

*Н.С. Романович, Т.А. Савельева, к.в.н., доцент, Е.Н. Бирюк, к.с-х.н., М.А. Шукушина
Институт мясо-молочной промышленности, Минск, Республика Беларусь*

ОЦЕНКА ПЧЕЛ И ПЧЕЛОПРОДУКТОВ КАК ИСТОЧНИКОВ ВЫДЕЛЕНИЯ МОЛОЧНОКИСЛЫХ И БИФИДОБАКТЕРИЙ

*N. Ramanovich, T. Savelieva, A. Biruk, M. Shukshyna
Institute for Meat and Dairy Industry, Minsk, Republic of Belarus*

INVESTIGATION OF THE POSSIBILITY OF USING BEE MICROBIOTES AND BEE PRODUCTS FOR ISOLATION OF LACTIC ACIDS AND BIFIDOBACTERIA

e-mail: romanovich28@tut.by, t.savelieva@tut.by, biohimbel@rambler.ru, shucshina.margarita@yandex.ru

*Проведена оценка пчел и пчелопродуктов как источников выделения молочнокислых и бифидобактерий на основании анализа отечественных и зарубежных научных публикаций. Определены основные группы обитателей кишечного тракта пчелы медоносной. Охарактеризована микрофлора различных пчелопродуктов: меда, цветочной пыльцы (обножки), перги, маточного молочка, пчелиного воска, забруса и прополиса. Установлено, что микробиота пчел является перспективным источником для выделения бактерий рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*. А свежесобранный мед, цветочная пыльца, перга и забрус – перспективные источники для выделения лактобацилл.*

*The evaluation of bees and bee products as sources of lactic acid and bifidobacteria isolation was carried out on the basis of the analysis of domestic and foreign scientific publications. The main groups of inhabitants of the intestinal tract of the honey bee were identified. The microflora of various bee products is characterized: honey, flower pollen, parchment, royal jelly, beeswax, zabrus and propolis. It is established that the bee microbiota is a promising source for the isolation of bacteria of the genus *Lactobacilli* and *Bifidobacteria*. And freshly harvested honey, flower pollen, parchment and zabrus are the best sources for the isolation of lactobacilli.*

Ключевые слова: пчелы; продукты пчеловодства; микробиота; молочнокислые и бифидобактерии.

Key words: bees; bee products; microbiota; lactic acid and bifidobacteria.

Введение. В настоящее время в развитии микробных биотехнологий особое внимание уделяется выделению новых, перспективных штаммов молочнокислых и бифидобактерий для получения ферментированных молочных продуктов. Получение новых штаммов осуществляется на основе чистых культур микроорганизмов, обладающих заданными свойствами, с улучшенными органолептическими, технологическими характеристиками, оказывающими положительное воздействие на здоровье человека. Для этого используются бактерии, обладающие высокой скоростью роста и активностью кислотообразования, продуцирующие антимикробные, ароматические соединения, полисахариды, витамины, ферменты и другие биологически активные соединения [1]. Одним из главных свойств, которым должны обладать новые штаммы, является высокая антагонистическая активность к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам. На протяжении многих лет в механизме антагонистической активности бифидобактерий и молочнокислых бактерий большое значение придавалось продукции органических кислот, оказывающих ингибирующий эффект на гнилостную и патогенную микрофлору кишечника. Известно, что многие штаммы бифидобактерий и молочнокислых бактерий являются антагонистами сальмонелл, а также ингибируют рост бактерий

родов *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Yersinia*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Campylobacter*, *Klebsiella*, *Gardnerella* и др. [2].

Выделение молочнокислых бактерий и бифидобактерий осуществляется из различных источников, и включает ряд этапов, в том числе, отбор образцов, посев на жидкие и плотные питательные среды для обогащения молочнокислой микрофлорой и выделения чистой культуры, поддержание чистой культуры, исследование биологических свойств выделенных штаммов, их идентификация и определение производственной эффективности.

Бактерии рода *Lactobacillus* образуют самый многочисленный род в гетерогенной группе из молочнокислых бактерий и являются важными представителями микробиоты желудочно-кишечного тракта. Лактобактерии являются доминирующими молочнокислыми бактериями в кишечном тракте насекомых и других животных. Они обычно обнаруживаются вместе с бифидобактериями и широко используются в качестве пробиотиков.

Согласно данным Jinshui Zheng et al. [3] род *Lactobacillus* включает 261 вид (по состоянию на март 2020 года), которые чрезвычайно разнообразны на фенотипическом, экологическом и генотипическом уровнях. Основным местом обитания представителей группы *Lb. delbrueckii* является кишечник животных и насекомых (рисунок 1).

