

# HỆ VI SINH VẬT ĐƯỜNG RUỘT CỦA LOÀI ONG MẬT *APIS CERANA* TẠI TỈNH HƯNG YÊN, VIỆT NAM

Phạm Thị Lành<sup>1,3</sup>, Trần Nam Khang<sup>1,3</sup>, Bùi Thị Thùy Dương<sup>1</sup>, Mẫn Hồng Phước<sup>1</sup>,  
Nguyễn Thị Hoa<sup>1</sup>, Hà Thị Thu<sup>1</sup>, Phạm Hồng Thái<sup>2</sup>, Đồng Văn Quyền<sup>1,3</sup>

## TÓM TẮT

Nhiều nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng hệ vi sinh vật đường ruột của ong đóng vai trò quan trọng trong việc nâng cao sức khỏe của ong mật, tăng cường khả năng chống lại các tác nhân gây bệnh. Trong nghiên cứu này, phương pháp giải trình tự thế hệ mới (NGS) được sử dụng để tìm hiểu thành phần hệ vi sinh vật trong đường ruột của ong thợ trưởng thành thuộc loài ong mật *Apis cerana* tại tỉnh Hưng Yên, Việt Nam và xác định mối quan hệ cộng sinh giữa chúng và vật chủ. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hệ vi sinh vật đường ruột của ong *A. cerana* tại tỉnh Hưng Yên thuộc 4 ngành chính bao gồm *Proteobacteria* (47,6%), *Firmicutes* (45,20%), *Actinobacteria* (4,20%) và *Bacteroidetes* (2%). Trong đó, 4 nhóm vi khuẩn lõi được phát hiện bao gồm *Gilliamella apicola* (5%), *Lactobacillus Firm-5* (7%) và *Lactobacillus Firm-4* (3%) và *Bifidobacterium asteroides* (4%). Trong tổng số những loài vi khuẩn được phát hiện, nhóm vi khuẩn lactic (LAB) chiếm 47% gồm: *B. asteroides* group, *L. fermentum*, *L. helsingborgensis*, *L. kimbladii*, *L. kunkeei* group, *L. mellis*. Những vi khuẩn LAB này có vai trò quan trọng đối với sức khỏe của ong mật và có thể là những ứng viên tiềm năng trong phát triển chế phẩm sinh học giúp nâng cao sức khỏe của đàn ong để chống lại các tác nhân gây bệnh.

*Từ khóa:* *Apis cerana*, ong mật, hệ vi sinh vật đường ruột, vi khuẩn lactic (LAB), next generation sequencing (NGS).

## The gut microbiome of honey bee (*Apis cerana*) in Hung Yen province, Viet Nam

Pham Thi Lanh, Tran Nam Khang, Bui Thi Thuy Duong, Man Hong Phuoc,  
Nguyen Thi Hoa, Ha Thi Thu, Pham Hong Thai, Dong Van Quyen

## SUMMARY

Recent studies have found that the bacteria in the bee's intestines play an essential role in improving the health of honey bees, increasing its resistance to a diversity of diseases. In this study, metagenomic analysis of microbial 16S rRNA sequences by next generation sequencing (NGS) was used to determine the composition and structure of gut microflora in honey bee *Apis cerana* at Hung Yen province, Viet Nam. The studied result showed that the microbiome in *A. cerana* gut was dominated by four major phyla of bacteria including *Proteobacteria* (47.6%), *Firmicutes* (45.20%), *Actinobacteria* (4.20%) and *Bacteroidetes* (2%). Of which, there were four core bacteria detected including *Gilliamella apicola* group (5%), *Lactobacillus Firm-5* (7%), *Lactobacillus Firm-4* (3%) and *Bifidobacterium asteroides* group (4%). Lactic acid bacteria (LAB) comprised of 47% of the identified bacteria including *B. asteroides* group, *L. fermentum*, *L. helsingborgensis*, *L. kimbladii*, *L. kunkeei* group, *L. mellis*. These LAB have been known to play important role in the honey bee health and can be promising candidates for probiotic development to enhance honey bee health and to manage the honey bee diseases.

*Keywords:* *Apis cerana*, honey bees, gut microbiome, lactic acid bacteria (LAB), next generation sequencing (NGS).

