



Honeybee probiotics: a comprehensive review of isolated microbial strains, functions, and future prospects

Sayyede Narges Zamanian¹, Mohammad Rabbani Khorasgani^{*1}, Shahram Dadgostar²

1. Department of Cell and Molecular Biology and Microbiology, Faculty of Biological Science and Technologies, University of Isfahan, Isfahan, Iran

2. Honey Bee and Herbal Medicines Research Institute, khansar campus, University of Isfahan, Isfahan, Iran

Received Date:2026.05.18 Accepted Date:2026.06.11

Abstract

The health of honeybee colonies is threatened by several factors, including pathogens and antibiotic use. Probiotics emerge as a promising option to enhance bee health in cultured colonies. Probiotics demonstrate significant potential in enhancing the health of honeybees and regulating their gastrointestinal microbiota. The honeybee gut harbors a simple yet specialized microbial population comprising different bacterial families, including various genera within LAB and the relatively new subgroup FLAB. This review article aims to explore strains isolated with probiotic properties from honeybees and evaluate their potential applications. Evidence suggests that certain strains exhibiting characteristics such as high tolerance to acidic pH and bile salts, the ability to produce EPS, and a lack of hemolytic activity are suitable candidates for use as probiotic additives. Furthermore, some of these strains have shown potential in inhibiting key pathogens. Considering the economic and environmental significance of honeybees and the current threats to their well-being, the development of safe and effective probiotic supplements, based on the careful selection of strains, is essential. The application of these probiotics can not only offer a natural solution for promoting bee health but also pave the way for developing safe and sustainable products for human use.

Keywords: Probiotic, Honeybee, Gut microbiota, Lactic acid bacteria, *Lactobacillus*

* m.rabbani@biol.ui.ac.ir

EXTENDED ABSTRACT

Introduction: Honeybees are among the most important groups of pollinating insects in terrestrial ecosystems, playing a crucial role in ecosystems, maintaining biodiversity, and providing essential pollination to a wide range of crops and wild plants. Beyond pollination, they are economically important in the production of hive products such as honey, bee bread, beeswax, propolis, bee venom, and royal jelly, all of which are essential throughout their life cycle. In recent years, these insects have been affected by numerous biotic and abiotic factors that disrupt their functions and lead to colony losses. The widespread loss of honeybee colonies has become a major global concern in recent years. These social insects constantly face various threats and consequences of human activities in nature, pathogens, climate change, and suboptimal apiary management practices, all of which undermine their health.

Methods: This study was conducted as a systematic literature review. A literature search was conducted in PubMed, Scopus, Web of Science, ProBioQuest, and Google Scholar databases from 2009 to 2026 using keywords related to honey bee probiotics. Finally, after screening, 100 eligible articles were selected and reviewed.

Honeybee gut microbiota: Like other animals, insects carry numerous microorganisms (bacteria, archaea, yeast, viruses) in their digestive systems, collectively known as their gut microbiota. Gut microbiota research is an emerging field that improves our understanding of the ecological and functional dynamics of intestinal environments. Some of these communities play a vital role in host health. In recent decades, honeybees have emerged as valuable model organisms for studying gut microbial communities and their effects on host health. A healthy gut microbiota seems to be fundamentally linked to the well-being of honeybees. The honeybee gut contains a relatively simple yet highly specialized microbial community of different families. *Apis mellifera* contains a basic core microbiota in its gut, primarily consisting of six bacterial families: *Lactobacillaceae*, *Acetobacteriaceae*, *Rhizobiaceae*, *Bifidobacteriaceae*, *Neisseriaceae*, and *Orbaceae*. Some species belonging to the *Comamonadaceae*, *Bacillaceae*, *Saccharomycetaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Micrococcaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Shewanellaceae* and *Staphylococcaceae* families have also been isolated from *Apis mellifera*. The honeybee gut microbiota plays an important role in host physiology and metabolism. All of these symbiotic organisms help break down the complex sugars found in nectar and pollen, aiding in the absorption of nutrients. Honeybees' microbiota makes use of various substrates sourced from pollen, such as flavonoids and components of the outer pollen wall, indicating its crucial role in breaking down resistant secondary plant metabolites and digesting pollen. Dysbiosis of the gut microbiota leads to altered expression of genes that form the basis of immunity, metabolism, behavior, and development. Therefore, maintaining a balanced microbial community is critical for honeybee health.

Probiotics: Numerous probiotics were first extracted from the digestive system and were characterized by the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)/WHO as living microorganisms that provide health advantages to the host when given in sufficient quantities and improve intestinal microbial balance. Scientists are still working on developing new probiotic species, facing challenges such as ensuring strain stability, viability under processing conditions, and targeted delivery within the host. In recent decades, researchers have increasingly explored alternative sources referred to as "unconventional sources", leading to the isolation of beneficial bacteria from non-dairy items such as meat, fruits, vegetables, grains, and even products from honeybees and beehives. Due to the crucial role of Honeybees in the ecosystem and human food safety, along with the notable decreases in bee populations globally, measures must be taken to protect these species. Beekeepers and researchers developed artificial diets with probiotics that mimic bees' natural nutrition, leading to healthier colonies and improved honey production and other products of honeybees. These diets help boost immunity, gland development, and gut microbiota, protecting bees from harsh conditions. Probiotics and prebiotics are suggested for inclusion not just in human diets but also in the feed of various vertebrates and invertebrates, such as honeybees. Certainly, the most beneficial effect is observed when organisms are provided with probiotics that have been previously isolated from themselves.

Honeybee Probiotics: Functional and Health-Promoting Properties: Numerous studies have demonstrated that lactic acid bacteria (LAB) and the relatively new fructophilic lactic acid bacteria (FLAB) subgroup are the predominant probiotics isolated from honeybee guts. FLAB (such as the genera *Apilactobacillus* and *Fructobacillus*) is a unique group of LABS that have recently been identified and prefer fructose as their main growth substrate rather than glucose. This group favors fructose as their growth substrate and lives exclusively in fructose-rich niches, e.g., flowers, fruits, and the gastrointestinal tract of several insects having a fructose-based diet, such as the honeybee gut. Due to the unique characteristics of FLAB, interest in studying this group has increased. Probiotics of the genus *Bacillus* have also been isolated from the gut of the *Apis cerana japonica*. Several probiotic yeast strains have also been isolated from honeybees, and their potential was evaluated *in vitro* with respect to their probiotic characteristics and capacity to produce valuable metabolites. One of the most

abundant bacteria isolated among foragers, nurse bees and larvae is *Apilactobacillus kunkeei*, due to its probiotic properties, can be used in beekeeping to support the immune system of honeybees and produce resistant honeybees without resorting to antibiotic treatment. *L. plantarum*, *L. casei*, *Bombella* sp., *B. subtilis*, *F. fructosus*, *L. acidophilus*, *L. apis*, *L. brevis*, *L. kimbladii*, *L. johnsonii*, *Bifidobacterium indicum*, *B. coryneforme*, and *B. asteroides* have also been isolated from honeybees with probiotic properties and may play a role in honeybee health.

Conclusions: Given the economic and environmental role of bees and the current threats to their health, the development of dietary supplements with probiotics that benefit bee health is essential. Therefore, the use of probiotics in honey bee food not only provides a promising natural alternative to enhance bee health but also paves the way for the development of safe and natural bioproducts for humans.

.

.

.



پروبیوتیک‌های زنبور عسل: مروری جامع بر گونه‌های جداسازی شده، عملکردها و چشم-اندازهای آینده

سیده نرگس زمانیان^۱، محمد ربانی خوراسگانی^{۲*}، شهرام دادگستر^۳

۱. گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی و میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۲. پژوهشکده زنبور عسل و گیاهان دارویی، پردیس خوانسار، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۲/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۲۱

چکیده

سلامت کلنی‌های زنبور عسل تحت تأثیر عوامل متعددی از جمله پاتوژن‌ها و مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها قرار می‌گیرد. پروبیوتیک‌ها به‌عنوان یکی از گزینه‌های امیدوارکننده برای بهبود سلامت زنبورها در کلنی‌های پرورشی مطرح شده‌اند. پروبیوتیک‌ها پتانسیل قابل توجهی در افزایش سلامت زنبورهای عسل و تنظیم میکروبیوتای دستگاه گوارش آن‌ها دارند. روده آن‌ها حاوی جمعیت میکروبی ساده اما تخصص‌یافته‌ای از خانواده‌های مختلف باکتریایی از جمله جنس‌های مختلف متعلق به LAB و زیرگروه نسبتاً جدید FLAB است. این مقاله مروری با هدف بررسی سویه‌های جداسازی شده با ویژگی‌های پروبیوتیکی از زنبور عسل و پتانسیل کاربردی آن‌ها انجام شده است. شواهد نشان می‌دهد که برخی سویه‌ها با ویژگی‌هایی نظیر تحمل بالا به pH اسیدی و نمک‌های صفراوی، توانایی تولید EPS و عدم فعالیت همولیتیکی، کاندیدهای مناسبی برای استفاده به‌عنوان مکمل‌های زیستی هستند. علاوه بر این، برخی از این سویه‌ها توانایی مهار پاتوژن‌های زنبور عسل را نشان داده‌اند. با توجه به نقش اقتصادی و زیست‌محیطی زنبور عسل و تهدیدات موجود در برابر سلامت آن‌ها، توسعه مکمل‌های غذایی ایمن و مؤثر، بر اساس انتخاب دقیق سویه‌های پروبیوتیک، امری ضروری است. استفاده از این پروبیوتیک‌ها نه تنها می‌تواند راهکاری طبیعی برای ارتقاء سلامت زنبورها فراهم کند، بلکه مسیر را برای توسعه محصولات زیستی ایمن برای انسان نیز هموار می‌سازد.

واژه کلیدی: پروبیوتیک، زنبور عسل، میکروبیوتای دستگاه گوارش، باکتری اسید لاکتیک، لاکتوباسیلوس

* m.rabbani@biol.ui.ac.ir

مقدمه

زنبور عسل غربی، *آپیس ملیفرا*^۱، مهم‌ترین حشره گرده افشان است (۱) که نقش کلیدی در امنیت غذایی جهان و پایداری محصولات کشاورزی ایفا می‌کند (۲-۴). اهمیت اقتصادی زنبورهای عسل در تولید محصولات کندو مانند عسل، نان زنبور عسل، موم، بره موم، زهر زنبور و ژله رویال است که در طول چرخه زندگی زنبورهای عسل مورد نیاز است (۵). با وجود اهمیت بالای این گونه، در سال‌های اخیر کاهش جمعیت زنبور عسل و افزایش نرخ مرگ‌ومیر کلونی‌ها در قاره‌های مختلف گزارش شده است. عوامل ایجاد کننده این بحران شامل بیماری‌ها، تغییرات اقلیمی، اختلال در میکروبیوم روده و استفاده از آفت‌کش‌ها و حشره‌کش‌ها هستند (۶، ۷).

میکروبیوم روده زنبور عسل به عنوان یکی از عوامل کلیدی در حفظ سلامت کلونی شناخته می‌شود (۸). اختلال در ترکیب این میکروبیوم به دلیل استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها با کاهش مقاومت به بیماری‌زها، اختلال در متابولیسم و افزایش مرگ‌ومیر زنبورهای عسل مرتبط است (۸). درمان‌های آنتی‌بیوتیکی در برابر عوامل بیماری‌زای باکتریایی زنبور عسل می‌توانند میکروبیوم روده را به شدت مختل کنند، توانایی‌های محافظتی آن را کاهش دهند و رشد بیماری‌زهای مقاوم به آنتی‌بیوتیک را تسهیل کنند (۹). در سال‌های اخیر، نتایج مطالعات مختف نشان داده است که رژیم‌های غذایی حاوی پروبیوتیک به عنوان راهکاری موثر، تنوع میکروبیوتای روده

را افزایش داده و بر سلامت کلی زنبورهای عسل تأثیر مثبت می‌گذارند (۱۰).

با توجه به روند رو به افزایش تقاضای مصرف کنندگان برای شیرین کننده‌های طبیعی و سالم، عسل به عنوان محصول با ارزش غذایی و درمانی بالا از زنبورهای عسل، همچنان جایگاه ویژه‌ای دارد (۱۱-۱۳). با این وجود، کیفیت و ایمنی عسل تحت تأثیر آلاینده‌های مختلف قرار دارد که این موضوع اهمیت بررسی پروبیوتیک‌های مرتبط با سلامت زنبور عسل را بیشتر می‌کند (۱۴).