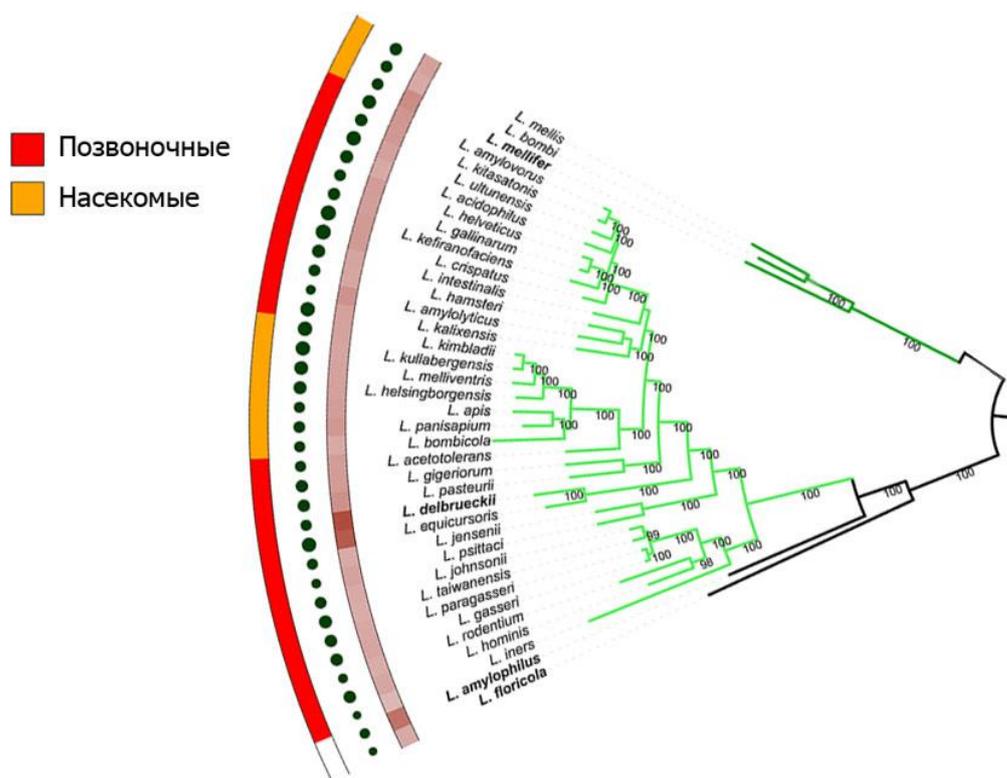


Рисунок 1 – Среда обитания представителей группы *Lb. delbrueckii*.

Внешнее кольцо указывает на предпочтительную среду обитания; черные круги представляют собой размер генома (площадь круга коррелирует с размером генома); коричневый градиент отражает GC-состав генома (чем темнее цвет, тем выше процент GC-пар)

Источник данных: [3]

В научной литературе приводятся данные о молочнокислых пробиотических бактериях, содержащихся в медовом зобике пчелы и в свежем меде, которые оказывают положительное действие как на организм самих пчел, так и человека,

подавляя рост и развитие патогенной и условно-патогенной флоры [4, 5]. В кишечнике рабочих пчел *A. mellifera* присутствуют и бактерии рода *Bifidobacterium* [6]. Из перги также были выделены различные бактерии рода *Lactobacillus* [7–9].

Цель исследований – оценка потенциала пчел и продуктов пчеловодства как источников выделения молочнокислых и бифидобактерий, а также возможности их использования в пищевой промышленности и для создания пробиотических препаратов.

Результаты и их обсуждение. До недавнего времени большинство исследований микробных сообществ медоносных пчел были сосредоточены на болезнетворных микроорганизмах, и гораздо меньше внимания уделялось непатогенным микроорганизмам, в то время как бактерии рода *Lactobacillus* образуют самый многочисленный род в гетерогенной группе из молочнокислых бактерий и являются важными представителями микробиоты кишечника пчел и других животных. Они обычно обнаруживаются вместе с бифидобактериями и широко используются в качестве пробиотиков [10].

Известно, что микрофлора пищеварительного тракта играет важную роль в поддержании гомеостаза организма пчелы при развитии различных заболеваний, в том числе инфекционных. Бактерии-симбионты способствуют созреванию иммунной системы, помогают утилизировать питательные вещества, поступающие в организм пчел, подавляют развитие посторонней микрофлоры, продуцируют биологически активные вещества (витамины, ферменты и т.д.) [11].

Микробиоценоз пчел в основном определяется тем, в какой среде обитания живут их семьи, чем питаются и с чем контактируют. Поэтому его участниками бывают не только сапрофитные, но и условно-патогенные микроорганизмы, которые способствуют развитию различных заболеваний пчелиных особей, таких как эшерихиоз, гафниоз, сальмонеллез и др. [12, 13]. Микробиоценоз пищеварительного тракта пчел формируется в течение всего активного периода жизнедеятельности семьи. У пчел, уходящих в зимовку, состояние здоровья семьи и отдельных пчел, их воспроизводительная и продуктивная активность, будет зависеть от групп микроорганизмов, заселяющих микрофлору кишечника у молодых и взрослых пчел [14–16].