<sup>1</sup> Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>2</sup> Trung tâm Nghiên cứu ong và nuôi ong nhiệt đới, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

<sup>3</sup> Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

## I. MỞ ĐẦU

Nghề nuôi ong mang lại cho con người các sản phẩm có giá trị kinh tế cao như mật ong, sáp ong, phấn hoa, v.v. (Engel và cs., 2016; Thai và Van Toan, 2018). Đặc biệt, nghề nuôi ong cổ truyền của Việt Nam với giống ong nội *A. cerana* đã có từ lâu đời (Thai và cs., 2018). *A. cerana* phân bố ở khắp các tỉnh ở Việt Nam, trừ vùng rừng U Minh, tỉnh Cà Mau và có vai trò quan trọng trong phát triển kinh tế nông nghiệp ở các vùng núi Việt Nam (Thai và cs., 2018; Thai và Van Toan, 2018). Tuy vậy, trong những năm gần đây, ngành nuôi ong mật tại Việt Nam nói riêng và trên toàn thế giới nói chung đang chịu ảnh hưởng nghiêm trọng bởi các điều kiện khí hậu bất thường và đặc biệt các tác nhân gây bệnh như vi khuẩn, nấm, virus, v.v. (Mc Menamin và cs., 2018; Thai và cs., 2018).

Hiện nay, các phương pháp phổ biến được dùng để phòng và điều trị bệnh ở ong bao gồm sử dụng thuốc kháng sinh, các chất hóa học, thảo dược, v.v kết hợp với các biện pháp kỹ thuật hay vật lý như thông gió và vệ sinh thùng nuôi (Thai và cs., 2018). Tuy vậy, hiệu quả của các phương pháp này còn rất hạn chế, bên cạnh đó, việc lạm dụng thuốc kháng sinh có thể dẫn đến sự tồn dư kháng sinh trong các sản phẩm từ ong mật, gây hại đối với sức khỏe của người tiêu dùng và nguy cơ xuất hiện của các chủng vi sinh vật kháng thuốc kháng sinh (Marušćáková và cs., 2020). Thực tế trên đã đòi hỏi sự phát triển của các phương pháp thay thế, giúp chống lại các tác nhân gây bệnh ở ong có hiệu quả và thân thiện môi trường. Trong đó, việc sử dụng chế phẩm sinh học (probiotic) giúp nâng cao sức khỏe của đàn ong là một liệu pháp tiềm năng và đang được các nhà khoa học/nông học quan tâm nghiên cứu và phát triển.

Các nghiên cứu gần đây cho thấy hệ vi sinh vật đường ruột đóng vai trò trong các quá trình dinh dưỡng, phát triển của ong mật, giúp nâng cao khả năng chống chịu của chúng trước các tác nhân gây bệnh (Ellegaard và cs., 2015b). Hệ vi sinh vật này (*A. mellifera* và *A. cerana*) thường có 5 loài vi khuẩn lõi bao gồm *Snodgrassella alvi*, *Gilliamella apicola*, *Lactobacillus Firm-4*, *Lactobacillus Firm-5* và *B. asteroides* và các vi sinh vật phổ biến khác. Những vi sinh vật này tồn tại và trải qua tiến hóa cùng với ong mật nhưng có thể bị ảnh hưởng các điều kiện môi trường, khí hậu, vị trí địa lý, nguồn thức ăn, tuổi và thứ

bậc của cá thể ong trong tổ (Ellegaard và cs., 2015b; Kwong và cs., 2016b; Procházková và cs., 2020).

Trong nghiên cứu này, phân tích dữ liệu metagenomic của đoạn gen 16S rRNA đặc trưng của vi khuẩn được thực hiện nhằm xác định thành phần và cấu trúc hệ vi sinh vật đường ruột của giống ong nội *A. cerana* được nuôi tại tỉnh Hưng Yên, một trong những tỉnh có nghề nuôi ong mật phát triển ở miền Bắc Việt Nam. Kết quả của nghiên cứu sẽ cung cấp những thông tin hữu ích giúp phát triển chế phẩm probiotic giúp tăng cường sức khỏe và nâng cao khả năng chống lại các tác nhân gây bệnh ở ong mật.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Mẫu ong mật

Mẫu ong mật *A. cerana* trưởng thành được thu từ tổ ong khỏe tại trại nuôi ong thuộc tỉnh Hưng Yên bởi phòng Vi sinh vật học phân tử, Viện Công nghệ sinh học – Viện Hàn lâm KHCN Việt Nam và Trung tâm nghiên cứu ong và nuôi ong nhiệt đới, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

### 2.2. Tách chiết DNA tổng số

10g mẫu bụng ong được sử dụng để tách chiết DNA sử dụng GeneJET Genomic DNA Purification kit (ThermoFisher, USA) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Chất lượng DNA tách chiết được đánh giá bằng phương pháp đo Nanodrop và điện di với gel agarose 1%.

