

BAL ARILARINDA PROBİYOTİK BAKTERİLERİN KULLANIMI

Use of Probiyotic Bacteriae in Honey Bees

Ayşe Ebru BORUM

Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, TÜRKİYE, ORCID No: 0000-0002-6916-8982, E-posta: ebruborum@balikesir.edu.tr

Geliş Tarihi / Received: 02.03.2021

Kabul Tarihi / Accepted: 26.03.2021

DOI: 10.31467/uluaricilik.889744

ÖZ

Probiyotikler, yeterli miktarda uygulandıklarında konakçıya sağlık yararları sağlayan canlı mikroorganizmalardır. Probiyotikler bağırsak florasını düzenler, bakteriyel toksinlere karşı hidrolitik enzimler salgılar, toksin reseptörlerini inaktive eder, immun sistemi düzenler, patojenlerin virülensini azaltır, olumsuz metabolitleri azaltır, yararlı metabolitleri artırır, infeksiyonlarda ve inflamatuvar hastalıklarda tedavi ve korunmada rol oynar. *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* ve *Bifidobacterium* cinslerine ait çeşitli türler, bugüne kadarki en popüler probiyotik etkenlerdir. Son yıllarda probiyotikler, hem insanlarda hem de hayvanlarda tedavi edici ve koruyucu amaçlarla kullanılmaya başlanmıştır. Son yıllarda bal arısı sağlığında da oldukça sık kullanılmaya başlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bal Arısı, Probiyotik, Tedavi, Koruyucu

ABSTRACT

Probiotics provide health benefits to the host when not administered adequately. Probiotics regulate the intestinal flora, secrete hydrolytic enzymes against bacterial toxins, inactivate toxin receptors, regulate the immune system, reduce the virulence of pathogens, reduce negative metabolites, increase their metabolites, play a role in infections and inflammatory diseases and protection. Various species belonging to the *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* and *Bifidobacterium* genera are by far the most popular probiotic agents. Recent probiotics are being used for therapeutic and preventive purposes in both humans and animals. The latest news has started to be used quite frequently in the honey bee right.

Keywords: Honey Bee, Probiotic, Treatment, Preservative

EXTENDED ABSTRACT

Goal: Probiotics are live microorganisms that, when administered in sufficient quantity, provide health benefits to the host. Various species belonging to the *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* and *Bifidobacterium* genera are the most popular probiotic agents to date. Probiotics regulate the intestinal flora, secrete hydrolytic enzymes against bacterial toxins, inactivate toxin receptors, regulate the immune system, reduce the virulence of

pathogens, reduce negative metabolites, increase beneficial metabolites, play a role in the treatment and prevention of infections and inflammatory diseases. In recent years, probiotics have been used both prophylactically and therapeutically in both humans and livestock due to their ability to regulate the gut microbiota and immunological systems. Especially intestinal bacteria are widely used as probiotics. These probiotics are added to foods and diets.

DERLEME / REVIEW

Discussion: Among probiotic bacteria, especially lactic acid and acetic acid bacteria, they tolerate acidic pH, are effective in the metabolism of various sugars and have interesting properties such as organic acid production. These unique properties play a role in preventing the colonization of the sugar-rich digestive tract of honey bees and the spread and growth of acid-sensitive pathogenic bacteria. Among probiotic bacteria, especially lactic acid and acetic acid bacteria, they tolerate acidic pH, are effective in the metabolism of various sugars and have interesting properties such as organic acid production. These unique properties play a role in preventing the colonization of the sugar-rich digestive tract of honey bees and the spread and growth of acid-sensitive pathogenic bacteria. The development of the hypopharyngeal glands is stimulated with the structure known as "fat bodies", which is important in energy and metabolism in honey bees where probiotic bacteria are added to their food, and the rate of protein utilization has also increased. Lactic acid bacteria (LAB), the natural inhabitants of the honey bee gastrointestinal tract, play an important role in maintaining the intestinal microbial ecosystem. Honey bee LABs are very important in food digestion, high stimulation of the bees' immune system, elimination of pathogens, and maintenance of microflora homeostasis in the honey bee intestine. Lactic acid bacteria are known to produce antimicrobial agents (antimicrobial peptide-AMP) that eliminate pathogenic microorganisms. Thirty species of lactobacillus were used in honey bee research where lactic acid bacteria were used as probiotics. These bacteria *P.larvae* (American foulbrood-AFB), *Melissococcus plutonius* (European foulbrood-EFB), *Nosema apis* and *Nosema cerena*. It has been determined that there are many benefits such as protection, treatment, survival rate, reduction of pathogen burden in honey bee pathogens and the infections they cause. Most of the research on *Bifidobacterium* supplementation in honey bees has focused on stimulating brood production, increasing colony production, and their use in the treatment of fungal diseases such as nosemosis and chalkbrood disease.

Conclusion: The high density of honey bees in the colony, trophallaxis among the members of the colony and feeding of the offspring by caregivers are important in spreading diseases among the individuals in the colony. For these reasons, the use of probiotics as an alternative to antibiotics is of particular importance in preventing and combating

diseases in honey bees. Probiotics are defined as living, safe microorganisms that positively affect health and support the prolongation of their host's lifespan.

GİRİŞ

Probiyotikler, yeterli miktarda uygulandıklarında konakçıya sağlık yararları sağlayan canlı mikroorganizmalardır. *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* ve *Bifidobacterium* cinslerine ait çeşitli türler, bugüne kadarki en popüler probiyotik etkenlerdir (Oliveira v.d. 2017). Probiyotikler bağırsak florasını düzenler, bakteriyel toksinlere karşı hidrolitik enzimler salgılar, toksin reseptörlerini inaktive eder, immün sistemi düzenler, patojenlerin virülensini azaltır, olumsuz metabolitleri azaltır, yararlı metabolitleri artırır, infeksiyonlarda ve inflamatuvar hastalıklarda tedavi ve korunmada rol oynar (Chen v.d. 2017, Diaz-Vergara v.d. 2017, Hossain v.d. 2017). Son yıllarda probiyotikler, insanlarda ve birçok çiftlik hayvanında bağırsak mikrobiyotasını ve immünolojik sistemleri düzenleme yetenekleri nedeniyle hem profilaktif hem de tedavi edici olarak kullanılmaya başlamıştır (Celiberto v.d. 2017, Chen v.d. 2017). Özellikle bağırsak kökenli bakteriler probiyotik olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu probiyotikler genelde gıda ve diyetlere ilave edilerek kullanılır (Gourbeyre v.d. 2011).

Probiyotiklerin sağlık için kullanımı, insan ve hayvan beslenmesinin yanı sıra çeşitli omurgasızların gıdalarında da kullanılmaya başlanmıştır (Patterson ve Burkholder 2003, Talpur v.d. 2012). Probiyotik bakteriler, izole edildikleri türlerin diyetine eklendiğinde daha faydalıdır (Ptaszyńska v.d. 2016). Probiyotik bakterilerden özellikle laktik asit ve asetik asit bakterileri, asidik pH'ye tolerans gösterir, çeşitli şekerlerin metabolizmasında etkilidir ve organik asit üretimi gibi ilgi çekici özelliklere sahiptir. Bu özellikleri sayesinde, bal arılarının şeker açısından zengin sindirim kanalının kolonizasyonunu ve aside duyarlı patojenik bakterilerin yayılmasını ve gelişmesinin engellenmesinde rol oynar (Hamdi v.d. 2011).

Gıdalarına probiyotik bakteri ilave edilen bal arılarında enerji ve metabolizmada önemli olan, "fat bodies" (yağ doku) olarak bilinen yapı ile *hypopharyngeal* bezlerin gelişimi uyarılmış, ayrıca proteinden yararlanma oranları da artmıştır (Kazimierczak-Baryczko ve Szymas 2006).