Как у внеульевых, так и у ульевых пчел на слизистой оболочке кишечника обитают лактобациллы. Незначительное их количество находится в тонком кишечнике. При этом их основная масса вместе с другими представителями микрофлоры живёт и размножается на стенках толстого кишечника. Там они размножаются, питаются, участвуют в образовании биологически активных веществ. При этом лактобациллы в кишечном биоценозе регистрируются постоянно. Это обусловлено тем, что микроорганизмы данной группы находятся во всем пищеварительном тракте – от ротоглотки до толстой кишки. При этом они могут выживать и размножаться даже в самых агрессивных средах, связанных с действием ферментов и желудочного сока. Лактобациллы синтезируют органические кислоты, поддерживают кислую среду в кишечнике, и вырабатывают перекись водорода, тем самым препятствуют чрезмерному расселению и размножению представителей условно-патогенной микрофлоры. Все это приводит к усилению иммунитета рабочих пчел.

Лактобациллы ускоряют синтез не только лизоцима и интерферонов, цитокинов, но и активизируют фагоцитоз. При этом они, участвуя в мембранном пищеварении, продуцируют ферменты, расщепляющие сахара. Под воздействием лактобацилл в дистальных отделах толстой кишки стимулируется секреция воды в просвет кишечника. Это препятствует дегидратации кала и чрезмерному отвердению каловых масс, которые вследствие этого легко удаляются из организма при

совершении очистительного облета. С другой стороны, благодаря наличию лактобацилл, в толстом отделе кишечника происходит расщепление токсинов и непереваренных в тонкой кишке питательных веществ. Вырабатываемые лактобациллами вещества способствуют уменьшению проницаемости сосудистых и тканевых барьеров для токсинов и патогенных микроорганизмов [17].

Микрофлора кишечника медоносных пчел передается социально и через поверхности ульев, но некоторые бактерии также обнаруживаются на цветках, и поэтому могут передаваться между пчелами косвенно, через цветы. Наиболее часто бактерии рода *Lactobacillus* обнаруживаются в кишечнике взрослых пчел и личинок, а также в продуктах пыльцы. Присутствие одних и тех же типов бактерий в составе пыльцы и у пчел подтверждает гипотезу о том, что цветы способствуют передаче этих бактерий между пчелами. Филогенетический анализ почти полноразмерных последовательностей гена 16S рНК показал, что бактерии рода *Lactobacillus*, доминирующие в микробиотах, ассоциированных с растениями, являются монофилетическими (т.е. происходящими от общего предка), для них предложено название *Lactobacillus micheneri* sp. [18].

В настоящее время неясно, насколько отдельные члены пчелиного сообщества вносят вклад в общий метаболизм кишечной микробиоты. Кишечные бактерии медоносных пчел могут независимо метаболизировать широкий спектр различных соединений. Микробиота кишечника медоносных пчел использует широкий спектр субстратов, полученных из пыльцы, включая флавоноиды и компоненты внешней стенки пыльцы, при этом бактерии рода *Lactobacillus*, и, в частности, *Lactobacillus kunkeei*, отвечают за наибольшую долю метаболизма [19].

Штаммы *Lb. plantarum*, *Lb. pentosus* и *Lb. fermentum*, выделенные из медового зобика пчелы *A. dorsata*, по данным Tajabadi et.al. (2013) проявляют устойчивость к антимикробным свойствам меда. Различные лактобациллы (*Lb. kunkeei*, *Lb. buchneri* и *Lb. acidophilus*) обнаружены также и в медовом зобике пчелы *A. mellifera* [5].

В кишечнике рабочих пчел *A. mellifera* присутствуют и бактерии рода *Bifidobacterium*, в частности, *Bifidobacterium asteroides*, *Bifidobacterium actinocoloniiforme*, *Bifidobacterium bohemicum* [6]. Интересно, что *Bifidobacterium asteroides*, присутствующие в кишечнике медоносных пчел, сохраняют способность к аэробному дыханию, в отличие от *Bifidobacterium* из кишечника млекопитающих, которые полностью анаэробны [20], что вероятно связано с содержанием более высоких концентраций кислорода в кишечнике пчел по сравнению с кишечником млекопитающих.

Пчелы получают из нектара и пыльцы липиды, аминокислоты и углеводы, которые содержат полисахариды, включая целлюлозу, гемицеллюлозу и пектин. Эти потенциальные источники энергии расщепляются за счет микробной ферментативной активности, что приводит к появлению короткоцепочечных жирных кислот, доступных для пчел. Однако вклад отдельных членов микробиоты в переваривание полисахаридов остается неясным. Путем анализа геномов кишечной микробиоты медоносных пчел установлено, что бактерии рода *Bifidobacterium* и *Gilliamella* вносят основной вклад в расщепление гемицеллюлозы и пектина [21].

Микроорганизмы рода *Lactobacillus* также могут содержаться в различных пчелопродуктах (мед, пыльца, перга, забрус и др.).

