اجتماعات میکروبی دستگاه گوارش در زنبوران اجتماعی

شبنم پری چهره

بخش زنبور عسل، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: آذرماه ۹۵ / **تاریخ پذیرش**: اردیبهشت ماه ۹۶

رایانامه: sh.parichehreh@gmail.com

چکیده:

میکروب های زنده دستگاه گوارش می توانند اثرات بسیار زیادی روی میزبان ها داشته باشند، اما مطالعه این روابط در انسان ها چالش برانگیز است. اجتماع میکروبی اختصاصی در زنبور عسل شبیه میکروب های زنده پستانداران است به طوری که مجموعه میکروبی هر ۲ گروه اغلب از باکتری های سازش یافته به میزبان و بی هوازی و کم هوازی اختیاری هستند. با این حال، اجتماع میکروبی دستگاه گوارش زنبور بسیار ساده تر از پستانداران بوده و تنها شامل ۹ دسته گونه ی مختلف باکتری غالب می باشند که توسط برهمکنش اجتماعی زنبوران بین افراد منتقل می شوند. تحولات اخیر، شامل کشف تغییرات در سطح استرین های باکتری های همزیست و شواهدی از عملکردهای تغذیه ای و حفاظتی آنها و همچنین گزارش های اکوفیزیولوژیکی یا بیماری های مختلف در ارتباط با اختلالات در اجتماع میکروبی، موجب شده که توجه محققین به نقش میکروب های زنده در سلامت زنبور عسل و استفاده از زنبور عسل به عنوان یک الگو برای مطالعات اکولوژیکی و تکامل همزیست های دستگاه گوارش جلب شود.

واژه های کلیدی: زنبوران اجتماعی، اجتماعات میکروبی، همزیستی، دستگاه گوارش.

میکروارگانیزم هایی که در دستگاه گوارش موجودات زندگی می کنند به روش های مختلف مانند کمک به هضم غذا، سم زدایی مولکول های مضر، تامین اسید آمینه های ضروری، محافظت آن ها در برابر انگل ها و بیمارگرها و تنظیم رشد و نمو و ایمنی آن ها به میزبان هایشان سود می رسانند (انگل و موران ۲۰۱۳). اگرچه اهمیت این همزیست ها هر روز در حال افزایش است، اما فرایندهای حاکم بر این اجتماع های میکروبی، تاحدزیادی روشن نیست. ترکیب جوامع میکروبی موجود در دستگاه گوارش موجودات، در بین و درون گونه ها تاحد زیادی با هم تفاوت دارند. به طور مثال، افراد انسانی می توانند جوامع مختلف میکروبی را در دستگاه گوارش خود داشته باشند که با جوامع میکروبی خویشاوندان انسان مثل شامپانزه ها وگوریل ها کاملاً متفاوت است (مولر و همکاران ۲۰۱۴). علت و معلول این اختلاف هنوز به خوبی مورد مطالعه قرار نگرفته است، هرچند این تغییرات به بیماری ها و رژیم غذایی افراد نیز می تواند مرتبط باشد (سانکار و همکاران ۲۰۱۵).

دستگاه گوارش انسان دارای صدها گونه باکتری است که مشخص کردن ترکیب گونه ها مشکل است و جداکردن اثرات هریک ازگونه ها حتی مشکل تر است. زیرا بسیاری از آن ها کشت نشده اند (سانکار و همکاران ۲۰۱۵). به علاوه، آزمایش ها روی انسان در شرایط کنترل شده قابل انجام نیست و مطالعاتی که به چگونگی اثر این همزیست ها روی انسان می پردازد را نمی توان در شرایط کنترل شده انجام داد و نتایج آن ها همیشه با شک و تردید همراه است. بی مهرگان به دلیل اینکه اغلب آن ها دارای جامعه میکروبی ساده می باشند، مدل های مناسبی برای این نوع مطالعات هستند. هرچند جامعه میکروبی بی مهرگان نیز از نظر ترکیب و گونه های غالب، گاهی غیر قابل پیش بینی است زیرا ممکن است میکروارگانیسم های فرصت طلب که در محیط وجود دارند وارد بدن آن ها شده باشد(انگل و همکاران ۲۰۱۳).

زنبور عسل *Apis mellifera* یک مدل کاربردی از جامعه میکروبی سازگار شده درون دستگاه گوارش را ارائه می دهد. فلور میکروبی زنبور عسل به فلور میکروبی پستانداران بسیار شبیه است با این تفاوت که تعداد همزیست های موجود در دستگاه گوارش زنبور عسل بسیار پایین است. زنبورها در کلنی های بسیار بزرگ که از چندین هزار ماده غیر بارور و یک ماده بارور تشکیل شده است زندگی می کنند (BOX1). دستگاه گوارش کارگران بالغ از همزیست های بسیار متمایز و تخصصی تشکیل شده است. به طور معمول ۹ دسته گونه ای مشخص به طور غالب در معده آن ها حضور دارند (موران و همکاران ۲۰۱۲) که هر کدام از آن ها نماینده یک استرین باکتریایی مرتبط می باشند. چندین مدرک در رابطه با نقش این همزیست ها در هضم غذا و محافظت آن ها در برابر انگل ها وجود دارد (انگل و همکاران ۲۰۱۲). مشابه با انسان، این جامعه میکروبی متشکل ازگونه های سازگار با میزبان هستند که به طور معمول نسبت به سطح اکسیژن اتمسفر غیر متحمل هستند و انتقال این باکتری ها به دیگر افراد از طریق برهمکنش اجتماعی بین میزبان ها اتفاق افتاده است (مارتینسون و همکاران ۲۰۱۲) (BOX2). اما در مقایسه با فلور میکروبی پستانداران، همه همزیست های باکتریایی موجود در دستگاه گوارش زنبور عسل، قابل کشت در آزمایشگاه است و می توان هر کدام را به زنبورهای عسلی که بدون همزیست هستند وارد کرد و مطالعات جامعی را انجام داد (انگل و همکاران ۲۰۱۳).

زیست شناسی زنبور عسل و اجتماعات میکروبی (BOX1)

زنبور عسل غربی با نام علمی *Apis mellifera* در مصر و نواحی شرقی اهلی شده است و از حدود ۴۰۰۰ سال پیش برای تولید عسل و موم مورد استفاده قرار می گرفته است (بلاچ و همکاران ۲۰۱۰) و به دلیل اقتصادی بودن، در کل دنیا گسترش یافته است. زنبوران عسل به عنوان عنصر اصلی تولید غذا محسوب می شوند، زیرا عمل گرده افشانی در بسیاری ازگیاهان را انجام می دهند. ارزش اقتصادی این زنبور در ایالت متحده امریکا به تنهایی بالغ بر ۱۷ بیلیون دلار در سال است (کالدرون ۲۰۱۲). دیگر گونه های زنبور، مثل زنبورهای جنس *Bombus* وگونه های دیگر جنس *Apis* نیز، گرده افشانی روی گیاهان وحشی را انجام می دهند که دارای اجتماعات میکروبی در دستگاه گوارش خود هستند و این جمعیت تقریباً شبیه به همان هایی است که به طور غالب در دستگاه گوارش زنبور عسل نیز وجود دارد.

از سال ۲۰۰۶، بسیاری از کندوهای زنبور عسل و جمعیت های وحشی زنبور بامبل از بین رفتند (کامرون و همکاران ۲۰۱۱). علت این پدیده به دلایل مختلف می تواند باشد که شامل سموم، مواد غذایی با ارزش غذایی پایین و بیماری است (وانبرگن و همکاران ۲۰۱۳). حرکت ویروس، باکتری ها و پاتوژن های یوکاریوتی در بین زنبورهای اجتماعی نیز می تواند به عنوان یک عامل اصلی و مهم دیگر در از بین رفتن این زنبورها باشد (کلی و همکاران ۲۰۰۷). همه این محرک های تنش زا روی زنبور عسل، ممکن است از طریق میکروارگانیسم های موجود در دستگاه گوارش زنبور عسل تحت تاثیر قرار گیرند. بنابراین،

علاوه بر فراهم کردن اطلاعاتی در مورد جمعیت میکروبی دستگاه گوارش در زنبور عسل، تحقیقات در مورد این میکروفلور می تواند به علت زوال کلنی های زنبور عسل کمک کند.

مقایسه میان باکتری های موجود در دستگاه گوارش زنبور عسل با انسان (BOX2)

تشابه بین میکروفلور دستگاه گوارش انسان و زنبور عسل

۱. انتقال بین میزبان ها از طریق برهمکنش های اجتماعی است. (مارتینسون و همکاران ۲۰۱۲)

۲. جمعیت میکروبی به خوبی در دستگاه گوارش میزبان هایشان سازگار شده اند به نحوی که خارج از دستگاه گوارش میزبان در طبیعت یافت نمی شوند (آندرسون و همکاران ۲۰۱۴).

۳. بیشترین رشد جمعیت در هر دو جمعیت میکروبی در غلظت اکسیژن کمتر از محیط می باشد (انگل و همکاران ۲۰۱۳).

۴. استرین های بسیار زیادی از گونه های باکتری موجود در دستگاه گوارش، وجود دارند (موران و همکاران ۲۰۱۲).

۵. اجتماعات میکروبی، هر کدام در جایگاه اختصاصی حضور دارند که بیشترین فراوانی را در قسمت انتهایی دستگاه گوارش دارند که بیشترین فعالیت هضم در آن ناحیه صورت می گیرد(مارتینسون و همکاران ۲۰۱۲).

۶. در معرض آنتی بیوتیک بودن سطح مقاومت را تحت تاثیر قرار می دهد.