Bağırsak mikrobiyotası arı sağlığında önemli bir rol oynadığından, antibiyotik kullanımına bağlı olarak arı bağırsağı mikrobiyotasının dengesi de bozulabilmektedir (Martinson v.d. 2012). Avrupa'da bal arısı ürünlerinde antibiyotik kalıntılarının bulunması bal arısının yaşam süresi ve canlılığı üzerinde olumsuz etkilere neden olduğu için antibiyotik kullanımı yasaklanmıştır, bu nedenle doğal alternatif arayışlar artmıştır (Genersch 2010). Bal arısının bağırsak sistemi, sayı ve çeşit olarak insan ve diğer hayvanlara göre daha az sayıda bakteri içerir. Arka bağırsakta yoğunlaşan sekiz ana bakteri grubundan oluşur. İki Alfa, bir Beta -, iki Gammaproteobacteria, iki yakından ilişkili *Lactobacillus* grubu (Firm 4, 5) ve bir *Bifidobacterium* (*Bifidobacterium asteroides*) (Moran 2015). Bazıları tüm bal arılarında (*Lactobacilli*, Beta- ve Gammaproteobacteria) bulunur, ancak diğer bakteri grupları bazı bireylerde tamamen bulunmayabilir (Moran v.d. 2012). Bağırsak mikrobiyotasında bulunan en önemli Gram-negatif üyeleri olan; *Snodgrassella alvi* (*S. alvi*) ve *Gilliamella apicola* (*G. apicola*), *Apis mellifera* (bal arısı) ve *Bombus* spp. (bombus arısı) arı ailelerinin ortak simbiyontlarıdır. *Frischella perrara* (*F. perrara*) ve *Bartonella apis* (*B. apis*) ise yalnızca *Apis* spp'de bulunan ve konakçıya daha spesifik olan etkenlerdir (Moran v.d. 2012, Kwong v.d. 2017b). Antimikrobiyal kimyasallara maruz kalma, önemli mikrobiyota üyelerinde azalmaya sebep olabilir (Raymann v.d. 2018).

Antibiyotikler gibi kimyasal maddelere maruz kalarak dengesi bozulmuş mikrobiyotanın, sağlıklı donör kovanlarından alınan veya karakterize edilmiş bir mikrobiyal konsorsiyumdan gelen dışkı maddesi kullanılarak yeniden düzenlenmesi, mikrobiyota fonksiyonlarını yenilemektedir. Hastalığa dirençli fenotiplerin, bombus arılarında mikrobiyota nakli yoluyla aktarılabilir olduğu gösterilmiştir (Näpflin ve Schmid-Hempel 2016).

Bağırsak bakterileri, bal arısı larvalarının bağırsıklığını uyarır ve patojenlere karşı bağırsıklık tepkilerinin artmasını sağlar. Larvaları, probiyotik bakteriler ile desteklenen bir diyetle beslemek, bağırsıklıkta görev alan genlerin transkripsiyonunu uyarır. Böylece patojenlere karşı immün yanıtı artırır (Evans ve Lopez 2004).

Bombus arılarında yapılan deneysel bir çalışmada, bağırsak mikrobiyotasının tripanozomatid parazit *Crithidia bombi*'ye (*C. bombi*) direnç sağladığını göstermiştir. Yeni arılara, dirençli bombus arılarından elde edilen fekal mikrobiyota nakli yapılmasının onları infeksiyonlardan koruduğu bildirilmiştir. Ayrıca, vahşi bombus arılarında, betaproteobakteriyel bağırsak simbiyontu *S. alvi* yoğunluğu ile *Crithidia* varlığı arasında negatif bir ilişki gözlenmiştir (Koch ve Schmid-Hempel 2011).

Arıcılık alanında diyet takviyeleri içeren ticari probiyotikler bulunmaktadır. Bal arılarında ilk probiyotik uygulaması 1997'de yapılmıştır (Machova v.d.1997). Probiyotik kullanımının yararlı olduğunu gösteren araştırmalar olduğu gibi yanlış probiyotik kullanımının arı sağlığı üzerinde olumsuz durumlara sebep olabileceğini bildiren çalışmalar da vardır. Bu nedenle arılara probiyotik uygulaması yapılacak bakteri türü oldukça önemlidir. Daha önce yapılan bazı çalışmalar bal arısı bağırsak mikrobiyomunun kommensal olmayan bakterilere nadiren dost olduğunu gösterdiğinden, probiyotik bakteriler için seçenekler sınırlıdır. Genel olarak, bal arılarına yararlı bakteriler çoğunlukla laktik asit bakterilerinin uygulanmasını içerir. Arılarda Amerikan yavru çürüklüğüne (AYÇ) karşı bir besin karışımı ve üç farklı *Lactobacillus* türü olan besin takviyesi uygulanmış, infeksiyon etkeni *Paenibacillus larvae* (*P. larvae*)'ye karşı kullanılan üç bakteri türü ile yapılan önceki *in vitro* çalışmalarda, inhibitör aktivite görülmüştür. Ayrıca doğal bir AFB salgınından önce bu bakterilerin karışımı takviye ile arılar beslenmiş ve tedavi edilen arılar daha iyi hayatta kalmıştır. Bununla birlikte, *Lactobacillus* sp. çoğunlukla ön bağırsak mikroflorasında bulunur. *P. larvae* ise çoğunlukla orta bağırsakta kolonize olup gelişir. Bu nedenle indirekt etki gösterir. Ayrıca hastalık öncesi birden fazla Eylem Modu (MOA-Modes of Action) yolu infeksiyona duyarlılığı artırır. Yine dysbiosis dediğimiz bağırsak mikroflorasındaki dengesizlik de duyarlılığı etkileyebilir (Daisley v.d. 2020a). Bal arılarına probiyotik ilavesi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bazı çalışmalarda kullanılan probiyotikler ve belirlenen yararları Tablo 1'de özetlenmiştir.

DERLEME / REVIEW

Tablo1: Probiyotik olarak ilave edilen bazı bakteri suşları ve etkileri

Table 1: Some strains of bacteria added as probiotics and their effects

Kullanılan probiyotikler	Probiyotik ilavesinin etkisi	Etkili olduğu düşünülen mekanizmalar	Kaynaklar
<i>Lactobacillus brevis</i>	Fırsatçı Enterobacteriaceae azalma Mikrobiyatada gelişme	İmd ve Toll immün sinyal yollarının modülasyonu ile konak antimikrobiyal peptidlerde (AMP) artış	Maruscakova v.d. 2020
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	*Yaklaşık olarak kovan popülasyonunda %36, bal veriminde % 21 artış **4 haftalık takviyeden sonra yaklaşık yumurta veriminde % 46, polen % 53 ve bal üretiminde % 59 artma	Ana arının yumurtlamasının uyarılması Çekirdek besin destekleyici türlerin laktat aracılı çapraz beslenmesi	Audisio ve Benitez-Ahrendts 2011 Alberoni v.d. 2018
<i>Lactobacillus salivarius</i>	* <i>Nosema</i> spp.'nin spor yükünde yetişkinlerde azalma, **2 yıllık bir dönemde <i>Varroa destructor</i> enfestasyonunda ~%50-80 azalma	-	Tejerina v.d. 2020
<i>Lactobacillus plantarum</i>	* <i>Paenibacillus larvae</i> BMR43-81 (ERIC alt tipi I) neden olduğu aktif Amerikan yavru çürüklüğü salgını sırasında larvalarda patojen yükünde yaklaşık %90 azalma **4 haftalık takviyeden sonra yumurta veriminde yaklaşık %46, polen %53 ve bal üretiminde %59 artma	<i>P. larvae</i> vegetatif formuna karşı doğrudan sitotoksiste Çekirdek besin destekleyici türlerin laktat aracılı çapraz beslenmesi	Daisley v.d. 2020a Alberoni v.d. 2018
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	* <i>Paenibacillus larvae</i> BMR43-81 (ERIC alt tipi I) neden olduğu aktif Amerikan yavru çürüklüğü salgını sırasında larvalarda patojen yükünde yaklaşık ~%90 azalma	<i>P. larvae</i> vegetatif formuna karşı doğrudan sitotoksiste	Dailey v.d. 2020a
<i>Lactobacillus kunkeei</i>	* <i>P. larvae</i> BMR43-81 ile oral enfeksiyonu takiben larvalarda hayatta kalma oranında artma, artan ve patojen yükünde azalma ** 8 günlük deneysel enfeksiyondan sonra <i>Nosema ceranae</i> spor sayısında ~%90 oranında azalma	Konağın anti- <i>P.larvae</i> AMP defansin-yükselmesi Bağırsak pH'sini düşürerek spor gelişiminin engellenmesi	Dailey v.d. 2020a Baffoni v.d. 2016
<i>Bifidobacterium asteroides</i>	*4 haftalık takviyeden sonra yaklaşık	Çekirdek besin destekleyici türlerin laktat aracılı çapraz beslenmesi	Alberoni v.d. 2018