Натуральный мед – это продукт переработки медоносными пчелами нектара или пади, в связи с чем, мед по своему происхождению делится на нектарный и падевый. Микрофлора меда представлена примерно 40 видами грибов и осмофильных дрожжей, причем в большинстве случаев в 1 г меда находят в среднем около 1000 таких организмов, а в отдельных зрелых и без признаков брожения медах – от 10 до 100 тыс. и даже до 1 млн. клеток дрожжей и от 30 до 300 клеток плесневых грибов. В поверхностном (до 5 см) слое меда присутствуют и бактерии.

Их набор, численность и относительное содержание зависят от ботанического происхождения меда и условий хранения. В частности, в 1 г меда насчитывается от нескольких десятков до 80–90 млн. бактерий [22]. Различные виды бактерий рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, выделенные из медового зобика пчел, и, в конечном итоге попадающие в мед, очевидно принимают участие в процессе формирования меда, что позволяет рассматривать мед как ферментированный пищевой продукт [23]. Однако мед является неподходящей средой для развития бактерий. Во-первых, высокая кислотность меда – очень немногие виды бактерий могут расти и развиваться в растворе, обладающем такой же кислотностью, как мед. Вторая причина заключается в высоком содержании сахаров (примерно 80%), следовательно, мед представляет собой среду с высоким осмотическим давлением, что неблагоприятно для развития большей части бактерий [22].

Цветочная пыльца (обножка), собранная пчелами, является естественным природным продуктом. Она представляет собой совокупность питательных и биологически активных компонентов растительного и животного происхождения. Цветочный нектар и пыльца служат природными резервуарами для множества микроорганизмов – различных бактерий семейств *Enterobacteriaceae*, *Leuconostocaceae*, *Lactobacillaceae* и др. Бактерии рода *Bacillus* spp. были выделены из цветов акации и мескитового дерева. Также из цветов мескитового дерева были выделены жизнеспособные изоляты вида *Lactobacillus kunkeei*, идентичные образцам, выделенным из кишечника медоносной пчелы. Результаты исследований показывают, что бактерии, обнаруженные в местных источниках цветочного нектара, часто встречаются в ульях медоносных пчел и их пищеварительном тракте [7]. Собирая пыльцу с цветков, пчелы увлажняют ее нектаром или медом, смешивают с биологически активными веществами (секретом своих желез) и в виде обножки приносят в улей, где складывают в ячейки, предварительно обработанные прополисом. Чтобы пыльца не портилась и не теряла своей питательной ценности, пчелы утрамбовывают ее, а перед запечатыванием ячейки воском заливают медом. При таком хранении в улье цветочная пыльца подвергается брожению и превращается в пергу (пчелиный хлеб). При брожении количество белков и жиров в перге уменьшается, но увеличивается количество молочной кислоты и углеводов. Изменения, происходящие в перге, имеют сходство с силосованием растительных кормов. Образующаяся молочная кислота и большое количество сахара препятствуют развитию в перге бактерий и плесневых грибов, вследствие чего она может сохраняться в улье без изменений длительное время. Таким образом, хотя пчелы готовят пергу из пыльцы, их качественный и количественный состав не однороден [24]. Пчелиный хлеб, ферментируется молочнокислой микрофлорой медового зобика, попадающей в пыльцу через срыгиваемый нектар [25]. Из перги были выделены бактерии вида *Lactobacillus kunkeei* [7], бактерии вида *Lactobacillus panisapium* sp. выделены из пчелиного хлеба *Apis cerana* [8]. *Lactobacillus pollinis* выделены из образцов перги, собранных весной и летом [9].

Прополис представляет собой продукт переработки пчелами смолистых веществ растительного происхождения. Прополис способен подавлять активность и уничтожать широкий спектр микроорганизмов, включая туберкулезную палочку, вирусы, простейшие (трихомонады), грибки (трихофития), кандиды, вирусы гриппа и гепатита. Причем прополис уничтожает и выводит чужеродные клетки, а родную микрофлору организма-хозяина сохраняет в целостности и сохранности. Поэтому при использовании прополиса кишечная микрофлора пчел не страдает [22].

Маточное молочко выделяется пчелами в возрасте от 5 до 15 дней. Многочисленные исследования маточного молочка показали, что оно является комплексным и богатым по своему составу продуктом. Установлено, что маточное

молочко богато белками (10–52%), углеводами (12–40%), жирами (2–10%), витаминами, органическими кислотами и аминокислотами (7–32%), а также содержит минеральные вещества (до 4%). Остальные компоненты (до 16%) содержатся в минорных количествах, часть из которых до сих пор не идентифицирована [24]. Качество молочка в известной мере зависит от возраста личинок при его сборе из искусственных маточников, от сезона сбора, от физиологического состояния пчел, от силы пчелиной семьи, от условий хранения и от других факторов. Белки маточного молочка представлены альбуминами и глобулинами в пропорции, по данным одних авторов – 2:1, а других – 1:1. Часть белков растворима в воде, другая – нерастворима. Кроме того, из маточного молочка был выделен пептид, обладающий ингибирующим действием на грамположительные бактерии. Установлено, что наличие в кисломолочном напитке маточного молочка в малых дозах (0,02 – 0,20%) не подавляет рост и развитие кисломолочных штаммов заквасочных культур, но и не стимулирует их [27].

