hormony te stymulują ciało tłuszczowe do syntezy witellogeniny, prekursora białkowych substancji zapasowych oocytów, magazynowanych podczas procesu witellogenezy (Kaatz, 1984). Stężenie witellogeniny w hemolimfie osiąga największe stężenie w pierwszych dniach po rozpoczęciu czerwienia. U matek unasienionych naturalnie różnicowanie i rozwój rurek jajnikowych zaczyna się w niedługim czasie po lotach godowych (Koeniger, 1981; Patricio i Cruz-Landim, 2002). W przypadku kiedy matka nie zostanie unasieniona, nie zachodzi proces witellogenezy, rurki jajnikowe mają nadal zredukowaną część vitellarium, po czym zaczyna się ich bezpowrotna

degradacja. Czynniki, które aktywują mózg matek do produkcji hormonów nie są dokładnie poznane. Przymuszcza się, że mogą mieć swój początek w komórce żądłowej i kieszeni kopulacyjnej (Koeniger, 1981), a witellogeneseza może być zainicjowana pośrednio dzięki wydzielinom gruczołów dodatkowych narządów rozrodczych trutni (Koeniger, 1981, Patrício i Cruz-Landim, 2002).

W technologii produkcji matek sztucznie unasienionych wczesne składanie jaj jest bardzo ważne, bez względu na to czy ma to miejsce w mini rodzinach w ulikach weselnych, czy w rodzinach pszczelich. Wydaje się, że procesy fizjologiczne, odpowiedzialne za podejmowanie czerwienia, przebiegają inaczej u matek sztucznie unasienionych, a inaczej u matek naturalnie unasienionych. Matki naturalnie unasienione rozpoczynają czerwienie najczęściej 1-4 dni od ostatniej kopulacji z trutniami, natomiast sztucznie unasienione zaczynają składać jaja po 7-10 dniach (Kaftanoglu i Peng, 1982; Prabucki i in., 1987; Konopacka, 1991; Chuda-Mickiewicz i Prabucki, 1993, 2000; Woyke i in., 2008), ale niejednokrotnie okres ten przedłuża się nawet do 37 dni od inseminacji (Wilde, 1994; Skowronek i in., 2002). Zdarza się że matki sztucznie unasienione w ogóle nie rozpoczynają czerwienia.

Matki podczas sztucznego unasienienia usypia się dwutlenkiem węgla w celu ich unieruchomienia. Już w latach 40-tych ubiegłego wieku odkryto, że czerwienie matek można wywołać w sztuczny sposób usypiając je dwutlenkiem węgla (Mackensen, 1947), co może doprowadzić do składania jaj nawet przez matki niezapłodnione (Kaftanoglu i Peng, 1982). Uznano, że CO₂ powoduje proces fizjologicznego starzenia się robotnic oraz matek (Skowronek, 1976, 1982), a to może być powodem szybszej cichej wymiany matek (Gerula, 2002). Aby zminimalizować ujemne skutki narkozy ustalono, że dwutlenek węgla powinien być stosowany możliwie krótko, najlepiej dwa razy, przez co najwyżej 3 minuty (Konopacka, 1991). Na długość okresu od unasieniania do rozpoczęcia czerwienia ma również wpływ stężenie CO₂ (Ebadi i Garry, 1980; Bieńkowska i in., 2012). Mechanizm wpływu CO₂ na procesy fizjologiczne związane ze składaniem jaj przez matki nie jest znany, jednak przypuszcza się, że ma to związek z pozbawieniem matek tlenu (Gąbka, 2019). Oprócz CO₂ długość okresu od sztucznego unasieniania do rozpoczęcia czerwienia matek zależy od wieku w jakim są one unasieniane. Optymalny, sprzyjający przeżywalności matek i zdolności gromadzenia plemników w zbiorniczkach nasiennych to 7-10 dzień życia (Mackensen i Tucker, 1948; Woyke i Jasiński, 1976; Janoušek, 1987; Bieńkowska i in., 2008). Korzystny wpływ na rozpoczynanie czerwienia mają też krótkotrwałe loty matek w pomieszczeniu zamkniętym przed i po unasienianiu (Woyke i in., 2008).

W warunkach naturalnych matki odbywają loty weselne po osiągnięciu przez nie dojrzałości płciowej. W przypadku matek przeznaczonych do sztucznego unasieniania, zakładamy tylko, że są one gotowe do rozplodu. Wykazano również, że inseminacja w godzinach wczesno popołudniowych, czyli w porze największej aktywności lotnej matek bardziej sprzyjała szybszemu czerwieniu matek niż inseminacja w godzinach porannych (Otten i in., 1998). W pracy [B.1] dołożono starań, aby wykazać, czy u matek pszczelich aktywność lotna jest odpowiednikiem rui u ssaków oraz czy sztuczne unasienianie matek w tym okresie będzie sprzyjało czerwieniu. W badaniach za okres aktywności lotnej uznano próby odbycia lotów godowych oraz loty obserwacyjne matek pszczelich. Jednocześnie oceniano jak czas trwania zastosowanej narkozy CO₂, niezbędnego do unieruchomienia matek podczas inseminacji wpływa na szybkość podejmowania czerwienia. Materiał do badań stanowiły matki z podgatunku *Apis mellifera caucasica*, które bezpośrednio po wygryzieniu z mateczników poddawano do trapezoidalnych, styropianowych ulików weselnych. Wylotki ulików zaopatrzone były w oszklone werandki umożliwiające obserwacje zachowania pszczół, zamykane kratą ogrodową z możliwością wypuszczania i wpuszczania matek chcących wykonać loty. Przyjęte matki podzielono losowo na 5 grup: matki do naturalnego unasienienia (kontrola, NM), i 4 grupy matek sztucznie unasienionych. Wszystkie matki unasieniano w godzinach 13-16, stosując dawkę 8 µl nasienia. Dwie grupy matek unasieniono w 7 dniu życia. W pierwszej grupie (II7CO₂L) matki poddane były dwukrotnej 3-minutowej narkozie w CO₂, zaś w drugiej (II7CO₂S) matki usypiano tylko na około 30 sekund, tj. na czas potrzebny na wprowadzenie nasienia do jajowodu unasienianej matki. Trzecią grupę matek unasieniano po powrocie z lotu obserwacyjnego (IIaOF), pod warunkiem, że nie kopulowały z trutniami o czym świadczyła obecność znamienia weselnego w komorze kopulacyjnej. Czwartą grupę matek inseminowano po próbie wykonania pierwszego lotu godowego (IItMF). Matki z grupy trzeciej i czwartej również usypiano na około 30 sekund podczas unasieniania. Obserwacje matek na werandkach prowadzono od 5 do 35 dnia ich życia, a obecność czerwii w rodzinach sprawdzano od następnego dnia po kopulacji albo inseminacji, do 41 dnia życia matek. Łącznie przebadano 238 matek, z których 56 przeznaczono do naturalnego unasienienia, a 182 unasieniono sztucznie.

Biorąc pod uwagę odsetek matek, które rozpoczęły czerwienie wyodrębniono 2 jednorodne grupy; jedną z wyższym procentem matek czerwiących 67,8-97,4 (NM, II7CO₂L, IItMF) i drugą z niższym 36,6-40,5% (II7CO₂S, IIaOF). Matki z grupy kontrolnej (naturalnie unasienione) po raz pierwszy kopulowały z trutniami w wieku przeciętnie 9 dni i były istotnie starsze od matek sztucznie unasienionych, które w dniu inseminacji miały

7 dni. Okres od pierwszej kopulacji matek do rozpoczęcia przez nie czerwienia wynosił 4,3 doby i był istotnie krótszy niż u matek sztucznie unasienionych. Długość tego okresu w grupie kontrolnej była ujemnie skorelowana z wiekiem matek w dniu pierwszej kopulacji ($R = -0,72$, $p < 0,05$, $n = 37$). Spośród matek sztucznie unasienionych okres ten był najkrótszy u matek z grupy II7CO₂L, w której czas trwania narkozy trwał łącznie 6 minut i wynosił 8,3 doby, a u pozostałych był istotnie dłuższy i wynosił od 17,2 do 18,3 dób. Wiek matek, obok udziału matek rozpoczynających czerwienie, jest kolejnym wskaźnikiem przydatności określonej technologii produkcji matek. W chwili rozpoczęcia czerwienia, wiek matek naturalnie unasienionych i unasienionych w 7 dniu życia poddanych łącznie 6-cio minutowej narkozie CO₂ (II7CO₂L), był podobny i wynosił odpowiednio 13,0 i 15,4 dni. Matki z pozostałych grup w chwili rozpoczęcia czerwienia były istotnie starsze, 25,3-26,4 dni. Zwleknięcie z czerwieniem było wyraźnie powiązane z krótkim czasem trwania narkozy CO₂. Taki sposób traktowania matek nie może być polecany w praktyce. Zaobserwowano charakterystyczne dla matek sztucznie unasienionych próby wykonania lotów godowych przed rozpoczęciem czerwienia. Stwierdzono, że na próby matek do wykonania lotów dounasienających istotny wpływ miał czas trwania narkozy CO₂. Spośród tych matek, dla których łączna długość narkozy CO₂ wynosiła 6 minut (II7CO₂L), tylko jedna matka (2,5%) próbowała wykonać takie loty, a w pozostałych grupach (II7CO₂S, IIaOF i IItMF) odsetek ten wynosił odpowiednio 40, 35 i 40,6%. Długość okresu od unasienienia do rozpoczęcia czerwienia matek, u których wiek podczas inseminacji zależał od nich samych grupy: (IIaOF, IItMF), była tylko o 0,5 i 0,9 doby krótsza niż u matek unasienionych w zaplanowanym czasie, w wieku 7 dni. A ponieważ unasienione były o 1,3 doby później to w momencie rozpoczęcia składania jaj były o 1,1 dobę starsze. Zatem unasienianie matek w chwili ich gotowości do wykonania lotów godowych nie wpływa znacząco na skrócenie okresu od inseminacji do rozpoczęcia czerwienia. Stwierdzić należy, że u pszczoł nie istnieje odpowiednik rui u ssaków, czyli jednoczesne zachowania behawioralne i fizjologiczna gotowość organizmu do rozplodu. Loty godowe należy zatem uważać za zachowania instynktowne związane z dążeniem do przedłużenia gatunku, natomiast zmiany biochemiczne i fizjologiczne w organizmach matek odpowiedzialne za czerwienie, inicjowane są podczas kopulacji z trutniami.