	yumurta veriminde %46, polen % 53 ve bal üretiminde %59 artma *Diyet kaynaklı hemiselülozun parçalanması yoluyla yetişkin bağırsağında arabinoz, galaktoz ve ksiloz üretimi	Genomda geniş glikozit hidrolaz repertuarı	Zheng v.d. 2019
<i>Bifidobacterium coryneforme</i>	4 haftalık takviyeden sonra yaklaşık yumurta veriminde %46, polen %53 ve bal üretiminde %59 artma	Çekirdek besin destekleyici türlerin laktat aracılı çapraz beslenmesi	Alberoni v.d. 2018
<i>Bifidobacterium indicium</i>	4 haftalık takviyeden sonra yaklaşık yumurta veriminde %46, polen %53 ve bal üretiminde %59 artma	Çekirdek besin destekleyici türlerin laktat aracılı çapraz beslenmesi	Alberoni v.d. 2018
<i>Parasaccharibacter apium</i>	10.000 spor inokulasyonunu takiben erişkin <i>Nosema</i> spp.'nin temizlenmesinde ~%55 artma	Doğmasal bağışıklığın hazırlanması ve antifungal organik asitlerin üretimi	Corby-Harris v.d.2016
<i>Bacillus subtilis</i>	Bal üretiminde ~%17 artma, 8 ay boyunca nosemosis ve varroosis insidansının düşük seviyede sürmesi	-	Sabaté v.d. 2012
<i>Pediococcus acidilactici</i>	* <i>N. ceranae</i> infeksiyonu sırasında yetişkinlerde spor yükünde ~%80 azalma ve canlı kalma oranında ~%35 artma ** Bir tiaklopid-boskalid karışımına letal düzeyde maruz kalan erişkinlerin tamamına yakının sağ kalması	Konakçı aracılı AMP üretimi ve infeksiyondan kaynaklanan beslenme stresinin azaltılması Oksidatif strese tepki genleri katalaz ve glutasyon peroksidaz like-2 modülasyonu	Peghaire v.d. 2020
<i>Gilliamella apicola</i>	Yetişkinlerde diyet kaynaklı pektinin bağırsakta parçalanması yoluyla D-galacturonik asit üretimi	Fonksiyonel polisakkarit lyase ve karbonhidrat esteraz kodlayan genler	Zheng v.d. 2019
<i>Snodgrassella alvi</i>	* <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ile septik infeksiyonu takiben yetişkin sağkalım oranı artması * Deforme kanat virüsüne karşı yetişkin sağkalım oranının ~%15 artması ve 10 gün sonra <i>V. destructor</i> yükünün ~%25 azalması	Konakçı aracılı AMP üretimi Ökaryotik RNAi bağışıklık tepkisini indükleyebilen çift sarmallı (ds) RNA üretimini sağlayan genetik dönüşüm	Leonard v.d. 2020

Tablo düzenlenirken Daisley v.d. 2020b yararlanılmıştır.

DERLEME / REVIEW

Bal arılarında en fazla kullanılan probiyotik mikroorganizmalar ve kullanım alanları Lactobacillus (Laktik asit bakterileri-LAB):

Bağırsak mikrobiyal ekosisteminin korunmasında bal arısı gastrointestinal sistemin doğal sakinleri olan laktik asit bakterilerinin (LAB) önemli bir rolü vardır (Forsgren v.d. 2010, Endo ve Salminen 2013, Pachla v.d. 2018).

Bal arısı LAB'ları, besin sindiriminde, arıların immun sisteminin yüksek derecede uyarılmasında, patojenlerin ortadan kaldırılmasında ve bal arısı bağırsağındaki mikroflora homeostazının sürdürülmesinde oldukça önemlidir. Laktik asit bakterilerinin, patojenik mikroorganizmaları ortadan kaldıran antimikrobiyal maddeler (antimikrobiyal peptid-AMP) ürettiği bilinmektedir (Evans ve Lopez 2004, Crotti, v.d. 2013, Asama v.d. 2015, Raymann ve Moran 2018). Bal arılarındaki LAB'ların meydana getirdiği AMP'ler; helveticin J, bacteriolysin, alivaricin, enterolysin A ve thermophilin A'dir. Bu AMP'ler bağışıklık sisteminin çok önemli parçalarıdır ve aynı zamanda günümüzdeki antibiyotik tedavisine veya mikrobiyal enfeksiyonun önlenmesine umut verici bir alternatiftir (Ilyasov v.d. 2012, Danihlík v.d. 2016). Ayrıca laktozu ve diğer şekerleri fermente ederler, son ürün olarak laktik ve asetik asitler üretirek gastrointestinal sistemi asitleştirerek, bazı zararlı bakterilerin büyümesini engellerler (Forsgren v.d. 2010, Carina Audisio v.d. 2011, Pachla v.d. 2017, Pachla v.d. 2018).

Bal arılarının sindirim kanalındaki LAB kolonizasyonu, hastalıkların önlenmesinde önem taşımaktadır (Vásquez ve Olofsson 2009, Raymann ve Moran 2018). Sağlıklı ve konakçıya uygun bir bağırsak mikrobiyotası şekillendirmek ve arı sağlığını geliştirmek için, bal arısı kolonilerine verilecek polen takviyesinin gastrointestinal sistemde kolonize olan, arılar üzerinde yararlı etkileri bulunan ve bal arısına özgü laktik asit bakterileri ile yapılması önerilmektedir (Kazimierczak-Baryczko ve Szymaś 2006, Szymas v.d. 2012, Patruica v.d. 2013). Şeker şurubu takviyesi olarak kullanılan laktik asit bakterileri, patojenleri sadece laktik ve asetik asitlerin üretilmesi ve bağışıklık yanıtının modülasyonu ile değil, aynı zamanda hidrojen peroksit ve bakteriyosinlerin senteziyle de yok edebilmektedir (Butler v.d. 2013, Olofsson v.d. 2016, Janashia ve Alaux 2016, Pachla v.d. 2018).

Laktik asit bakterilerinin probiyotik olarak kullanıldığı bal arısı araştırmalarında 30 tür *Lactobacillus* kullanılmıştır. Bu bakterilerin *P. larvae* (AYÇ),

Melissococcus plutonius (Avrupa yavru çürüklüğü-AvYÇ), *Nosema apis* (*N. apis*) ve *Nosema cerenae* (*N. cerenae*) vb. bal arısı patojenleri ile oluşturduğu enfeksiyonlarda değişen oranlarda korunma, tedavi, hayatta kalma oranı, patojen yükü azalması gibi birçok yararı olduğu belirlenmiştir (Alberoni v.d. 2018, Ramos v.d. 2019). *A. mellifera*'dan izole edilen *Lactobacillus* türleri (*L. fructivorans*, *L. amylovorus*, *L. gasseri*, *L. kunkeei*) arasında *P. larvae* üzerine en iyi antimikrobiyal etkiyi *L. gasseri* ve *L. amylovorus*, en düşük etkiyi ise *L. fructivorans* göstermiştir (Kacaniova v.d. 2018). LAB'lar, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* A, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp. ve *Proteus* spp., gibi çeşitli patojenlere karşı geniş spektrumlu antibakteriyel bileşikler üretebilirler. LAB'lar aynı zamanda antioksidan etki de göstermektedir (Keerthi v.d. 2013, Sandi ve Salasia 2016). Tablo 2'de bal arılarından izole edilen LAB türleri ve invitro çalışmalarda etkili olduğu saptanan patojen türleri özetlenmiştir.

Yapılan bir araştırmada ise, çevre dostu *L. kunkeei* HD1 preparatlarının, probiyotik özellikleri sayesinde arıcılık sektöründe arı bağışıklık sistemini desteklemek ve antibiyotik tedavisine başvurmadan dirençli arılar üretmek için kullanılabileceği önerilmiştir. HD1'in *M. plutonius*'a karşı inhibe edici aktivitesi gelecekteki araştırmalar için önemli bulunmuştur (Ugras 2017).