Пчелиный воск выделяется восковыми железами пчел. При обильном кормлении пчел медом и пыльцой восковые железы выделяют много воска, находящегося в железах в жидком состоянии. Затем воск просачивается через мельчайшие поры восковых зеркалец и на их поверхности превращается в твердые восковые пластинки, неправильной пятиугольной формы. Существуют различия в составе воска, выделенного обыкновенной медоносной пчелой (*Apis mellifera*), африканской пчелой (*Apis 352 adansonii*) и индийскими пчелами (*Apis dorsata*, *Apis cerata*, *Apis florae*). В качественном отношении все виды воска содержат одни и те же компоненты, но количество их различно [28]. По данным Cruz Pech-Canul et.al. [29] пчелиный воск является перспективным продуктом для микрокапсулирования пробиотических культур. Успешное микрокапсулирование пробиотической культуры в основном зависит от совместимости всех компонентов, а именно, от вида микроорганизма, метода микрокапсулирования и материала покрытия. Так, пчелиный воск и стеариновая кислота (2%) улучшают выживаемость инкапсулированных бактерий *Lactobacillus casei* (NCDC 298) при pH 1,5 [30].

При запечатывании сот пчелы выделяют секрет из слюнных и восковых желез, используют цветочную пыльцу и прополис. Все это является составными частями забруса, которым называют срезанные с запечатанных сот крышечки. Однако забрус нельзя сравнивать с обычным пчелиным воском. Его состав гораздо сложнее. В нем содержится большое количество биологически активных веществ. В составе забруса обнаружены белок, витамины, эфирные масла, органические кислоты, смолы, бальзамы, ферменты, жиры. Для получения забруса крышечки сот срезают полосой с помощью специального инструмента. При этом часть меда выливается и попадает на забрус [28].

В отделе биотехнологий РУП «Институт мясо-молочной промышленности» в 2018–2019 гг. были проведены поисковые опыты по выделению молочнокислых бактерий из микробиоты пчел и пчелопродуктов. Для исследований были отобраны рабочие пчелы, пчелиный подмор, перга, пыльца обножка, маточное молочко. Несколько штаммов были выделены из организма рабочих пчел, из образцов перги и пыльцы обножки. Выделенные культуры были идентифицированы как *Lactobacillus reuteri* и *Lactobacillus apis* [32, 33].

Бактерии *Lactobacillus reuteri* являются пробиотиками, многочисленные исследования показывают, эффективность от применения разных штаммов *Lactobacillus reuteri*, которые синтезируют несколько совершенно уникальных веществ, одним из которых является реутерин [34]. Именно с продукцией реутерина связывают защитную функцию *Lactobacillus reuteri* при многочисленных заболеваниях. Реутерин в концентрациях 10-30 мг/мл способен ингибировать рост *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Staphylococcus*,

Streptococcus и *H. pylori*, а также ряда грибов и других микроорганизмов. Еще один уникальный продукт жизнедеятельности *Lactobacillus reuteri* – реутерицилин, который обладает антибактериальной активностью, в связи с чем, его относят к группе антибиотикоподобных веществ [35]. Помимо этого, *Lb. reuteri* является весьма перспективным промышленным видом, так как многие штаммы способны, при выращивании на соответствующих средах, к продукции значительных количеств различных экзополисахаридов: левана, инулина, глюкана и др [36].

В публикации Killer et al. (2014) анализ последовательности гена 16S рРНК *Lactobacillus apis*, выделенных из медоносных пчел показал, что филогенетическое положение новых штаммов относится к роду *Lactobacillus*. Наибольшее сходство у выделенных культур было отмечено со штаммом *Lactobacillus acidophilus* BCRC 10695T (93,6%). Также было отмечено сходство нуклеотидных последовательностей *Lactobacillus apis* с другими облигатно-гомоферментативными лактобактериями. Отличие выделенных штаммов от других лактобацилл была также подтверждена анализом последовательностей других филогенетических маркеров, применимых к таксономии рода *Lactobacillus*, риботипированием и анализом реп-ПЦР [37].

Заключение. Проведена оценка пчел и пчелопродуктов как источников выделения молочнокислых и бифидобактерий на основании анализа отечественных и зарубежных научных публикаций. Согласно литературным данным, в кишечном содержимом взрослых ульевых пчел из лактобактерий представлены *Lb. plantarum*, *Lb. micheneri* sp., *Lb. kunkeei*, а в медовом зобике – *Lb. pentosus*, *Lb. fermentum*, *Lb. buchneri* и *Lb. acidophilus*. В кишечнике рабочих пчел *A. mellifera* также присутствуют бактерии рода *Bifidobacterium*, в частности, *B. asteroides*, *B. actinocoloniiforme*, *B. bohemicum*. Следует отметить, что *B. asteroides* сохраняют способность к аэробному дыханию, в отличие от *Bifidobacterium* из кишечника млекопитающих. Охарактеризована также микрофлора различных пчелопродуктов: меда, цветочной пыльцы (обножки), перги, маточного молочка, пчелиного воска, забруса и прополиса.