Kolejnym wskaźnikiem świadczącym o płodności i prognozującym dobrą plenność matek jest wypełnienie zbiorniczków nasiennych plemnikami. Prawidłowo unasienione matki powinny mieć w zbiorniczkach nasiennych od 3 do 5 milionów plemników (Mackensen i Roberts, 1948; Woyke, 1960, 1979; Woyke i Jasiński, 1979). Matki naturalnie unasienione

mają zazwyczaj więcej plemników (nawet 10 mln) niż sztucznie unasienione (Mackensen i Roberts, 1948; Woyke, 1960; Harbo, 1986; Wilde, 1994). W przypadku matek naturalnie unasienionych liczba plemników zmagazynowana w zbiorniczkach nasiennych zależy głównie od liczby kopulujących z nią trutni. U matek sztucznie unasienianych wpływ na transfer plemników do zbiorniczków nasiennych mają dodatkowe czynniki. Należą do nich temperatura gniazda i kontakt matek z robotnicami przez pierwsze 48 godzin od unasienienia, kiedy plemniki przemieszczają się z jajowodów do zbiorniczków nasiennych (Laidlaw, 1954; Mackensen, 1964; Woyke, 1979), jak również wiek unasienianych matek (Mackensen, 1964, 1969; Woyke i Jasiński, 1976). Takich czynników jest więcej, a niektóre z nich można zaliczyć do technicznych aspektów sztucznego unasieniania. Stwierdzono, że dwukrotne unasienienie matki dawką nasienia podzieloną na dwa zabiegi daje lepszy efekt niż aplikacja jednorazowa (Woyke i Jasiński, 1978; Prabucki i in., 1987; Gontarz i in., 2005; Bieńkowska i in., 2008). Na liczbę plemników zmagazynowanych przez matki w zbiorniczkach nasiennych ma również wpływ rodzaj roztworów stosowanych podczas rozcieńczania i przechowywania nasienia (Moritz, 1984; Fisher, 1987; Cobey i Lawrence, 1988; Kühnert i in., 1989; Harbo, 1990; Skowronek i in., 1995), a nawet średnica igły służącej do inseminacji matek (Bieńkowska i Panasiuk, 2006).

Kontynuacją pracy **[B.1]** obejmującą obserwacje pasieczne matek w rodzinach weselnych jest praca **[B.2]**. Której celem było sprawdzenie, czy liczba plemników w zbiorniczkach nasiennych matek unasienianych w czasie aktywności lotnej różni się od liczby plemników w zbiorniczkach nasiennych matek unasienionych w wieku 7 dni. Obiektem badań były zarówno matki czerwiące, jak i te które nie rozpoczęły składania jaj do 41 dnia życia. Dla policzenia plemników matki usypiano, zabijano i wypreparowywano zbiorniczki nasienne. Po zdjęciu sieci tchawek z powierzchni zbiorniczków nasiennych oceniono pod mikroskopem ich wygląd oraz barwę. Liczbę plemników w zbiorniczkach szacowano na podstawie liczebności w komorze zliczeniowej Bürkera. Łącznie przebadano 90 zbiorniczków matek czerwiących i 43 nieczerwiących. W zbiorniczkach nasiennych matek sztucznie unasienionych poszczególnych grup było od 4,77 do 5,331 mln plemników, natomiast w zbiorniczkach nasiennych matek z grupy kontrolnej średnio 4,892 mln. Różnice te nie były istotne statystycznie. W grupie matek naturalnie unasienionych, trzy matki nie podjęły czerwienia mimo, że kopulowały z trutniami. U jednej zbiorniczek był pusty, a dwie pozostałe miały w swoich zbiorniczkach nasiennych 0,35 i 0,4 mln plemników. Obie matki były okłębiane, co pozwala sądzić, że po unasienieniu nie zostały objęte należyłą opieką przez robotnice. Matki które nie rozpoczęły czerwienia miały istotnie mniej plemników

w zbiorniczkach nasiennych niż czerwiałe, za wyjątkiem grupy matek unasienionych po próbie lotu (IItMF). Matki z poszczególnych grup doświadczalnych podczas inseminacji były w różnym wieku, od 5 do 16 dni, jednak fakt ten nie wpłynął w sposób istotny na liczbę plemników w zbiorniczkach nasiennych. Pierwsza matka zaczęła składać jaja już po 3 dniach od unasienienia, a ostatnia aż 33 dni po zabiegu. Taki szeroki rozrzut wyników nie miał związku z liczbą zmagazynowanych plemników w zbiorniczkach nasiennych. Wypreparowane zbiorniczki zaszeregowano pod względem wyglądu do 5 typów: a- przezroczyste i lekko mętne, b- białe, c- o ziarnistej strukturze zewnętrznej białe, d- o ziarnistej strukturze zewnętrznej kremowe i e- o ziarnistej strukturze zewnętrznej błyszczące. Zauważono istotne różnice w liczbie plemników w zbiorniczkach w zależności od wyglądu zbiorniczek, przy czym wygląd zbiorniczek nie zależał od sposobu unasieniania. Uzyskane dane pozwalają na dość dokładne oszacowanie liczby plemników w zbiorniczkach na podstawie ich wyglądu, bez konieczności używania komór zliczeniowych.

Na podstawie powyższych danych można sformułować tezę, iż przechodzenie plemników z jajowodów do zbiorniczek nasiennych matek to proces niezależny od aktywności lotnej matek. Rozpoczynanie czerwienia matek sztucznie unasienionych nie jest uzależnione ani od ich aktywności lotnej, ani od liczby plemników w zbiorniczkach nasiennych. Proces ten jest aktywowany w naturze przez bodźce, które nie występują podczas sztucznego unasieniania.

W pracy [B.5], matki traktowano w inny sposób. Jedną grupę matek unasieniono sztucznie nasieniem pobranym bezpośrednio przed inseminacją (SCS), drugą zaś nasieniem pobieranym od 30 trutni, wymieszanym w buforze Hyes'a w proporcji 1:1 (MCS). Celem było sprawdzenie, czy użycie nasienia rozcieńczonego do inseminacji matek wpływa na liczbę plemników w zbiorniczkach nasiennych. Matki z obu grup unasieniano dwukrotnie, dawką 4 μ l nasienia, przy czym wielkość dawki inseminacyjnej dla matek z grupy (MCS), uwzględniając bufor wynosiła 8 μ l. W chwili unasieniania matki były w wieku 7 i 8 dni. Podczas każdego zabiegu poddawane były 3-minutowej narkozie w CO₂ i od wygryzienia do rozpoczęcia czerwienia przebywały w rodzinach weselnych. Po wypreparowaniu zbiorniczek nasiennych i oszacowaniu w nich liczby plemników stwierdzono, że wypełnienie zbiorniczek nasiennych matek z grupy (SCS) i (MCS) nie różniło się istotnie i wynosiło odpowiednio 5,1 i 4,4 mln. W pracy [B.5], również analizowano czas rozpoczęcia czerwienia przez matki sztucznie unasienione nasieniem świeżo pobranym oraz nasieniem rozcieńczonym. Matki (SCS) i (MCS) rozpoczęły składanie jaj średnio po 8 i 8,5 dniach, podobnie jak unasienione jednokrotnie. W pracy [B.5], odsetek matek czerwiałych był istotnie niższy w porównaniu do pracy [B.1], ale podobny w obu grupach matek (SCS)

i (MCS) odpowiednio 86% i 83%. Rozcieńczanie nasienia płynem Hyes'a przed inseminacją matek, nie wpłynęło negatywnie na żaden ze wskaźników jakości unasienienia. Zatem, metodę tę można z powodzeniem stosować w praktyce hodowlanej.