زنبورهای عسل از مدت‌ها پیش مدل‌های کلاسیک برای تحقیقات رشدی و رفتاری بوده‌اند (۱۵). اخیراً، آنها به عنوان مدل‌های مناسبی برای مطالعه جوامع میکروبی روده نیز شناخته شده‌اند (۱۶). مطالعات در زمینه رفتار، ارتباطات شیمیایی، ژنومیک و زیست‌شناسی تکاملی، زنبورهای عسل را برای مدت طولانی به ارگانسیم‌های کلیدی برای پیشرفت‌های اساسی در زیست‌شناسی تبدیل کرده است. با در دسترس بودن توالی ژنومی کامل و بهبود ابزارهای ژنتیکی، این گونه اکنون گزینه جذاب‌تری برای پاسخ به سؤالات اصلی در زیست‌شناسی تکاملی، ساختار جمعیت و سازمان اجتماعی فراهم می‌کند (۱۷).

شواهد قابل توجهی از مطالعات آزمایشگاهی وجود دارد که نشان می‌دهد پروبیوتیک‌ها می‌توانند روشی مؤثر برای بهبود مقاومت به بیماری در زنبورهای عسل باشند. با این حال، هنوز دانش محدودی در مورد پتانسیل پروبیوتیک‌های بومی زنبور

¹ *Apis mellifera*

عسل و کاربردهای آن‌ها در تقویت سلامت کلونی و کیفیت محصولات در مطالعات میدانی وجود دارد (۱۸).

هدف از این مطالعه، ارائه مروری جامع بر پروبیوتیک‌های استخراج شده از زنبور عسل، با تمرکز بر تنوع میکروبی، ویژگی‌های پروبیوتیکی، عملکردهای زیستی و کاربردهای آنها در حوزه سلامت زنبور عسل و انسان است.

در این مطالعه مروری، گونه‌های باکتریایی جدا شده از روده زنبور عسل جمع آوری شد و در مورد ویژگی‌های مهم پروبیوتیکی آن‌ها، فعالیت‌های ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و تعدیل‌کننده سیستم ایمنی آنها بحث شد. علاوه بر این، هدف از این مطالعه شناسایی چالش‌های فناوری و چشم‌اندازهای آینده برای افزایش سلامت کلونی‌های زنبور عسل و استفاده از پروبیوتیک‌های استخراج شده از زنبور عسل در مکمل‌های غذایی زنبور، صنایع دارویی و صنایع غذایی مربوط به سلامت انسان است.

روش‌ها

این مطالعه به صورت یک بررسی مروری نوشتارها و سیستماتیک برای ارزیابی جامع باکتری‌های پروبیوتیک جدا شده از زنبورهای عسل، ویژگی‌ها و کاربردهای بالقوه آنها انجام شد. در این بررسی در صورت لزوم از اصول کلی بیانیه PRISMA پیروی شد.

جستجوی سیستماتیک متون در پایگاه‌های داده الکترونیکی PubMed، Scopus، Web of Science، ProBioQuest و Google Scholar انجام شد. در این مطالعه مروری مقالات منتشر شده از سال ۲۰۰۹ تا ۲۰۲۶ پوشش داده شد. کلیدواژه‌های مورد استفاده برای جستجو شامل ترکیب کلمات

پروبیوتیک، میکروبیوتای روده، میکروبیوم، زنبور عسل، آپیس ملیفرا، لاکتوباسیلوس، باکتری‌های روده زنبور عسل، پروبیوتیک زنبور عسل، بیفیدوباکتریوم، باسیلوس، باکتری لاکتیک اسید، باکتری فروکتوفیل لاکتیک اسید و سلامت زنبور عسل بود. از کلمات ربط و/یا برای افزایش بازیابی مطالعات مرتبط استفاده شد.

معیارهای ورودی برای این مطالعه شامل موارد انتخاب شده زیر بود:

مطالعاتی که بر باکتری‌های جدا شده از دستگاه گوارش زنبور عسل تمرکز داشتند؛

مقالاتی که ویژگی‌های پروبیوتیکی (مقاومت به pH اسیدی/ نمک‌های صفراوی، فعالیت ضد میکروبی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، اثرات بهبود دهنده سیستم ایمنی) را بررسی می‌کردند؛

مقالات مروری یا پژوهشی مرتبط که به زبان انگلیسی یا فارسی منتشر شده بودند.

معیارهای خروجی این مطالعه مروری نیز شامل مطالعات غیر مرتبط با پروبیوتیک‌های مشتق شده از زنبور عسل بود.

پس از مطالعه عناوین و چکیده آن‌ها، مقالات غربالگری شدند و در نهایت متن کامل ۱۰۰ مقاله انتخابی مطالعه، ارزیابی و در این بررسی گنجانده شد. استخراج داده‌ها بر جداسازی و شناسایی سویه‌های باکتریایی با ویژگی‌های پروبیوتیکی، اثرات آن‌ها بر سلامت زنبور عسل و کاربرد احتمالی در سلامت انسان تمرکز داشت.

میکروبیوتای روده زنبور عسل

حشرات مانند سایر حیوانات، میزان جوامع میکروبی متعددی از جمله باکتری‌ها، آرکی‌ها، مخمرها، ویروس‌ها در سیستم گوارش خود هستند که به عنوان میکروبیوتای روده شناخته می‌شود (۱۹). مطالعات میکروبیوتای روده، حوزه‌ای نوظهور است که درک ما را از ارتباطات اکولوژیکی و عملکردی محیط‌های روده بهبود می‌بخشد (۴). زنبور عسل به دلیل ویژگی‌های خاص خود، به عنوان ارگانیزم‌های مدل برای تحقیق در مورد میکروبیوتای روده، مزایای متمایزی ارائه می‌دهند (۲۰).

میکروبیوتای روده زنبور عسل، متمرکز در قسمت انتهایی روده (۲۱) اجتماعی از میکروب‌هایی است که فعالیت متابولیکی آنها در حفظ هموستاز میزان بسیار مهم است (۱، ۸). میکروبیوتای روده زنبور عسل نقش مهمی در فیزیولوژی و متابولیسم میزان دارد و بر تغذیه میزان، افزایش وزن، سیگنالینگ هورمونی، پاسخ ایمنی و مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا تأثیر می‌گذارد (۲۲). این موجودات همزیست به تجزیه قندهای پیچیده موجود در شهد و گرده (۶)، هضم و تخمیر اجزای دیواره سلولی گیاه (۲۱) کمک می‌کنند. میکروبیوتای روده می‌تواند طیف گسترده‌ای از توانایی‌های متابولیکی را داشته باشد و به طور قابل توجهی به هضم کربوهیدرات‌های غذایی در محیط روده کمک کند (۲۳).

میکروبیوتای روده زنبور عسل شامل سویه‌های باکتریایی غالب (۶)، مخمرها و قارچ‌ها است (۲۴). غنای این جمعیت میکروبی از چینه‌دان^۱ تا رکتوم زنبور عسل افزایش می‌یابد (۶). با وجود تنوع، تعداد کمی از گونه‌های باکتریایی بر جامعه میکروبی روده زنبور عسل تسلط دارند (۲۵). آپیس ملیفرا حاوی یک هسته اصلی میکروبیوتای ساده در روده خود است که عمدتاً از شش خانواده باکتریایی غالب تشکیل شده است: لاکتوباسیلان^۲، استوباکتریاسه^۳، ریزوبیاسه^۴، بیفیدوباکتریاسه^۵، نایسریاسه^۶ و اوربایاسه^۷ (۱۹). برخی از گونه‌های متعلق به خانواده‌های کوماموناداسه^۸، باسیلاس^۹، ساکارومایستاسه^{۱۰}، اتروباکتریاسه^{۱۱}، میکروکوکاسه^{۱۲}، سودوموناداسه^{۱۳}، شوانلاسه^{۱۴} و استافیلوکوکاسه^{۱۵} نیز از آپیس ملیفرا جدا شده‌اند (۲۶).

سیستم گوارش زنبور عسل از دهان شروع شده و از نظر ساختاری به سه بخش اصلی روده پیشین، روده میانی و روده عقبی تقسیم می‌شود (۲۷).

میکروبیوتای روده پیشین^{۱۶}: روده پیشین زنبور عسل شامل حلق، مری، چینه‌دان و پیش معده است و فرآیند گوارش را آغاز می‌کند (۲۸). چینه‌دان به عنوان محل ذخیره موقت غذا عمل کرده و نقش مهمی در ارتباطات اجتماعی و انتقال میکروب‌ها بین زنبورها دارد (۲۹، ۳۰). آلفا ۲.۲ (استوباکتریاسه)، اپیلاکتوباسیلوس کانکی^{۱۷} (۲۹)، پاراساکاری

¹⁰ *Saccharomycetaceae*

¹¹ *Enterobacteriaceae*

¹² *Micrococcaceae*

¹³ *Pseudomonadaceae*

¹⁴ *Shewanellaceae*

¹⁵ *Staphylococcaceae*

¹⁶ Foregut

¹⁷ *Apilactobacillus kunkei*

¹ Crop

² *Lactobacillaceae*

³ *Acetobacteriaceae*

⁴ *Rhizobiaceae*

⁵ *Bifidobacteriaceae*

⁶ *Neisseriaceae*

⁷ *Orbaceae*

⁸ *Comamonadaceae*

⁹ *Bacillaceae*

باکتر/اپیوم (استوباکتریاسه)^۱ و بامبلا/اپیس^۲ اغلب در ناحیه چینه‌دان روده پیشین زنبور عسل وجود دارند (۲۱). تعداد کل تاکسای‌های چینه‌دان در روده پیشین زنبورهای عسل کم است (شکل ۱) (۲۹).

میکروبیوتای روده میانی^۳: روده میانی محل اصلی هضم آنزیمی و جذب مواد مغذی است و در مقایسه با سایر بخش‌ها دارای جمعیت میکروبی پایین و با تنوع کمتری است (۳۱). مهم‌ترین گروه‌های باکتریایی در این ناحیه شامل اعضای گاما-۲، ۳ و ۴ و بتا پروتئوباکتر در زیر گروه بتا-۲ و فیرمیکوتس^۴ F-2 هستند (۳۲). جنس کورینه باکتریوم در روده میانی آپیس ملینرا نیز جداسازی شده است (۳۳). گونه بامبلا/اپیس در روده میانی زنبور عسل نیز یافت می‌شود (۳۴). گیلیاملا/اپیکولا^۵ و فیریشلا/پرار^۶ در ناحیه پیلور/روده میانی یافت می‌شوند (۲۱، ۳۱). اسنادگراسلا/آلوی^۷ به طور یکنواخت در سرتاسر روده میانی زنبورها توزیع شده است (۲۱). کشت همزمان آزمایشگاهی نشان داد که گیلیاملا/اپیکولا رشد گونه اسنادگراسلا/آلوی را مهار می‌کند (شکل ۱) (۳۱).

میکروبیوتای روده عقبی^۸: روده عقبی شامل پیلور، ایلئوم و رکتوم، مهم‌ترین و غنی‌ترین بخش از نظر جمعیت و تنوع میکروبی است و نقش کلیدی در هموستاز، متابولیسم و ایمنی میزبان دارد (۳۵). تجزیه و تحلیل میکروبیوتای غالب در سطوح شاخه و جنس در روده زنبور عسل نشان داد که

گونه‌های غالب بین روده میانی و روده عقبی مشابه بودند (۳۶). میکروبیوتای غالب ساکن در روده عقبی زنبورهای عسل شامل فیرمیکوتس (لاکتوباسیلوس)، پروتئوباکتر، اکتینوباکتر (بیفیدوباکتریوم) و باکتریوئیدز هستند (۳۷). جمعیت‌های میکروبی موجود در ایلئوم بامبلا/اپیس (قبلا پاراساکری باکتریوم/اپیوم نامیده می‌شد)، فیریشلا/پرار^۸ (۳۸)، اسنادگراسلا/آلوی، گیلیاملا/اپیکولا و لاکتوباسیلوس Firm-4 همراه با اپیلاکتوباسیلوس کانکی هستند (شکل ۱) (۲۱).

اندازه و تنوع میکروبیوتا در ایلئوم روده ارتباط نزدیکی با میزان مصرف غذا دارد (۳۸). اسنادگراسلا/آلوی با سلول‌های اپیتلیال میزبان در ایلئوم تعامل دارد و در یک بیوفلم در کنار گیلیاملا/اپیکولا و لاکتوباسیلوس Firm-4 وجود دارد (۳۹).