Bir araştırmada kullanılan *L. kunkeei*'nin 9 suşunun biyofilm oluşturma yeteneği, yüksek oto-agregasyon ve hidrofobiklik gibi probiyotik olarak kullanım adaylığı için gerekli ön koşulları sağladığı ve kireç hastalığının etkeni *Ascosphaera apis*'i (*A. apis*) inhibe ettiği bildirilmiştir. LAB antifungal aktivitesi, mantar yüzey genişlemesinin sınırlandırılmasını, sporülasyonun kontrolünü, hif biyokütlesinin azalmasını ve metabolik biyosentetaz aktivitesinin bastırılmasını içerir (Schnürer ve Magnusson 2005, Dalié v.d. 2010). Ayrıca, *L. kunkeei* suşları, mikrobiyal disbiyoz durumunda bal arısı bağırsaklarındaki simbiyotik toplulukları eski haline getirmek veya güçlendirmek için şeker şurupları ile probiyotiklerin birlikte kullanımında önemli bir özellik olan yüksek ozmotik tolerans gösterdiği bildirilmiştir (Iorizzo v.d. 2020).

Ayrıca insektlerde organofosfat toksisitesi ve neonicotinoid kaynaklı doğal immün sistemin

baskılandığı durumlarda probiyotik olarak uygulanan bazı *Lactobacillus* suşlarının bu durumu azalttığı tespit edilmiştir (Chmiel v.d. 2019, Daisley v.d. 2017). *Lactobacillus* suşlarının polen ile birlikte verilmesinin özellikle de AYÇ salgınlarında, sükröz

solüsyonu ile verilmesinden daha etkili olduğu görülmüştür (Daisley v.d. 2017, Stephan v.d. 2019).

Tablo 2: Bal arılarından izole edilen LAB türlerinin *in vitro* çalışmalarda antimikrobiyal etkili olduğu mikroorganizmalar

Table 2: Microorganisms with antimicrobial effect of LAB species isolated from honey bees in invitro studies

LAB Türleri	Etkili olduğu mikroorganizma türleri	Kaynaklar
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Paenibacillus larvae</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>	Audisio v.d. 2011
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	Audisio vd. 2011
<i>L. kunkeei</i> Fhon2, <i>L. kunkeei</i> <i>Yubipro</i> , <i>L. kunkeei</i> Lahm	<i>Serratia marcescens</i> , <i>E.coli</i> , <i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , MRSA	Sandi ve Salasia 2016
<i>Lactobacillus</i> spp.	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , vancomycin-resistant <i>Enterococcus</i> (VRE)	Olofsson v.d. 2016
<i>L. apis</i> sp. nov	<i>Paenibacillus larvae</i> subsp. <i>larvae</i> , <i>Melissococcus plutonius</i>	Killer v.d. 2014
<i>L. gasseri</i> , <i>L. kunkeei</i> , <i>L. amylovorus</i> , <i>L. fructivorans</i> <i>F. fructosus</i>	<i>Paenibacillus</i> spp. Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA), <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Kacaniova 2018 Salman ve Saleh 2018

Tablo hazırlanırken Nurdjannah v.d. 2019 yararlanılmıştır.

Bütün bu veriler, terapötik ve antibakteriyel aktivite sergileyen bal arısı LAB simbiyotlarının enfeksiyon hastalıklarıyla mücadelede antibiyotiklere doğal ve alternatif bir olarak düşünülebileceğini göstermektedir.

Bifidobacterium:

Bal arılarında *Bifidobacterium* takviyesi ile ilgili araştırmaların çoğu, yavru üretimi uyarımına, koloni üretimini arttırmaya, noseosis ve kireç hastalığı gibi mantar hastalıklarının tedavisinde kullanımlarına odaklanmıştır (Pătruică ve Mot 2012, Baffoni v.d. 2016, Alberoni v.d. 2018). Laktik asit

DERLEME / REVIEW

üreten *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri birlikte kullanıldığında *Bifidobacterium* türlerinin etkileri ayrılamayabilir. Her iki mikroorganizmanın kireç hastalığının etkeni *A. apis*'i inhibe etme özelliği incelendiğinde *Lactobacillus* türlerinin tümünün *in vitro* olarak inhibe ettiği, *Bifidobacterium* suşlarının ise hiçbirinin etkili olmadığı belirlenmiştir (Moradi ve Ownagh 2019). *Bifidobacterium*'un yoğun olarak bulunduğu kolonilerde *N. ceranae*'de yoğun olarak bulunması *Bifidobacterium*'un probiyotik olarak kullanılmasının güvenilirliği hakkında şüpheler oluşturmaktadır (Zhang v.d. 2019). Bu durumun öncelikle, dışkılamayı geciktirebilen ve bağırsak ve kovanda *N. ceranae* sporlarının artmasına yol açabilen *Bifidobacterium*'un besleyici-teşvik edici etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Milani v.d. 2015).

Proteobacteriae:

Proteobacteria'nın bal arılarında bir 'probiyotik' olarak mevcut kullanımı, bu büyük gram-negatif bakteri grubunun, hayvanlarda bir takimi enfeksiyon, metabolik bozukluk ve inflamatuvar hastalıklara neden olmaktadır. Bu problemler dikkate alındığından bal arılarında probiyotik olarak kullanımı erken olabilir (Rizzatti v.d. 2017). Az miktarda *Proteobacteria* bulunması şüphesiz bal arılarına, suşa özgü niche olarak avantajı sunar.

Çekirdek Betaproteobacter grubundan olan biyofilm üreten *Snodgrassella alvi* (*S. alvi*) kullanarak *Lotmaria passim* (*L. passim*) protozoan kolonizasyonunu engelleme girişimleri başarısız olmuş ve beklenmedik bir şekilde, *S. alvi* takviyesi verilen bireylerin, tedavi edilmeyen bireylere göre daha yüksek oranda protozoan yüklerine, yüksek stres belirteçlerine sahip olduğu ve detoksifikasyon anahtar genlerinin ekspresyonunun azaldığı tespit edilmiştir (Schwarz v.d. 2016). Yine arı paraziti olan *Crithidia* spp. de *L. passim*'de olduğu gibi *Gammaproteobacteria* yoğunluğunda muhtemelen protozoon etkenleri tarafından bu bakterilerin besin olarak tüketilmesi sonucu protozoon artışına sebep olmaktadır (Rønn v.d. 2002, Koch ve Schmid-Hempel 2011). Ancak paraziter olmayan durumlarda *S. alvi* etkili bir probiyotik olarak belirlenmiştir. *Escherichia coli* (*E.coli*) ve *Serratia marcescens* (*S.marcescens*) tarafından meydana getirilen fırsatçı enfeksiyonlarda doğal bağışıklığı ve enfeksiyonda hayatta kalmayı arttırdığı belirlenmiştir (Kwong v.d. 2017a, Raymann v.d. 2017). Genetik olarak düzenlenen

S. alvi'nin deforme kanat virüsünü baskıladığı, *V. destructor*'un yaşam süresini kısalttığı belirlenmiştir (Leonard v.d. 2020). Herhangi bir genetik düzenleme yapılmamış *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis* ve *Lactobacillus salivarius* suşları kullanarak arı kolonisinin *V. destructor* akar yüklerinde 2 yıllık bir dönemde %50-80 azalma göstermesi probiyotiklerin arıcılık alanında kullanımı konusunda oldukça umut vericidir (Sabaté v.d. 2012, Alquisira-Ramírez v.d. 2014, Tejerina v.d. 2020).

Bacillus spp.:

Potansiyel probiyotik bakteriler olarak *Bacillus* spp. ile yapılan çalışmalar daha sınırlıdır. Bu tür bakteriler, fizyolojisine bağlı olarak, bal arılarında ve çevrelerinde yaygın olarak bulunur (Corby-Harris v.d. 2015). Bu bakteri türünün probiyotik olarak kullanımı konusunda yapılan bir araştırmada hem baldan hem de bal arısı bağırsağından izole edilen *Bacillus subtilis*'in *in vitro* olarak *P. larvae* ve *A. apis*'e karşı antagonistik etki gösterdiği bildirilmiştir (Sabaté v.d. 2009). Başka bir araştırmada ise *B. subtilis* subsp. *subtilis* Mori'nin arı kolonileri üzerinde kuluçka oranında artış, kontrol kovanları ile karşılaştırıldığında daha fazla bal üretimi ve *Varroa* ve *Nosema* oranlarının azalması sonucu daha sağlıklı bir kovan gibi olumlu etkileri tespit edilmiştir (Sabaté v.d. 2012).