Najważniejszym kryterium decydującym o wartości matek pszczelich, jest ich wartość genetyczna. Obecnie pszczoła miodna jest zwierzęciem gospodarskim poddanym intensywnym pracom hodowlanym, które z racji unikalnej biologii rozrodu i sposobu dziedziczenia cech bardzo różnią się od pracy hodowlanej prowadzonej u innych gatunków zwierząt. U owadów społecznych z rzędu *Hymenoptera* występuje zjawisko poliandrii, czyli wielokrotnej kopulacji (Strassmann, 2001). Najbardziej poznane pod względem częstotliwości kopulacji i jednocześnie odznaczającymi się najwyższym stopniem poliandrii są pszczoły, rodzaj *Apis* (Estoup i in., 1995; Moritz i in., 1995; Oldroyd i in., 1995; Oldroyd i in., 1996; Oldroyd i in., 1997; Oldroyd i in., 1998; Rinderer i in., 1998). Samice gatunku *Apis mellifera* kopulują w czasie kilku lotów godowych nawet z 17 trutniami (Woyke, 1960), a przeciętnie z 12 trutniami (Estoup i in., 1994; Tarpy i Nielsen, 2002). Simmons i Siva-Jothy (1998) uznawali, że korzyści jakie zyskują samice owadów kopulując z wieloma samcami muszą być większe od ryzyka jakie ponoszą podczas wykonywania wielu lotów godowych. Jedną z nich to gromadzenie większej ilości spermy, która ma wystarczyć im na wiele lat (Crozier i Page, 1985). Wielokrotna kopulacja zwiększa również prawdopodobieństwo kojarzenia z wartościowymi trutniami (Jennions i Petrie, 2000) i niweluje ujemny wpływ kojarzenia z mniej wartościowymi (Page i in., 1995). Jedną z teorii o zaletach wynikających ze zróżnicowania genetycznego potomstwa od matek jest ułatwienie specjalizacji i podziału zadań w rodzinie (Fewell i Page, 1993; Page i in., 1995; Cole i Wiernasz, 1999). Różnorodność genetyczna może być przydatna w zmieniającym się środowisku, szczególnie w sytuacji kiedy osobniki muszą konkurować ze sobą (Williams, 1975; Ridley, 1993), ponieważ pozwala to pszczołom lepiej dostosować się do środowiska. Podczas naturalnego unasienienia, wielokrotna kopulacja poza ułem sprawia, iż prawdopodobieństwo sparowania matki pszczelej z trutniami z tej samej rodziny jest znikome, co zapobiega zjawisku inbrodu (Stockley i in., 1993).

W chwili obecnej podczas sztucznego unasieniania matek pszczelich, do unasieniania każdej z nich używa się najczęściej nasienia trutni z jednej rodziny pszczelej. W małych populacjach często dochodzi do chowu wsobnego. Powoduje to zawężenie zmienności genetycznej u potomstwa. Bliskie kojarzenia przyspieszają wprawdzie postęp hodowlany, ale jednocześnie ograniczają frekwencję genów w populacji oraz liczbę alleli płciowych odpowiedzialnych za depresję inbredową. Jest ona niekorzystna z powodu obniżenia

zdolności przystosowawczych, spadku plenności i odporności na choroby. Zwiększenie poziomu zróżnicowania genetycznego podczas sztucznego unasieniania do poziomu, jaki można uzyskać podczas naturalnego unasienienia ma pewne ograniczenia. Jednym z nich jest objętość nasienia jaką można wprowadzić matce do jajowodów i liczba zabiegów unasieniania. Jednym z rozwiązań jest rozcieńczenie i mieszanie nasienia od wielu trutni (Moritz, 1984; Fisher, 1987; Cobey i Lawrence, 1988; Kühnert i in., 1989; Harbo, 1990; Skowronek i in., 1995).

Technikę mieszania nasienia zastosowano w pracy [B.3], której celem było określenie wpływu różnorodności genetycznej wewnątrz rodzin pszczelich na rozwój, produktywność i zimowanie. W doświadczeniu testowane były dwa poziomy różnorodności genetycznej robotnic. Odpowiednie poziomy zmienności uzyskano przez różny dobór trutni użytych do sztucznego unasieniania matek. W doświadczeniu wykorzystano materiał hodowlany z 3 linii hodowlanych pszczół z podgatunku *Apis mellifera carnica* (M, N i G) po 10 rodzin z każdej linii. Matki odchowano od jednego pnia matecznego z linii (M), a trutnie ze wszystkich 30 rodzin. Do unasienienia matek dających potomstwo mniej zróżnicowane genetycznie używano nasienia trutni z pojedynczych pni ojcowskich (SCS), potomstwo bardziej zróżnicowane genetycznie uzyskano unasieniając matki nasieniem mieszanym, pochodzącym od trutni ze wszystkich pni ojcowskich (MCS), przy czym w obu grupach rodziny miały tę samą pulę genów. Matki z obydwu grup poddano do nowo utworzonych rodzin rozlokowanych po 51 sztuk w dwóch miejscach, o odmiennych warunkach pożytkowych. Obfitość pożytku w obu pasiekach była podobna, ale lokalizacje te różniły się nieco udziałem pożytków w poszczególnych miesiącach. Przybytki nektaru brutto w pasiekach (W) i (S) łącznie z dwóch lat wynosiły odpowiednio 57,3 i 52,3 kg, a procentowy udział przybytku nektaru w miesiącach maj/czerwiec/lipiec wynosił w pasiece (W) 12,5/75/12,5, oraz w pasiece (S) odpowiednio 51/46/3. Badania pasieczne prowadzono przez dwa pełne sezony pasieczne. Pomiary powierzchni czerwiu w miesiącach maj, czerwiec i lipiec wykazały, że rodziny bardziej zróżnicowane genetycznie (MCS) wychowały więcej czerwiu w ciągu roku niż rodziny o homogenicznym składzie robotnic, ale różnice te były istotnie tylko w maju. Pomiary wiosenne wykazały również istnienie interakcji czynników genetycznych (grupa) i środowiskowych (pasieka, rok badań), co oznacza odmienną reakcję obu grup rodzin na konkretne warunki środowiskowe. Łącznie wszystkie rodziny z grupy (MCS) wyprodukowały przeciętnie o 3 kg miodu więcej od rodzin z grupy (SCS). W pasiece (W) różnica na korzyść rodzin z grupy (MCS) była znacząca, zwyżka odebranego miodu wynosiła 76%. Okazało się, że w przypadku pożytków, a dokładnie ich wielkości i rozkładu, jakie występowały w pasiece

(W) zmienność genetyczna wewnątrz rodzin miała istotny wpływ na produktywność. W przypadku produkcji miodu również zauważono interakcję czynników genetycznych i środowiskowych. Po rozdzieleniu grupy (SCS) według komponentów ojcowskich czyli M, N i G średnia wydajność miodowa tych subgroup różniła się istotnie, podczas gdy w grupie (MCS) zauważono pewne uśrednienie i stabilizację. Współczynnik korelacji pomiędzy wydajnością poszczególnych rodzin w obu latach w grupie (MCS) wynosił $R=0,7$, $p \leq 0,05$, co świadczy, iż rodziny te co roku powtarzały swoje wyniki produkcyjne, a w grupa (SCS) uległa większemu wpływowi środowiska $R=0,4$, $p > 0,05$. Powyższe dane o przewadze rodzin (MCS) nad (SCS) stają się bardziej wiarygodne w sytuacji, kiedy zarówno przed zimą, jak i po zimie każdego roku siła rodzin w obu grupach była podobna. Stwierdzono również, że w pewnych warunkach większy wpływ na produkcję miodu może mieć wartość hodowlana poszczególnych linii ojcowskich, niż fakt ilu ojców mają robotnice w rodzinie pszczelej. W rodzinach o większym zróżnicowaniu zaobserwowano uśrednienie wpływu poszczególnych komponentów ojcowskich na wydajność miodową, bez sumowania się cech od najwartościowszych trutni (non-additive effect). Taka ekspresja cech u potomstwa niweluje niekorzystny efekt nieudanego doboru rodziców.

Matki pszczele żyją najczęściej 3-4 lata, ale udokumentowane są również przypadki, że matki mogą dożyć nawet 8 lat (Bozina 1961). Przyczyną przedwczesnych upadków matek są choroby takie jak nosemoza czy schorzenia narządów rodnych. Starsze matki wymieniane są na drodze cichej wymiany ze względu na spadek atrakcyjności spowodowany coraz mniejszą produkcją feromonów matecznych, a także wyczerpaniem się zapasu plemników w zbiorniczkach nasiennych. Czynności wykonywane podczas sztucznego unasieniania jak częsta separacja matek od robotnic, narkoza dwutlenkiem węgla, używanie rozcieńczalników nasienia często powoduje niższą żywotność matek a w następstwie ich cichą wymianę. W pracy [B.5] sprawdzano czy unasienianie matek rozcieńczonym nasieniem wpływa na kondycję fizyczną matek pszczelich i ich zdolności reprodukcyjne. Wartość matek wyrażono długością życia i przeżywalnością czerwiu. Matki obserwowano od lipca 2009 do lipca 2012 roku. Matki w grupie (MCS) żyły nieznacznie (średnio o dwa miesiące) dłużej niż w grupie (SCS), zaś straty w poszczególnych latach w obu grupach była podobne. Najczęstszym powodem strat była cicha wymiana, która dotknęła 35% matek. Zarówno cicha wymiana, jak i pozostałe przyczyny strat były podobnie liczne w obu grupach matek. Obserwacje przeżywalności czerwiu wykonano tylko w jednej lokalizacji, ale w dwóch kolejnych latach w różnych warunkach pożytkowych, na podstawie różnicy między liczbą złożonych jaj i liczbą komórek z czerwiem zasklepionym. Zarówno podczas słabego, jak i obfitego pożytku

przeżywalność czerwiu w obu grupach nie różniła się istotnie. Rozcieńczanie nasienia płynem Hyes'a przed inseminacją matek, w celu jego wymieszania nie wpłynęło negatywnie na przeżywalność czerwiu i żywotność matek. Zatem, metodę tę można z powodzeniem stosować w praktyce hodowlanej.