رکتوم بیشترین تنوع و تراکم میکروبی را داراست و عمدتاً تحت سلطه پنج گونه از لاکتوباسیلوس Firm-5 (لاکتوباسیلوس/اپیس^۹، لاکتوباسیلوس هلسینگبرجنسیس^{۱۰}، لاکتوباسیلوس کیمبلادی^{۱۱}، لاکتوباسیلوس کولا/برجنسیس^{۱۲} و لاکتوباسیلوس ملیونتیس^{۱۳}) و مقادیر کمتری از لاکتوباسیلوس Firm-4 (لاکتوباسیلوس ملینرا^{۱۴} و لاکتوباسیلوس ملیس^{۱۵}) (۲۱، ۴۰)، گونه بیفیدوباکتریوم، بیفیدوباکتریوم آستروئیدز^{۱۶} (۴۱)، بیفیدوباکتریوم کورینه فرم و بیفیدوباکتریوم/اندیکوم^{۱۷} (۴۰) است. سایر باکتری‌های غیر

¹⁰ *L. helsingborgensis*

¹¹ *L. kimbladii*

¹² *L. kullabergensis*

¹³ *L. melliventris*

¹⁴ *L. mellifer*

¹⁵ *L. Mellis*

¹⁶ *B. asteroides*

¹⁷ *B. indicum*

¹ *Parasaccharibacter apium*

² *Bombella apis*

³ Midgut

⁴ Firmicutes

⁵ *Gilliamella apicola*

⁶ *Frischella perrara*

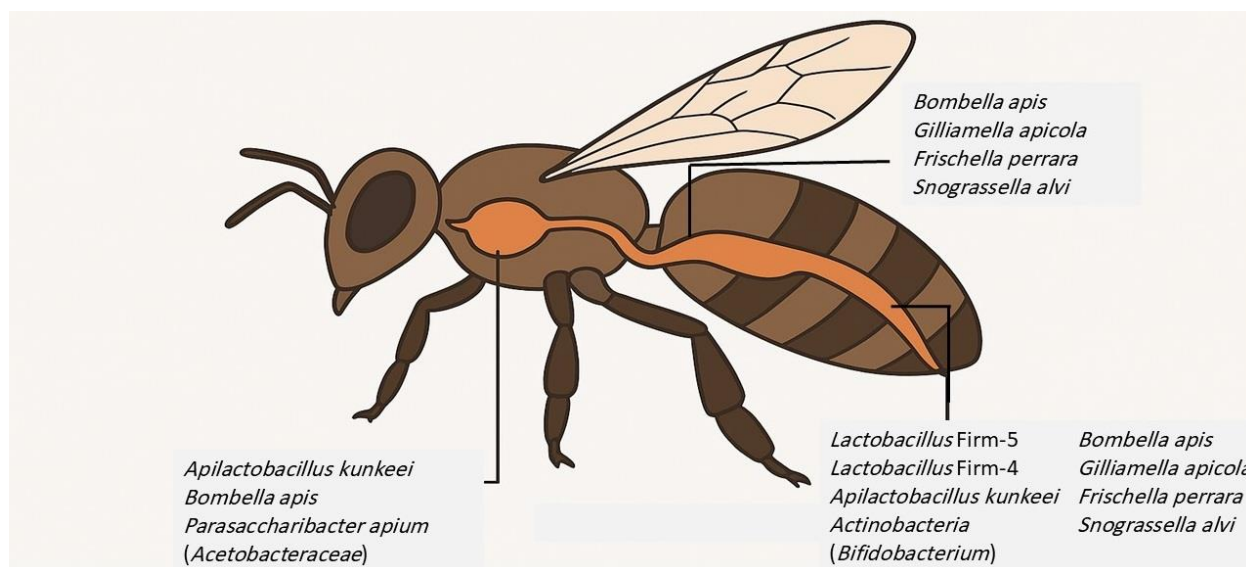
⁷ *Snodgrassella alvi*

⁸ Hindgut

⁹ *L. apis*

شبهات زیادی به یکدیگر دارند، هرچند تراکم باکتری‌ها در رکتوم به مراتب بالاتر است (۳۸).

متمرکز مانند *بارتونلا آپیس*^۱ و کامنسالی باکتر^۲ نیز در رکتوم قرار دارند (۲۱). به طور کلی، ترکیب میکروبی ایلنوم و رکتوم



شکل ۱. گونه‌های باکتریایی جداسازی شده از قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش زنبور عسل

نقش عملکردی میکروبیوتای زنبور عسل

میکروبیوتای روده حشرات معمولاً از جوامع ساده میکروبی با تنوع کم، زیست‌توده قابل توجه و دارای نقش اساسی در فرآیندهای تغذیه‌ای تشکیل شده است (۴۲). به نظر می‌رسد یک میکروبیوتای روده سالم در این حشرات اساساً با سلامت زنبورهای عسل مرتبط است (۸). در طول مرحله بلوغ زندگی یک زنبور عسل، عناصری مانند کیفیت غذا، وجود انگل‌ها و قرار گرفتن در معرض مواد شیمیایی بر ترکیب و تنوع میکروبیوتای آن‌ها تأثیر می‌گذارند (۴۳). علاوه بر این، تغییرات در رفتار و فیزیولوژی میزبان، از جمله عواملی مانند

طبقه اجتماعی، سن و وظایف زنبورهای کارگر، به طور قابل توجهی ترکیب میکروبیوتای زنبور عسل را تغییر می‌دهد (۲۱). میکروبیوتای روده می‌تواند طیف گسترده‌ای از توانایی‌های متابولیکی را داشته باشد و نقش مهمی در هضم کربوهیدرات‌های غذایی ایفا می‌کند (۱، ۲۳). این جمعیت میکروبی قادر به تجزیه ترکیبات پیچیده به دست آمده از گرده از جمله فلاونوئیدها و اجزای دیواره خارجی گرده است. در نتیجه، میکروبیوتا در تجزیه متابولیت‌های ثانویه گیاهی مقاوم و هضم مؤثر گرده مشارکت دارد و منجر به تولید اسیدهای آلی و واسطه‌های متابولیک ناشی از ترکیبات معطر می‌شود (۸، ۴۴). همچنین، میکروبیوتای روده در زنبورهای عسل جوان با افزایش بیان برخی ژن‌ها، تنظیم سطوح هورمونی و بهبود

² *Commensalibacter spp.*

¹ *Bartonella apis*

حساسیت به قند، باعث افزایش وزن میزبان خود می‌گردد (۴۵)، (۴۶).

سلامت زنبورهای عسل تحت تأثیر تعادل میکروارگانیسم‌های همزیست روده قرار دارد (۴۷). مطالعات اخیر نشان می‌دهند که این جامعه میکروبی، مقاومت کلونی زنبور عسل را در برابر بیماری‌زها افزایش داده و از کلونیزاسیون میکروارگانیسم‌های مضر جلوگیری می‌کند (۴۸). باکتری‌های مفید روده با تنظیم پاسخ‌های ایمنی، به محافظت زنبورها در برابر عوامل بیماری‌زا کمک زیادی می‌کنند (۴۹، ۵۰).

باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) به عنوان یکی از مهم‌ترین اجزای میکروبیوتای روده، نقش برجسته‌ای در تقویت سیستم ایمنی دارند. این باکتری‌ها با تحریک تولید پپتیدهای ضد میکروبی (AMPs) و فعال‌سازی مسیرهای مربوط به ایمنی ذاتی، نقش مهمی در تقویت ایمنی زنبور عسل در برابر بیماری‌زهای مختلف ایفا می‌کنند (۵۱).

پروبیوتیک‌ها

پروبیوتیک‌ها به عنوان میکروارگانیسم‌های زنده‌ای تعریف می‌شوند که مصرف مقادیر کافی از آنها می‌تواند اثرات مفیدی بر سلامت داشته باشد و تعادل میکروبی روده را بهبود ببخشد (۵۲). با وجود اینکه گونه‌های پروبیوتیک مدت‌هاست که برای افزایش سلامت انسان مورد استفاده قرار گرفته‌اند، دانشمندان هنوز در حال کار بر روی توسعه گونه‌های جدید پروبیوتیک هستند (۵۳). جنس‌های باکتریایی مورد استفاده در محصولات پروبیوتیک عمدتاً شامل باکتری‌های اسید لاکتیک، به خصوص لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم هستند. با این حال، جنس‌های دیگر از جمله *انتروکوکوس*،

استرپتوکوکوس، *لوکونوستوک* نیز به طور گسترده مورد توجه قرار می‌گیرند (۵۴). اکثر این میکروارگانیسم‌ها از محصولات لبنی تخمیر شده سرچشمه می‌گیرند (۵۵). به طور سنتی، محصولات لبنی تخمیر شده مانند ماست، شیر ترش و پنیر منابع اصلی باکتری‌های پروبیوتیک بودند که مسیری امن برای عبور این میکروب‌ها از دستگاه گوارش فراهم می‌کردند (۵۶). در دهه‌های اخیر، محققان به طور فزاینده‌ای منابع جایگزین به نام «منابع غیرمتعارف» را بررسی کرده‌اند که منجر به جداسازی باکتری‌های مفید از اقلام غیرلبنی مانند گوشت، میوه‌ها، سبزیجات، غلات، محصولات زنبور عسل و کندوهای زنبور عسل شده است (۵۷).

در سال‌های اخیر، کاهش جمعیت زنبورها در بخش‌های مختلف جهان مشاهده شده است (۵۸). طیف وسیعی از عوامل زیستی و غیرزیستی، از جمله بیماری‌ها، حشره‌کش و آفت‌کش‌ها، تغییرات اقلیمی و اختلال در میکروبیوتای روده به عنوان عوامل مؤثر در کاهش جمعیت زنبورها مطرح شده‌اند (۵۹). با توجه به نقش حیاتی زنبورها در اکوسیستم و امنیت غذایی جهانی، ضروری است که اقداماتی برای حفاظت از این گونه‌ها انجام شود (۶۰).

زنبورداران و محققان رژیم‌های غذایی مصنوعی مختلفی را بررسی کرده‌اند که تغذیه طبیعی زنبورها را شبیه‌سازی کند و منجر به کلونی‌های سالم‌تر، بهبود تولید عسل و سایر محصولات زنبورهای عسل می‌شود. این رژیم‌های غذایی به تقویت سیستم ایمنی، رشد غدد و حفظ تعادل میکروبیوتای روده کمک می‌کنند و زنبورها را از شرایط سخت محافظت می‌کنند (۶۱). پروبیوتیک‌ها نه تنها برای رژیم‌های غذایی انسان، بلکه برای تغذیه مهره‌داران و بی‌مهرگان مختلف مانند

زنبور عسل نیز پیشنهاد می‌شوند (۶۲). به طور خاص، بیشترین تأثیر مفید زمانی مشاهده می‌شود که موجودات با پروبیوتیک‌هایی که قبلاً از خودشان جداسازی شده‌اند، تغذیه شوند (۵۷).

پروبیوتیک‌های زنبور عسل: خواص عملکردی و ارتقاء دهنده سلامت

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) پروبیوتیک‌های غالب جدا شده از روده زنبورهای عسل هستند (۶۳) و سویه‌های متنوع باکتریایی در گونه‌های مختلف زنبور عسل از جمله *آپیس ملیفرا*، *آپیس سرانا*، *آپیس دورساتا*^۱ و *آپیس فلورا*^۲ شناسایی شده‌اند (۶۴).

باکتری‌های فروکتوفیل اسید لاکتیک (FLAB) زیرگروه منحصر به فردی از باکتری‌های اسید لاکتیک هستند که اخیراً شناسایی شده‌اند و فروکتوز را به عنوان بستر اصلی رشد خود به جای گلوکز ترجیح می‌دهند (۶۵، ۶۶). این گروه منحصرراً در زیستگاه‌های غنی از فروکتوز، مانند گل‌ها، میوه‌ها و دستگاه گوارش چندین حشره که رژیم غذایی مبتنی بر فروکتوز مانند روده زنبور عسل دارند، زندگی می‌کنند (۶۶). دستگاه گوارش زنبورهای عسل منبع غنی از FLAB است (۶۷). با توجه به ویژگی‌های منحصر به فرد FLAB، علاقه به مطالعه این گروه از باکتری‌ها افزایش یافته است.