وجه تمایز جمعیت میکروبی دستگاه گوارش زنبور عسل و دستگاه گوارش انسان

۱. جمعیت میکروبی در دستگاه گوارش زنبور عسل ساده است که به طور معمول از ۹ دسته گونه ای تشکیل شده و در اغلب موارد این افراد، ۹۵ درصد جمعیت میکروبی را تشکیل می دهند (موران و همکاران ۲۰۱۲).

۲. اغلب گونه ها در آزمایشگاه قابل کشت هستند (انگل و همکاران ۲۰۱۳)

۳. دستکاری آزمایشگاهی برای میکروفلور دستگاه گوارش در زنبور عسل تقریباً ساده است (انگل و همکاران ۲۰۱۵).

مشخصات فلور میکروبی زنبور

ترکیب جامعه میکروبی: در دستگاه گوارش افرادکارگر زنبور عسل ۹ دسته گونه ای باکتری شامل Alpha1، Alpha2، Gilliamella، Gamma1، Gamma2، Snodgrassella، Firm-4، Firm-5، Bifido زندگی می کند که بر پایه مطالعات متاژنومیک و مطالعاتی که روی ژن 16sr RNA انجام شده نشان می دهد که ۹۵ تا ۹۹ در صد از این فلور میکروبی بین افراد مختلف زنبور یکی هستند (موران ۲۰۱۲) (شکل ۱). دو باکتری گرم منفی که در همه افراد حضور دارند شامل *Snodgrasella alvi* و *Gilliamella apicola* است که به شاخه Proteobactria تعلق دارند.

در بین گرم مثبت ها، دو باکتری از شاخه Firmicute ها در همه افراد و به فراوانی حضور دارند که به نام *Lactobacillus* Firm-4 و *Lactobacillus* Firm-5 نامیده می شوند (مارتینسون ۲۰۱۱). هرچند گونه هایی که فراوانی آن ها نیز کم است مثل *Bifidobacterium asteroids* که در شاخه Actinobcater قرار دارد نیز در اغلب افراد بالغ یافت می شوند (بوتاسینی و همکاران ۲۰۱۱). این ۵ گونه باکتریایی هسته میکروفلوری (Core microflora) دستگاه گوارش زنبور عسل را تشکیل می دهد.

باکتری هایی با فراوانی و تعداد کمتر مثل *Frischella perrara* (انگل و همکاران ۲۰۱۳)، *Bartonella apis* (کسنروا و همکاران ۲۰۱۶)، *Parasacharibacter apium* (کربی هریس و همکاران ۲۰۱۴) و Gluconobacter که در دسته ۱ Alpha2، قرار می گیرند نیز در دستگاه گوارش زنبور وجود دارند. این گونه ها دارای نیچ محدودی در زنبور عسل هستند به طور مثال، باکتری های *F. perrara* یا عمومی هستند که در محیط کندو نیز یافت می شوند و یا *P. apium*. به همین دلیل است که در مطالعاتی که روی میکروفلور همزیست های زنبور عسل انجام می شود فراوانی این باکتری ها در بدن زنبور به میزان کمی مشاهده می شود.

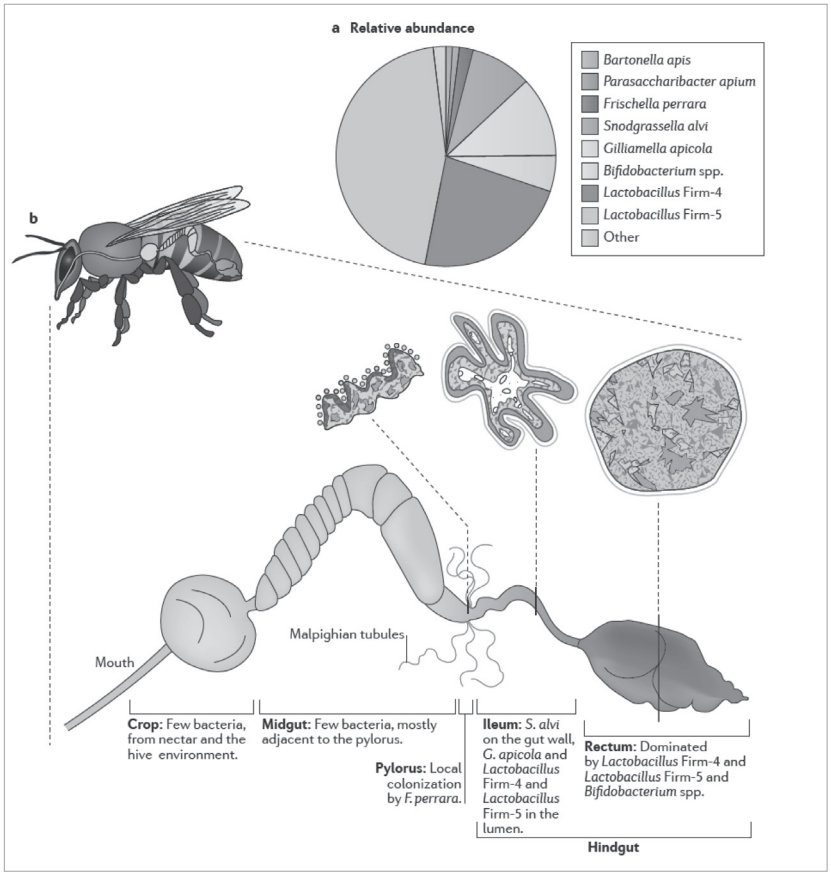
به طور کلی، پنج باکتری اصلی و ۴ باکتری که کمتر وجود دارند جامعه میکروبی زنبور عسل را تشکیل می دهند. اگر چه باکتری های دیگری نیز ممکن است به طور اتفاقی حضور داشته باشند، اما این نه دسته در واقع اجداد باکتری ها را نشان می دهد که در طول زندگی زنبور عسل به طور اختصاصی سازگار شده اند. تفاوت در فراوانی و شیوع آن ها در بین گونه ها به احتمال زیاد می تواند به دلیل محل خیلی اختصاصی آن ها و یا نیچ متابولیکی آن ها باشد همانطور که در حیوانات دیگر نیز این پدیده مشاهده می شود(دونالسون ۲۰۱۶).

این سازماندهی در محل حضور باکتری های میکروفلور دستگاه گوارش، در افراد کارگر زنبور عسل مطالعه شده است (شکل ۱ ب). باکتری های کمی در قسمت چینه دان، که برای ذخیره و انتقال شهد برای تغذیه لاروها و تولید عسل به کار می رود، وجود دارند (مارتینسون ۲۰۱۲). به همان نسبت، تعداد آن ها از نظر گونه نیز محدود می باشد. به طور مثال افراد *L. kunkeii*، *Entrobacteriaceae* و *P. apium* که در شهد و

محیط کندو زندگی می کنند و در شرایط غلظت اکسیژن اتمسفر نیز می توانند قابل کشت باشند، در چینه دان زندگی می کنند (کربی هریس و همکاران ۲۰۱۴). همچنین باکتر ی های کمی در معده اصلی (معده میانی) وجود دارد (مارتینسون ۲۰۱۲). معده حشرات که برای هضم و جذب مواد غذایی به کار می رود یک محیط پایدار برای تشکیل کلنی باکتری ها پدید نمی آورد. همچنین به دلیل اینکه پرده دور غذا که جنس کیتینی دارد و پس از هر بار تغذیه از بدن دفع می شود، محل مناسبی برای تشکیل کلنی باکتری ها فراهم نمی آورد (انگل ۲۰۱۳).

در مقابل، معده عقبی با یک لایه ثابت کیتینی پوشیده شده است و حاوی اجتماع عظیم باکتریایی هستند که به طور تقریبی حاوی ۱۰۸ و ۱۰۹ سلول باکتری هستند. این تعداد، بیش از ۹۹ درصد باکتری های یک فرد بالغ کارگر را تشکیل می دهند (مارتینسون ۲۰۱۲). معده عقبی به دو بخش مجزا ایلئوم و رکتوم تقسیم می شود که هر کدام از آنها دارای میکروفلور خاصی می باشند. ایلئوم که یک دستگاه باریک با ۶ تا خوردگی، با باکتری های گرم منفی اشغال شده است. در لومن باکتری *S. alvi* یک لایه مستقیمی روی دیواره معده تولید می کند که روی آن یک لایه باکتری *G.apicola* تشکیل می شود. این اجتماع باکتری ها تا دریچه پیلور (ناحیه کوچکی از محل اتصال معده میانی، ایلئوم و دستگاه های مالپیگی) کشیده می شوند (انگل و همکاران ۲۰۱۵). در پیلور، باکتری *F. perrara* به فراوانی وجود دارد و در اپیتلیوم معده تشکیل کلنی می دهد (انگل ۲۰۱۵).

رکتوم که در انتهای معده عقبی وجود دارد جایی است که مدفوع قبل از دفع نگه داری می شود و ممکن است جذب دوباره آب و نمک ها در این ناحیه اتفاق بیافتد. در ناحیه رکتوم باکتری های گرم مثبت *B. asteroids* وجود دارند (مارتینسون ۲۰۱۲). همچنین، دو گروه گونه ای لاکتوباسیلوس که در ناحیه ایلئوم یافت می شوند، به فراوانی در ناحیه رکتوم وجود دارند. تاکنون، سازوکار مولکولی کلنی سازی باکتری ها در معده زنبور عسل مطالعه نشده است اما ژن هایی که باعث چسبیدن و تولید بیوفیلم می شود در مطالعات ژنومی باکتری های همزیست به فراوانی وجود دارند (انگل ۲۰۱۲) (شکل ۱).