Od kilku lat obserwuje się na całym świecie zjawisko upadków rodzin pszczelich. W Polsce upadki rodzin pszczelich obserwowane są głównie w okresie jesienno-zimowym, za co odpowiedzialne są głównie pasożyty *Varroa destructor* oraz towarzyszące inwazji infekcje wirusowe (Topolska i in., 2008; Pohorecka i in., 2011). Spadek żywotności rodzin pszczelich może być wynikiem zawężenia zmienności genetycznej osobników, co może mieć wpływ na obniżenie zdolności adaptacyjnych pszczół. Większa różnorodność genetyczna sprzyja lepszej tolerancji wielu chorób (Sherman i in., 1988; Hamilton i in., 1990; Shykoff i Schmid-Hempel, 1991; Baer i Schmid-Hempel, 1999; Tarpy, 2003; Tarpy i Seeley, 2006). Podatność pszczół na niektóre choroby jest determinowana genetycznie. Różne genotypy pszczół, nawet w obrębie podgatunku, charakteryzują się różnym stopniem wrażliwości na takie patogeny jak: *Ascospheera apis* (Gilliam i in., 1988), *Paenibacillus larvae* (Rothenbuhler i Thompson, 1956), i pasożyty: *Varroa destructor* (Guzman i in., 1996), *Acarapis woodi* (Gary i Page, 1987) *Nosema Apis* (Woyciechowski i in., 1994). W populacji bardziej zróżnicowanej genetycznie częstotliwość występowania chorób i śmiertelność rodzin pszczelich jest niższa (Hamilton, 1987; Sherman i in., 1988; Schmid-Hempel, 1994, 1998; Tarpy, 2003). Matki, które kopulują wielokrotnie przekazują potomstwu geny wielu ojców. W ten sposób minimalizują ryzyko przeniesienia na całe potomstwo genów wrażliwości na choroby, zwiększając prawdopodobieństwo przetrwania rodzin (Sherman i in., 1988). Jednym z mechanizmów odporności na choroby jest zachowanie higieniczne. Polega ono na wykrywaniu przez pszczoły chorego lub już martwego czerwiu i usuwaniu go ze środowiska ulowego. Cecha ta jest wysoko odziedziczalna i może być selekcyjowana (Rothenbuhler, 1964; Spivak i Reuter, 1998). W rodzinie pszczelej efektywność tego mechanizmu odporności, determinowana jest tylko przez część wyspecjalizowanych robotnic, zwanych higienicznymi. Już 25% wzrost udziału pszczół higienicznych w stosunku do niehigienicznych prowadzi do wzrostu odsetka usuwanego czerwiu z 26 do 46% (Arathi i Spivak, 2001). Selekcja pszczół w kierunku zwiększania odporności na choroby staje się koniecznością w obliczu strat jakie wywołuje pasożyt *Varroa destructor*, braku leków na niektóre choroby lub zakazu ich stosowania. W pracy [B.4] sprawdzono, czy zwiększenie poziomu różnorodności genetycznej i jednocześnie zwiększenie udziału pszczół higienicznych w rodzinach pszczelich ma wpływ na nasilenie zachowania higienicznego. Testowano dwie

grupy rodzin, jedną z matkami unasienionymi nasieniem trutni z pojedynczego pnia ojcowskiego, dającymi potomstwo mniej zróżnicowane genetycznie (SCS) oraz drugą z matkami unasienionymi nasieniem mieszanym pochodzącym od trutni z 30 pni ojcowskich (MCS). Do unasienienia matek obu grup użyto m.in. nasienia od trutni linii hodowlanej G, selekcyonowanej w kierunku nasilenia zachowania higienicznego. W grupie SCS 33% matek unasieniono nasieniem trutni z linii G, a w grupie MSC wszystkie matki unasieniono nasieniem, w którym udział nasienia tej linii G wynosił 33%. W czerwcu w 2010 roku oceniono zachowanie higieniczne, czyli oczyszczanie komórek plastra z martwego czerwiu, w sposób opisany przez Gilliam i in. (1983). Zachowanie higieniczne wyrażono procentem całkowicie oczyszczonych komórek, w ciągu 24 godzin. W okresie wykonywania testu higienicznego, a także 3 dni poprzedzających test higieniczny, przybytek nektaru znacznie różnił się w pasiekach. W pasiece (W) przybytek netto wynosił tylko 0,3 kg, natomiast w pasiece (S) 2,2 kg. Robotnice z rodzin (SCS), czyli mniej zróżnicowane genetycznie, po upływie doby wyczyściły średnio nieznacznie więcej komórek z martwym czerwiem niż rodziny (MCS), poza tym w pasiece, w której był lepszy pożytek (S) rodziny oczyściły istotnie mniej komórek z martwymi poczwarkami niż w pasiece (W). Po podziale grupy (SCS) według komponentów ojcowskich czyli M, N i G, zachowanie higieniczne pszczół różniło się istotnie w subgrupach ojcowskich. Stwierdzono przy tym interakcję między czynnikiem genetycznym (grupa) a środowiskowym (pasieka). Podobnie, jak w przypadku miodności otrzymano uśrednione wartości zachowania higienicznego w stosunku do komponentów ojcowskich M, N i G. Udział 33,3% nasienia z rodzin ojcowskich uznanych za higieniczne, użytego do unasieniania matek z grupy (MCS) był zbyt niski aby otrzymać efekt nasilenia zachowania higienicznego całych rodzin, jak to miało miejsce w badaniach Arathi i Spivak (2001). Nie bez znaczenia jest w tym przypadku udział genów pozostałych komponentów ojcowskich, których poziom higieniczności uznano za przeciętny a nie niski.

4.3.4 Podsumowanie

Odpowiednik rui u ssaków, czyli jednoczesne zachowania behawioralne i fizjologiczna gotowość organizmu do rozplodu u pszczół nie istnieje. Loty godowe należy zatem uważać za zachowania instynktowne, a zmiany fizjologiczne w ciele matek prowadzące do rozpoczęcia czerwienia inicjowane są podczas kopulacji z trutniami.

Przechodzenie plemników z jajowodów do zbiorniczków nasiennych matek to proces niezależny od aktywności lotnej matek. Rozpoczynanie czerwienia matek sztucznie unasienionych nie jest uzależnione ani od ich aktywności lotnej, ani od liczby plemników w zbiorniczkach nasiennych. Proces ten jest aktywowany w naturze przez bodźce, które nie występują podczas sztucznego unasieniania.

W pewnych warunkach środowiskowych produktywność rodzin pszczelich o zróżnicowanym składzie robotnic może dominować nad rodzinami o homogenicznym składzie. Reakcja poszczególnych genotypów na konkretne warunki środowiskowe może być jednak różna ze względu na występowanie interakcji genetyczno-środowiskowych.

W rodzinach o większym zróżnicowaniu genetycznym robotnic obserwuje się uśrednienie wpływu poszczególnych komponentów ojcowskich na wydajność miodową, zachowanie higieniczne bez sumowania się cech od najwartościowszych trutni (non-additive effect).

Rozcieńczanie nasienia płynem Hyes'a przed inseminacją matek, w celu jego wymieszania nie wpływa negatywnie na wskaźniki jakości unasienienia i żywotność matek pszczelich.

4.3.5 Cytowana literatura

1. Al-Ghzawi, A., Zaitoun, S. (2008). Origin and rearing season of honeybee queens affect some of their physiological and reproductive characteristics. *Entomological Research*, 38, 139-148. DOI: 10.1111/j.1748-5967.2008.00151
2. Arathi, H.S., Spivak, M. (2001). Influence of colony genotypic composition on the performance of hygienic behavior in the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Animal Behavior*, 62, 57-66. DOI: 10.1006/anbe.2000.1731
3. Baer, B., Schmid-Hempel, P. (1999). Experimental variation in polyandry affects parasite loads and fitness in a bumblebee. *Nature*, 397, 151-154. DOI: 10.1038/16451
4. Bienkowska, M. (2018). Bee Breeding activity in Poland. Sicamm Dark Bee Conference. 12-15 July 2018 Mustiala, Finland.
5. Bieńkowska, M., Panasiuk, B. (2006). Influence of the diameter of the inseminating needle tip on the results of bee queens' fertilization. *Journal of Apicultural Science*, 50(2), 137-145.
6. Bieńkowska, M., Węgrzynowicz, P., Panasiuk, B., Gerula, D., Loc, K. (2008). Influence of the age of honey bee queens and dose of semen on condition of instrumentally inseminated queens kept in cages with 25 worker bees in bee colonies. *Journal of Apicultural Science*, 52(2), 23-33.
7. Bozina, K. D. (1961). How long does the queen live? *Pchelovodstvo*, 38, 13.
8. Chuda-Mickiewicz, B., Prabucki, J. (1993). Podejmowanie czerwienia przez matki pszczoły przetrzymywane w skrzynkach w asyście swobodnie oblatujących się pszczół. *Pszczelnicze Zeszyty Naukowe*, 37, 23-31.