گونه‌های FLAB بر اساس ویژگی‌های بیوشیمیایی به گونه‌های فروکتوفیل اجباری و اختیاری تقسیم می‌شوند (۶۷). گروه اول شامل گونه و جنس *اپیلاکتوباسیلوس کانکی* و *فروکتوباسیلوس*

است که بر روی دی-فروکتوز رشد بسیار خوبی دارند، اما زمانی در حضور دی-گلوکز رشد می‌کنند که پیرووات یا اکسیژن به عنوان یک پذیرنده الکترون خارجی در دسترس باشد. FLAB اجباری، گلوکز را به مقادیر تقریباً معادل مولار اسید لاکتیک، مانیتول (۶۶)، اسید استیک و مقادیر ناچیز اتانول تبدیل می‌کند. سنتز پایین اتانول به دلیل عدم وجود استالدهید دهیدروژناز و فعالیت ضعیف الکل دهیدروژناز است (۶۸). گروه دوم شامل *لاکتوباسیلوس فلوروم*^۳ و چند بیوتیپ از *لاکتوباسیلوس برویس*^۴ است. FLAB اختیاری به خوبی بر روی فروکتوز رشد می‌کند و در صورت عدم وجود گیرنده‌های الکترون، قادر به رشد با سرعت تأخیری بر روی گلوکز است (۶۹، ۷۰).

پروبیوتیک‌های متعلق به جنس *باسیلوس* نیز از روده *آپیس سرانا* جاپونیکا جدا شده‌اند (۶۴). چندین سویه مخمر پروبیوتیک نیز از زنبورهای عسل جدا شده و پتانسیل آنها در شرایط آزمایشگاهی با توجه به ویژگی‌های پروبیوتیکی و ظرفیت تولید متابولیت‌های ارزشمند آنها ارزیابی شده است (۲۴).

³ *L. florum*

⁴ *L. brevis*

¹ *A. dorsata*

² *A. florea*

جدول ۱- سویه‌هایی با ویژگی‌های پروبیوتیکی جداسازی شده از بخش‌های مختلف دستگاه گوارش زنبور عسل

منابع شماره دسترسی در GenBank	مطالعات / نتایج <i>In Vivo</i>	ویژگی‌های پروبیوتیکی (کلیدی <i>In Vitro</i>)	کشور	گونه زنبور عسل	محیط کشت مورد استفاده	منبع	سویه‌ها
(۷۶ و ۷۵) PP381905, PP381903	-	مقاومت به pH پایین و نمک‌های صفرای، فعالیت ضدمیکروبی، حساسیت آنتی‌بیوتیکی	ترکیه	زنبور عسل یچیلکا و آپیس ملیفرا آناتولیکا	MRS agar، M17 آگار و انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای ۴۸ ساعت	معده زنبور عسل	اپیلاکتوباسیلوس کانکی HD1، A3 و B2
(۷۵) PP381904	-	مقاومت به pH پایین و نمک‌های صفرای، فعالیت ضدمیکروبی، حساسیت آنتی‌بیوتیکی	-	بامبس ترستریس	MRS agar، M17 آگار و انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای ۴۸ ساعت	معده زنبور عسل	گونه بامبلا B15
(۶۷)	کاهش مرگ‌ومیر لاروهای آلوده به <i>P. larvae</i>		زنبورستان‌های واقع در Mottola و Valenzano	آپیس ملیفرا	براث FYP اسیدی شده fructose- yeast extract- (polypeptone و انکوباسیون هوازی در ۳۰ درجه سانتی‌گراد برای ۲۴ تا ۴۸ ساعت	دستگاه گوارش و لارو	فروکتوباسیلوس فروتوسوس MBIII2، MBIII5 و B5 (کلاستر II و T1)
(۷۹)	-	فعالیت آنتی‌اکسیدانی،	-	آپیس ملیفرا	-	دستگاه گوارش	لاکتی‌پلانتی باسیلوس

		چسبندگی به سلول‌های اپیتلیال، تجزیه نمک‌های صفراوی (ترجیح Oxgall، عدم همولیز، مقاومت به برخی آنتی‌بیوتیک‌ها، فعالیت ضدمیکروبی علیه برخی پاتوژن‌های غذایی				زنبور عسل	پلاتاروم (H21) H24, H15 H28 و H48
(۹۸)	–	مقاومت به pH پایین و نمک‌های صفراوی، فعالیت ضدمیکروبی، حساسیت آنتی‌بیوتیکی	ایران	آپیس ملیفرا	MRS و شرایط بی‌هوازی در ۳۷ درجه سانتی‌گراد	دستگاه گوارش زنبور عسل	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس
(۹۸)	–	مقاومت به pH پایین و نمک‌های صفراوی، فعالیت ضدمیکروبی، حساسیت آنتی‌بیوتیکی	– ایران	آپیس ملیفرا	MRS و شرایط بی‌هوازی در ۳۷ درجه سانتی‌گراد	دستگاه گوارش زنبور عسل	لاکتوباسیلوس اپیس
(۹۷)	کاهش سطح آلودگی به Nosema در spp. کلونی‌های زنبور عسل	فعالیت تعدیل‌کننده سیستم ایمنی، متابولیسم کربوهیدرات‌ها (آنزیم‌های	زنبورستان‌های واقع در شیلی	آپیس ملیفرا	کشت در محیط کشت MRS و انکوباسیون تحت شرایط میکروآیروفلیک (۱۰٪ CO ₂) در	دستگاه گوارش زنبور	لاکتوباسیلوس کازئی A14.2

		گلیکولیتیک)، رشد در pH پایین، حساسیت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها (مقاوم به ۴ آنتی‌بیوتیک)			۳۷ درجه سانتی‌گراد برای ۲ تا ۵ روز		
(۸۴)	-	فعالیت ضدمیکروبی (علیه برخی پاتوژن‌های گرم مثبت و گرم منفی)، زنده‌مانی خوب در شرایط گوارشی، عدم فعالیت همولیتیک	مصر	آپیس ملیفرا	-	دستگاه گوارش زنبور عسل	لاکتوباسیلوس برویس MH191230
(۸۷)	کاهش مرگ‌ومیر کنه <i>Varroa destructor</i> در مواجهه تماسی (کمتر از ۱۰٪، بقای بالا در زنبورها (>۷۰٪ در اکثر غلظت‌ها)، عدم اثر کشنده CFS پس از ۷۲ ساعت	تولید متابولیت‌های ضدمیکروبی (CFS)، عدم سمیت برای زنبور عسل	آرژانتین	آپیس ملیفرا	MRS broth و MRS agar	دستگاه گوارش زنبور عسل	لاکتوباسیلوس جانسونی AJ5

(۸۵)	بزرگ‌ترین هاله عدم رشد علیه پانی‌بسیلوس لار (عامل لوک آمریکایی)، اما دارای پتانسیل پاتوژنیک خفیف برای لاروهای زنبور عسل	رشد در محدوده وسیع دمایی (۱۵- ۵۰ °C و pH (۳-۱۲)، تولید D-لاکتات، فعالیت آنزیمی (لوسین آریل آمیداز، والین آریل آمیداز، اسید فسفاتاز)، عدم تولید گاز از گلوکز	-	آپیس ملیفرا	-	ایلنوم و رکتوم	لاکتوبسیلوس کیمبلادی
(۹۴)	تحریک سیستم ایمنی زنبور عسل (افزایش بیان ژن‌های ایمنی)، نقش مثبت در تعادل میکروبیوتا و سلامت کلونی	متابولیسم پلی ساکاریدها، تولید اسیدهای آلی، تحمل به شرایط روده، فعالیت آنزیمی مرتبط با تخریب کربوهیدرات‌های پیچیده	-	آپیس ملیفرا	-	روده عقبی زنبور عسل	بیفیدوباکتریوم ایندیکوم
(۹۵)	تحریک سیستم ایمنی زنبور عسل (افزایش بیان ژن‌های ایمنی)، نقش مثبت در تعادل میکروبیوتا و سلامت کلونی	متابولیسم پلی ساکاریدها، تولید اسیدهای آلی، تحمل به شرایط روده، فعالیت آنزیمی مرتبط با تخریب کربوهیدرات‌های پیچیده	-	آپیس ملیفرا	-	دستگاه گوارش زنبور عسل	بیفیدوباکتریوم آستروئیدز 26p

بفیدوباکتریوم کورینه فرم LMG 18911	روده عقبی زنبور عسل	-	آپیس ملیفرا	-	متابولیسم پلی ساکاریدها، تولید اسیدهای آلی، تحمل به شرایط روده، فعالیت آنزیمی مرتبط با تخریب کربوهیدرات‌های پیچیده	تحریک سیستم ایمنی زنبور عسل (افزایش بیان ژن‌های ایمنی)، نقش مثبت در تعادل میکروبیوتا و سلامت کلونی	(۹۴)
انتروکوکوس فکالین HBE1, HBE3 و HBE4	دستگاه گوارش زنبور عسل	-	آپیس ملیفرا	-	زنده‌مانی بالا در رنج مختلف pH، تولید اگزوپلی ساکارید (EPS)، فعالیت پروتئولیتیک بالا، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مهار DPPH)، عدم فعالیت همولیتیک	-	(۸۴)

اپیلاکتوباسیلوس کانکی یکی از گونه‌های جنس اپیلاکتوباسیلوس است که با انواع مختلف زنبورها، مانند زنبورهای عسل و زنبورهای بامبل سازگار شده‌اند (۷۱). این باکتری در بین زنبورهای عسل جستجوگر، پرستار و لاروها به وفور جداسازی شده است (۷۲، ۷۳). سویه‌های مختلف این گونه پتانسیل پروبیوتیکی بالایی نشان داده‌اند (۷۴، ۷۵).

اپیلاکتوباسیلوس کانکی HD1 جدا شده از معده زنبور عسل ییچیکا^۱، به دلیل ویژگی‌های پروبیوتیکی آن، می‌تواند در زنبورداری برای تقویت سیستم ایمنی زنبورهای عسل و کاهش استفاده از درمان‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده قرار گیرد (۷۶). نقش‌های محافظتی برای باکتری‌ها از جمله مهار عوامل بیماری‌زا و حفظ ذخایر غذایی در زنبورهای عسل پیشنهاد شده است (۷۲). سویه

¹ Yiğilca

می‌توانند به عنوان کاندید پروبیوتیک در فرآورده‌های میوه‌ای که اغلب در رژیم غذایی بیماران بستری و دارای نقص ایمنی استفاده می‌شوند، باشند (۷۷).

فروکتوباسیلوس فروکتوسوس *MBIII2*، *MBIII5* و *B5* (کلاستر II) از گونه آپیس ملیفرا واقع در یکی از زنبورستان‌های ایتالیا در Mottola و Valenzano جداسازی شدند. این سویه‌ها قادر به تخمیر دی- فروکتوز به دی- مانیتول هستند و سویستراه‌های مختلفی مانند قندهای پنتوز (مانند آرابینوز، ریبوز، زایلوز و لیگزوز)، فروکتوز، پالاتینوس، دی‌هیدروکسی‌استون، اسید اگزالومالیک یا گلیسیل-ال-پرولین را مصرف می‌کنند. در میان این سویه‌ها، *B5* حساس‌ترین واکنش را نسبت به اسید گالیک نشان داد (۶۷).

علاوه بر این، فروکتوباسیلوس فروکتوسوس T1 از زنبور عسل آپیس ملیفرا جنتلیکا جداسازی شد. در مطالعه‌ای *in vivo* تاثیر T1 بر مرگ و میر لاروهای زنبور عسل آلوده به عفونت پانی باسیلوس لارو مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که T1 قادر به کاهش مرگ و میر در لاروهای آلوده می‌شود، هرچند این اثر نسبت به برخی سویه‌های دیگر جداسازی‌شده از دستگاه گوارش زنبور عسل، ضعیف‌تر بود (۷۸).