شکل ۱) ترکیب و پراکندگی جمعیت میکروبی در دستگاه گوارش زنبور عسل. ترکیب افراد باکتریایی در زنبور کارگر معمولی بر پایه مطالعات ژنومی 16sr RNA. محل تجمع این باکتری ها در دستگاه گوارش به روش FISH و qPCR رو بروی شکل نشان داده شده است.

اختصاصی بودن برای گونه میزبان:

علاوه بر زنبور عسل، زنبورهای دیگری که برای جمع اوری گرده، سبد گرده دارند نیز حاوی همزیست های باکتریایی هستند که از گونه های مشابه با باکتری های موجود در دستگاه گوارش زنبور عسل هستند. این زنبورها که این باکتری ها را دارند شامل زنبورهای حقیقی اجتماعی مثل .*Bumbus* spp. و گونه های دیگر جنس *Apis* می باشند. در مقابل، زنبورهای انفرادی و زنبورهای اجتماعی (غیر از آن هایی که برای جمع آوری گرده سبد گرده دارند) از این اجتماع همزیستی بهره نمی برند (مارتینسون و همکاران ۲۰۱۱). اغلب ۵ باکتری هسته میکروبی در زنبورهای *Bombus* و گونه های دیگر جنس *Apis* مشاهده شده اند(رونکوا ۲۰۱۵). گونه باکتری *Apibacter adventoris* (کانگ ۲۰۱۶)که متعلق به شاخه *Bacteroidetes* است و اختصاصی زنبورها نیز است و همچنین در زنبور *Bombus* و گونه های *Apis* یافت شده است، نیز در بدن زنبور عسل وجود دارد هرچند که میزان آن بسیار کم است(رونکووا ۲۰۱۵). اجداد دیگر باکتری ها به نظر می رسد که میزبان اختصاصی داشته باشند: باکتری *B. apis* و *F. perrara* فقط در گونه های جنس *Apis* مشاهده می شوند در حالی که همزیست *Candidatus schmidhempelia bombi* و *Bombiscardovia coagulates* اغلب در دستگاه گوارش جنس *Bombus* یافت می شوند. باکتری های Bifidiobacterium در گونه های جنس *Apis* نیز وجود دارند (الگارد ۲۰۱۵).

در بین دسته های گونه ای باکتریایی، میزبان های مختلف می توانند استرین های مختلفی از باکتری ها را دارا باشند و گونه هایی که از لحاظ تاکسونومی به هم نزدیک ترند، استرین های باکتریایی مشابه هم دارند. این پدیده، گونه زایی همراه و سازگار شدن همراه که در طول سالیان دراز طی تکامل اتفاق افتاده است را بیان می کند (کوچ ۲۰۱۳). این اختصاصی بودن از طریق عدم توانایی انتقال استرین های مختلف همزیست های دستگاه گوارش به میزبان های دیگر تقویت می شود. برای مثال، آزمون های انتقال استرین های *S. alvi* نشان داده است که استرین های جدا شده از دستگاه گوارش زنبور عسل قادر به تشکیل کلنی در زنبورهای جنس *Bombus* نیست و حالت برعکس آن نیز اثبات شده است (کانگ ۲۰۱۵).

یک مطالعه جامع ژنومیکی که روی باکتری *L. kunkeei* که به فراوانی در شهد و محیط کندو و به ندرت در دستگاه گوارش حضور دارد، نشان داد که این باکتری به طور متناوب بین میزبان ها جا به جا می شود و هیچ شواهدی مبنی بر گونه زایی همراه بامیزبان خاصی وجود ندارد (تاماریت و همکاران ۲۰۱۵). اعضای خانواده Acetobacteriaceae که شامل *P. apium* و گروه های گونه ای ۱، Alpha2 می شود، بعضی مواقع در دستگاه گوارش افراد بالغ چندین گونه از زنبورها وجود دارند اما در شهد، گرده، محیط کندو و لاروها نیز یافت می شوند و به نظر می رسد که غلظت اکسیژن اتمسفر را نیز می تواند تحمل کند (مارتینسون ۲۰۱۱). باکتری های میکروفلور هسته ای به طور معمول در طبیعت و خارج از دستگاه گوارش زنبور یافت نمی شوند. این محدودیت در نیچ اکولوژیکی، از طریق عدم توانایی این باکتری ها برای تکثیر در غلظت اکسیژن جو، احتمالاً اجباری باشد. باکتری های هسته به طور معمول غیر هوازی هستند و بنابراین انتقال آن ها به میزبان های دیگر از طریق رفتارهای اجتماعی اتفاق می افتد (BOX 3). این ارتباط با مسیری که از طریق آن پستانداران این میکروب ها رابه دست می آورند یکسان است و الگوی رشد و نمو در میکروفلور دستگاه گوارش در طول زندگی زنبور را نشان می دهد.

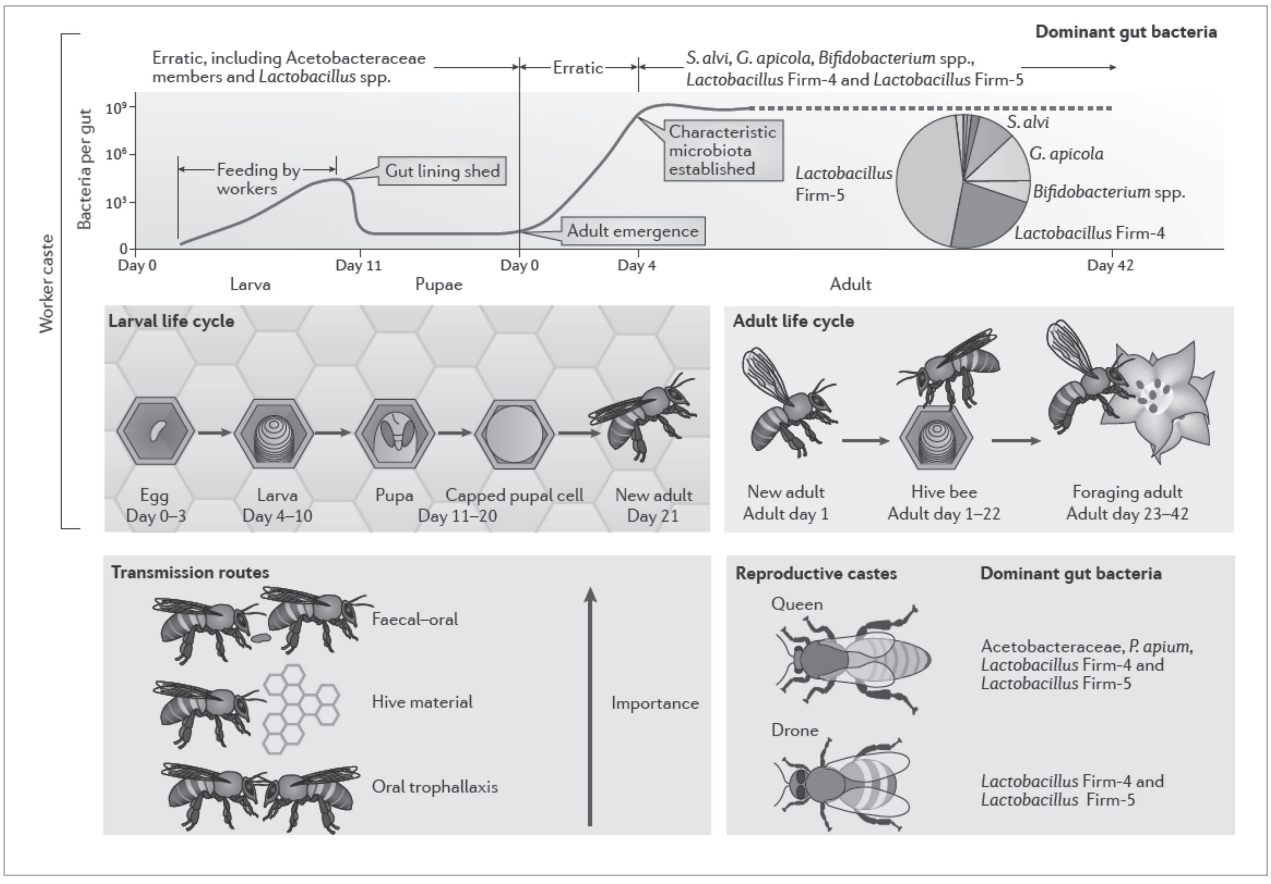
تغییر میکروفلور دستگاه گوارش با سن افراد، کاست(cast) و فصل:

لاروهای تازه متولد شده فاقد باکتری های همزیست هستند اما در طول دوره رشد از طریق تغذیه که توسط کارگرها انجام می شود آن ها را به دست می آورند. این عکس العمل ها، ممکن است منجر به تجمع باکتری ها از محیط کندو به داخل دستگاه گوارش عاری از باکتری ها شود اما، ترکیب و فراوانی آن ها در دستگاه گوارش لاروها غیر قابل پیش-بینی است (مارتینسون ۲۰۱۲). این تضادها در اجتماعات میکروبی دستگاه گوارش لاروها در ازمایشگاه و در حالت طبیعی ممکن است به خاطر شرایط کلنی و رژیم غذایی آن ها باشد. در طول پوست اندازی لارو و تبدیل آن ها به شفیره و افراد بالغ، پوشش دستگاه گوارش دفع می شود و افراد بالغ تازه خارج شده، تقریباً باکتری ندارند یا خیلی کم دارند و در چند روز ابتدایی این باکتری ها را قبل از خروج از کندو به دست می آورند (رونکوا ۲۰۱۵) (شکل ۲)(BOX 3) .