9. Chuda-Mickiewicz, B., Prabucki, J. (2000). Rifampicin, a new antibiotic in insemination of queen bees. *Pszczelnicze Zeszyty Naukowe*, 44, 87-94.
10. Cobey, S., Lawrence, T. (1988). Commercial application and practical use of the Page-Laidlaw closed population breeding program. *American Bee Journal*, 128, 341-344.
11. Cobey, S., Bieńkowska M., Wilde J., Gąbka J. (2019) Poland the only country where instrumentally inseminated queens are routinely used in commercial production colonies. *American Bee Journal*. 159(3):275-280.
12. Cole, B.J., Wiernasz, D. C. (1999). The selective advantage of low relatedness. *Science*, 285, 891-893. DOI: 10.1126/science.285.5429.891
13. Crozier, R.H., Page, R.E. (1985). On being the right size: male contributions and multiple mating in social Hymenoptera. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 18, 105-115.
14. Czekońska, K. (2000). The influence of *Nosema apis* on young honeybee queens and transmission of the disease from queens to workers. *Apidologie*, 31, 701-706. DOI: 10.1051/apido:2000154
15. Ebadi, R., Garry, N.E. (1980). Factors affecting survival, migration of spermatozoa and onset of oviposition in instrumentally inseminated queen honeybees. *Journal of Apicultural Research*, 19(2), 96-104.
16. Estoup, A., Solignac, M., Cornuet, J.M. (1994). Precise assessment of the number of patrines and of genetic relatedness in honeybee colonies. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 258, 1-7. DOI: 10.1098/rspb.1994.0133
17. Fewell, J.H., Page, R. E. (1993). Genotypic variation in foraging responses to environmental stimuli by honey bees, *Apis mellifera*. *Experientia*, 19, 1106-1112.
18. Fisher, F. (1987). Investigations on the influence of the sperm mix technique on the grade of filling the spermatheca. *Apidologie*, 18(4), 360-362. DOI: 10.1051/apido:19870405
19. Gąbka, J. (2019). Rozpoczynanie czerwienia przez nieunasienione matki pszczele. *56 Naukowa Konferencja Pszczelarska, Kazimierz Dolny, 5-6 marca 2019*, 28-29.
20. Gąbka, J. (2018). Drifting of honey bee queens returning from flights. *Journal of Apicultural Research*. In print. DOI: 10.1080/00218839.2018.1492502
21. Gary, N. E., Page, R. E. (1987). Phenotypic variation in susceptibility of honey bees, *Apis mellifera*, to infestation by tracheal mites, *Acarapis woodi*. *Experimental and Applied Acarology*, 3, 291-305.
22. Gerula, D., Panasiuk, B., Bieńkowska, M., Węgrzynowicz, P. (2018). Balling behavior of workers toward honey bee queens returning from mating flights. *Journal of Apicultural Science*, 62(2), 247-256. DOI: 10.2478/JAS-2018-0023
23. Gerula, D., Bieńkowska, M. (2002). Effect of injury to honey bee queens on egg laying rate and colony strength. *Journal of Apicultural Science*, 46(1), 75-82.
24. Gilliam M., Taber S., Richardson G. V. (1983) Hygienic behaviour of honey bees in relation to chalkbrood diseases. *Apidologie* 14(1): 29-39. DOI: 10.1051/apido:19830103
25. Gilliam, M., Taber, S., Lorenz, B. J., Prest, D. B. (1988). Factors affecting development of chalkbrood disease in colonies of honey bees, *Apis mellifera*, fed pollen contaminated with *Ascosphaera apis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 52, 314-325.
26. Gontarz, A., Bieńkowska, M., Loc, K. (2005). Effect of queen caging condition on insemination results. *Journal of Apicultural Science*, 49(1), 5-15.

27. Guzman, L. I., Rinderer, T. E., Delatte, G. T., Macchiavelli, R. E. (1996). *Varroa jacobsoni* Oudemans tolerance in selected stocks of *Apis mellifera* L. *Apidologie*, 27(4), 193-210. DOI:10.1051/apido:19960402
28. Hamilton, W. D. (1987). Kinship, recognition, disease, and intelligence: constraints of social evolution. In *Animal societies: theory and facts* (ed. Y. Ito, J. L. Brown & J. Kikkawa). Japanese Scientific Society. Tokyo: pp.81-102.
29. Hamilton, W.D., Axelrod, R., Tanese, R. (1990). Sexual reproduction as an adaptation to resist parasites (A review). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(9), 3566-3573.
30. Harbo, J. R. (1986). Propagation and instrumental insemination, in: Rinderer T.E.(Ed.), *Bee Breeding and Genetics*, Academic Press, Inc., pp. 361-389.
31. Harbo, J R (1990). Artificial mixing of spermatozoa from honey bees and evidence for sperm competition. *Journal of Apicultural Research*, 29(3), 151-158.
32. Heidinger, I.M., Meixner, M.D., Berg, S, Büchler, R. (2014). Observation of the mating behavior of honey bee (*Apis mellifera* L.) queens using radio-frequency identification (RFID): factors influencing the duration and frequency of nuptial flights. *Insects*, 5, 513-527. DOI: 10.3390/insects5030513
33. Herrmann, H. (1969). Die Neurohormonale Kontrolle der Paarungsflüge und der Eilegetätigkeit bei der Bienenkönigin. *Z. Bienenforsch*, 9, (11/12), 507-544.
34. Janoušek, J. (1987). Effect of carbon dioxide on initiation of oviposition of inseminated queens. *Vedecké Práce, V.U.V. v Dole* 9, 57-64.
35. Jennions, M.D., Petrie M. (2000). Why do females mate multiply? A review of the genetic benefits. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 75, 21-64.
36. Kaatz, H.H. (1984). Die Synthese von Dotterproteinen bei pupalen und imaginalen Bienenköniginnen. *Apidologie*, 15(3), 281-282.
37. Kaftanoglu, O., Peng, V. S. (1982). Effects of insemination on the initiation of oviposition in the queen honeybee. *Journal of Apicultural Research*, 21(1), 3-6.
38. Koeniger, G. (1981). In welchem Abschnitt des Paarungsverhaltens der Bienenkönigin findet die Induktion der Eiablage statt? *Apidologie*, 12(4), 329-343.
39. Konopacka, Z. (1991). Wpływ narkozy CO₂ i N₂O na wyniki sztucznego unasieniania matek pszczelich. *Pszczelnicze Zeszyty Naukowe*, 35, 3-18.
40. Kühnert, M. E., Carrick, M J., Allan, L. F. (1989). Use of homogenized drone semen in a bee breeding program in Western Australia. *Apidologie*, 20, 371-381. <http://dx.doi.org/10.1051/apido:19890501>
41. Laidlaw, H. H. (1954). Beekeeping management for bee breeder. *American Bee Journal*, 94(3), 93-95.
42. Mackensen, O. (1947). Effect of carbon dioxide on initial oviposition of artificially inseminated and virgin queens bees. *Journal of Economic Entomology*, 40, 344-349.
43. Mackensen, O. (1964). Relation of semen volume to success in artificial insemination of queen honey bee. *Journal of Economic Entomology*, 57(4), 581-583.
44. Mackensen, O. (1969). Relation of semen volume to success in artificial insemination of queen honey bees. *Journal of Economic Entomology*, 57/4, 581-583.
45. Mackensen, O., Roberts, W. C (1948). A manual for the artificial insemination of queen bees. US Bureau of Entomology and Plant Quar. ET-250.

46. Mackensen, O., Tucker, K.W. (1948). Instrumental insemination of queen bees. U.S.D.A.Agric.Handb., 390.
47. Moritz, R.F.A., Kryger, P., Koeniger, N., Estoup, A., Tingek, S. (1995). High degree of polyandry in *Apis dorsata* queens detected by DNA microsatellite variability. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 37,357-363.
48. Moritz, R. F. A (1984). The effect of different diluents insemination success in the honey bee using mixed semen. *Journal of Apicultural Research*, 23(3), 164-167.
49. Oldroyd, B.P., Clifton, M.J., Parker, K., Wongsiri, S., Rinderer, T.E., Crozier, R.H. (1998). Evolution of mating behavior in the genus *Apis* and an estimate of mating frequency in *A. cerana* (Hymenoptera: Apidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 91, 700-709.
50. Oldroyd, B.P., Clifton, M.J., Wongsiri, S., Rinderer, T.E., Sylvester, H.A., Crozier, R.H. (1997). Polyandry in the genus *Apis*, particularly *Apis andreniformis*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 40, 17-26.
51. Oldroyd, B.P., Smolenski, A.J., Cornuet, J.M., Wongsiri, S., Estoup, A., Rinderer, T.E., Crozier, R.H. (1996). Levels of polyandry and intracolony genetic relationships in *Apis dorsata* (Hymenoptera: Apidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 89, 276-283.
52. Oldroyd, B.P., Smolenski, A.J., Cornuet, J.M., Wongsiri, S., Estoup, A., Rinderer, T., Crozier, R.H. (1995). Levels of polyandry and intracolony genetic relationships in *Apis florea*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 37, 329-335.
53. Otten, C., Otto, A., Renner, R. (1998). Artificial Insemination: Methodological influences on the results. *Apidologie*, 29(5), 467.
54. Page, R.E., Robinson, G.E., Fondrk, M.K., Nasr, M.E. (1995). Effects of worker genotypic diversity on honey bee colony development and behavior (*Apis mellifera* L.). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 36, 387-396.
55. Patrício, K., Cruz-Landim, C. (2002). Mating influence in the ovary differentiation in adult queens of *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae). *Brazilian Journal of Biology*, 62(4A), 641-649.
56. Pohorecka, K., Bober, A., Skubida, M., Zdańska, D. (2011). Epizootic status of apiaries with massive losses of bee colonies (2008-2009). *Journal of Apicultural Science*, 55(1),137-150.
57. Prabucki, J., Jasiński, Z., Chuda-Mickiewicz, B. (1987). The results of mass insemination of bee queens inseminated onefold and twofold and stocked in different ways. XXX International Apicultural Congress, Warsaw: 169-174.
58. Ridley, M. (1993). Clutch size and mating frequency in parasitic Hymenoptera. *The American Naturalist*, 142, 893-910. DOI: 10.1086/285579
59. Rinderer, T.E., Stelzer, J.A., Oldroyd, B.P., Tingek, S. (1998). Levels of polyandry and intracolony genetic relationships in *Apis koschevnikovi*. *Journal of Apicultural Research*, 37, 281-287.
60. Rothenbuhler, W. C., Thompson, V. C. (1956). Resistance to American foulbrood in honey bees. I. Differential survival of larvae of different genetic lines. *Journal of Economic Entomology*, 49, 470-475.