پنج سویه لاکتوباسیلوس پلانتاروم (H15، H21، H24، H28 و H48) (لاکتی پلانتی باسیلوس پلانتاروم) که از دستگاه گوارش زنبورهای عسل به دست آمده‌اند، خواص پروبیوتیکی قابل توجهی نشان دادند، هر چند میزان اثربخشی آن‌ها متفاوت بود. این سویه‌ها فاقد فعالیت همولیز و ژلاتیناز بودند. با توجه به فعالیت آنتی‌اکسیدانی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم و پتانسیل چسبندگی آن‌ها به سلول‌های اپیتلیال، انجام مطالعات *in vivo* برای ارزیابی

اپیلاکتوباسیلوس کانکی A3 جداسازی شده از آپیس ملیفرا آنتاوتلیکا خواص ضد میکروبی در برابر سویه پروتئوس وولگاریس ATCC 13315 (عامل عفونت دستگاه ادراری) نشان داد. A3 در برابر آنتی‌بیوتیک‌های اریترومايسين، سفنازیدیم، ریفامپین، کلرامفنیکل، آمپی‌سیلین، تتراسایکلین، پنی‌سیلین و جنتامایسین (۱۰ mg/ml) مقاوم بود. سویه‌های اپیلاکتوباسیلوس کانکی BVI52 و B7 فعالیت بالای اسید فنولیک ردوکتاز را نشان دادند. این سویه‌ها به صورت بی‌هوازی در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در محیط کشت GYP غنی‌شده با اسید پی-کوماریک با غلظت ۲ میلی‌مول در لیتر رشد داده شدند. اسید پی-کوماریک به عنوان سویسترا انتخاب شد زیرا اسید فنولیک اصلی موجود در گرده‌ها است و بالاترین درصد تخریب را توسط سویه‌های FLAB ایجاد می‌کند (۷۵).

مطالعات نشان داده است که اپیلاکتوباسیلوس کانکی می‌تواند به خوبی در کندوهای زنبور عسل زنده بماند. در کندوهای زنبور عسل، مواد ضد میکروبی فراوانی وجود دارد و بنابراین مقاومت در برابر این مواد ضد میکروبی در FLAB، مزیتی برای کاربردهای آینده، یعنی مکمل‌های پروبیوتیکی زنبور عسل، محسوب می‌شود (۶۵). اپیلاکتوباسیلوس کانکی از دستگاه گوارش گونه آپیس ملیفرا و زنبورستان‌های استان گیلان، آذربایجان شرقی و آذربایجان غربی نیز جداسازی شده است (۹۹). سه سویه از اپیلاکتوباسیلوس کانکی جدا شده از نان زنبور عسل و روده زنبور عسل، چندین ویژگی جالب، مانند وجود آنزیم‌های مفید (بتا-گلوکوزیداز، بتا-گالاکتوزیداز و لوسین آریلامیداز)، مقاومت کم آنتی‌بیوتیکی، توانایی مهار سودوموناس آیروژنیوزا و انتروکوکوس فکاليس، زنده ماندن عالی در حضور غلظت‌های بالای قند را نشان دادند. این داده‌های ارزشمند نشان می‌دهد که سویه‌های منتخب

دقیق‌تر ایمنی و پتانسیل ارتقای سلامت این سویه‌ها ضروری است. یافته‌ها نشان داد که ۸۰٪ از سویه‌های مورد بررسی در برابر ایترومایسین مقاوم بودند و درصد تجمع خودبه‌خودی متغیری بین ۳۸.۵۷٪ و ۶۳.۲۹٪ نشان دادند (۷۹). علاوه بر این، گونه‌های *لاکتوباسیلوس پلاتناروم* و *لاکتوباسیلوس پاراپلاتناروم* جدا شده از روده زنبور عسل، فعالیت ضد میکروبی نسبت به میکروارگانیسم‌های مضر که باعث فساد مواد غذایی می‌شوند، نشان دادند. این سویه‌ها نمک‌های صفراوی را تجزیه می‌کنند و ترجیحاً اوکسگل^۱ را به تائوروئوکسی کولات^۲ تبدیل می‌کنند (۶۴).

لاکتوباسیلوس فرمنتوم^۳ باکتری میله‌ای گرم مثبت، کاتالاز منفی و غیرمتحرک که قادر به رشد در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد و اسیدی کردن محیط کشت FYP است از زنبور عسل آپیس ملیفرا جداسازی شد. سویه‌های جداسازی شده این گونه به خوبی در هر دو محیط FYP و GYP تحت شرایط بی‌هوازی رشد کردند (۶۷).

سویه لیجی *لاکتوباسیلوس سالیواریوس*^۴ A3iob، جداسازی شده از روده آپیس ملیفرا، خواص پروبیوتیکی قابل توجهی در هنگام استفاده برای زنبورهای عسل از خود نشان داد (۸۰). تجویز A3iob توانست محافظت موثری در برابر عفونت‌های واروآ^۵ و نوزما ایجاد کند. نتایج مطالعات نشان داد که استفاده از اسن سویه می‌تواند به عنوان یک ابزار جدید و سازگار با محیط زیست برای کنترل آفات مهم در زنبورهای عسل مورد استفاده قرار بگیرد (۸۱). از نظر ژنومی A3iob دارای بیشترین ژن‌های مرتبط با پیلی از جمله *SpaA*، *SpaB*، *sorteasA*، *sorteasB* و *sorteasC* است. همچنین، ژن‌های کدکننده

پروتئین‌های متصل‌شونده به موسین (MucBP1، MucBP2 و MucBP3) که نقش مهمی در چسبندگی به مخاط دستگاه گوارش دارند و خوشه کاملی متشکل از ژن‌های *SecA*، *SecY*، *Asp1*، *Asp2*، *Asp3*، *GtfA*، *GtfB* و *Srr* در آن شناسایی شدند. مقایسه ژنوم این سویه با سایر سویه‌های لیجی *لاکتوباسیلوس سالیواریوس* نشان داد که A3iob ژن‌های بیشتری در دسته‌های متابولیسم کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه دارد. این سویه فاقد ژن‌های تولید نیاسین (ویتامین B3)، اسید پانتوتیک (ویتامین B5) و ویتامین B12 است. ژنوم A3iob دارای مجموعه‌ای متنوع از ژن‌هایی است که در کنار هم می‌توانند توانایی این باکتری مفید را در ایجاد رابطه همزیستی با زنبورهای عسل، بهبود مقاومت آنها در برابر عفونت‌ها و در نتیجه بهبود عملکرد در تولید عسل توضیح دهد. در میان این ژن‌ها، ژن‌های متابولیک (GH و GT خاص)، سم‌زدایی ROS (سیستم‌های تیوردوکسین و NrdH-ردوکسین)، ضد میکروبی (باکتریوسین Abp118) و چسبندگی (EPS)، پیلی، پروتئین‌های MucB و سیستم SecA/SecY کاندیداهای جالبی برای توضیح اثرات مفید سویه A3iob هستند (۸۲).

لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس از دستگاه گوارش زنبور عسل کارگر، نر و نوزادان سالم از کندوهای موجود در موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی کرج جداسازی شد. این گونه فعالیت همولیتیک از خود نشان نداد و فعالیت آنتاگونیستی این گونه در برابر تعدادی از پاتوژن‌های گرم منفی و مثبت با استفاده از روش ایجاد چاهک مورد ارزیابی قرار گرفت. این سویه دارای فعالیت ضد میکروبی متفاوتی در برابر پاتوژن‌های گرم مثبت و گرم منفی بود.

^۴ *Ligilactobacillus salivarius*

^۵ *Varroa destructor*

^۱ Oxgall

^۲ Taurodeoxycholate

^۳ *L. fermentum*

همچنین این سویه بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* هیچ گونه تاثیری نداشت (۹۸).

لاکتوباسیلوس آپیس یکی دیگر از گونه‌های جداسازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل کارگر، نر و نوزادان سالم از کندوهای موجود در موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج است. فعالیت آنتاگونیستی این گونه نیز در برابر تعدادی از پاتوژن‌های گرم منفی و مثبت با استفاده از روش چاهک مورد ارزیابی قرار گرفتند. این جدایه دارای فعالیت ضد میکروبی متفاوتی در برابر پاتوژن‌های گرم مثبت و گرم منفی بود. این سویه قادر به مهار *سالمونلا تیفی* موربوم نبود. میزان زنده‌مانی سویه *لاکتوباسیلوس آپیس* نسبت به سایر سویه‌ها در تمامی زمان‌ها و pHها بیشتر بود (۹۸).

باکتریوسین‌های تولید شده توسط سویه‌های *لاکتی کازئی* *باسیلوس رامنوسوس*^۱ در تغییر شیب pH غشای سلولی و افزایش نفوذپذیری غشای سلولی نقش دارند و در نتیجه مقاومت میزبان را در برابر عفونت‌های ناشی از میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا تقویت می‌کنند (۸۳).

لاکتوباسیلوس کازئی HBE5 و HBE1 از دستگاه گوارش زنبور عسل جداسازی شد. این جدایه HBE5 بالاترین منحنی رشد را در غلظت‌های مختلف نمک‌های صفراوی نشان داد. این سویه تا ۲۴ ساعت در pH بالا نیز زنده ماند، فاقد فعالیت همولیتیک بود و مقاومت به ونکومایسین از خود نشان داد. همچنین این سویه توانایی تولید آگزوپلی ساکارید (EPS) و فعالیت پروتئولیتیک بالایی داشت (۸۴).

سویه *لاکتوباسیلوس کازئی* A14.2 جداسازی شده از زنبور عسل، دارای ویژگی‌های تعدیل‌کننده سیستم ایمنی است. این سویه در متابولیسم کربوهیدرات‌ها از جمله ساکاروز فعال بوده و توانایی رشد در شرایط pH پایین را دارد. در میان مسیرهای متابولیکی، مسیرهای مربوط به متابولیسم کربوهیدرات‌ها در این سویه برجسته است که آنزیم‌های گلیکولیتیک آنها به این باکتری‌ها اجازه می‌دهد تا در شرایط pH پایین، انرژی کافی برای رشد را تولید کنند. سویه A14.2 به اکثر آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش حساس بود و فقط در برابر چهار آنتی‌بیوتیک کانامایسین، سولفامتوکسازول-تری متوپریم، کولیستین و ونکومایسین مقاوم بود. مقاومت به ونکومایسین و سولفامتوکسازول-تری متوپریم به عنوان یک ویژگی ذاتی در جنس *لاکتوباسیلوس* توصیف شده است. علاوه بر این، در این مطالعه آزمایشی در مقیاس کوچک، با استفاده از تعداد کم کندوهای زنبور عسل، این گونه نشان داد که سطح آلودگی عفونت‌نوزما را کاهش می‌دهد (۹۷).

لاکتوباسیلوس برویس MH191230 از دستگاه گوارش زنبور عسل مصری جداسازی شده است. سویه جداسازی شده زنده‌مانی بالایی در برابر نمک‌های صفراوی نشان داد. این جدایه تا ۲۴ ساعت در pH بالا نیز زنده ماند و فعالیت همولیتیکی از خود نشان نداد. این سویه مقاومت به ونکومایسین را نشان داده است. در بین تمام سویه‌های مورد آزمایش در این مطالعه این سویه مهار رادیکال DPPH را در بالاترین سطح انجام داده است. همچنین این سویه توانایی تولید EPS را نشان داده است. این سویه‌ها توانایی تولید EPS را دارند و فعالیت پروتئولیتیک بالایی برای آن ثبت شد (۸۴).

¹ *Lactocaseibacillus rhamnosus*

لاکتوباسیلوس فارسیمینیس^۱ یکی از گونه های جداسازی شده از زنبور عسل از زنبورستان‌های اراک است. این گونه توان تحمل pH-4 را برای مدت دو ساعت داشته است. همچنین مقاومت در برابر نمک‌های صفراوی نیز در آن دیده شده است (۱۰۰).