علاوه بر هزاران زنبور کارگر ماده، یک ملکه و چندین فرد نر نیز در کلنی حضور دارند. تحقیقات بر پایه ژن 16s rRNA نشان می دهد که یک تفاوت اساسی در اجتماعات میکروبی دستگاه گوارش ملکه با زنبورهای کارگر وجود دارد که از نظر تعداد و گونه یا باکتریایی متفاوت است و برخی گونه های مشخص که در دستگاه گوارش کارگرها یافت می شوند را ندارند (کافیم ۲۰۱۵). دستگاه گوارش ملکه ها اغلب توسط افراد خانواده Acetobacteriaceae که شامل *P. apium* و گروه گونه ای ۱، Alpha2 ،۱ می باشد اشغال شده است. این تفاوت در ترکیب

افراد حاضر در دستگاه گوارش، احتمالاً به دلیل فیزیولوژی و رژیم غذایی خاص ملکه باشد که با مواد غذایی با ارزش غذایی بالا توسط زنبورهای کارگر همراه، تغذیه می شوند. باکتری های دستگاه گوارش افراد نر تقریباً شبیه به باکتری های افراد کارگر می باشد؛ اگر چه تغییراتی در تعداد افراد وجود دارد. به طور مثال، تعداد باکتری های *Lactobacillus* در دستگاه گوارش آن ها بیشتر می باشد که دلیل این امر هنوز مشخص نشده است (لیم ۲۰۱۵).

در مقایسه با افرادنر و زنبور ملکه (لیم ۲۰۱۵) و همچنین حشرات دیگر (انگل و همکاران ۲۰۱۳)، افراد بالغ کارگر، گونه های باکتریایی خاص و مشخصی در دستگاه گوارش دارند. با این حال، حتی افراد همسن نیز می توانند در تعداد و نوع باکتری های اصلی موجود در دستگاه گوارش، متفاوت باشند (پاول و همکاران ۲۰۱۴). ممکن است باکتری های همزیست موجود در دستگاه گوارش، به دلیل نوع تغذیه و تغییر در فصل و سن افراد کارگر متفاوت باشند (رونکوا و همکاران ۲۰۱۵). دلیل اینکه این تغییرات خاص به دلیل ناحیه جغرافیایی می باشد و یا شرایط محیطی، هنوز مشخص نیست. به همین دلیل، نمی توان مقایسه صحیحی ارائه داد زیرا که آزمایش های مختلف در آزمایشگاه های مختلف و با پروتوکل های متفاوت انجام شده است. کارگران مسن تر تعداد افراد کمتری از باکتری ها نسبت به افراد جوانتر دارند (رونکوا و همکاران ۲۰۱۵). برخی مطالعات انجام شده بر پایه 16sr RNA نشان می دهد که تغییرات اندکی در ترکیب باکتری های حاضر در دستگاه گوارش افراد کلنی هایی که در نقاط مختلف قرار دارند، مشاهده می شود (موران و همکاران ۲۰۱۲). مطالعه دیگری گزارش کرده است که تغییرات خیلی جزئی در ترکیب افراد باکتری در طول فصل از بهار تا پاییز اتفاق می افتد (کربی هریس و همکاران ۲۰۱۴).



شکل ۲) چرخه زندگی زنبور عسل و تغییرات همراه در جمعیت میکروبی دستگاه گوارش. جمعیت میکروبی کاست کارگر به خوبی مورد مطالعه قرار گرفته است. مطالعات نشان داده است که کارگر های تازه متولد شده تعداد باکتری های کمی دارند یا اصلا ندارند و باکتری های اولیه را از مدفوع دیگر کارگران دریافت می کنند اگرچه راه های انتقال دیگری نیز ممکن است وجود داشته باشد (BOX 3). تعداد دقیق باکتری های همزیست در هر مرحله توسط qPCR تخمین زده می شود و در هر مطالعه متفاوت گزارش شده است. به طور مشابه، فراوانی گونه های غالب در بین افراد کلنی و روش نمونه برداری متفاوت گزارش شده است.

انتقال جمعیت میکروبی در زنبور عسل (Box 3)

اجتماعی بودن، که شامل تقسیم و به اشتراک گذاشتن منابع کندو برای همه است، مهم ترین عامل برای انتقال همزیست ها در بین افراد است(شکل ۲). بعد از تشکیل شفیره در سلول های بسته کندو، افراد بالغ که عاری از هر نوع همزیست هستند ظاهر می شوند (کانگ و همکاران ۲۰۱۴). اگر این افراد را به صورت دستی از سلول ها خارج کنیم و در محیط استریل آزمایشگاه پرورش دهیم، هیچ نوع همزیستی را در طول عمر دریافت نمی کنند. افراد بالغ که می خواهند از سلول ها بیرون بیایند با جویدن لایه مومی، این همزیست ها را که روی سطح موم وجود دارند دریافت می کنند.

مراحل رشد و نمو، تعداد و ترکیب افراد در دستگاه گوارش زنبور عسل از طریق امپلی فای کردن ژن 16s در طی مرحله رشدی زنبور عسل تخمین زده می شود (مارتینسون و همکاران ۲۰۱۲). در ابتدا جمعیت میکروبی از نظر ترکیب، کوچک و غیر قابل پیش بینی است که اغلب آن ها باکتری های محیطی هستند و در نواحی مختلف دستگاه گوارش این ترکیب افراد، تفاوتی با هم دیگر ندارند. در روز سوم، جمعیت میکروبی حاوی در حدود ۱۰۷ سلول باکتری در هر ناحیه می شود که قسمت ایلئوم و رکتوم به آن جمعیت نرمال مورد انتظاراز نظر ترکیب و تعدا افراد می رسد.

این جمعیت در روز هشتم به ۱۰۹ سلول باکتری در هر ناحیه می رسد. زمانی که افراد مستقر شدند، این اجتماع میکروبی ثابت می ماند حتی اگر کارگر ها به محیط دیگر وارد شوند و مراحل رفتاری متفاوت داشته باشند. این تغییر، از جمعیت ابتدایی متغیر به یک جمعیت غالب غیر قابل تغییر در نوزادان انسان نیز مشاهده می شود(پالمر و همکاران ۲۰۰۷). این استقرارجامعه میکروبی قبل از خروج زنبورها از کندو اتفاق می افتد و نشان می دهد که انتقال از طریق زنبوران کارگر پرستار یا مواد کندو مثل سطح موم اتفاق می افتد.

در یک آزمایش مشخص شد که اجتماعات میکروبی نرمال زمانی اتفاق می افتد که زنبورها با زنبورهای پیرتر و یا با مدفوع خیس خورده زنبورها تغذیه می شوند(پاول و همکاران ۲۰۱۴). بر اساس آزمایش ها مشخص شده است که در روش trophollaxis (معمول ترین نوع رفتاری برای ارتباط و تبادل غذا) مهم ترین راه انتقال نیست و این پدیده مشاهدات مبنی بر کم بودن جمعیت میکروبی در ناحیه معده جلویی foeregut را تایید می کند (مارتینسون و همکاران ۲۰۱۲). مسیر مدفوعی به ویژه برای باکتری های *Snodgrasella alvi*, *Gilliamella apicola* و *Frischella perrara* مهم به نظر می رسد(پاول و همکاران ۲۰۱۴). اگرچه جمعیت میکروبی ممکن است از طریق تماس با مواد کندو که در ارتباط با زنبوران پیرتر بوده است به دست اورده شوند (پاول و همکاران ۲۰۱۴). گونه های باکتری خانواده Acetobacteriaceae ممکن است از طریق دانه های گرده ذخیره شده به افراد جوان انتقال یابند(آندرسون و همکاران ۲۰۱۴).

تغییر در اجتماعات میکروبی زنبور

به طور اتفاقی، در زنبورهای کارگر یک تغییر اساسی در ترکیب معمولی اجتماعات باکتری ها وجود دارد (شکل ۲). این تغییر اغلب مربوط به باکتری های محیطی فرصت طلب هستند که اغلب شامل خانواده Entrobacteriaceae (به طور مثال، افراد جنس *Klebsiella*, *Pantoea*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Hafni*) و دیگر افراد Gammaproteobacteria هستند (موران و همکاران ۲۰۱۲). این تغییر جهت اغلب به خاطر بیماری می باشد و شبیه به حمله proteobacter های فرصت طلب به دستگاه گوارش انسان می باشند که این پدیده در چندین بیماری مثل بیماری Crohn دیده شده است (چو و همکاران ۲۰۱۲). زنبورهای مخملی (Bumble bees) به نظر می رسد که در این تغییر مستعدتر از زنبورهای عسل باشند.

در تحقیقی که در مورد ترکیب افراد حاضر در دستگاه گوارش زنبورهای مخملی در سه کندو در نیوجرسی انجام شد مشخص شد که هر سه گونه حاوی *S. alvi*, *Lactobacillus* Firm-4 *G.apicola*, و *Lactobacillus* Firm-5 می باشند. هرچند، در برخی افراد، برخی گونه های محیطی از خانواده Acetobacteriaceae و Entrobacteriaceae وجود داشتند. این گونه های مزاحم در هر سه گونه بودند اما از لحاظ فراوانی با همدیگر تفاوت داشتند و همبستگی مثبتی بین پارازیت های یوکاریوتی دستگاه گوارش آن ها وجود داشت (کوچ و همکاران ۲۰۱۲). به طور مشابه، در تحقیقی که روی ۲۸ گونه زنبور مخملی در چین انجام شد مشخص شد که باکتری های موجود در دستگاه گوارش در دو گروه مشخص قرار دارند که فراوانی آن ها در بین گونه ها متفاوت است (لی و همکاران ۲۰۱۵). گروه اول شامل باکتری هایی است که در زنبورهای سبدگرده ای به وفور یافت می شود مثل *S. alvi, G. apicola, Lactobacillus* Firm-4 و

Lactobacillus Firm-5. گروه دوم شامل گروه های متنوعی از Entrobacteriaceae و Prteobacteria و لاکتوباسیل های محیطی بودند.