61. Rothenbuhler, W.C. (1964). Behavior genetics of nest cleaning in honey bee IV. Response of F₁ and backcross generation to disease-killed brood. *American Zoologist*, 4, 111-123.
62. Ruttner, F. (1976). The instrumental insemination of the queen bee. Apimondia Publishing Hause, Bucharest.
63. Schlüns, H., Moritz, R.F.A., Neumann, P., Kryger, P., Koeniger, G. (2005). Multiple nuptial flights, sperm transfer and the evolution of extreme polyandry in honeybee queens. *Animal Behaviour*, 70, 125-131. DOI: 10.1016/j.anbehav.2004.11.005
64. Schmid-Hempel, P. (1998). Parasites in Social Insects. Princeton University Press, Princeton NJ. 392 pp.
65. Sherman, P.W., Seeley, T.D., Reeve, H.K. (1988). Parasites, pathogens and polyandry in social Hymenoptera. *The American Naturalist*, 131, 602-610. DOI: 10.1086/284809
66. Shykoff, J.A., Schmid-Hempel, P. (1991). Parasites and the advantage of genetic variability within social insect colonies. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 243, 55-58.
67. Simmons, L.W., Siva-Jothy, M.T. (1998). Sperm competition in insects: mechanisms and the potential for selection. In: Sperm Competition and Sexual Selection (T.R. Birkhead and A.P. Møller, eds.) Academic Press, San Diego. 341-434 pp.
68. Skowronek, W. (1976). Biologia unasieniania się matek pszczelich usypianych dwutlenkiem węgla. *Pszczelnicze Zeszyty Naukowe*, 20, 99-115.
69. Skowronek, W. (1982). Wpływ dwutlenku węgla na funkcjonowanie corpora allata u robotnic pszczoły miodnej (*Apis mellifica* L.). *Pszczelnicze Zeszyty Naukowe*, 26, 3-13.
70. Skowronek, W., Kruk, C., Kłopot, J. (2002). Factors affecting oviposition of artificially inseminated honeybee queens. *Journal of Apicultural Science*, 46(2), 85-95.
71. Skowronek, W.; Kruk, C; Loc, K. (1995). The insemination of queen honey bees with diluted semen. *Apidologie*, 26, 487-493. <http://dx.doi.org/10.1051/apido:19950605>
72. Spivak, M., Reuter, G. S. (1998). Performance of hygienic honey bee colonies in a commercial apiary. *Apidologie*, 29(3), 291-302. DOI: 10.1051/apido:19980308
73. Stockley, P., Searle, J.B., Macdonald, D.W., Jones, C.S. (1993). Female multiple mating behavior in the common shrew as a strategy to reduce inbreeding. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 254, 173-179.
74. Strassmann, J. E. (2001). The rarity of multiple mating by females in the social Hymenoptera. *Insectes Sociaux*, 48, 1-13. DOI: 10.1007/PL00001737
75. Tarpy, D. R., Nielsen, D. I. (2002). Sampling error, effective paternity, and estimating the genetic structure of honey bee colonies (Hymenoptera: Apidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 95, 513-528.
76. Tarpy, D. R. (2003). Genetic diversity within honeybee colonies prevents severe infections and promotes colony growth. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270, 99-103. DOI: 10.1098/rspb.2002.2199
77. Tarpy, D. R., Seeley, T. D. (2006). Lower disease infections in honeybee (*Apis mellifera*) colonies headed by polyandrous vs monandrous queens. *Naturwissenschaften*, 93, 195-199, DOI: 10.1007/s00114-006-0091-4
78. Topolska, G., Gajda, A., Hartwig, A. (2008). Polish honey bee colony-loss during the winter of 2007/2008. *Journal of Apicultural Science*, 52(2), 95-104.

79. Wilde, J. (1994). Wpływ sposobu przetrzymywania matek pszczelich przed i po inseminacji na rezultaty tego zabiegu. *Acta Academiae Agriculturae ac Technicae Olstenensis. Zootechnica*, 39, 153-166.
80. Williams, G.C. (1975). *Sex and Evolution*. Princeton University Press, Princeton NJ. 200 pp.
81. Woyciechowski, M., Król E., Figurny, E., Stachowicz, M., Tracz, M. (1994). Genetic diversity of workers and infection by the parasite *Nosema apis* in honeybee colonies (*Apis mellifera*). In *Proceedings of the 12th Congr. Int. Union for the Study of Social Insects* (ed. G. A. M. L. A. Lenoir). Paris: Universite' paris-Nord.
82. Woyke, J. (1960). Naturalne i sztuczne unasiennianie matek pszczelich. *Pszczelnicze Zeszyty Naukowe*, 4, 183-275.
83. Woyke, J. Fliszkiewicz, C., Jasiński, Z. (2001). Prevention of natural mating of instrumentally inseminated queen honey bees by proper method on instrumental insemination. *Journal of Apicultural Science*, 45, 101-114.
84. Woyke, J., Jasiński, Z. (1976). The influence of age of the results of instrumental insemination of honeybee queens. *Apidologie*, 9(3), 203-212.
85. Woyke, J., Jasiński, Z. (1978). Influence of age of drones of the results of instrumental insemination of honeybee queens. *Apidologie*, 9(3), 203-212.
86. Woyke, J., Jasiński, Z., Prabucki, J., Wilde, J., Chuda-Mickiewicz, B., Siuda, M., Madras-Majewska, B., Samborski, J., Bratkowski, J., Jojczyk, A. (2008). Onset of oviposition by honey bee queens, mated either naturally or by various instrumental insemination methods, fits a lognormal distribution. *Journal of Apicultural Research*, 47(1), 1-9.
87. Woyke, J. (1979). Effect of the access of worker honey bees to the queen on the results of instrumental insemination. *Journal of Apicultural Research*, 18(2), 136-143.

4.3.6 Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Już w czasie studiów na Wydziale Zootechnicznym ówczesnej Akademii Rolniczej interesowały mnie prace hodowlane i zagadnienia związane z rozrodem zwierząt, czego efektem było ukończenie kursu inseminacji bydła. Po rozpoczęciu pracy w Instytucie Sadownictwa i Kwaciarnictwa wykorzystałem materiał zawarty w pracy magisterskiej, do napisania pierwszej publikacji naukowej [C.1]. W pracy tej wykazałem wyższą przydatność użytkową heterozyjnych mieszańców, dwóch podgatunków pszczół: kaukaskich i kraińskich, w stosunku do czystorasowych pszczół kraińskich, na terenie występowania pożytków spadziowych. Następnie brałem udział w badaniach dotyczących skuteczności leczniczej różnych wersji technologicznych preparatu warzobójczego „Apifos” zawierającego bromfenwinfos i „Fluwarol” zawierającego fluwalinat. Efektem badań skuteczności warzobójczej tych preparatów, było ustalenie optymalnej zawartości substancji aktywnej, zapewniającej wysoką skuteczność tych preparatów Wyniki tych badań zostały opublikowane i prezentowane na konferencjach [C.2, K.3, K.6, K.7, K.9]. W toku moich badań

wielokrotnie badałem skuteczność warrozbójczą nowych preparatów wprowadzanych na rynek polski m.in. Biowaru i Apitrazu. Badania w warunkach pasiecznych potwierdziły wysoką ich skuteczność, a Biowar produkowany jest do dziś [K.15]. Z uwagi na to że pasożyty *Varroa destructor* mogą uodparniać się z czasem na substancje aktywne zawarte w preparatach, systematycznie brałem udział w badaniach oceny skuteczności tych, które były dostępne na rynku i cieszyły się popularnością wśród pszczelarzy. Wyniki tych badań, w których byłem współautorem, prezentowane były na konferencjach naukowych; Biowar [K.21, K.50, K.73, K.88, K.93], Bevital hive clean [K.35] i Bayvarol [K.47] i kwas szczawiowy [K.82].

Zakres kolejnej pracy [C.4] obejmował zagadnienia gospodarki pasiecznej. Badania polegały na kontrolowaniu czerwienia matek pszczelich w sezonie pasiecznym, stosując metody różniące się stopniem ograniczania. Podczas dwuletnich badań wykazałem, że w niektórych warunkach pożytkowych przy zastosowaniu pewnych metod można w istotny sposób zwiększyć wykorzystanie pożytku przez pszczoły, bez negatywnego wpływu na siłę rodzin pszczelich przygotowanych do zimowania. Zamykając matkę w klacieczce, lub izolatorze 3-plastrowym ograniczając tym powierzchnię plastrów do czerwienia, można uzyskać nawet 37% zwwyżkę odwirowanego miodu.