Bacillus cinsindeki bakterilerin çoğu, *B. cereus* ve *B. anthracis* hariç, memeliler için patojen değildir. *Bacillus* türleri antimikrobiyal bileşikler olarak da bilinen iturin, surfactin, fengycins, bakteriyosinler ve bakteriyosin benzeri inhibitör maddeler (BLIS'ler) gibi çok çeşitli fonksiyonel ikincil metabolit benzeri antibiyotikler, biyoinsesitler, enzimler ve lipopeptitler üretir. Bu biyolojik ve ticari olarak önemli özellikler, onları probiyotik bakteri olarak kullanım için uygun bir aday yapar (Desai ve Banat 1997, Sabaté v.d. 2009).

Bal arılarının enfeksiyonlarında kullanılan probiyotikler Tablo 3'te gösterilmiştir.

Özellikle *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinin bal arılarının immun sistemini güçlü bir şekilde aktive ettiği, patojenleri inhibe eden antimikrobiyal bileşikler ürettiği, patojen bakterilerin kolonizasyonunu engellediği bildirilmiştir (Evans ve Lopez 2004, Forsgren v.d. 2010, Pătruică ve Mot 2012, Sabaté v.d. 2012, Maggi v.d. 2013).

Kolonideki bal arısı yoğunluğunun yüksek olması, koloni üyeleri arasında *trophallaxis* ve yavruların bakıcı arılar tarafından beslenmesi, kolonideki

bireyler arasında hastalıkların yayılmasında önem taşır (Chen v.d. 2006. Forfert v.d. 2015). Bu nedenlerden dolayı, bal arılarında hastalıkların önlenmesinde ve bunlarla mücadelede antibiyotiklere alternatif olarak probiyotik kullanımı özel bir önem taşımaktadır. Probiyotikler, sağlığı olumlu yönde etkileyen ve konakçılarının yaşam süresinin uzamasını destekleyen canlı, güvenli mikroorganizmalar olarak tanımlanır (Fuller 1989, FAO/WHO 2002). Bal arılarında besin takviyesi ile verilen probiyotik bakterilerin arı gastrointestinal sisteminde canlı kalabilme yetenekleri önemli bir

özelliğdir (Kumar ve Kumar 2015, Zuo v.d. 2016, Gaggia v.d. 2018). Probiyotik bakterilerin genellikle probiyotik uygulamasının kesilmesinden sonraki birkaç hafta içinde bağırsak kanalından kaybolduğu ve bağırsakta kalıcı kolonizasyonun nadiren meydana geldiği belirlenmiştir (Alander v.d. 1999, Duncan 2013). Gastrointestinal kanalda patojenlere karşı antagonist etki oluşturmadan önce probiyotiklerin üretim ve depolama sırasında da canlılığını sürdürebilmesi oldukça önemlidir (Iorizzo v.d. 2020). Bu özellikler de dikkate alınarak en uygun ve en güvenilir probiyotikler seçilmelidir.

Tablo 3: Bal arılarındaki bazı infeksiyonlarının tedavisi için kullanılan probiyotikler

Table1 3: Probiotics used for the treatment of some honey bee infections

Bal arısı hastalıkları	Kullanılan probiyotik mikroorganizmalar	Probiyotiklerin elde edildiği yerler	Probiyotiğin hastalıktaki etkileri	Kaynaklar
<i>P. larvae</i> - AYÇ	<i>L. kunkeei</i> , <i>L. mellis</i> , <i>L. kimbladii</i> , <i>L. kullabergensis</i> , <i>L. helsinborgensis</i> , <i>L. melliventris</i> , <i>L. apis</i> , <i>L. mellifer</i> , <i>B. asteroides</i> , <i>B. coryneforme</i> <i>B. thuringiensis</i> HD110, <i>B. laterosporus</i>	Bal Bal arısı bağırsağı	Larva ölüm oranında azalma Larva ölüm oranında azalma	Forsgren v.d. 2010 Hamdi ve Daffonchio 2011
<i>M. plutonius</i> - AvYÇ	<i>L. kunkeei</i> , <i>L. mellis</i> , <i>L. kimbladii</i> , <i>L. kullabergensis</i> , <i>L. helsinborgensis</i> , <i>L. melliventris</i> , <i>L. apis</i> , <i>L. mellifer</i> , <i>B. asteroides</i> , <i>B. coryneforme</i>	Bal	Larva ölüm oranında azalma	Vásquez v.d. 2012
<i>N. ceranae</i>	<i>L. kunkeei</i> Dan39, <i>L. plantarum</i> Dan91 <i>L. johnsonii</i> Dan92, <i>B. asteroides</i> DSM 20431, <i>B. coryneforme</i> C155, <i>B. indicum</i> C449.	Bal arısı bağırsağı	Tespit edilen spor miktarında azalma	Baffoni v.d. 2016
<i>Nosema</i> spp.	<i>P. apium</i> C6 <i>L. johnsonii</i> CRL1647 <i>Bacillus subtilis</i> Mori2 spoları	2. evre larva Bal arısı bağırsağı Bal	Tespit edilen spor miktarında azalma	Corby-Harris v.d. 2014 Audisio v.d. 2015 Sabaté v.d. 2012

Tablo hazırlanırken Alberoni v.d. 2016'dan yararlanılmıştır.

DERLEME / REVIEW

Birçok araştırma, bal arılarına probiyotiklerin verilmesinin arı sağlığını tehdit eden birçok durumda başarılı bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir. *Lactobacillus* suşları, iyi güvenlik profilleri, patojenlere karşı güçlü koruma, pestisit azaltıcı özellikleri ve beslenmeyi teşvik edici özellikleri nedeniyle en yararlı probiyotik olarak görülmektedir (Alander v.d.1999, Audisio v.d. 2011, Gaggia v.d. 2018). *Lactobacillus*'un immünostimülatör suşları, sağlıklı bir mikrobiyotayı şekillendirmede kritik roller oynadığı bilinen bazı konakçı antimikrobiyal peptitlerini yüksek derecede regüle ederek disbiyotik mikrobiyota fenotiplerini de yok edebilir. Bal arılarında gerçek anlamda steril bir ortam oluşturamama, probiyotik araştırmaları için deneysel bir zorluk teşkil etmektedir. Ayrıca, arılarda tek tür ve miks probiyotik takviyenin etkisini değerlendirirken, tür düzeyindeki işlevlerin aksine tür düzeyine ve kolonizasyon potansiyeline dikkat edilerek uygulanmalıdır (Daisley v.d. 2020b).

Arı sağlığı için doğru probiyotiklerin seçimi özellikle bağırsak mikrobiyota bileşimini modüle edilmesinin yanı sıra bağışıklık tepkisi üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir. Bal arılarında önemli ekonomik kayıplara neden olan birçok enfeksiyondan korunma ve tedavide doğru probiyotiğin uygun yolla ve uygun dozlarda verilmesi oldukça yararlıdır. Bu probiyotiklerin bal arılarından izole edilen türler olması da korunma ve tedaviyi kolaylaştırarak, bağırsak mikrobiyomunda dengeyi bozmayacak ve kolonizasyonu kolaylaştırılacaktır. Ayrıca probiyotiklerin polen, arı ekmeği ve şerbet gibi arı tüketimine uygun gıdalarla verilmesi başarıyı arttıracaktır.

Mali kaynak bulunmamaktadır.

Yazarlar arası çıkar çatışması yoktur.

Etik izin belgesi gerekli değildir.

KAYNAKLAR

Alander, M., Satokari, R., Korpela, R., Saxelin, M., Vilpponen-Salmela, T., Mattila-Sandholm, T., Von Wright, A., 1999. Persistence of colonization of human colonic mucosa by a probiotic strain, *Lactobacillus rhamnosus* GG, after oral consumption. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 351–354. <https://doi.org/10.1128/aem.65.1.351-354.1999>.

Alberoni, D., Baffoni, L., Gaggia, F., Ryan, PM., Murphy, K., Ross, PR., Stanton, C., Di, Gioia D. 2018. Impact of beneficial bacteria supplementation on the gut microbiota, colony development and productivity of *Apis mellifera* L. *Benef Microbes.* 9(2):269-278. doi:10.3920/BM2017.0061.

Alberoni, D., Gaggia, F., Baffoni, L., Di Gioia, D. 2016. Beneficial microorganisms for honey bees: problems and progresses. *Appl Microbiol Biotechnol.* 100(22):9469-9482. doi: 10.1007/s00253-016-7870-4.