لاکتوباسیلوس کیمبلادی به افتخار زنبوردار سوئدی «تیج کیمبلاد» به خاطر سهم قابل توجهش در کشف میکروبیوتای LAB در معده زنبور عسل نامگذاری شد. این گونه باکتری میله‌ای گرم مثبت، غیرمتحرک، غیر اسپورزا، کاتالاز منفی و به صورت تکی یا جفتی است. پس از رشد بی‌هوازی روی آگار MRS غنی‌شده (۰.۱٪ L-سیستین و ۲.۰٪ فروکتوز) در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت، کلنی‌ها سفید و مات، با سطح صاف تا خشن، دایره‌ای، برآمده، مرطوب و نقطه‌ای شکل، با قطر تقریبی ۲-۳ میلی‌متر ظاهر می‌شوند. بی‌هوازی اختیاری است و در آگار MRS غنی‌شده در شرایط هوازی به خوبی رشد می‌کند. رشد این گونه محیط کشت MRS غنی‌شده در pH 3.0 تا ۱۲.۰ رخ می‌دهد. دی-لاکتات به عنوان محصول نهایی از هگزوزها تولید می‌شود. از گلوکز گاز تولید نمی‌شود. این سویه تولید اسید از دی-گلوکز، دی-فروکتوز، دی-مانوز، آن-استیل گلوکزآمین، آربوتین، سالیسین و دی-تاگاتوز و تولید اسید ضعیف از مالتوز را نشان می‌دهد. هیدرولیز آسکولین نیز مشاهده شد. فعالیت‌های آنزیمی برای لوسین آریل آمیداز، والین آریل آمیداز، اسید فسفاتاز و فعالیت ضعیفی برای سیستین آریل آمیداز نشان داده شده است. همچنین بررسی ویژگی‌های پروبیوتیکی آن مورد بررسی قرار گرفت (۴۰). اثر ضد میکروبی سویه لاکتوباسیلوس کیمبلادی AHS3_B36 در برابر بیماری‌زای زنبور عسل پانی باسیلوس

^۱ *L. farciminis*

لارو بر اساس اندازه گیری هاله عدم رشد بررسی شد و بزرگ‌ترین هاله عدم رشد را داشت. اما در این مطالعه مشخص شد استفاده از این سویه به تنهایی برای لاروهای زنبور عسل خطرناک است. آزمون چسبندگی باکتری به هیدروکربن (BATH) نیز حاکی از چسبندگی بالا (۷۱.۰۳٪) به تولوئن بود (۸۵).

لاکتوباسیلوس جانسونی AJ5 از دستگاه گوارش زنبور عسل آپیس ملیفرا بر روی محیط کشت MRS جداسازی شده است (۸۶). همزیست‌های باکتریایی روده و متابولیت‌های ثانویه آن‌ها، به دلیل نقش کلیدی در تقویت سیستم ایمنی زنبورها، به طور فزاینده‌ای به عنوان راه حلی برای اصلاح عدم تعادل میکروبی روده در زنبورهای عسل در نظر گرفته می‌شوند (۸۷). در پژوهشی که به بررسی اثر مایع رویی بدون سلول (CFS) پروبیوتیک‌های جداسازی شده از زنبور عسل پرداخت، نتایج اولیه نشان داد که هیچ یک از CFS ها پس از ۷۲ ساعت مصرف برای زنبور عسل کشنده نبودند. اثرات CFS های مختلف تولید شده توسط این سویه‌ها در زنبورها در برابر کنه واروآ دستراکتور اندازه‌گیری شد. مرگ و میر کنه در مواجهه تماسی کمتر از ده درصد نشان می‌دهد که CFS ها در آن غلظت‌ها برای زنبورها سمی نبوده‌اند (۸۶).

انتروکوکوس فکالیس HBE1, HBE3 و HBE4 سویه های جداسازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل هستند. سویه انتروکوکوس فکالیس HBE 4 مقاومت بالایی در برابر pH پایین برای مدت طولانی نشان داد. همچنین این سویه‌ها زنده مانده بالایی در pH بالا نشان دادند و فاقد فعالیت همولیتیکی بودند. در سویه HBE1 مقاومت به آنتی‌بیوتیک نیز گزارش شده است. همچنین این سویه مهار رادیکال DPPH را

در کمترین مقدار انجام داده است. این سویه‌ها توانایی تولید EPS را دارند و بالاترین فعالیت پروتئولیتیک برای HBE1 ثبت شده است (84).

گونه بامبلا نوعی باکتری اسید استیک است که به ندرت در معده عسل بامبس ترستریس^۱ یافت می‌شود و همچنین از منابع مختلف دیگر نیز جدا شده است (۸۸). گونه بامبلا B15 از بامبس ترستریس (زنبور وحشی) جداسازی شد. نتایج نشان داد که B15 در تمام شرایط pH (pH1, pH2 و pH3) و در برابر ۳٪ نمک‌های صفراوی تا ۲۴ ساعت بقای خوبی نشان داد (۷۵).

مطالعات مختلف وجود گونه‌های باسیلوس را در زنبورهای عسل و پتانسیل پروبیوتیکی آن‌ها را برای کاربردهای احتمالی در انسان و حیوانات شناسایی کرده‌اند (۸۹). زنبورهای عسل منبع خوبی از گونه‌های باسیلوس هستند که خواص پروبیوتیکی معمول در شرایط آزمایشگاهی را نشان می‌دهند، که می‌تواند مورد توجه تجاری باشد (۹۰). گونه‌های باسیلوس همچنین بیشترین سویه‌های جدا شده از روده لاروهای سالم و زنبورهای بالغ آپیس سرانا جمع‌آوری شده از استان Songkhram تایلند بوده‌اند (۶۴). نقش فیزیولوژیکی حیاتی در تقویت سیستم ایمنی با ایجاد و حفظ همزیست‌های میکروبی روده، بهبود شرایط گوارشی و افزایش مقاومت در برابر چندین عامل بیماری‌زا برای گونه‌های باسیلوس جدا شده از زنبورهای عسل شناسایی شده است. باسیلوس سوبتیلیس ZG029 سطوح قابل توجهی از تجمع خود به خودی و آبگریزی را نشان داد. ژن‌های بیماری‌زایی در ZG029 وجود نداشتند که نشان‌دهنده ماهیت غیر بیماری‌زای آن‌ها است. همچنین در رده‌های سلولی Caco-2، درصد سمیت سلولی سویه مورد آزمایش

کمتر از ۱۵٪ بود (۹۰). سویه باسیلوس سوبتیلیس MBLB2796 جدا شده از روده آپیس ملیفرا جداسازی شد. سویه MBLB2796 فعالیت آنزیمی هیدرولیتیک بالا (پروتئاز، آمیلاز و سلولاز)، فعالیت ضد میکروبی قوی در پانی باسیلوس لارو و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برابر رادیکال‌های DPPH و ABTS نشان داد. سویه MBLB2796 پس از خشک کردن انجمادی، میزان بقای بالایی تا ۹۴.۴٪، پایداری عالی در طول نگهداری طولانی مدت و تحمل بالای اسید و نمک صفراوی در مقایسه با سویه‌های تجاری از خود نشان داد (۹۱).

مانند گونه‌های لاکتوباسیلوس، گونه‌های بیفیدوباکتریوم عموماً به عنوان میکروارگانیسم‌های بی‌خطر (GRAS) شناخته می‌شوند و به طور گسترده به عنوان پروبیوتیک در بسیاری از موجودات مورد استفاده قرار می‌گیرند (۹۲). بیفیدوباکتریوم در مقایسه با سایر باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) کمتر در روده زنبورهای عسل یافت می‌شود (۹۳). در میان دو گونه از هشت گونه زنبور عسل، آپیس ملیفرا و آپیس سرانا، سه گونه از جنس بیفیدوباکتریوم به نام بیفیدوباکتریوم آستروئیدز، بیفیدوباکتریوم کورینه فرم و بیفیدوباکتریوم ایندیکوم شناسایی شده است (۹۴). یک مطالعه جداسازی چندین گونه بیفیدوباکتریوم از روده زنبور عسل ژاپنی (آپیس سرانا جاپونیکا) را نشان داده است. این سویه‌ها به شدت با بیفیدوباکتریوم‌های به دست آمده از زنبورهای عسل اروپایی (آپیس ملیفرا) مرتبط هستند، که نشان می‌دهد این باکتری‌ها مختص گونه‌های زنبور عسل هستند. علاوه بر این، برخی از بیفیدوباکتریوم‌ها قادر به جلوگیری از تولید مثل ملیسوکوکوس پلوتینوس بودند که باعث بیماری لوک اروپایی (EFB) می‌شود. این نتایج نشان

² *Melissococcus plutonius*

¹ *Bombus terrestris*

داد که این سویه‌ها می‌توانند به عنوان پروبیوتیک در صنعت زنبورداری مفید باشند (۶۴).

اگرچه گونه‌های بیفیدوباکتریوم همیشه به فراوانی سایر اعضای اصلی روده زنبور عسل نیستند، اما مطالعات نشان داده‌اند که این جنس به طور قابل توجهی در متابولیسم و سلامت میزبان نقش دارد. به عنوان مثال، بیفیدوباکتریوم *آستروئیدز* می‌توانند زنبورهای عسل را برای تولید هورمون‌های مشتق شده از میزبان که بر رشد آن تأثیر می‌گذارند، مانند پروستاگلاندین‌ها و مشتقات هورمون جوانی، تحریک کنند. بیفیدوباکتریوم‌های روده زنبور عسل تجزیه کننده اصلی پلی ساکارید رژیم غذایی هستند. به طور خاص، بیفیدوباکتریوم نسبت به سایر اعضای روده، ژن‌های بیشتری برای کد کردن CAZymes دارد. این نشان می‌دهد که گونه‌های مختلف بیفیدوباکتریوم که همزمان در روده زنبور عسل وجود دارند، در سازگاری خاص با محیط روده غنی از گلیکان نقش دارند، که در بیفیدوباکتری‌های روده پستانداران نیز یافت شده است. بیفیدوباکتریوم *آستروئیدز* در تماس نزدیک با روده عقبی حشرات اجتماعی تکامل یافته است. تجزیه و تحلیل بیشتر گلیکوبیوم، مجموعه‌ای حفاظت شده از گلیکوزیل هیدرولازها (GHs) را آشکار کرد که نشان‌دهنده توانایی‌های تجزیه طیف وسیعی از کربوهیدرات‌های ساده به همراه ژن‌های کدکننده GHs خاص مرتبط با بیفیدوباکتریوم *آستروئیدز* است (۹۳). مطابق با میکروبیوتای روده انسان، بیفیدوباکتریوم در روده زنبور عسل در درجه اول در متابولیسم همی سلولز (به عنوان مثال، آرابینان، گالاکتان)، به ویژه توسط بیفیدوباکتریوم *آستروئیدز*، که دارای ژن‌های بسیار فراوان و متنوعی است که مسئول استفاده از کربوهیدرات‌ها هستند، نقش دارد

(۴۱). در پژوهشی لاروهای زنبور عسل با گونه بیفیدوباکتریوم *آستروئیدز* 26p تغذیه شدند و به طور قابل توجهی بیان ژن آپیداسین^۱ افزایش یافت، در حالی که هیچ تأثیری بر سطوح آباسین^۲، هیمینوپتاسین^۳ و دفنسن-۱ مشاهده نشد. این نتایج، در مجموع، نشان داد که پاسخ ایمنی زنبور عسل از طریق سنتز AMP نسبتاً غیر اختصاصی است و افزایش سطوح رونویسی ژن‌های AMP مختلف، مختص سویه است و به گونه یا منبع سویه‌ها مربوط نمی‌شود (۹۵). گزارش شده است که گونه *لوکونوستوک* نیز با کلنی‌های زنبور عسل سالم مرتبط است (۳).

رویکردهای تیمار پروبیوتیکی ممکن است راه‌های موثری برای پیشگیری یا درمان نوزما، پانی باسیلوس لارو و ملیسوکوکوس پلوتینوس در کندوها باشند. در مطالعه‌ای روی دو کندوی کنترل و دو کندوی تحت درمان با کنسرسیون باکتریایی متشکل از اپیلاکتوباسیلوس کانکی، لاکتی پلاننتی باسیلوس پلانتاروم، لاکتی کازئی باسیلوس رامنوسوس، به نظر می‌رسید که کندوهای تحت درمان دارای سطوح پایین تری از پانی باسیلوس لارو و اختلال تنظیم ایمنی کمتری بودند (۹۶). با توجه به نقش اقتصادی و زیست محیطی زنبورهای عسل و تهدیدات فعلی در برابر سلامت آن‌ها، توسعه مکمل‌های غذایی که به نفع سلامت آنها باشد، ضروری است (۹۷).