Analiza technologii produkcji matek pszczelich pod kątem uszkodzeń ciała, oraz określenie wpływu tych uszkodzeń na ich wartość, zaowocowała opracowaniem rozprawy doktorskiej, w której opisałem skalę problemu uszkodzania matek. Badania były dofinansowane poprzez grant promotorski (Nr 2P06Z01928), którego byłem głównym wykonawcą. Wyniki opublikowano i prezentowano na konferencjach i kongresach [C.3, C5, C6, K.4, K.5, K.8, K.10, K.16, K.25, K.26] Stwierdziłem, że matki sztucznie unasienione były istotnie częściej uszkodzane niż naturalnie unasienione, jak również istotnie częściej były wymieniane na drodze cichej wymiany. Produkcja matek sztucznie unasienionych jest długim procesem. Przez ten czas, włączając poddawanie matek do rodzin, mają one kontakt z nowymi robotnicami nawet czterokrotnie. Skłoniło mnie to do analizy uszkodzeń matek pszczelich w całym procesie produkcji matek sztucznie unasienionych, a wyniki opisałem w pracy [C.5]. Najważniejszym wnioskiem, niezwykle ważnym dla praktyki, było udowodnienie, że intensywność uszkodzania wzrasta wraz z wiekiem matek. Starsze matki produkują coraz więcej substancji matecznej odpowiedzialnej za jej identyfikację i rozpoznawanie, co prowokuje nowe robotnice do ataku. Te chwytają zuwaczkami najbardziej wystające części ciała matek, stąd najczęstszym uszczerbkiem były uszkodzenia odnóży. Analizując konsekwencje uszkodzeń ciała matek udowodniłem, że nie przeszkadzały one w

ich akceptacji w rodzinach pszczelich, natomiast niektóre z nich np. brak części odnoży lub czułek dyskwalifikowały matki jako produkt handlowy. Matki z takimi uszkodzeniami znacznie gorzej czerwiły, a odsetek takich matek wymienionych przez pszczoły sięgał 83%.

Sztuczne unasienianie matek pszczelich jest w Polsce powszechnie stosowane w pasiekach realizujących programy hodowlane, a technika unasieniania jest wciąż doskonała. Jako współwykonawca uczestniczyłem w wielu badaniach, których celem była poprawa jakości inseminowanych matek. Głównym celem tych badań było określenie warunków przetrzymywania matek przed i po inseminacji w małych klateczkach z niewielką liczbą robotnic [C.7, C.12]. Wyniki badań wykazały że technologia ta jest przydatna w praktyce po spełnieniu pewnych warunków; matki w dniu inseminacji nie mogą być młodsze niż 5 dni, a objętość wstrzykiwanego ejakulatu nie może być zbyt duża ze względu na kłopoty matek z opróżnianiem jajowodów z nadmiaru nasienia. Najlepsze wyniki uzyskuje się dzieląc zaplanowaną dawkę nasienia na mniejsze porcje i wykonując zabieg dwukrotnie. Takie postępowanie pozwala na skuteczne opróżnianie jajowodów z nadmiaru nasienia jak również ma wpływ na szybsze rozpoczęcie czerwienia przez matki inseminowane. Olbrzymią trudność w procesie unasieniania matek pszczelich stanowi przygotowanie trutni, podczas gdy warunki transportu i ich przechowywania przed inseminacją rzutują na jakość nasienia. W pracy [C.13] opracowano zakres temperaturowy w jakim trutnie powinny przebywać przed pobraniem od nich nasienia aby matki unasienione tym nasieniem były jak najwyższej jakości. Badano również techniczne aspekty sztucznego unasieniania, analizując wpływ usypiania matek mieszaniną gazów zawierających różne stężenie CO₂, na ich jakość [C.14]. Najlepsze rezultaty otrzymano usypiając matki 100% dwutlenkiem węgla, chociaż niższe stężenia nie wpływały istotnie na straty matek, jedynie na czas ich zasypiania i budzenia się oraz na rozpoczynanie przez nie czerwienia. Wyniki powyższych prac prezentowano również na konferencjach [K.17, K.22, K.28, K.30, K.32, K.34, K.41, K.44, K.53].

W Polsce warunkiem wpisania matek hodowlanych do Ksiąg Hodowlanych prowadzonych przez Krajowe Centrum Hodowli Zwierząt jest potwierdzenie ich przynależności rasowej. Wychodząc naprzeciw zapotrzebowaniu Krajowego Centrum Hodowli Zwierząt, w 2007 roku, we współpracy z Uniwersytetem Rolniczym w Krakowie, podjąłem prace nad opracowaniem nowej metody oceny przynależności podgatunkowej pszczoł. Badania były prowadzone ze środków własnych oraz dofinansowane w ramach projektu [P.7] „Wdrożenie do praktyki hodowlanej komputerowej metody identyfikacji rasowej i liniowej pszczoł”. Przedsięwzięcie zakończyło się wprowadzeniem od 2009 roku do praktyki hodowlanej w kraju, nowej metody oceny przynależności rasowej trzech

podgatunków pszczół. Metoda ta wykorzystuje wyłącznie użyłkowanie skrzydeł robotnic i opiera się na morfometrii geometrycznej, inaczej morfometrii kształtu. W badaniach opracowano wzorce użyłkowania dla podgatunków pszczół hodowanych w Polsce, a dane zaimplementowano do programu komputerowego. Program automatycznie wykrywa sieć żyłek na skrzydle, a następnie dokonuje obliczeń matematycznych i generuje wynik. Wyniki badań nad modelami dla poszczególnych podgatunków, oraz opis procedur matematycznych wykorzystywanych przez program opisano w pracy [C.9] oraz popularyzowano na konferencjach naukowych [K.33, K.39, K.62, R.2]. Niezależnie od poszukiwania nowych metod prowadziłem badania z wykorzystaniem metod standardowej morfometrii polegającej na pomiarach części ciała pszczół. Wyniki tych prac prezentowałem na konferencjach naukowych [K.36, K.37, K.40, K.59, K.61]. Prace służące doskonaleniu metod oceny podgatunkowej kontynuowałem w ramach projektu [P.8]. Dane uzyskane za pomocą morfometrii geometrycznej porównywane były z danymi z markerów mikrosatelitarnych. Obie metody okazały się wysoce skorelowane, niemniej jednak analiza DNA wykazała, że klasyfikacja podgatunkowa wykorzystująca użyłkowanie skrzydeł nie daje jednoznacznych wyników w przypadku badania mieszańców, oraz dyskryminuje niektóre przypadki, których nie obejmuje model. Powyższe informacje posłużyły do aktualizacji kolejnych wersji programu. Wyniki badań z tego zakresu prezentowałem na konferencjach naukowych [K.52, K.62, R.7]. Zagadnienie badania przynależności podgatunkowej pszczół o nieznanym pochodzeniu oraz mieszańców zawiera praca [C.21], wyjaśniająca sposób dziedziczenia rozmieszczenia żyłek na skrzydłach pszczół. W badaniach tych krzyżowano podgatunki pszczół a następnie wykonano kojarzenia wsteczne. Stwierdzono, że obraz użyłkowania skrzydeł mieszańców jest pośredni pomiędzy rodzicami z niewielką dominacją podgatunku do którego należy matka pszczela.

Selekcja pszczół w naszym kraju, poza cechami biologicznymi jak łagodność, zimotrwałość, rojliwość i dynamiczny rozwój koncentruje się głównie na produkcji miodu. Inne produkty pszczele i cechy są przez nią pomijane lub tylko w niewielkim stopniu uwzględniane w programach hodowlanych. Nade wszystko jednak w ocenie wartości użytkowej brakuje określania cech związanych z odpornością na choroby. Badania naukowe potwierdzają istnienie u pszczół pewnych mechanizmów fizjologicznych i behawioralnych, dzięki którym pszczoły lepiej sobie radzą z patogenami. Jako współwykonawca uczestniczyłem w badaniach mających na celu poznanie uwarunkowań behawioralnych, genetycznych i środowiskowych zachowania higienicznego pszczół. W pracy [C.8] wykazano uniezależnienie tego procesu od warunków atmosferycznych w dniu wykonywania testu

natomiast stwierdzono wyraźne różnice w zachowaniu pszczół różnych porach roku. W rodzinach pszczelich występuje specjalizacja, jedne robotnice identyfikują i odsklepiają martwy czerw a inne wydobywają i usuwają go z komórek. W badaniach wykazano, że podział tej pracy związany jest z wiekiem robotnic. Wykrywaniem zajmują się robotnice starsze a czyszczeniem młodsze. Wyniki badań z tego zakresu opublikowane i prezentowane na konferencjach naukowych [C.11, K.27, K.32, K.54, K.55, K.57].

W latach 2009-2012 jako współwykonawca uczestniczyłem w eksperymencie „GEI” (Pan-European Genotype-Environment-Interactions Experiment) prowadzonym w ramach międzynarodowej współpracy w platformie COLOSS, projekt [P.1]. W badaniach tych testowano 16 linii hodowlanych należących do 5 podgatunków w 11 europejskich państwach. Wszystkich 21 pasiek rozlokowanych było od Sycylii, przez Europę środkową po południową Finlandię. W rodzinach doświadczalnych, w których przez 3 letni okres trwania badań nie zwalczano pasożyta *Varroa destructor*, oceniano cechy produkcyjne i biologiczne m.in. zdrowotność, rozwój, miodność i długość życia. Wyniki badań wykazały wysoką interakcję między genotypem pszczół i środowiskiem. Największą przeżywalnością charakteryzowały się pszczoły miejscowe, przystosowane do lokalnych warunków środowiskowych przy czym wartości pozostałych parametrów użytkowych tych pszczół były również wysokie. Wyniki prac opublikowano i prezentowano na konferencjach krajowych i zagranicznych [C.17, C.19, K.42, K.43, K.49, K.51, K.55].