Alquisira-Ramírez, EV., Paredes-Gonzalez, JR., Hernández-Velázquez, VM. et al. 2014. In vitro susceptibility of *Varroa destructor* and *Apis mellifera* to native strains of *Bacillus thuringiensis*. *Apidologie* 45: 707–718. <https://doi.org/10.1007/s13592-014-0288-z>.

Asama, T., Arima, TH., Gomi, T., Keishi, T., Tani, H., Kimura, Y., Tatefuji, T., Hashimoto, K. 2015. *Lactobacillus kunkeei* YB38 from honeybee products enhances IgA production in healthy adults. *J Appl Microbiol.* 119(3):818-26. doi: 10.1111/jam.12889.

Audisio, MC., Benítez-Ahrendts, MR. 2011. *Lactobacillus johnsonii* CRL1647, isolated from *Apis mellifera* L. bee-gut, exhibited a beneficial effect on honeybee colonies. *Benef Microbes.* 2(1):29-34. doi: 10.3920/BM2010.0024.

Audisio, MC., Sabaté, DC., Benítez-Ahrendts, MR. 2015. Effect of *Lactobacillus johnsonii* CRL1647 on different parameters of honeybee colonies and bacterial populations of the bee gut. *Benef Microbs.* 25:1–10. doi:10.3920/BM2014.0155.

Baffoni, L., Gaggia, F., Alberoni, D., Cabbri, R., Nanetti, A., Biavati, B., Di, Gioia D. 2016. Effect of dietary supplementation of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* strains in *Apis mellifera* L. against *Nosema ceranae*. *Benef Microbes.* 7(1):45-51. doi: 10.3920/BM2015.0085.

Butler, È., Alsterfjord, M., Olofsson, TC., Karlsson, C., Malmström, J., Vásquez, A. 2013. Proteins of novel lactic acid bacteria from *Apis mellifera mellifera*: an insight into the production of known extra-cellular proteins during microbial stress. *BMC Microbiol.* 22:13:235. doi: 10.1186/1471-2180-13-235.

- Carina, Audisio M., Torres, MJ., Sabaté, DC., Ibarguren, C., Apella, MC. 2011. Properties of different lactic acid bacteria isolated from *Apis mellifera* L. bee-gut. *Microbiol Res.* 166(1):1-13. doi: 10.1016/j.micres.2010.01.003.
- Celiberto, LS., Bedani, R., Rossi, EA., Cavallini, DC. 2017. Probiotics: The scientific evidence in the context of inflammatory bowel disease. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 57(9):1759-1768. doi: 10.1080/10408398.2014.941457.
- Chen, J., Wang, Q., Liu, CM., Gong, J. 2017. Issues deserve attention in encapsulating probiotics: Critical review of existing literature. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 157(6):1228-1238. doi: 10.1080/10408398.2014.977991.
- Chen, Y., Evans, J., Feldlaufer, M., 2006. Horizontal and vertical transmission of viruses in the honey bee, *Apis mellifera*. *J. Invertebr. Pathol.* 92: 152–159. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2006.03.010>.
- Chmiel, JA., Daisley, BA., Burton, JP., Reid, G. 2019. Deleterious effects of neonicotinoid Pesticides on *Drosophila melanogaster* immune pathways. *mBio* 10:e01395-19. <https://doi.org/10.1128/mBio.01395-19>.
- Corby-Harris, V., Maes, P., Anderson, KE. 2015. The bacterial communities associated with honey bee (*Apis mellifera*) foragers. *PLoS ONE* 9(4): e95056. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095056>.
- Corby-Harris, V., Snyder, LA., Schwan, MR., Maes, P., McFrederick, QS., Anderson, KE. 2014. Origin and effect of Alpha 2.2 Acetobacteraceae in honey bee larvae and description of *Parasaccharibacter apium* gen. nov., sp. nov. *Appl Environ Microbiol* 80:7460–7472. doi:10.1128/AEM.02043-14.
- Corby-Harris, V., Snyder, L., Meador, CAD., Naldo, R., Mott, B., Anderson, KE. 2016. *Parasaccharibacter apium*, gen. nov., sp. nov., Improves Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Resistance to Nosema. *J Econ Entomol.* 109(2):537-43. doi: 10.1093/jee/tow012.
- Crotti, E., Sansonno, L., Prosdoci, EM., Vacchini, V., Hamdi, C., Cherif, A., Gonella, E., Marzorati, M., Balloi, A. 2013. Microbial symbionts of honeybees: a promising tool to improve honeybee health. *N Biotechnol.* 30(6):716-722. doi: 10.1016/j.nbt.2013.05.004.
- Daisley, BA., Trinder, M., McDowell, TW., Welle, H., Dube, JS., Ali, SN., Leong, HS., Sumarah, MW., Reid, G. 2017. Neonicotinoid-induced pathogen susceptibility is mitigated by *Lactobacillus plantarum* immune stimulation in a *Drosophila melanogaster* model. *Sci Rep.* 7(1):2703. doi: 10.1038/s41598-017-02806-w.
- Daisley, BA., Pitek, AP., Chmiel, JA., Al, KF., Chernysova, AM., Faragalla, KM., Burton, JP., Thompson, GJ., Reid, G. 2020a. Novel probiotic approach to counter *Paenibacillus larvae* infection in honey bees. *ISME J* 14:476–491. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0541-6>.
- Daisley, BA., Chmiel, JA., Pitek, AP., Thompson, GJ., Reid, G. 2020b. Missing Microbes in Bees: How Systematic Depletion of Key Symbionts Erodes Immunity. *Trends Microbiol.* 28(12):1010-1021. doi: 10.1016/j.tim.2020.06.006.
- Dalié, DKD., Deschamps, AM, Richard-Forget, F. 2010. Lactic acid bacteria–potential for control of mould growth and mycotoxins: a review. *Food Control* 21:370–380. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.07.011>.
- Danihlík, J., Aronstein, K., Petřivalský, M. 2016. Antimicrobial peptides: A key component of honey bee innate immunity. *J Apic. Res.* doi: <https://doi.org/10.1080/00218839.2015.1109919>.
- Desai, JD., Banat, IM. 1997. Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiol Mol Biol Rev.* 61(1):47-64.
- Díaz-Vergara, L., Pereyra, CM., Montenegro, M., Pena, GA., Aminahuel, CA., Cavaglieri, LR. 2017. Encapsulated whey-native yeast *Kluyveromyces marxianus* as a feed additive for animal production. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 34(5):750-759. doi: 10.1080/19440049.2017.1290830.
- Duncan, B., 2013. Prebiotics, Probiotics, and Health Promotion: An Overview, in: Watson, R., Preedy, V. (Eds.), *Bioactive Food as Dietary Interventions for Liver and Gastrointestinal Disease.* Elsevier Inc., pp. 449–463.