Установлено, что микробиота пчел является источником для выделения бактерий рода *Lactobacillus* и рода *Bifidobacterium*. А свежесобранный мед, цветочная пыльца, перга и забрус – источники для выделения разных видов лактобацилл. Кроме того, цветочный нектар и пыльца служат природным резервуаром для различных бактерий семейств *Enterobacteriaceae* и *Leuconostocaceae*.

Таким образом, изучение микробиоты пчел и пчелопродуктов является перспективным направлением для выделения молочнокислых и бифидобактерий с целью их использования в пищевой промышленности и создания пробиотических препаратов.

Список использованных источников

1. В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. Микробиология: учебник для бакалавров / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – 8 изд., исправленное и доп. М.: Юрайт, 2012. – 445 р.
2. Servin, A.L. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens / A.L. Servin // FEMS Microbiology Reviews. – 2004. – Vol. 28, № 4. – P. 405–440.
3. Zheng, J. et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae* / J. Zheng et al. // International Journal of Systematic and Evolutionary

Microbiology. – 2020. – Vol. 70, № 4. – P. 2782–2858.

4. Olofsson, T.C. et al. Lactic acid bacterial symbionts in honeybees – an unknown key to honey's antimicrobial and therapeutic activities / T.C. Olofsson et al. // International Wound Journal. – 2016. – Vol. 13, № 5. – P. 668–679.

5. Tajabadi, N. et al. Identification of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus* and *Lactobacillus fermentum* from honey stomach of honeybee / N. Tajabadi et al. // Brazilian Journal of Microbiology. – 2013. – Vol. 44, № 3. – P. 717–722.

6. Moran, N.A. Genomics of the honey bee microbiome / N.A. Moran // Current Opinion in Insect Science. – 2015. – Vol. 10, – P. 22–28.

7. Anderson, K.E. et al. Microbial Ecology of the Hive and Pollination Landscape: Bacterial Associates from Floral Nectar, the Alimentary Tract and Stored Food of Honey Bees (*Apis mellifera*) / K.E. Anderson et al. // PLoS ONE. / ed. by Gerardo N.M. – 2013. – Vol. 8, № 12. – P. E83125.

8. Wang, C. et al. *Lactobacillus panisapium* sp. nov., from honeybee *Apis cerana* bee bread / C. Wang et al. // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 2018. – Vol. 68, № 3. – P. 703–708.

9. Egorova, A. I. Preservative microflora in stored pollen / A. I. Egorova // Veterinariya. 1971. - № 8. - P. 40-41.

10. Андреева, Н. Л. Альтернатива антибиотикам / Международный вестник ветеринарии. – № 2. – 2009. – С. 10–13.

11. Чечёткина, У.Е. Энтеробактерии в составе микрофлоры пищеварительной системы медоносных пчёл в различные сезоны года / У.Е. Чечёткина, Н.И. Евтеева, А.И. Речкин, А.А. Радаев // Вестник Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского. – 2011. – №2. – С. 149–153.

12. Бахир, В.М. Пчелы в окружении микробов / В.М. Бахир, А.М. Кожемякин // Пчеловодство. – 2002. – №3. – С. 23–26.

13. Гробов, О.Ф. Болезни и вредители пчел / О.Ф. Гробов, А.К. Лихотин // Москва: Мир. - 2003. – 288 с.

14. Билаш, Н.Г. Подкормка пчелиных семей на зиму / Н.Г. Билаш, В.И. Лебедев // Пчеловодство. – 2009. – №7. – С. 48–49.

15. Ляпунов, Я.Э. Энтеробактерии кишечника зимующих пчел *Apis mellifera* / Я.Э. Ляпунов, Р.З. Кузьяев, Р.Г. Хисматуллин, О.А. Безгодова // Микробиология. – 2008. – № 3. – Т.77. – С. 421–427.

16. Маннапов, А.Г. Использование микробиологических препаратов / А.Г. Маннапов, Г.С. Мишуковская, О.С. Ларионова // Пчеловодство. – 2009. – № 10. – 8 с.

10. Andreeva N.L. Alternativa antibiotikam [An alternative to antibiotics] / N.L. Andreeva // Mezhdunarodnyj vestnik veterinarii. - № 2. - 2009. - S. 10-13.

11. Chechjotkina, U.E. Jenterobakterii v sostave mikroflory pishhevaritel'noj sistemy medonosnyh pchel v razlichnye sezony goda [Enterobacteriaceae in the microflora of the digestive system of honey bees in different seasons of the year] / U.E. Chechetkina, N.I. Evteeva, A.I. Rechkin, A.A. Radaev // Vestnik Nizhegorodskogo gosuniversiteta im. N.I. Lobachevskogo. - 2011. - №2. - S. 149-153.