در مطالعات دقیق تر با استفاده از کلنی های زنبور مخملی اروپایی *Bombus terrestris* نشان داده شد که تغییر به باکتری هایی که جزو هسته اصلی نیستند در زنبورهایی اتفاق می افتد که در معرض استرس و تهاجم از سمت کلنی های دیگر قرار دارند. به طوری که زنبورهای وحشی نسبت به زنبورهای غیروحشی احتمالاً حاوی باکتری های غیر هسته ای خانواده Entrobacteriaceae در دستگاه گوارش هستند (پارمنتیر و همکاران ۲۰۱۵). در مجموع، این تحقیقات نشان می دهد که باکتری های همزیست دستگاه گوارش توسط افراد بالغ جوان در کلنی به دست آورده می شوند که باکتری های سازگار از یک جمعیت نرمال باکتری می باشد اما جمعیت میکروبی تک تک افراد ممکن است متفاوت باشد و توسط باکتری های فرصت طلب دیگر نیز اشغال شده باشد. علت این اختلال در جمعیت میکروبی هنوز مشخص نشده است. در زنبور عسل، مشخص شده است که پاسخ ایمنی سلول های پوششی (اپیتلیای) دستگاه گوارش در افراد جوان (که هنوز در کندو حضور دارند) با افراد کارگر پیر (که در معرض میکروارگانیزم فرصت طلب مختلفی قرار دارند) تفاوت چندانی ندارد، اگرچه این پدیده لزوماً باعث تغییر در جمعیت میکروبی به دلیل تفاوت در تغذیه و یا عوامل استرس نمی شود (جفرسون و همکاران ۲۰۱۳).

یک دلیل دیگر برای تغییر جمعیت میکروبی، استفاده از انتی بیوتیک می باشد که به طور گسترده در صنعت تولید عسل در همه جای دنیا مورد استفاده قرار می گیرد. زنبورداران در ایالت متحده امریکا در سال ۱۹۵۰ از اکسی تتراسیکلین برای مبارزه با باکتری های *Paenibacillus larvae* و *Melissococcus plutonius* عامل بیماری *foulbrood* استفاده کرده اند (ریبروک و همکاران ۲۰۱۲). متقابلاً، آنالیز جمعیت میکروبی دستگاه گوارش زنبورها در ایالت متحده با استفاده از مطالعات متاژنومیک نشان داده است که چندین ژن مقاومت به تتراسیکلین با فراوانی بالا در زنبورها وجود دارد. این مقاومت در باکتری های گرم مثبت و گرم منفی وجود دارد و اغلب اوقات با المنت های ژنتیکی محرک (genome mobile elements) همراه هستند (تیان و همکاران ۲۰۱۲). ژن های مقاومت در همه کلنی هایی که در ایالت متحده وجود دارند ردیابی شده است، هرچند که این ژن های مقاومت در جمعیت های طبیعی و کلنی هایی که برای چندین سال در معرض آنتی بیوتیک نبوده اند به میزان کمی وجود دارد. در مقابل، ژن مقاومت در زنبورهای مخملی که در طبیعت گرفته شده اند و در کلنی های زنبور عسلی که در کشورهایی که استفاده از آنتی بیوتیک در آن ها ممنوع است به ندرت وجود دارد یا اصلاً وجود ندارد. بنابراین، درمان با آنتی بیوتیک ها می تواند یک نیروی انتخابی قوی در جمعیت میکروبی دستگاه گوارش زنبور عسل ایجاد کند و این سازوکار شبیه همان سازوکاری است که در دستگاه گوارش انسان نیز اتفاق می افتد (بلاسر و همکاران ۲۰۱۴).

گوناگونی استرین ها در میزبان ها و بین میزبان ها:

۹ گروه اصلی از باکتری هایی که در محل خاصی در دستگاه گوارش زنبور عسل وجود دارند به عنوان دسته گونه ای تعریف شدکه به صورت مونوفیلتیک می باشند. مطالعات بر پایه ژن 16sr RNA نشان می دهد که این دسته با درصد شباهت ۹۷ درصد در یک دسته قرار می گیرند که نشان از رابطه نزدیک خویشاوندی آن ها دارد (کانگ و همکاران ۲۰۱۴). با وجود این، هر دسته گونه ای می تواند گوناگونی ژنتیکی متفاوتی داشته باشد که منجر به تولید پروتئین های مختلف شوند. به طورمشابه، تغییرات در سطح یک استرین حتی در یک فرد میزبان موجود در دستگاه گوارش انسان نیز اتفاق می افتد (چلازینگ و همکاران ۲۰۱۳).

چندین فناوری ثابت کرده اند که گوناگونی استرین ها یک پدیده معمول در جمعیت باکتری های اصلی دستگاه گوارش زنبور می باشند که این مطالعات شامل تعیین توالی کامل باکتری های *S. alvi* و *G. apicola* (موران و همکاران ۲۰۱۲)، مطالعات متاژنومیک (انگل و همکاران ۲۰۱۲) و توالی ژنومی تک سلولی (انگل و همکاران ۲۰۱۴) می باشد. چندین مطالعه به اشتباه نام های متفاوتی را برای این استرین ها در نظر گرفته اند. برای مثال، برای استرین *Lactobacillus* Firm-4 و *Lactovacillus* Firm-5 . به هر حال باید یک ممانعت های تاکسونومیکی ایجاد شود تا این تغییرات در استرین ها را به نام یک گونه نامگذاری نکنند. یک چالش اساسی می تواند تشخیص فرایندی باشد که باعث این گوناگونی در استرین ها می شود و سرانجام این تغیرات روی متابولیسم، اکولوژی و عملکرد این باکتری در میزبان اثر خواهد داشت.

عملکرد و متابولیسم باکتری ها در میزبان

شواهد مستقیم مبنی بر اثر باکتری های همزیست روی سلامتی زنبور ها از مطالعه ای که روی زنبور *B. terrestris*

انجام شده است به دست آمده است. زنبورهایی که فاقد باکتری های همزیست بودند (با استفاده از آنتی بیوتیک) نسبت به زنبورهای معمولی به انگل تریپانوزوماتید *Crithidia bombi* حساس تر بودند. با انجام آزمایش های بیشتر روی سه گونه زنبورهای .*Bombus* spp. مشخص شد که حضور این انگل با حضور باکتری همزیست *G. apicola* همبستگی منفی دارد و هر چه که تعداد باکتری ها بیشتر باشد تعدا انگل ها نیز به طبع آن پایین می باشد (کاریوو و همکاران ۲۰۱۴).

همچنین مطالعات دیگری نشان داد در کلنی های مختلف که از لحاظ جمعیت میکروبی متفاوت می باشند نسبت به این انگل مقاومت های متفاوتی دارند که نشان می دهد، تغییر در ترکیب افراد جمعیت میکروبی، می-تواند سلامتی میزبان را تحت تاثیر قرار دهد. آزمایش های دیگری که روی باکتری های کشت داده شده ,Lactobacillus Frim-4 *Lactobacillus* Frim-5 و *Bifidiubacterium* نشان داد که میکروارگانیزم ها نمی توانند در حضور این باکتری ها در محیط کشت رشد کنند که ممکن است به خاطر تولید مواد آنتی میکروبی باشد(کوچ و همکاران ۲۰۱۲).

فعال سازی ایمنی ذاتی ممکن است اولین راهی باشد که این باکتری های همزیست دستگاه گوارش، حساسیت میزبان به پاتوژن و انگل را تحت تاثیر قرار می دهند. زنبورهای عسل مسیر سیگنال دهی و تاثیر دهنده های ایمنی مشابهی با سیستم ایمنی ذاتی مگس دروزوفیلا دارند (ایوانس و همکاران ۲۰۰۶). اگرچه مشخص شده است باکتری های همزیست دستگاه گوارش موجود در مگس سرکه، پاسخ ایمنی را القا می کنند(باچون و همکاران ۲۰۰۹)، اما این پدیده برای زنبور عسل هنوز مورد مطالعه قرار نگرفته است. به هر حال، نباید فرض شود که باکتری های موجود در دستگاه گوارش زنبور عسل به طور کامل برای سلامتی آن ها مفید است(انگل و همکاران ۲۰۱۵).

آزمایش هایی که روی *F. perrera* انجام شده است نشان داد که این باکتری، ملانیزاسیون را در ناحیه پیلوری معده در زنبور عسل القا می کند(سابری و همکاران ۲۰۱۲). ملانیزاسیون یک پاسخ ایمنی ذاتی از حشرات است که به طور معمول در ارتباط با تخریب بافت و حمله پاتوژن ها اتفاق می افتد. این باکتری *F. perarra* همچنین می تواند باعث تخریب DNA در سلول های یوکاریوتیک شود. آزمایش های مربوط به کشت سلولی پستانداران نشان می دهد که تخریب DNA به بیوسنتز ژن که هومولوگ کولی باکتین است بستگی دارد. کولی باکتین یک مولکول متابولیکی کوچک می باشد که توسط استرین های خاصی از *Escherichia coli* در دستگاه گوارش انسان تولید می شود که می تواند دورشته DNA را که باعث ایجاد تومور می شوند را بشکند. باکتری *F. perrera* در اغلب کلنی های زنبور عسل وجود دارند و اثر کلی آن ها روی سلامتی هنوز موردمطالعه قرار نگرفته است.