نتیجه گیری کلی

با افزایش جمعیت زنبورهای عسل تحت مدیریت در مناطق مختلف جهان در مقایسه با کلونی‌های وحشی، نیاز به اطمینان از مقابله با تهدیدات سلامت و بقای زنبورهای عسل در همه محیط‌ها وجود دارد. بررسی جامع میکروبیوتای

³ Hymenoptaecin

¹ Apidaecin

² Abaecin

روده زنبور عسل نشان می‌دهد که پروبیوتیک‌های بومی جداسازی شده از دستگاه گوارش آن، نه تنها به عنوان همزیست‌های ساده، بلکه به عنوان عوامل حیاتی در تقویت سیستم ایمنی، مقاومت به بیماری‌زها و بهبود عملکرد کلونی عمل می‌کنند. سویه‌های پروبیوتیکی جداسازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل سویه‌های پروبیوتیک بومی زنبور عسل، به دلیل ویژگی‌های پروبیوتیکی بالقوه از جمله فعالیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، تحمل به شرایط سخت گوارشی و چسبندگی خوب، کاندیداهای مناسبی برای توسعه مکمل‌های پروبیوتیک برای زنبورهای عسل می‌توانند

باشند. همچنین به دلیل شباهت برخی عملکردهای این پروبیوتیک‌ها با سویه‌های پروبیوتیک انسانی، می‌توان از آن‌ها به عنوان منبعی ارزشمند برای صنعت غذا و نوشیدنی و همچنین برای توسعه فرآورده‌های دارویی و طبیعی جدید به جهت بهبود سلامت آنان نیز بهره گرفت. در نهایت، تمرکز بر جداسازی، بررسی و شناخت ویژگی‌ها و کاربرد این باکتری‌های مفید نه تنها در حفظ سلامت زنبور عسل حیاتی است، بلکه گامی مؤثر در جهت پایداری اکولوژیکی و ارتقای سلامت انسان به شمار می‌آید.

1. Meehan DE, O'Toole PW. A review of diet and foraged pollen interactions with the honeybee gut microbiome. *Microbial Ecology*. 2025;88(1):54.
2. Dadgostar S, Mobini Dehkordi P, Khodarahmi S, Ghorbani MM. Automated Honey Bee Subspecies Identification Using Advanced Wing Venation Analysis and Adaptive Hierarchical Clustering. *Ecology and Evolution*. 2025;15(9):e72101.
3. Hung K-LJ, Kingston JM, Albrecht M, Holway DA, Kohn JR. The worldwide importance of honey bees as pollinators in natural habitats. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2018;285(1870):20172140.
4. Romero S, Nastasa A, Chapman A, Kwong WK, Foster LJ. The honey bee gut microbiota: strategies for study and characterization. *Insect molecular biology*. 2019;28(4):455–72.
5. Naz S, Malik MF, Hussain M, Iqbal R, Afsheen S. 2. To check the socio-economic importance of honey bee for developing countries in current financial crisis. *Pure and Applied Biology (PAB)*. 2022;11(3):851–60.
6. Smriti, Rana A, Singh G, Gupta G. Prospects of probiotics in beekeeping: a review for sustainable approach to boost honeybee health. *Archives of Microbiology*. 2024;206(5):205.
7. Zapata-Hernández G, Gajardo-Rojas M, Calderón-Seguel M, Muñoz AA, Yáñez KP, Requier F, et al. Advances and knowledge gaps on climate change impacts on honey bees and beekeeping: A systematic review. *Global Change Biology*. 2024;30(3):e17219.
8. Motta EV, Moran NA. The honeybee microbiota and its impact on health and disease. *Nature Reviews Microbiology*. 2024;22(3):122–37.
9. Anderson KE, Allen NO, Copeland DC, Kortenkamp OL, Erickson R, Mott BM, et al. A longitudinal field study of commercial honey bees shows that non-native probiotics do not rescue antibiotic treatment, and are generally not beneficial. *Scientific Reports*. 2024;14(1):1954.
10. Kim H, Maigoro AY, Lee J-H, Frunze O, Kwon H-W. The improving effects of probiotic-added pollen substitute diets on the gut microbiota and individual health of honey bee (*Apis mellifera* L.). *Microorganisms*. 2024;12(8):1567.
11. Stanner S, Spiro A. Public health rationale for reducing sugar: Strategies and challenges. *Nutrition Bulletin*. 2020;45(3):253–70.
12. Samanci AET, Muluk NB, Samanci T, Cingi C. *Propolis: Prevention and Healing Effects in Otorhinolaryngology*: Springer; 2024.
13. Saraiva A, Carrascosa C, Raheem D, Ramos F, Raposo A. Natural sweeteners: The relevance of food naturalness for consumers, food security aspects, sustainability and health impacts. *International journal of environmental research and public health*. 2020;17(17):6285.
14. Astolfi ML, Conti ME, Messi M, Marconi E. Probiotics as a promising prophylactic tool to reduce levels of toxic or potentially toxic elements in bees. *Chemosphere*. 2022;308:136261.
15. Evans JD, Schwarz RS, Chen YP, Budge G, Cornman RS, De la Rua P, et al. Standard methods for molecular research in *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*. 2013;52(4):1–54.
16. Bhatia R, Verma A, Sharma D, Kumar R, Kumar S. Honey Bees and Probiotics: Indigenous Honey Bees Gut Microbial Communities and Their Potential Probiotic Attributes. *Biology Bulletin*. 2025;52(11):298.
17. Ruttner F. *Biogeography and taxonomy of honeybees*: Springer Science & Business Media; 2013.
18. Rodríguez MA, Fernández LA, Daisley BA, Reynaldi FJ, Allen-Vercos E, Thompson GJ. Probiotics and in-hive fermentation as a source of beneficial microbes to support the gut microbial health of honey bees. *Journal of Insect Science*. 2023;23(6):19.
19. Bleau N, Bouslama S, Giovenazzo P, Derome N. Dynamics of the honeybee (*Apis mellifera*) gut microbiota throughout the overwintering period in Canada. *Microorganisms*. 2020;8(8):1146.
20. Engel P, Martinson VG, Moran NA. Functional diversity within the simple gut microbiota of the honey bee. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012;109(27):11002–7.
21. Zheng H, Steele MI, Leonard SP, Motta EV, Moran NA. Honey bees as models for gut microbiota research. *Lab animal*. 2018;47(11):317–25.

22. Lang H, Duan H, Wang J, Zhang W, Guo J, Zhang X, et al. Specific strains of honeybee gut *Lactobacillus* stimulate host immune system to protect against pathogenic *Hafnia alvei*. *Microbiology Spectrum*. 2022;10(1):e01896–21.
23. Flint HJ, Scott KP, Louis P, Duncan SH. The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2012;9(10):577–89.
24. Zahoor F, Sooklim C, Songdech P, Duangpakdee O, Soontornngun N. Selection of potential yeast probiotics and a cell factory for xylitol or acid production from honeybee samples. *Metabolites*. 2021;11(5):312.
25. Rana A, Singh G. Artificial diet supplementation: A review for sustainable approach to boost honeybee health: Dearth period and artificial diet for bee health. *Journal of Scientific & Industrial Research (JSIR)*. 2024;83(8):914–33.
26. Gasper J, Terentjeva M, Kántor A, Ivanišová E, Kluz M, Kačániová M. Identification of *Apis mellifera* gut microbiota with MALDI-TOF MS biotyper. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*. 2017;50(1):192.–
27. Alatawy M, Al-Attas SG, Assagaf AI, Al-Shehri A, Alghamdi KM, Bahieldin A. Gut microbial communities of adult honey bee workers (*Apis mellifera*). *Biosciences Biotechnology Research Asia*. 2020;17(2):353–62.
28. de Castro Guedes D, Dias WCS, Medeiros-Santana L, Cossolin JFS, de Castro e Castro BM, Zanuncio JC, et al. Formation of the proventriculus in the foregut during metamorphosis of the honey bee *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae). *Protoplasma*. 2025:1–13.
29. Corby-Harris V, Maes P, Anderson KE. The bacterial communities associated with honey bee (*Apis mellifera*) foragers. *PloS one*. 2014;9(4):e95056.
30. Sammataro D, Cicero JM. Functional morphology of the honey stomach wall of the European honey bee (Hymenoptera: Apidae). *Annals of the Entomological Society of America*. 2010;103(6):979–87.
31. Ludvigsen J, Rangberg A, Avershina E, Sekelja M, Kreibich C, Amdam G, et al. Shifts in the midgut/pyloric microbiota composition within a honey bee apiary throughout a season. *Microbes and environments*. 2015;30(3):235–44.
32. Martinson VG, Danforth BN, Minckley RL, Rueppell O, Tingek S, Moran NA. A simple and distinctive microbiota associated with honey bees and bumble bees. *Molecular ecology*. 2011;20(3):619–28.
33. Disayathanoowat T, Young JPW, Helgason T, Chantawannakul P. T-RFLP analysis of bacterial communities in the midguts of *Apis mellifera* and *Apis cerana* honey bees in Thailand. *FEMS microbiology ecology*. 2012;79(2):273–81.
34. Martinson VG, Moy J, Moran NA. Establishment of characteristic gut bacteria during development of the honeybee worker. *Applied and environmental microbiology*. 2012;78(8):2830–40.
35. Gonçalves WG, Fernandes KM, Santana WC, Martins GF, Zanuncio JC, Serrão JE. Post-embryonic changes in the hindgut of honeybee *Apis mellifera* workers: Morphology, cuticle deposition, apoptosis, and cell proliferation. *Developmental biology*. 2017;431(2):194–204.
36. Wang H, Liu C, Liu Z, Wang Y, Ma L, Xu B. The different dietary sugars modulate the composition of the gut microbiota in honeybee during overwintering. *BMC microbiology*. 2020;20(1):61.
37. Ellegaard KM, Engel P. Genomic diversity landscape of the honey bee gut microbiota. *Nature communications*. 2019;10(1):446.
38. Anderson KE, Ricigliano VA, Copeland DC, Mott BM, Maes P. Social interaction is unnecessary for hindgut microbiome transmission in honey bees: the effect of diet and social exposure on tissue-specific microbiome assembly. *Microbial ecology*. 2023;85(4):1498–513.
39. Powell JE, Leonard SP, Kwong WK, Engel P, Moran NA. Genome-wide screen identifies host colonization determinants in a bacterial gut symbiont. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016;113(48):13887–92.
40. Olofsson TC, Alsterfjord M, Nilson B, Butler È, Vásquez A. *Lactobacillus apinorum* sp. nov., *Lactobacillus mellifer* sp. nov., *Lactobacillus mellis* sp. nov., *Lactobacillus melliventris* sp. nov., *Lactobacillus kimbladii* sp. nov., *Lactobacillus helsingborgensis* sp. nov. and *Lactobacillus kullabergensis* sp. nov., isolated from the honey stomach of the honeybee *Apis mellifera*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2014;64(Pt_9):3109–19.