12. Bahir, V.M. Pchely v okruzhении mikrobov [Bees surrounded by microbes] / V.M. Bahir, A.M. Kozhemjakin // Pchelovodstvo. – 2002. – №3. – S. 23-26.

13. Grobov, O.F. Bolezni i vrediteli pchel [Diseases and pests of bees] / O.F. Grobov, A.K. Lihotin // Moskva: Mir. - 2003. - 288 s.

14. Bilash, N.G. Podkormka pchelinyh semej na zimu [Feeding of bee colonies for the winter] / N.G. Bilash, V.I. Lebedev // Pche-lovodstvo. – 2009. – №7. – S. 48-49.

15. Ljapunov, Ja.Je. Jenterobakterii kishechnika zimujushhih pchel *Apis mellifera* [Enterobacteriaceae of the intestines of wintering bees *Apis mellifera*] / Ja.Je. Ljapunov, R.Z. Kuzjaev, R.G. Hismatullin, O.A. Bezgodova // Mikrobiologija. – 2008. – № 3. – T.77. – S. 421-427.

16. Mannapov, A.G. Ispol'zovanie mikrobiologicheskikh preparatov [Use of the microbiological preparations] / A.G. Mannapov, G.S. Mishukovskaja, O.S. Larionova // Pchelovodstvo. –

17. Московская, Н.Д. Механизмы естественной защиты и изменение микробиоты кишечника медоносных пчел под влиянием адаптогенов: дисс. канд. с-х. наук: 03.03.01 / Н.Д. Московская. – М., 2019. – 164 с.
17. Moskovskaja, N.D. Mehanizmy estestvennoj zashhity i izmenenie mikrobioty kishechnika medonosnyh pchel pod vlijaniem adaptogenov [Natural defense mechanisms and changes in the intestinal microbiota of honey bees under the influence of adaptogens]: diss. kand. s-h. nauk: 03.03.01 / N.D. Moskovskaja. - M., 2019. - 164 s.
18. McFrederick, Q.S. et al. Flowers and Wild Megachilid Bees Share Microbes / Q.S. McFrederick et al. // *Microbial Ecology*. – 2017. – Vol. 73, № 1. – P. 188–200.
19. Kešnerová, L. et al. Disentangling metabolic functions of bacteria in the honey bee gut / L. Kešnerová et al. // *PLOS Biology*. / ed. by Relman D. – 2017. – Vol. 15, № 12. – P. E2003467.
20. Bottacini, F. *Bifidobacterium asteroides* PRL2011 Genome Analysis Reveals Clues for Colonization of the Insect Gut / F. Bottacini et al. // *PLoS ONE*. / ed. by Horn M. – 2012. – Vol. 7, № 9. – P. E44229.
21. Zheng, H. et al. Division of labor in honey bee gut microbiota for plant polysaccharide digestion / H. Zheng et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2019. – Vol. 116, № 51. – P. 25909–25916.
22. Хомутов, А.Е. Апитерапия. / А.Е. Хомутов, Р.В. Гиноян, О.В. Лушникова, К.А. Пурсанов // Монография. – Нижний Новгород: Изд-во ННГУ. – 2014. – 442 с.
22. Homutov, A.E. Apiterapija [Apitherapy] / A.E. Homutov, R.V. Ginojan, O.V. Lushnikova, K.A. Pursanov // Monografija. - Nizhnij Novgorod: Izd-vo NNGU. – 2014. – 442 s.
23. Olofsson, T.C., Vásquez, A. Detection and Identification of a Novel Lactic Acid Bacterial Flora Within the Honey Stomach of the Honeybee *Apis mellifera* / T.C. Olofsson, A. Vásquez // *Current Microbiology*. – 2008. – Vol. 57, № 4. – P. 356–363.
24. Коноплева, М. М. Продукты жизнедеятельности медоносной пчелы / М. М. Коноплева // Вестник фармации. - Витебск, 2011. - №1 (51). – С. 76–86.
24. Konopleva, M. M. Produkty zhiznedeja-tel'nosti medonosnoj pchely [Waste products of the honey bee] / M. M. Konopleva // Vestnik farmacii. - Vitebsk, 2011. - №1 (51). – S. 76–86.
25. Vásquez, A., Olofsson, T.C. The lactic acid bacteria involved in the production of bee pollen and bee bread / A. Vásquez, T.C. Olofsson // *Journal of Apicultural Research*. – 2009. – Vol. 48, № 3. – P. 189–195.
26. Крылов, В.Н. Маточное молочко пчел. Свойства, получение, применение / В.Н. Крылов, С.С. Сокольский // Краснодар: Агропромполиграфит. - 2000. - 216 с.
26. Krylov, V.N. Matochnoe molochko pchel. Svoystva, poluchenie, primenenie [Royal jelly of bees. Properties, receipt, application] / V.N. Krylov, S.S. Sokol'skij // Krasnodar: Agroprompoligrafit. - 2000. - 216 s.
27. Ломова Н.Н. Влияние продуктов пчеловодства на жизнеспособность микрофлоры / Н.Н. Ломова, О.О. Снежко // Портал-каталог молочной отрасли. - Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев. - 2019.
27. Lomova N.N. Vlijanie produktov pchelo-vodstva na zhiznesposobnost' mikroflory [Influence of beekeeping products on the viability of microflora] / N.N. Lomova, O.O. Snezhko // Portal-katalog molochnoj otrasli. - Nacional'nyj universitet bioresursov i prirodopol'zovanija Ukrainy, g. Kiev. - 2019.
28. Шкендеров, С. Пчелиные продукты / С. Шкендеров, Ц. Иванов // София: Земиздат. - 1985. - 280 с.
28. Shkenderov, S. Pchelinye produkty [Bee products] / S. Shkenderov, C. Ivanov // Sofija: Zemizdat. - 1985. - 280 s.
29. Pech-Canul, A. de la C. et al. A Brief Review of Edible Coating Materials for the