همچنین، باکتری های دستگاه گوارش زنبور عسل در غنی سازی توکسین های غذایی، بیوسنتز مواد غذایی که در رژیم غذایی زنبور وجود ندارد و همچنین هضم مواد غذایی که شامل تخمیر کربوهیدرات های پیچیده و شکر که توسط زنبور عسل نمی تواند شکسته شود، را بر عهده دارند. برای مثال، برخی استرین های *G. apicola* دارای ژن هایی است که برای هضم پکتین، که در دیواره سلولی گرده غلات وجود دارند، استفاده می شوند. گرده یک قسمت اصلی از رژیم غذایی زنبور های عسل است که فعالیت مربوط به هضم ان توسط خود زنبور عسل انجام نمی شود چونکه آنزیم پکتیناز در معده آن ها وجود ندارد.

توصیف خصوصیات متابولیکی:

داده های مربوط به متاژنومیک، متاترنسکریپتومیکس و همچنین توالی کل ژنوم برخی از این باکتری های دستگاه گوارش زنبور عسل در حال حاضر موجود می باشد که از طریق آن می توان به نقش بالقوه آن ها پی برد (الگارد و همکاران ۲۰۱۵). مشابه با دستگاه گوارش انسان، بخش اعظم این باکتری ها در تخمیر کربوهیدرات ها که در رژیم غذایی آن ها وجود دارد نقش دارند. این باکتری های تخمیری شامل گونه های اختصاصی زنبورها در بین جنس های *Lactobacillus* و *Bifidiobacterium* می باشند که این دوجنس به وفور در دستگاه گوارش انسان نیز وجود دارد (شکل ۳).

دسته گونه ای *B. asteroids* به وفور در دستگاه گوارش زنبور عسل وجود دارد و دارای ژن های متعددی برای بهره برداری از کربوهیدرات ها می باشد (کربی هریس و همکاران ۲۰۱۴). از لحاظ فیلوژنی، باکتری .*Bifidiobacterium* spp با باکتری های *Biffidibacterium* موجود در دستگاه گوارش انسان رابطه خویشاوندی نزدیکی دارد و حدس زده می شود که تکامل همراه داشته اند. درواقع، تفاوت اساسی آن ها در زندگی در شرایط هوازی بودن است که نشان از فشار انتخابی است که در دستگاه گوارش زنبور که شرایطش فراهم است فعالیت می کند (هریس و همکاران ۲۰۱۴).

استرین های *Lactobacillus* که در ارتباط با زنبوها

هستند از خوشاوندان خود که با پستانداران در ارتباط هستند مشخص و مجزا هستند و از لحاظ فیلوژنتیکی در دو کلاد متفاوت Firm-4 و Firm-5 قرار دارند. تعییین توالی کل ژنوم که اخیراً در مورد Firm-4 و Firm-5 انجام گرفته است (الگارد و همکاران ۲۰۱۵) نشان می دهد که سیستم های فسفوترانسفراز به وفور در آن ها وجود دارد که این سیستم در جذب قندها دخالت دارد و این پدیده بیشتر در Firm-5 مشاهده می شود.

هر دوی باکتری های Bifidiobacterium و *Lactobacillus* حاوی پروتئین های سطحی-سلولی می باشند که نقش آن ها هنوز به خوبی مشخص نیست اما احتمالاً در چسبیدن و هضم موادگیاهی نقش داشته باشند. باکتری *B. astroides* و *Lactobacillus* firm-5 دارای دسته های ژنی است که در بیوسنتز و بهره برداری از تری هالوز (دی ساکاریدی که در ذخیره انرژی در حشرات نقش دارد) نقش دارد. در مقابل، پستانداران از گلیکوژن به جای تری هالوز در ذخیره انرژی استفاده می کنند و باکتری های Bifidiobacterium و *Lactobacillus* که در پستانداران وجود دارند داری ژن هایی هستند که می توانند در بیوسنتز و هضم گلیکوژن مورد استفاده قرار گیرند (الگارد و همکاران ۲۰۱۵).

یک میکروارگانیسم غالب تخمیری دیگر که در دستگاه گوارش زنبور عسل وجود دارد *G. apicolald* می باشد که اخیراً توصیف شده است و در راسته Orbales دسته بندی شده است. مطالعه ژنومیکی این باکتری نشان می دهد که این باکتری حاوی ژن هایی که مسئول جذب و تخمیر قندهایی که در چرخه تریکربوکسیلیک اسید به صورت ناقص وجود دارند، است. دو عضو دیگر این راسته *S. bombi* و *F. pererra* می باشد که در تخمیر کربوهیدرات ها نقش دارند (لی و همکاران ۲۰۱۴).

با توجه به رژیم غذایی زنبورها که غنی از کربوهیدرات می باشد (گرده، عسل و شهد)، جای تعجب ندارد که جمعیت میکروبی دستگاه گوارش آن ها از افرادی باشد که برای استفاده و بهره برداری از این منابع تکامل پیدا کرده باشند. باکتری های *G. apicola*, *F. perrera*, *Lactobacillus* Firm4, Firm-5 و باکتری همراه زنبورعسل *B. astroides* قادرند که گلوکز و فروکتوز را که بیشترین قند موجود در رژیم غذایی آن ها است را متابولیزه کنند و مورد استفاده قرار دهند (الگارد و همکاران ۲۰۱۵). به علاوه، برخی استرین ها دارای ژن هایی هستند که برای بهره برداری از قندهایی که به ندرت وجود دارند (مثل مانوز، آربینوز، رافینوز، گالاکتوز، لاکتوز) یا غیر قابل هضم هستند و یا گاهی اوقات برای زنبور سمی است، مورد استفاده قرار می دهند (بارکر و همکاران ۱۹۷۴). توانایی جذب این کربوهیدرات های خارجی به داشتن حمل کننده و آنزیم های آن ها بستگی دارد که حضور آن ها در بین استرین های هر گروه از این مخمرها، متفاوت است (انگل و همکاران ۲۰۱۴).

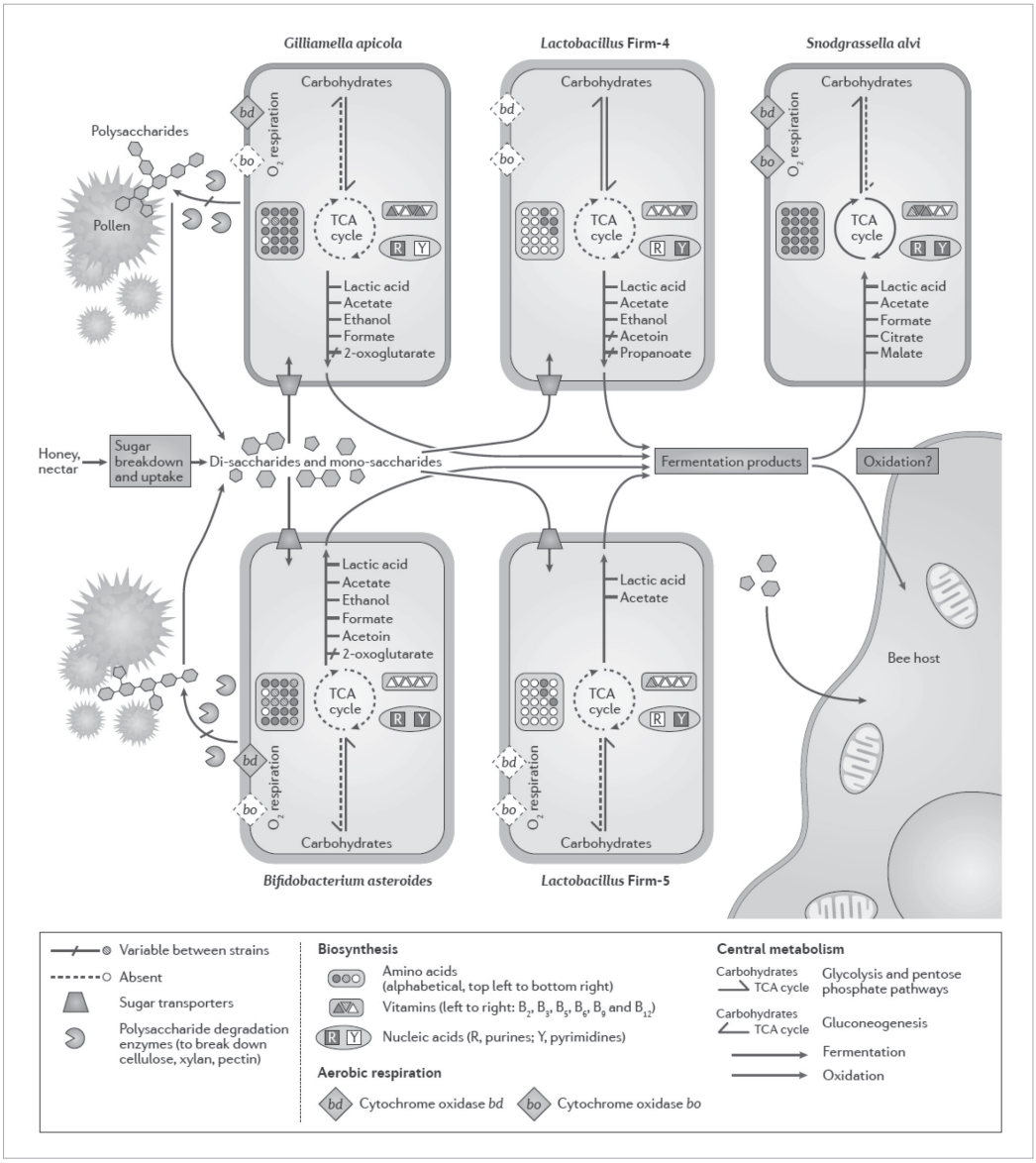
در هر گروه از مخمرها، ۲۰ تا ۴۰ درصد از ژن هایی که برای متابولیسم کربوهیدرات ها استفاده می شود متفاوت است (۵۵، ۷۶). این پویایی در ژنوم باعث می شود که به دست آوردن یا از دست دادن توانایی بهره برداری از یک ماده غذایی سخت نباشد و همچنین بیان می کند که هر باکتری می تواند در جای خاصی از دستگاه گوارش ساکن شود و باعث می شود که به رژیم های غذایی متفاوت بتواند سازگار شود.