DERLEME / REVIEW

- <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397154-8.00005-1>.
- Endo, A., Salminen, S. 2013. Honeybees and beehives are rich sources for fructophilic lactic acid bacteria. *Syst. Appl. Microbiol.* 36(6):444-448. doi: 10.1016/j.syapm.2013.06.002.
- Evans, JD., Lopez, DL. 2004. Bacterial probiotics induce an immune response in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). *J Econ Entomol.* 97(3):752-6. doi: 10.1603/0022-0493(2004)097[0752:bpiair]2.0.co;2.
- FAO/WHO, 2002. Food and Agriculture Organization: FAO/WHO Working Group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. FAO Food Nutr. Pap. 85 11.
- Forfert, N., Natsopoulou, M.E., Frey, E., Rosenkranz, P., Paxton, R.J., Moritz, R.F.A. 2015. Parasites and pathogens of the honeybee (*Apis mellifera*) and their influence on inter-colonial transmission. *PLoS One.* 10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140337>.
- Forsgren, E., Olofsson, TC., Váasquez, A., Fries I. 2010. Novel lactic acid bacteria inhibiting *Paenibacillus larvae* in honey bee larvae. *Apidologie* 41, 99–108. <https://doi.org/10.1051/apido/2009065>.
- Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* 66, 365–378. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1989.tb05105.x>.
- Gaggia, F., Baffoni, L., Alberoni, D. 2018. Probiotics for Honeybees' Health. In: Di Gioia, D. Biavati, B. (eds) Probiotics and Prebiotics in Animal Health and Food Safety. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-71950-4_9.
- Genersch, E. 2010. American Foulbrood in honeybees and its causative agent, *Paenibacillus larvae*. *J Invertebr Pathol.* 103 Suppl 1: S10-9. doi: 10.1016/j.jip.2009.06.015.
- Gourbeyre, P., Denery, S., Bodinier, M. 2011. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: impact on the gut immune system and allergic reactions. *J Leukoc Biol.* 89(5):685-95. doi: 10.1189/jlb.1109753.
- Hamdi, C., Balloi, A., Essanaa, J., Crotti, E., Gonella, E., Raddadi, N., Ricci, I., Boudabous, A., Borin, S., Manino, A., Bandi, C., Alma, A., Daffonchio, D., Cherif, A. 2011. Gut microbiome dysbiosis and honey bee health. *J. Appl. Entomol.* 135: 524–533. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2010.01609.x>.
- Hamdi, C., Daffonchio, D. 2011. Methods for the prevention and control of pathogenic infections in bees and relative composition. Patent Application WO/2011/138310.
- Hossain, Ml., Sadekuzzaman, M., Ha, SD. 2017. Probiotics as potential alternative biocontrol agents in the agriculture and food industries: A review. *Food Res Int.* 100: 63-73. doi:10.1016/j.foodres.2017.07.077.
- Ilyasov, RA., Gaifullina, LR., Saltykova, ES., Poskryakov, AV., Nikolenko, AG. 2012. Review of The expression of antimicrobial peptide defensin in honey bees *Apis mellifera* L. *J Apic Sci.* 56(1): 115-123. doi: <https://doi.org/10.2478/v10289-012-0013-y>.
- Iorizzo, M, Lombardi, SJ, Ganassi, S, Testa, B, Ianiro, M, Letizia, F, Succi, M, Tremonte, P, Vergalito, F, Cozzolino, A, Sorrentino, E, Coppola, R, Petrarca, S, Mancini, M, Cristofaro, A. 2020. Antagonistic Activity against *Ascosphaera apis* and Functional Properties of *Lactobacillus kunkeei* Strains. *Antibiotics (Basel).* 9(5):262. doi: 10.3390/antibiotics9050262.
- Janashia, I., Alaux, CC. 2016. Specific immune stimulation by endogenous bacteria in honey bees (Hymenoptera: Apidae). *J Econ Entomol.* 109: 1474–1477. <https://doi.org/10.1093/jee/tow065>.
- Kacaniova, M, Gasper, J, Terentjeva, M, Kunova, S, Kluz, M, Puchalski, C. 2018. Antibacterial activity of bees gut *Lactobacilli* against *Paenibacillus larvae* in vitro. *Advanced research in life sciences.* 2 (1): 7-10. doi: <https://doi.org/10.1515/arls-2018-0020>.
- Kazimierzczak-Baryczko, M., Szymaś, B. 2006. Improvement of the composition of pollen substitute for honey bee (*Apis mellifera* L.) through implementation of probiotic preparations. *J. Apic. Sci.* 50: 15–23.
- Keerthi, TR., Jacob, AA., Honey C. 2013. Honey bee gut flora as a source of LAB (Lactic Acid Bacteria) with probiotic capabilities. *J. Food Technol Photon* 105: 126-134.
- Killer, J., Dubna, S., Sedlacek, I., Svec, P. 2014. *Lactobacillus apis* sp. nov., from the stomach

- of honeybees (*Apis mellifera*), having an in vitro inhibitory effect on the causative agents of American and European foulbrood. *Int J Syst Evol Microbiol* 64: 152–157. doi: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.053033-0>.
- Koch, H., Schmid-Hempel, P. 2011. Socially transmitted gut microbiota protect bumble bees against an intestinal parasite. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 108(48):19288-92. doi: 10.1073/pnas.1110474108.
- Kumar, A., Kumar, D., 2015. Characterization of Lactobacillus isolated from dairy samples for probiotic properties. *Anaerobe*. 33: 117–123. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.03.004>.
- Kwong, WK., Mancenido, AL., Moran, NA. 2017a. Immune system stimulation by the native gut microbiota of honey bees. *R Soc Open Sci*. 4(2):170003. doi: 10.1098/rsos.170003.
- Kwong, WK., Medina, LA., Koch, H., Sing, KW., Soh, EJY., Ascher, JS., Jaffé, R., Moran NA. 2017b. Dynamic microbiome evolution in social bees. *Sci Adv*. 3(3):e1600513. doi: 10.1126/sciadv.1600513.
- Leonard, SP., Powell, JE., Perutka, J., Geng, P., Heckmann, LC., Horak, RD., Davies, BW., Ellington, AD., Barrick, JE., Moran, NA. 2020. Engineered symbionts activate honey bee immunity and limit pathogens. *Science*. 367(6477):573-576. doi: 10.1126/science.aax9039.
- Machova, M., Rada, V., Huk, J., Smekal, F. 1997. Entwicklung der bienenprobiotik. *Apiacta* 32: 99–111.
- Maggi, M., Negri, P., Plischuk, S., Szawarski, N., De Piano, F., De Feudis, L., Eguaras, M. Audisio, C. 2013. Effects of the organic acids produced by a lactic acid bacterium in *Apis mellifera* colony development, *Nosema ceranae* control and fumagillin efficiency. *Vet Microbiol*. 167:474–483. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.07.030>.
- Martinson, VG., Moy, J., Moran, NA. 2012. Establishment of characteristic gut bacteria during development of the honeybee worker. *Appl Environ Microbiol*. 78(8):2830-40. doi: 10.1128/AEM.07810-11.
- Maruščáková, IC., Schusterová, P., Bielik, B., Toporčák, J., Bíliková, K., Mudroňová, D. 2020. Effect of Application of Probiotic Pollen Suspension on Immune Response and Gut Microbiota of Honey Bees (*Apis mellifera*). *Probiotics Antimicrob Proteins*. 12(3):929-936. doi: 10.1007/s12602-019-09626-6.
- Milani, C., Turrone, F., Duranti, S., Lugli, GA., Mancabelli, L., Ferrario, C., van Sinderen, D., Ventura, M. 2015. Genomics of the Genus *Bifidobacterium* Reveals Species-Specific Adaptation to the Glycan-Rich Gut Environment. *Appl Environ Microbiol*. 82(4):980-991. doi: 10.1128/AEM.03500-15.
- Moradi, M., Ownagh, A. 2019. Antifungal effects of *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* on the *Ascospharea apis* causative agent of honey bee Chalkbrood disease. *J. Vet. Res*. 74: 273–282.
- Moran, NA. Genomics of the honey bee microbiome. 2015. *Curr Opin Insect Sci*. 10:22-28. doi:10.1016/j.cois.2015.04.003.
- Moran, NA., Hansen, AK., Powell, JE., Sabree, ZL. 2012. Distinctive gut microbiota of honey bees assessed using deep sampling from individual worker bees. *PLoS One*. 7(4): e36393. doi: 10.1371/journal.pone.0036393.
- Näpflin, K., Schmid-Hempel, P. 2016. Immune response and gut microbial community structure in bumblebees after microbiota transplants. *Proc Biol Sci*. 283(1831):20160312. doi: 10.1098/rspb.2016.0312.
- Nurdjannah, JN., Salaki CL., Rumokoy, LJM., Tallei, TE. 2019. Lactic Acid Bacteria from Honey Bees Digestive Tract and Their Potential as Probiotics. *Adv Biological Sciences Research, volume 8* International Conference and the 10th Congress of the Entomological Society of Indonesia (ICCESI 2019). doi: <https://doi.org/10.2991/absr.k.200513.041>.
- Oliveira, D., Vidal, L., Ares, G., Walter, EHM., Rosenthal, A., Deliza, RS. 2017. Sensory microbiological and physicochemical screening of probiotic cultures for the development of non-fermented probiotic milk. *LWT Food Sci. Technol*. 79: 234–241., doi: 10.1016/j.lwt.2017.01.020.
- Olofsson, TC., Butler, È., Markowicz, P., Lindholm, C., Larsson, L., Vásquez, A. 2016. Lactic acid bacterial symbionts in honeybees-an unknown key to honey's antimicrobial and therapeutic activities. *Int Wound J*. 13(5):668-679. doi: 10.1111/iwj.12345.