Microencapsulation of Probiotics / A. de la C. Pech-Canul et al. // Coatings. – 2020. – Vol. 10, № 3. – P. 197.

30. Mandal, S. et al. Enhancement of survival of alginate-encapsulated *Lactobacillus casei* NCDC 298: Enhancement of survival of alginate-encapsulated *L. casei* / S. Mandal et al. // Journal of the Science of Food and Agriculture. – 2014. – Vol. 94, № 10. – P. 1994–2001.

31. Шнуровозова Т.В. Пчелы / Т.В. Шнуровозова // М.: Эксмо. - 2013. - 240 с.

32. Бирюк Е.Н. *Lactobacillus reuteri* представитель микрофлоры пчелы медоносной *Apis mellifera L.* / Е.Н. Бирюк, Т.В. Кручёнок, Т.Г. Пстыга, М.И. Черник, Н.В. Захарик, О.Л. Гуринович // Экология и животный мир. – 2018. – № 2. – P. 63–69.

33. Бирюк, Е.Н. Выделение и молекулярно-генетическая идентификация изолятов *Lactobacillus apis* / Е.Н. Бирюк, Ю.С.Тарашкевич, Т.В. Кручёнок, М.И. Черник, Н.В. Захарик, О.Л. Гуринович, Ю.И. Тяпша // Экология и животный мир: международный научно-практический журнал. - 2019. - №2. – С.43-51.

34. Афонюшкин, В.Н. Механизмы биологической активности системы *Lactobacillus reuteri* – реутерин / В.Н. Афонюшкин, М.Л. Филипенко, А.Н. Ширшова, О.Г. Маслов // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2013. – № 4. – С. 70-75.

35. Hoeltzel, A. et al. ChemInform Abstract: The First Low Molecular Weight Antibiotic from Lactic Acid Bacteria: Reutericyclin (I), a New Tetramic Acid / A. Hoeltzel et al. // ChemInform. – 2000. – Vol. 31, № 45. – P. No-No.

36. Новик, Г. И. Лактобациллы: биотехнологический потенциал и проблемы идентификации / Г. И. Новик, А. В. Сидоренко // Проблемы здоровья и экологии. – 2007. – С. 141-149.

37. Killer, J. *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 / J. Killer et al. // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 2014. – Vol. 64, № Pt.1. – P. 152–157.

31. Shnurovozova T.V. Pchely [Bees] / T.V. Shnurovozova // М.: Jeksmo. - 2013. - 240 s.

32. Birjuk E.N. *Lactobacillus reuteri* predstavitel' mikroflory pchely medo-nosnoj *Apis mellifera L.* / E.N. Birjuk, T.V. Kruchjonok, T.G. Pstyga, M.I. Chernik, N.V. Zaharik, O.L. Gurinovich // Jekologija i zivotnyj mir. – 2018. – № 2. – P. 63–69.

33. Birjuk, E.N. Vydelenie i molekularno-geneticheskaja identifikacija izoljatov *Lactobacillus apis* / E.N. Birjuk, Ju.S.Tarashkevich, T.V. Kruchjonok, M.I. Chernik, N.V. Zaharik, O.L. Gurinovich, Ju.I. Tjapsha // Jekologija i zivotnyj mir: mezhdunarodnyj nauchno-prakticheskij zhurnal. - 2019. - №2. – S.43-51.

34. Afonjushkin, V.N. Mehanizmy bio-logicheskoj aktivnosti sistemy *Lactobacillus reuteri* – reuterin / V.N. Afonjushkin, M.L. Filipenko, A.N. Shirshova, O.G. Maslov // Sibirskij vestnik sel'skhozjajstvennoj nauki. – 2013. – № 4. – S. 70-75.

36. Novik, G. I. Laktobacilly: bioteh-nologicheskij potencial i problemy identifikacii / G. I. Novik, A. V. Sidorenko // Problemy zdorov'ja i jekologii. – 2007. – S. 141-149.