Realizując badania, które wykorzystałem do napisania publikacji [B.1 i B.2] wskazanych jako osiągnięcie naukowe i wyszczególnionych w pierwszej części autoreferatu, zaobserwowałem zjawisko okłębiana przez pszczoły matek pszczelich powracających z lotów godowych. Nie byłoby nic w tym dziwnego, gdyby nie były to robotnice z tej samej rodzinki, z której wyleciała matka. Literatura w tym zakresie była bardzo uboga, zaprojektowałem więc badania mające na celu określenie skali tego zjawiska i poznanie jego przyczyn. Owocem tych badań jest publikacja [C.20] oraz doniesienia konferencyjne [R.9, K.69]. Jednak prace te nie wyczerpują tematu, ale wymieniają to zjawisko jako jedną z głównych przyczyn strat matek w okresie naturalnego unasieniania. Nie udało się jednoznacznie wskazać powodu dla którego pszczoły zabijają matki, ale wykluczono z nich niezgodność podgatunkową między matkami i robotnicami, wiek robotnic w rodzinkach czy obecność czerwii w rodzinkach weselnych. Zaobserwowano nasilenie okłębiana wiosną oraz w upalne dni, w których indeks „THSW”, wskaźnik odczuwania bieżących warunków obliczony na podstawie wartości temperatury, wilgotności, nasłonecznienia i wiatru sięgał 40°C.

Obecnie najwięcej uwagi i pracy poświęcam zagadnieniom hodowlanym oraz badaniu różnorodności genetycznej pszczoł hodowlanych i pszczoł miejscowych, objętych ochroną zasobów genetycznych. W ramach konsorcjum "RNSBB" (Research Network for Sustainable Bee Breeding) z wykorzystaniem środków przewidzianych na realizację projektów [P.3, P.4, P.6] od 2014 roku prowadzimy zespołowo działania, mające na celu opracowanie, adaptację i wdrażanie metod gospodarki pasiecznej oraz metod selekcji pszczoł, pozwalające pszczołom na lepsze uporanie się z pasożytami *Varroa destructor*. Na początku rozwijane były metody szacowania stopnia inwazji pasożyta i określania progów zagrożenia dla pszczoł. Wyniki zaprezentowano w doniesieniach konferencyjnych [K.64, K.66, K.71, K.74, K.77, K.82]. W opracowaniach tych opisaliśmy przydatność metod wytrząsania roztoczy z robotnic z dodatkiem cukru pudru i z robotnic uśpionych CO₂. Populacja roztoczy rozmnaża się w rodzinie pszczelej w niejednakowym tempie jak również różny jest poziom porażenia rodzin niebezpieczny dla pszczoł. Próby oceny tego poziomu opisaliśmy w doniesieniu [K.78]. Najlepsze rezultaty w walce z pasożytami daje integrowanie metody czyli łączenie zwalczania za pomocą farmaceutyków i metod biotechnicznych wykorzystujących biologię rozrodu pasożyta i pszczoł. Okresowe uniemożliwienie matkom składania jaj i taka manipulacja czerwiem w rodzinie aby spełniał on rolę tzw. pułapki, opisano w doniesieniu [K.83]. Wspomniane we wcześniejszej części autoreferatu zachowanie higieniczne dotyczyło wykrywania i usuwania martwego czerwiu. Jednym z najnowszych kierunków badań odporności pszczoł na pasożyty *Varroa destructor* w których uczestniczę, jest ocena VSH (*Varroa Sensitive Hygiene*) i badanie mechanizmu SMR (*Suppressed Mite Reproduction*). VSH to wykrywanie i usuwanie czerwiu porażonego pasożytami, ale zaobserwowano również, że pszczoły celowo odkrywają komórki z porażonym czerwiem i ponownie je zakrywają (tzw. reccaping), przerywając tym samym cykl reprodukcyjny pasożyta. Mechanizm SMR to obniżenie płodności samic *Varroa* żerujących na czerwiu. Badanie tego mechanizmu polega na określeniu liczby samic *Varroa*, które nie wydają w ogóle potomstwa, w miocie nie ma samca a wyłącznie samice bądź w potomstwo nie osiąga dojrzałości płciowej przed wygryzieniem się robotnicy z komórki. Zasada działania mechanizmu SMR nie jest dokładnie poznana ale dowiedziono, że zarówno VSH jak i SMR są w znacznym stopniu odziedziczalne. Oba mechanizmy obronne występują w nielicznych rodzinach. Badanie tych cech w populacjach stanowi punkt wyjścia do selekcji pszczoł. Wyniki badania pszczoł hodowanych w moim zakładzie przedstawiono w doniesieniu [K.92]. Stwierdzono, że u pszczoł kaukaskich samice *Varroa* zaczynają składać jaja istotnie później niż u pszczoł kraińskich natomiast u pszczoł kraińskich istotnie więcej samic, które bądź nie miało

potomstwa bądź wśród potomstwa nie było samców odpowiednio 19,1% i 9,2%. Wstępne wyniki badań sugerują również, że pszczoły kaukaskie charakteryzują się lepszym instynktem zachowania higienicznego.

Po konferencji dotyczącej bioróżnorodności w Nagoi w 2010 roku, zachowanie pszczół miejscowych w swojej pierwotnej formie stało się priorytetem w wielu krajach. W Polsce już od lat 70-tych ubiegłego stulecia prowadzi się działania ochrony pszczół. W chwili obecnej ochroną objętych jest 5 populacji pszczół. W działania te zaangażowany jest również Instytut Ogrodnictwa prowadząc na tych pszczołach badania podstawowe na rzecz postępu biologicznego w produkcji zwierzęcej [P.5, P.10]. Wyniki tych prac prezentowane na konferencjach [K.65, K.67, K.68, K.75, K.79, K.81] wskazują na to, że pszczoły te są doskonale przystosowane do lokalnych warunków. Jednocześnie stwierdzono, że największym zagrożeniem dla tych pszczół jest hybrydyzacja, a zwłaszcza z podgatunkami pszczół nie pochodzącymi z Europy. Obecnie różnorodność pszczół hodowlanych w Polsce różni się od stanu pierwotnego, jako następstwo importu pszczół z innych regionów Europy. Wiedza na temat stanu zasobów genetycznych jest przydatna w pracach hodowlanych. Badania takie, podjęliśmy w ramach projektu [P.9], którego jestem kierownikiem. Celem tego projektu jest inwentaryzacja zasobów genetycznych pszczół hodowlanych w Polsce. Do scharakteryzowania linii hodowlanych wykorzystujemy zarówno pomiary morfometryczne jak i markery mikrosatelitarne. Wstępne wyniki prezentowane na konferencjach [K.72, K.80, R.10, R.11] donoszą, że dzięki szeroko wykorzystywanej inseminacji pszczoły są utrzymywane w stanie czystości podgatunkowej, ale zbyt wiele z nich jest blisko spokrewniona genetycznie.

5. Zestawienie oryginalnych publikacji z listy JCR i z listy MNIŚW, z uwzględnieniem wskaźnika wpływu (IF), liczny punktów MNIŚW oraz cytowań w bazie Web of Science.

Czasopismo	Rok Publikacji	Liczba publikacji	Impact Factor	Liczba punktów MNIŚW	Liczba cytowań (bez autocytowań)
Pszczelnicze Zeszyty Naukowe	1999	1	0	2	0
	2000	1	0	2	0
Journal of Apicultural Science	2002	1	0	4	2
	2004	1	0	5	0
	2007	1	0	10	0
	2008	2	0	8	1
	2009	2	0	12	17
	2010	2	0,978	18	7
	2011	3	2,022	60	13
	2012	2	1,058	40	5
	2014	3	3	60	5
	2015	1	0,571	25	3
	2018	1	0,722	20	0
2019	1	0,722	20	0	
Archives of Biological Sciences	2015	1	0,61	15	2
Journal of Apicultural Research	2014	2	3,79	70	45
	2016	1	2,084	35	1
Razem		26	15,557	406	101

6. Podsumowanie dorobku naukowego

Działalność	Uzyskana liczba przed doktoratem	Uzyskana liczba po doktoracie	Razem
Publikacje z listy JCR	0	24	24
Pozostałe publikacje z listy MNiSW	2	0	2
Publikacje z listy JCR i MNiSW w języku polskim	1	0	1
Publikacje z listy JCR i MNiSW w języku angielskim	3	22	25
Publikacje popularnonaukowe	5	9	14
Doniesienia na konferencje	Krajowe	9	43
	Zagraniczne	11	30
	W tym referaty wygłoszone na konferencjach	0	12
	Pierwszy autor (%)	36,6	31,9
Sumaryczny IF (IF publikacji stanowiących osiągnięcie)		15,557 (4,858)	
Liczba cytowań (liczba cytowań publikacji stanowiących osiągnięcie)		101 (10)	
Suma punktów MNiSW (suma punktów MNiSW publikacji stanowiących osiągnięcie)		406 (120)	
Indeks Hirscha		6	

Gerula Dariusz