41. Chen J, Wang J, Zheng H. Characterization of *Bifidobacterium apousia* sp. nov., *Bifidobacterium choladohabitans* sp. nov., and *Bifidobacterium polysaccharolyticum* sp. nov., three novel species of the genus *Bifidobacterium* from honey bee gut. *Systematic and Applied Microbiology*. 2021;44(5):126247.
42. Smutin D, Lebedev E, Selitskiy M, Panyushev N, Adonin L. Micro” bee” ota: honey bee normal microbiota as a part of superorganism. *Microorganisms*. 2022;10(12):2359.
43. Miller DL, Parish AJ, Newton IL. Transitions and transmission: behavior and physiology as drivers of honey bee-associated microbial communities. *Current opinion in microbiology*. 2019;50:1–7.
44. Kešnerová L, Mars RA, Ellegaard KM, Troilo M, Sauer U, Engel P. Disentangling metabolic functions of bacteria in the honey bee gut. *PLoS biology*. 2017;15(12):e2003467.
45. Zheng H, Powell JE, Steele MI, Dietrich C, Moran NA. Honeybee gut microbiota promotes host weight gain via bacterial metabolism and hormonal signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017;114(18):4775–80.
46. Luo S, Zhang X, Zhou X. Temporospatial dynamics and host specificity of honeybee gut bacteria. *Cell Reports*. 2024;43.(V)
47. Mojgani N, Bagheri M, Ashique S, Islam A, Moharrami M, Modirrousta H, et al. Honeybee defense mechanisms: Role of honeybee gut microbiota and antimicrobial peptides in maintaining colony health and preventing diseases. *Microbial pathogenesis*. 2025;198:107161.
48. Bonilla-Rosso G, Engel P. Functional roles and metabolic niches in the honey bee gut microbiota. *Current opinion in microbiology*. 2018;43:69–76.
49. Raymann K, Moran NA. The role of the gut microbiome in health and disease of adult honey bee workers. *Current opinion in insect science*. 2018;26:97–104.
50. Brar G, Ngor L, McFrederick QS, Torson AS, Rajamohan A, Rinehart J, et al. High abundance of lactobacilli in the gut microbiome of honey bees during winter. *Scientific Reports*. 2025;15(1):7409.
51. Hai Q, Li D, Huang T, Dang X, Xu J, Ma Z, et al. The honeybee gut microbiome: a novel multidimensional model of antimicrobial resistance transmission and immune homeostasis from environmental interactions to health regulation. *FEMS Microbiology Reviews*. 2026:fuag001.
52. Daneshazari R, Rabbani Khorasgani M, Hosseini-Abari A, Kim J-H. *Bacillus subtilis* isolates from camel milk as probiotic candidates. *Scientific Reports*. 2023;13(1):3387.
53. Azad MAK, Sarker M, Li T, Yin J. Probiotic species in the modulation of gut microbiota: an overview. *BioMed research international*. 2018;2018(1):9478630.
54. Butel M-J. Probiotics, gut microbiota and health. *Médecine et maladies infectieuses*. 2014;44(1):1–8.
55. Amraii HN, Abtahi H, Jafari P, Mohajerani HR, Fakhroleslam MR, Akbari N. In vitro study of potentially probiotic lactic acid bacteria strains isolated from traditional dairy products. *Jundishapur journal of microbiology*. 2014;7(6):e10168.
56. Gao J, Li X, Zhang G, Sadiq FA, Simal-Gandara J, Xiao J, et al. Probiotics in the dairy industry—Advances and opportunities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2021;20(4):3937–82.
57. Sornplang P, Piyadeatsoontorn S. Probiotic isolates from unconventional sources: a review. *Journal of animal science and technology*. 2016;58(1):26.
58. Formentin G. Global bee population decline: A summary of the literature. *Air Quality and Climate Change*. 2022;56(4):42–5.
59. Abdi K, Ben Said M, Crotti E, Masmoudi AS, Cherif A. The promise of probiotics in honeybee health and disease management. *Archives of Microbiology*. 2023;205(2):73.
60. Mull A, Gunnell J, Hansen SM, Ramirez R, Walker Bravo A, Zesiger C, et al. Factors contributing to bee decline. 2022.
61. Kartik AR, Singh G. Artificial Diet Supplementation: A Review for Sustainable Approach to Boost Honeybee Health. *Journal of Scientific & Industrial Research*. 2024;83:914–33.
62. Molnár S, Juhász Á, Szalontai H. Development of a Bee Feeding Procedure to Support Bee Health Protection. *Acta Carolus Robertus*. 2020;2020:71–7.

63. Dengiz B, Killer J, Havlík J, Dobeš P, Hyršl P. Selection of probiotics for honey bees: the in vitro inhibition of *Paenibacillus* larvae, *Melissococcus plutonius*, and *Serratia marcescens* strain sicaria by host-specific *Lactobacilli* and *Bifidobacteria*. *Microorganisms*. 2025;13(5):1159.
64. Mustar S, Ibrahim N. A sweeter pill to swallow: A review of honey bees and honey as a source of probiotic and prebiotic products. *Foods*. 2022;11(14):2102.
65. Endo A, Salminen S. Honeybees and beehives are rich sources for fructophilic lactic acid bacteria. *Systematic and Applied Microbiology*. 2013;36(6):444–8.
66. Xu H, Ba W, Yu R, He Z, Wang P, Gou X, et al. Fructophilic *Apilactobacillus kunkeei* alleviates high-fructose diet-induced lipid accumulation by modulating gut microbiota and intestinal barrier function in mice. *npj Science of Food*. 2025;9(1):201.
67. Filannino P, Di Cagno R, Tlais AZA, Cantatore V, Gobetti M. Fructose-rich niches traced the evolution of lactic acid bacteria toward fructophilic species. *Critical reviews in microbiology*. 2019;45(1):65–81.
68. Endo A, Tanaka N, Oikawa Y, Okada S, Dicks L. Fructophilic characteristics of *Fructobacillus* spp. may be due to the absence of an alcohol/acetaldehyde dehydrogenase gene (*adhE*). *Current Microbiology*. 2014;68(4):531–5.
69. Neveling DP, Endo A, Dicks LM. Fructophilic *Lactobacillus kunkeei* and *Lactobacillus brevis* isolated from fresh flowers, bees and bee-hives. *Current Microbiology*. 2012;65(5):507–15.
70. Kim EB, Tyler CA, Kopit LM, Marco ML. Draft genome sequence of fructophilic *Lactobacillus florum*. *Genome announcements*. 2013;1(1):10.1128/genomea.00025–12.
71. Zheng J, Wittouck S, Salvetti E, Franz CM, Harris HM, Mattarelli P, et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2020;70(4):2782–858.
72. Saccà M, Lodesani M. Isolation of bacterial microbiota associated to honey bees and evaluation of potential biocontrol agents of *Varroa destructor*. *Beneficial Microbes*. 2020;11(7):641–54.
73. Cho E-S, Kim HJ, Lee JH, Hwang CY, Siziya IN, Kwon HW, et al. Intestinal microbial diversity in domestic honey bees and evaluation of their probiotic properties. *Journal of Apicultural Research*. 2025;64(3):830–41.
74. Hassan M, Elenany YE, Hassan AA-M, Ahmed NA. Probiotic *Apilactobacillus Kunkeei* EABW06 from Beeswax Microbiota: A Candidate for Functional Dairy Foods. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2025:1–15.
75. Usta M, Zengin K, Okuyan S, Solmaz S, Nalçacıoğlu R, Demirbağ Z. Isolation and probiotic evaluation of *Apilactobacillus kunkeei* and *Bombella* sp. from *Apis mellifera anatoliaca* and *Bombus terrestris*. *International Microbiology*. 2025:1–12.
76. Uğraş S. Isolation, identification and characterization of probiotic properties of bacterium from the honey stomachs of Yigilca honeybees in Turkey. *Turkish journal of entomology*. 2017;41(3):253–61.
77. Vergalito F, Testa B, Cozzolino A, Letizia F, Succi M, Lombardi SJ, et al. Potential application of *Apilactobacillus kunkeei* for human use: Evaluation of probiotic and functional properties. *Foods*. 2020;9(11):1535.
78. Al-Ghamdi A, Khan KA, Ansari MJ, Almasaudi SB, Al-Kahtani S. Effect of gut bacterial isolates from *Apis mellifera jemenitica* on *Paenibacillus* larvae infected bee larvae. *Saudi journal of biological sciences*. 2018;25(2):383–7.
79. Kenfack CHM, Ngoufack FZ, Kaktcham PM, Wang YR, Zhu T, Yin L. Safety and antioxidant properties of five probiotic *Lactobacillus plantarum* strains isolated from the digestive tract of honey bees. *American Journal of Microbiological Research*. 2018;6(1):1–8.
80. Fanciotti MN, Tejerina M, Benítez-Ahrendts MR, Audisio MC. Honey yield of different commercial apiaries treated with *Lactobacillus salivarius* A3iob, a new bee-probiotic strain. *Beneficial microbes*. 2018;9(2):291–8.
81. Tejerina MR, Benítez-Ahrendts MR, Audisio MC. *Lactobacillus salivarius* A3iob reduces the incidence of *Varroa destructor* and *Nosema* spp. in commercial apiaries located in the northwest of Argentina. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2020;12(4):1360–9.

82. Elean M, Arroyo Guerra A, Albarracin L, Nishiyama K, Kitazawa H, Audisio MC, et al. Genomic Characterization of the Honeybee-Probiotic Strain *Ligilactobacillus salivarius* A3iob. *Animals*. 2025;15(17):2606.
 83. Ibrahim SA, Ayivi RD, Zimmerman T, Siddiqui SA, Altemimi AB, Fidan H, et al. Lactic acid bacteria as antimicrobial agents: Food safety and microbial food spoilage prevention. *Foods*. 2021;10(12):3131.
 84. Elzeini HM, Ali A-rA-a, Nasr NF, Elenany YE, Hassan AAM. Isolation and identification of lactic acid bacteria from the intestinal tracts of honey bees, *Apis mellifera* L., in Egypt. *Journal of Apicultural Research*. 2021;60(2):349–57.
 85. Truong A-T, Kang JE, Yoo M-S, Nguyen TT, Youn S-Y, Yoon S-S, et al. Probiotic candidates for controlling *Paenibacillus* larvae, a causative agent of American foulbrood disease in honey bee. *BMC microbiology*. 2023;23(1):150.
 86. De Piano FG, Maggi MD, Meroi Arceitto FR, Audisio MC, Eguaras M, Ruffinengo SR. Effects of bacterial cell-free supernatant on nutritional parameters of *Apis mellifera* and their toxicity against *Varroa destructor*. *Journal of Apicultural Science*. 2020;64(1):55–66.
 87. Alberoni D, Gaggia F, Baffoni L, Di Gioia D. Beneficial microorganisms for honey bees: problems and progresses. *Applied microbiology and biotechnology*. 2016;100(22):9469–82.
 88. Li L, Praet J, Borremans W, Nunes OC, Manaia CM, Cleenwerck I, et al. *Bombella intestini* gen. nov., sp. nov., an acetic acid bacterium isolated from bumble bee crop. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2015;65(Pt_1):267–73.
 89. Sabaté DC, Carrillo L, Audisio MC. Inhibition of *Paenibacillus* larvae and *Ascosphaera apis* by *Bacillus subtilis* isolated from honeybee gut and honey samples. *Research in Microbiology*. 2009;160(3):193–9.
 90. Toutiaee S, Mojangani N, Harzandi N, Moharrami M, Mokhberosafa L. In vitro probiotic and safety attributes of *Bacillus* spp. isolated from beebread, honey samples and digestive tract of honeybees *Apis mellifera*. *Letters in Applied Microbiology*. 2022;74(5):656–65.
 91. Hwang CY, Cho E-S, Lim HJ, Seo M-J. In vitro evaluation of *Bacillus subtilis* isolated from *Apis mellifera* for potential use as a probiotic feed additive in honeybees. *Scientific Reports*. 2025.
 92. Ramos OY, Basualdo M, Libonatti C, Vega MF. Current status and application of lactic acid bacteria in animal production systems with a focus on bacteria from honey bee colonies. *Journal of applied microbiology*. 2020;128(5):1248–60.
 93. Lugli GA, Fontana F, Tarracchini C, Mancabelli L, Milani C, Turrone F, et al. Exploring the biodiversity of *Bifidobacterium asteroides* among honey bee microbiomes. *Environmental Microbiology*. 2022;24(12):5666–79.
 94. Milani C, Lugli GA, Duranti S, Turrone F, Bottacini F, Mangifesta M, et al. Genomic encyclopedia of type strains of the genus *Bifidobacterium*. *Applied and environmental microbiology*. 2014;80(20):6290–302.
 95. Janashia I, Alaux C. Specific immune stimulation by endogenous bacteria in honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of economic entomology*. 2016;109(3):1474–7.
 96. Daisley BA, Pitek AP, Chmiel JA, Al KF, Chernyshova AM, Faragalla KM, et al. Novel probiotic approach to counter *Paenibacillus* larvae infection in honey bees. *The ISME journal*. 2020;14(2):476–91.
 97. Carvajal RI, Silva-Mieres F, Ilabaca A, Rocha J, Arellano-Arriagada L, Arbalti FAZ, et al. Isolation and Characterization of *Lactobacillus casei* A14. 2, a Strain with Immunomodulating Activity on *Apis mellifera*. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2023;30(4):103612.
۹۸. طوطیایی، مژگانی، هرزندی، محرمی، مخبرالصفاء، لادن. ارزیابی خصوصیات پروبیوتیکی باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از دستگاه گوارش زنبور های عسل *Apis mellifera*. پژوهشهای علوم دامی ایران. ۱۴۰۲؛ ۱۴(۱): ۴۶–۴۲.
۹۹. شهرزاد، مخبر، هاشمی، دیزجی پیچ، شبنم، زمردی، et al. جداسازی و شناسایی باکتری‌های لاکتوباسیلوس هم‌زیست دستگاه گوارش زنبور عسل (*Apis mellifera*). علوم و فنون زنبور عسل ایران. ۲۰۲۵؛ ۱۵(۲۹).
۱۰۰. سلیمانی، زرگر، جعفری، پروانه. جداسازی و شناسایی باکتری‌های اسید لاکتیک از دستگاه گوارش زنبور عسل در استان مرکزی. فصلنامه بیولوژی کاربردی. ۲۰۱۴؛ ۵(۱۶): ۵۵.