محصول نهایی تخمیر میکروبی در دستگاه گوارش زنبور با توجه به گونه زنبور، متفاوت می باشد اما به طور معمول لاکتیک اسید و استات می باشد (شکل ۳) (الفسون و همکاران ۲۰۱۴). در بسیاری از پستانداران، محصول نهایی تخمیر که شامل اسید های چرب زنجیر کوتاه (استات، پروپینات و بوتیرات) می باشد جذب و اکسید می شود و در تغذیه میزبان نقش دارند. جذب اسید های چرب کوتاه زنجیر در معده عقبی حشرات اتفاق می افتد هرچند که هنوز مورد مطالعه دقیق قرار نگرفته است (کراتی و همکاران ۲۰۱۳).

عضو نهایی جمعیت میکروبی دستگاه گوارش زنبور عسل *S. alvi* می باشد که متعلق به خانواده Neisseriaceae و یک باکتری هوازی می باشد. محل این باکتری در ناحیه لومن دستگاه گوارش می باشد و در تضاد با وابستگی این باکتری با تنفس هوازی می باشد. چرا که غلظت اکسیژن در دستگاه گوارش حشرات در سطح بافت پوششی بیشترین میزان را دارد. به طور قابل ملاحظه، این باکتری فاقد مسیرهایی است که برای جذب و شکستن گلیکولیتیکی کربوهیدراتها می باشد و در عوض دارای اکسیداسیون هوازی کربوکسیلات ها (سیترات، مالات، استات و لاکتیک اسید) برای تولید انرژی وابسته می باشد. استفاده و بهره برداری از منابع جدا، شاید این باکتری و گونه های دیگر تخمیری را قادر می سازد که در یک شرایط میکروبی یکسان به طور همراه وجود داشته باشند (وانبرگن و همکاران ۲۰۱۳).

باکتری *P. apium* احتمالاً باکتری دیگری است که یک نیچ اختصاصی دارد. اگرچه این باکتری به ندرت در دستگاه گوارش افراد کارگر بالغ یافت می شود، اما به نسبت در محل

ذخیره غذای کندو، در لاروها و در دستگاه گوارش ملکه به فراوانی وجود دارند. به طور قابل توجه، باکتری *P. apium* می تواند روی ژل رویال رشد کند؛ همان محیطی که برای اکثر باکتری ها سمی است و همچنین این باکتری می تواند در غده تولید ژل رویال که در افراد کارگر وجود دارند رشد کند. مدارک حاصله از ژنوم و دیگر خصوصیات فنوتیپیکی مربوط به خویشاوندان نزدیکش نشان می دهد (کلی و همکاران ۲۰۰۷) که اگر چه این باکتری یک عضو از خانواده *Acetobacteriaceae* می باشد، اما نمی تواند از طریق اکسیداسیون قند و الکل، تولید استیک اسید کند. به هر حال، به نظر می رسد که نسبت به تحمل شرایط بی هوازی، اسیدیته بالا و اسمولاریته بالای شکر سازگار شده است که در ژل رویال ، شهد و عسل وجود دارد (آندرسون و همکاران ۲۰۱۶).



شکل ۳) فعالیت متابولیکی باکتری های اصلی موجود در دستگاه گوارش زنبور عسل. عملکرد متابولیکی از اطلاعات متازنومیکی، متاترنسکریپتومی و از انجام آزمایش ها روی استرین های باکتری های کشت شده استنباط می شود. باکتری های تخمیری *Gilliamella apicola, Bifidobacterium spp., Lactobacillus* Firm-4 **و** *Lactobacillus* Firm-5 **به صورت غالب حضور دارند. برخی باکتری ها می توانند پلی ساکاریدهای گیاهی حاضر در گرده مثل پکتین و زیلان** Xylan **را بشکنند. قند ها به مواد دیگری تخمیر می شوند مثل لاکتیک اسید و استات که به گونه و استرین باکتری بستگی دارد. محصولات تخمیر ممکن است توسط باکتری** *Snodgrasella alvi* **برای انرژی و کربن جذب و اکسیده شود. زنبور میزبان نیز به محصولات کربوهیدرات های شکسته دسترسی می یابد.**

نتیجه گیری و سئوالات پیش رو

این مقاله تحقیقاتی مربوط به میکروبیوم زنبور عسل که در ابتدا با آنالیزهای مربوط به کشت باکتری ها شروع شد(بابندریر ۲۰۰۷) و سپس با استفاده از مطالعات ژنومیک ادامه یافت را به طور خلاصه بیان می کند. در طول این مدت، همه میکروارگانیسم های اصلی موجود در دستگاه گوارش زنبور عسل شناسایی شده است. حداقل پنج گروه گونه ای *S. alvi*, *G. apicola*, *Bifidiobacterium* spp., *Lactobacillus* Firm-5 *Lactobacillus* Firm-4, تقریباً در همه زنبوران بالغ کارگر یافت می شوند و همچنین در گونه های نزدیک مثل Bumble bees ها نیز یافت می شوند. چندین باکتری دیگر شامل *B. apis* و *F. perrara* و چندین گونه مشخص در خانواده *Acetobacteriaceae* و شاخه *Bacteroidetes* به نظر می رسد که به طور خاص در ارتباط با زنبورها باشند اما ممکن است در فراوانی آن ها با توجه به گونه و شرایط اکولوژیکی متفاوت باشند. در مجموع، این باکتری ها یک اجتماع میکروبی اختصاصی که چندین میلیون سال پیش با میزبان تکامل یافته اند را تشکیل می دهند.

مطالعات ژنومیک، ترانسکریپتومیک و مطالعات مربوط به کشت آن ها نشان می دهد که این اجتماع میکروبی خاص برای آن ها سازگاری زیادی را به ارمغان آورده است و می توانند در محیطی که در آن هستند نهایت استفاده را ببرند. اغلب این موارد شامل تغییرات متابولیکی برای شکستن و تخمیر قند ها در بسیاری از گونه های میکروبی دستگاه گوارش می باشند که باعث سود بردن میزبان از وعده های غذایی با قند فراوان می شوند (انگل ۲۰۱۲). در باکتری های گونه های تخمیری، استرین های مختلف قابلیت های متفاوتی در تخمیر دارند در حالی که در گونه های غیر تخمیری مانند *S. alvi* نمی توانند از قند ها استفاده کنند. این تقسیم مکان زندگی در استفاده از منابع مختلف نشان می دهد که یک سطحی از خودسازمانی در اجتماع میکروبی وجود دارد که ممکن است باعث افزایش پایداری و ثبات این اجتماع میکروبی در دستگاه گوارش زنبور شود.

اما این اجتماع میکروبی می تواند از طریق هجوم باکتری های محیطی یا پاتوژن های فرصت طلب دستخوش تغییراتی شود(موران، ۲۰۱۲). اجتماع میکروبی همچنین در بین کاست های مختلف نیز متفاوت می باشد و ممکن است در طول زمان و سن های مختلف تغییر کند که نشان از تغییرات فیزیولوژیکی میزبان، رژیم غذایی و محیطی که میزبان در ان فعالیت دارد می باشد (پاول ۲۰۱۴). این چنین تغییرات اجتماع میکروبی در بسیاری از حیوانات دیگر نیز وجود دارد و به عنوان یک اصل پذیرفته شده است. لازم به ذکر است که زنبورها یک مدل عالی برای مطالعات عواملی می باشند که ترکیب این اجتماع را بر هم می زنند.

به دلیل وجود یک شباهت زیاد بین میکروبیوم انسان و سایر پستانداران، مطالعات روی اجتماع میکروبی زنبور می-تواند حقایق زیادی رادر آینده ای نزدیک مشخص سازد. این سیستم می تواند مدل مناسبی را با مزایای زیاد ارائه دهد هم به صورت کاربردی و هم از نظر توسعه نظریه همزیستی (BOX2). مثل سایر پستانداران، اجتماعی بودن یکی ازمهم ترین راه ها برای انتقال میکروبیوم از یک نسل به نسل بعد می باشد. این روش مطمئن از انتقال، میکروبیوم دستگاه گوارش زنبور را قادر می سازد که در دستگاه گوارش یک میزبان خاص متنوع شوند و در محیط سازگاز شوند. همه باکتری هایی که در دستگاه گوارش زنبور وجود دارند می توان در شرایط in vitro کشت داد و پیشرفت های اساسی در مطالعات gnobiotic (موجودی که همه استرین های باکتریایی که در آن وجود دارد به طور کامل شناخته شده باشد) انجام داد تا برای درک بهتر رابطه میکروارگانیزم و میزبان خاص مورد استفاده قرار گیرند (کانگ ۲۰۱۴). همچنین می توان از این روش برای دستورزی و مهندسی ژنتیک در میکروارگانیزم ها و ازمایش نظریه های مختلف استفاده کرد.