DERLEME / REVIEW

- Pachla, A., Ptaszyńska, AA., Wicha, M., Olen'ska, E., Małek, W. 2017. Fascinating fructophilic lactic acid bacteria associated with various fructose-rich niches. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, Sect. C – Biol.* 72, 41.
- Pachla, A., Wicha, M., Ptaszyńska, AA., Borsuk, G., Trokenheim, Ł., Małek, W. 2018. The molecular and phenotypic characterization of fructophilic lactic acid bacteria isolated from the guts of *Apis mellifera* L. derived from a Polish apiary. *J. Appl. Genet.* 59, 503–514. <https://doi.org/10.1007/s13353-018-0467-0>.
- Pătruică, S., Dumitrescu, G., Popescu, R., Filimon, NM. 2013. The effect of prebiotic and probiotic products used in feed to stimulate the bee colony (*Apis mellifera*) on intestines of working bees. *J. Food. Agric. Environ.* 11: 2461–2464.
- Pătruică, S., Mot, D. 2012. The effect of using prebiotic and probiotic products on intestinal micro-flora of the honeybee (*Apis mellifera carpatica*). *Bull Entomol Res.* 102(6):619-23. doi: 10.1017/S0007485312000144.Z.
- Patterson, JA., Burkholder, KM. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. 2003. *Poult Sci.* 82(4):627-631. doi: 10.1093/ps/82.4.627.
- Peghaire, E., Moné, A., Delbac, F., Debroas, D., Chaucheyras-Durand F., El Alaoui HA. 2020. *Pediococcus* strain to rescue honeybees by decreasing *Nosema ceranae* and pesticide-induced adverse effects. *Pestic Biochem Physiol.* 163:138-146. doi: 10.1016/j.pestbp.2019.11.006.
- Ptaszyńska, AA., Borsuk G., Zdybicka-Barabas, A., Cytryńska, M., Małek W. 2016. Are commercial probiotics and prebiotics effective in the treatment and prevention of honeybee nosemosis C? *Parasitol Res.* 115(1):397-406. doi: 10.1007/s00436-015-4761-z.
- Ramos, OY., Basualdo, M., Libonatti, C., Vega, MF. 2020. Current status and application of lactic acid bacteria in animal production systems with a focus on bacteria from honey bee colonies. *J Appl Microbiol.* 128(5):1248-1260. doi: 10.1111/jam.14469.
- Raymann, K., Bobay LM., Moran NA. 2018. Antibiotics reduce genetic diversity of core species in the honeybee gut microbiome. *Mol Ecol.* 27(8):2057-2066. doi: 10.1111/mec.14434.
- Raymann, K., Moran, NA. 2018. The role of the gut microbiome in health and disease of adult honey bee workers. *Curr. Opin. Insect Sci.* <https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.02.012>.
- Raymann, K., Shaffer, Z., Moran, NA. 2017. Antibiotic exposure perturbs the gut microbiota and Elevates mortality in honeybees. *PLoS Biol.* Mar 14;15(3):e2001861. doi: 10.1371/journal.pbio.2001861.
- Rizzatti, G, Lopetuso, LR., Gibiino, G, Binda, C., Gasbarrini, A. 2017. Proteobacteria: A Common Factor in Human Diseases. *Biomed. Res. Int.* 9: 1-7. doi: 10.1155/2017/9351507.
- Rønn, R., McCaig, AE., Griffiths, BS., Prosser, JI. 2002. Impact of protozoan grazing on bacterial community structure in soil microcosms. *Appl Environ Microbiol.*68(12): 6094-6105. doi:10.1128/aem.68.12.6094-6105.2002.
- Sabaté, DC., Carrillo, L., Audisio, MC. 2009. Inhibition of *Paenibacillus larvae* and *Ascosphaera apis* by *Bacillus subtilis* isolated from honeybee gut and honey samples. *Res Microbiol.* 160(3):193-9. doi: 10.1016/j.resmic.2009.03.002.
- Sabaté, DC., Cruz, MS., Benítez-Ahrendts, MR., Audisio, MC. 2012. Beneficial Effects of *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* Mori2, a Honey-Associated Strain, on Honeybee Colony Performance. *Probiotics Antimicrob Proteins.* Mar;4(1):39-46. doi: 10.1007/s12602-011-9089-0.
- Salman, SM., Saleh, G. 2018. Fructophilic lactic acid bacteria symbionts in honeybees – a key role to antimicrobial activities. *IOSR-JPBS.* 13 (1): 58-62. doi: <https://doi.org/10.9790/3008-1301055862>.
- Sandi, NA., Salasia, SIO. 2016. Alternative antibiotics source from symbiont of lactic acid bacteria inside stomach of honeybees (*Apis mellifera* and *Apis dorsata*) against multiresistant antibiotics pathogenic bacteria. *Res J. Microbiol.* 11 (2-3): 93-100. doi: <https://doi.org/10.3923/jm.2016.93.100>.
- Schnürer, J., Magnusson, J. 2005. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends Food Sci Technol* 16:70–78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.02.014>.
- Schwarz, RS., Moran, NA., Evans, JD. 2016. Early gut colonizers shape parasite susceptibility

- and microbiota composition in honey bee workers. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 113(33):9345-50. doi: 10.1073/pnas.1606631113.
- Stephan, JG., Lamei, S., Pettis, JS., Riesbeck, K., de Miranda, JR., Forsgren, E. 2019. Honeybee-Specific Lactic Acid Bacterium Supplements Have No Effect on American Foulbrood-Infected Honeybee Colonies. *Appl Environ Microbiol*. 85(13):e00606-19. doi: 10.1128/AEM.00606-19.
- Szymaś, B., Łangowska, A., Kazimierczak-Baryczko, M. 2012. Obraz histologiczny jelita s'rodkowego pszczół (*Apis mellifera* L.) _zywionych namiastkami pyłku kwiatowego wzbogaconymi probiotykami. *J. Apic. Sci*. 56: 5–12. doi: <https://doi.org/10.2478/v10289-012-0001-2>.
- Talpur, AD., Memon, AJ., Khan, MI., Ikhwanuddin, M., Danish, D., Abol-Munafi, AB. 2012. Inhibition of pathogens by lactic acid bacteria and application as water additive multi Isolates probiotics in early stages larviculture of *P. Pelagicus* (Linnaeus, 1758). *J. Anim. Plant. Sci*. 22: 54–64.
- Tejerina, MR., Benítez-Ahrendts, MR., Audisio, MC. 2020. *Lactobacillus salivarius* A3iob Reduces the Incidence of *Varroa destructor* and *Nosema* spp. in Commercial Apiaries Located in the Northwest of Argentina. *Probiotics & Antimicro. Prot*. 12: 1360–1369. <https://doi.org/10.1007/s12602-020-09638-7>.
- Ugras, S. 2017. Isolation, identification and characterization of probiotic properties of bacterium from the honey stomachs of Yigilca honeybees in Turkey. *Türk. entomol. Derg*. 41 (3): 253-261 doi: <http://dx.doi.org/10.16970/ted.74860>.
- Vásquez, A., Forsgren, E., Fries, I., Paxton, RJ., Flaberg, E., Szekely, L., Olofsson, TC. 2012. Symbionts as major modulators of insect health: lactic acid bacteria and honeybees. *PLoS One*. 7(3):e33188. doi:10.1371/journal.pone.0033188.
- Vásquez, A., Olofsson, TC. 2009. The lactic acid bacteria involved in the production of bee pollen and bee bread. *J. Apic. Res*. 48: 189–195. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.48.3.07>.
- Zhang, Y., Lu, X., Huang, S., Zhang, L., Su, S., Huang, WF. 2019. *Nosema ceranae* infection enhances *Bifidobacterium* spp. abundances in the honey bee hindgut. *Apidologie* 50: 353–362. <https://doi.org/10.1007/s13592-019-00644-5>.
- Zheng H., Perreau J., Powell JE., Zhang Z., Kwong WK., Tringe SG., Moran NA. 2019. Division of labor in honey bee gut microbiota for plant polysaccharide digestion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 116(51):25909-25916. doi:10.1073/pnas.1916224116.
- Zuo, F., Yu, R., Feng, X., Chen, L., Zeng, Z., Khaskheli, G.B., Ma, H., Chen, S., 2016. Characterization and in vitro properties of potential probiotic *Bifidobacterium* strains isolated from breast-fed infant feces. *Ann. Microbiol*. 66:1027–1037. <https://doi.org/10.1007/s13213-015-1187-x>.