زنبور عسل و زنبورهای مخملی دارای اهمیت جهانی هستند چراکه نقش گرده افشانی برای گیاهان مهم اقتصادی و گل های وحشی بر عهده دارند. کاهش ناگهانی جمعیت آن ها باعث شده است تا توجهات به عوامل کاهنده جمعیت آن ها که در پی کاهش سلامتی ان ها که ممکن است به دلیل تغییر یا از بین رفتن میکروبیوتای آن ها می باشد را به خود جلب کند. در واقع، شواهدی وجود دارد که باکتری های موجود در دستگاه گوارش می تواند در دفاع مقابل پاتوژن ها کمک کند هر چند روش های این مبارزه هنوز مشخص نشده است (کانگ ۲۰۱۴). با توجه به خاص بودن و پایداری میکروبیوم دستگاه گوارش زنبورها، تحقیقات جامعی باید بر روی زیست شناسی زنبور انجام شود. همچنین، درک اجتماع میکروبی به طور قطع می تواند اطلاعات جدیدی را برای افزایش سلامتی زنبورها در اختیار ما قرار دهد و جنبه های همزیستی میکروارگانیزم و میزبان را برای ما مشخص کند.

منبع ها:

Anderson, K. E. *et al*., Hive-stored pollen of honey bees: many lines of evidence are consistent with pollen preservation, not nutrient conversion. Mol. Ecol. 23, 5904–5917 (2014).

Blaser, M. J. Missing Microbes: How the Overuse of Antibiotics Is Fueling Our Modern Plagues (Henry Holt, 2014).

Bloch, G. *et al*., Industrial apiculture in the Jordan valley during biblical times with Anatolian honeybees. Proc. Natl Acad. Sci. USA 107, 11240–11244 (2010).

Buchon, N., Broderick, N. A., Poidevin, M., Pradervand, S. & Lemaitre, B. Drosophila intestinal response to bacterial infection: activation of host defense and stem cell proliferation. Cell Host Microbe 5, 200–211 (2009).

Calderone, N. W. Insect-pollinated crops, insect pollinators and US agriculture: trend analysis of aggregate data for the period 1992–2009. PLoS ONE 7, e37235 (2012).

Cameron, S. A. *et al*., Patterns of widespread decline in North American bumble bees. Proc. Natl Acad. Sci. USA 108, 662–667 (2011).

Cariveau, D. P., Powell, J. E., Koch, H., Winfree, R. & Moran, N. A. Variation in gut microbial communities and its association with pathogen infection in wild bumble bees (Bombus) ISME J. 12, 2369–2379 (2014).

Cho, I. & Blaser, M. J. The human microbiome: at the interface of health and disease. Nat. Rev. Genet. 13, 260–270 (2012).

Corby-Harris, V., Maes, P. & Anderson, K. E. The bacterial communities associated with honey bee (*Apis mellifera*) foragers. PLoS ONE 9, e95056 (2014).

Crotti, E. *et al*., Microbial symbionts of honeybees: a promising tool to improve honeybee health. N. Biotechnol. 30, 716–722 (2013).

Donaldson, G. P., Lee, S. M. & Mazmanian, S. K. Gut biogeography of the bacterial microbiota. Nat. Rev. Microbiol. 14, 20–32 (2016).

Ellegaard, K. M., Tamarit, D. & Javelind, E. Extensive intra-phylotype diversity in lactobacilli and bifidobacteria from the honeybee gut. BMC Genomics 16, 284 (2015).

Engel, P. & Moran, N. A. The gut microbiota of insects — diversity in structure and function. FEMS Microbiol. Rev. 37, 699–735 (2013).

Engel, P., Bartlett, K. D. & Moran, N. A. The bacterium *Frischella perrara* causes scab formation in the gut of its honeybee host. mBio 6, e00193 15 (2015).

Engel, P., Martinson, V. G. & Moran, N. A. Functional diversity within the simple gut microbiota of the honey bee. Proc. Natl Acad. Sci. USA 109, 11002–11007 (2012).

Ellegaard, K. M., Tamarit, D. & Javelind, E. Extensive intra-phylotype diversity in lactobacilli and bifidobacteria from the honeybee gut. BMC Genomics 16, 284 (2015).

Evans, J. D. *et al*., Immune pathways and defence mechanisms in honey bees *Apis mellifera*. Insect Mol. Biol. 15, 645–656 (2006).

Hroncova, Z. *et al*., Variation in honey bee gut microbial diversity affected by ontogenetic stage, age and geographic location. PLoS ONE 10, e0118707 (2015).

Jefferson, J. M., Dolstad, H. A., Sivalingam, M. D. & Snow, J. W. Barrier immune effectors are maintained during transition from nurse to forager in the honey bee. PLoS ONE 8, e54097 (2013).

Kapheim, K. M. *et al*., Caste-specific differences in hindgut microbial communities of honey bees (*Apis mellifera*). PLoS ONE 10, e0123911 (2015).

Koch, H., Cisarovsky, G. & Schmid-Hempel, P. Ecological effects on gut bacterial communities in wild bumblebee colonies. J. Anim. Ecol. 81, 1202–1210 (2012).

Koch, H., Abrol, D. P., Li, J. & Schmid-Hempel, P. Diversity and evolutionary patterns of bacterial gut associ-

ates of corbiculate bees. Mol. Ecol. 22, 2028–2044 (2013).

Klee, J. *et al*., Widespread dispersal of the microsporidian Nosema ceranae, an emergent pathogen of the western honey bee, *Apis mellifera*. J. Invertebr. Pathol. 96, 1–10 (2007).

Kwong, W. K. & Moran, N. A. Apibacter adventoris gen. nov., sp. nov., a member of the phylum Bacteroidetes isolated from honey bees. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 66, 1323–1329 (2016).

Lim, H. C., Chu, C.C., Seufferheld, M. J. & Cameron, S. A. Deep sequencing and ecological characterization of gut microbial communities of diverse bumble bee species. PLoS ONE 10, e0118566 (2015).

Martinson, V. G., Moy, J. & Moran, N. A. Establishment of characteristic gut bacteria during development of the honeybee worker. Appl. Environ. Microbiol. 78, 2830–2840 (2012).

Martinson, V. G. *et al*., A simple and distinctive microbiota associated with honey bees and bumble bees. Mol. Ecol. 20, 619–628 (2011).

Moeller, A. H. *et al*., Rapid changes in the gut microbiome during human evolution. Proc. Natl Acad. Sci. USA 111, 16431–16435 (2014).

Moran, N. A., Hansen, A. K., Powell, J. E. & Sabree, Z. L. Distinctive gut microbiota of honey bees assessed using deep sampling from individual worker bees. PLoS ONE 7, e36393 (2012).

Olofsson, T. C., Alsterfjord, M., Nilson, B., Butler, E. & Vasquez, 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*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 64, 3109–3119 (2014).

Palmer, C., Bik, E. M., DiGiulio, D. B., Relman, D. A. & Brown, P. O. Development of the human infant intestinal microbiota. PLoS Biol. 5, e177 (2007).

Parmentier, L., Meeus, I., Mosallanejad, H., de Graaf, D. C. & Smagghe, G. Plasticity in the gut microbial community and uptake of Enterobacteriaceae (Gammaproteobacteria) in Bombus terrestris bumblebees' nests when reared indoors and moved to an outdoor environment. Apidologie 47, 237–250 (2015).

Powell, J. E., Martinson, V. G., Urban-Mead, K. & Moran, N. A. Routes of acquisition of the gut microbiota of *Apis mellifera*. Appl. Environ. Microbiol. 80, 7378–7387 (2014).

Reybroeck, W., Daeseleire, E., De Brabander, H. F. & Herman, L. Antimicrobials in beekeeping. Vet. Microbiol. 158, 1–11 (2012).

Sankar, S. A., Lagier, J. C., Pontarotti, P., Raoult, D. & Fournier, P. E. The human gut microbiome, a taxonomic conundrum. Syst. Appl. Microbiol. 38, 276–286 (2015).

Schloissnig, S. *et al*., Genomic variation landscape of the human gut microbiome. Nature 493, 45–50 (2013).

Tamarit, D. *et al*., Functionally structured genomes in Lactobacillus kunkeei colonizing the honey crop and food products of honeybees and stingless bees. Genome Biol. Evol. 7, 1455–1473 (2015).

Tian, B., Fadhil, N. H., Powell, J. E., Kwong, W. K. & Moran, N. A. Long-term exposure to antibiotics has caused accumulation of resistance determinants in the gut microbiota of honeybees. mBio 3, e00377 12 (2012).

Vanbergen, A. J. The Insect Pollinators Initiative. Threats to an ecosystem service: pressures on pollinators. Front. Ecol. Environ. 11, 251–259 (2013).

Gut microbial communities of social bees

Sh.Parichehreh

1. Department of Honeybee،Animal Science Research Institue of Iran،Agricultural Research Education and Extension Organization،Karaj،Iran

Abstract

The gut microbiota can have profound effects on hosts, but the study of these relationships in humans is challenging. The specialized gut microbial community of honey bees is similar to the mammalian microbiota, as both are mostly composed of host-adapted, facultatively anaerobic and microaerophilic bacteria. However, the microbial community of the bee gut is far simpler than the mammalian microbiota, being dominated by only nine bacterial species clusters that are specific to bees and that are transmitted through social interactions between individuals. Recent developments, which include the discovery of extensive strain-level variation, evidence of protective and nutritional functions, and reports of eco-physiological or disease-associated perturbations to the microbial community, have drawn attention to the role of the microbiota in bee health and its potential as a model for studying the ecology and evolution of gut symbionts.

Key words: Gut microbiota, Symbiosis, Social Bees

Corresponding Author: Sh.Parichehreh

Email: sh.parichehreh@gmail.com