### 2.3. Giải trình tự DNA bằng phương pháp giải trình tự thế hệ mới

Trình tự DNA 16S rRNA khuếch đại và giải trình tự bằng máy giải trình tự thế hệ mới Illumina miSeq Sequencing system (Illumina, Mỹ) được thực hiện tại Chunlab Inc. (Seoul, Hàn Quốc).

### 2.4. Phân tích dữ liệu

Dữ liệu trình tự thô sẽ được đánh giá chất lượng (QC) và xử lý bằng các phần mềm tin sinh học như Trimmomatic v0.32, PANDAseq, HMMER's hmmsearch, DUDE-Seq và UCLUST-clustering, USEARCH sử dụng cơ sở dữ liệu từ EzBioCloud, v.v (Duong và cs., 2020). Excel được sử dụng để phân tích dữ liệu theo mức độ phân loại ngành, chi và loài với tỷ lệ cut-off  $\geq 1\%$ .

### III. KẾT QUẢ

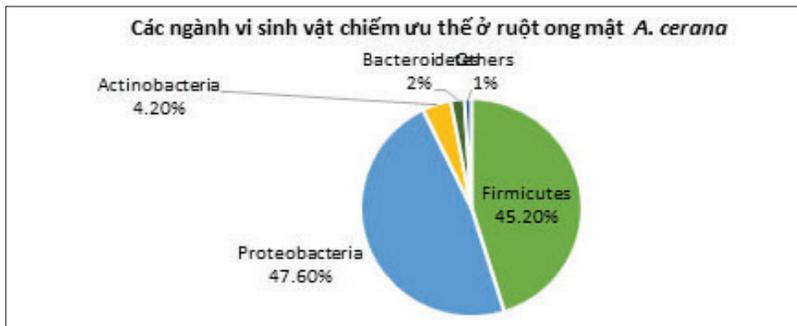
#### 3.1. Kết quả tách chiết DNA metagenome và giải trình tự thế hệ mới

DNA metagenome được tách chiết thành công từ mẫu ruột ong trưởng thành, chất lượng đáp ứng yêu cầu với  $A_{260/280}=1,83$ ; nồng độ DNA là 78,00 ng/μl. Phân tích kết quả giải trình tự thế hệ mới bằng hệ thống Illumina MiSeq cho thấy, mẫu DNA tổng số tách chiết từ ong mật có chứa tổng số 33.561 trình tự. Trong đó 25.999 trình tự (77,5%) đạt chất lượng với độ dài trung bình 420bp, và 15.601 trình tự (60%) đã được xác định ở mức độ phân loại loài. Số lượng đơn

vi phân loại (operational taxonomic units, OUTs) thu được là 220 với tỷ lệ tương đồng  $\geq 97\%$  và tổng số 138 loài vi sinh vật đã được xác định.

#### 3.2. Thành phần hệ vi sinh vật đường ruột của ong mật *A. cerana*

Kết quả giải trình tự và số liệu sau khi xử lý bằng các phần mềm tin sinh cho thấy hệ vi sinh vật đường ruột của ong mật trưởng thành *A. cerana* tại Hưng Yên có 4 ngành vi sinh vật chiếm ưu thế lần lượt là *Proteobacteria* (47,6%), *Firmicutes* (45,20%), *Actinobacteria* (4,20%) và *Bacteroidetes* (2%) (hình 1).

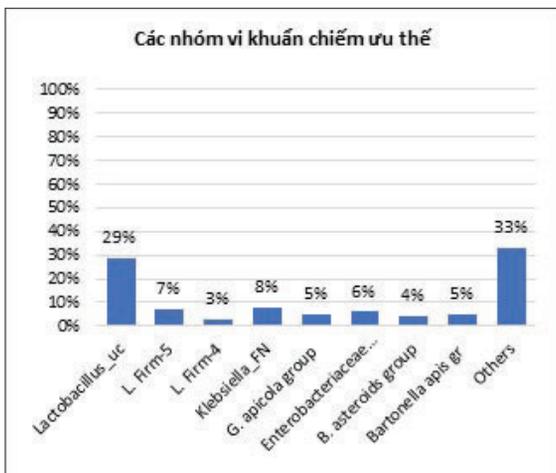


Hình 1. Các ngành vi sinh vật chiếm ưu thế ở ruột ong mật *A. cerana* tại tỉnh Hưng Yên, Việt Nam (cut-off 1%)

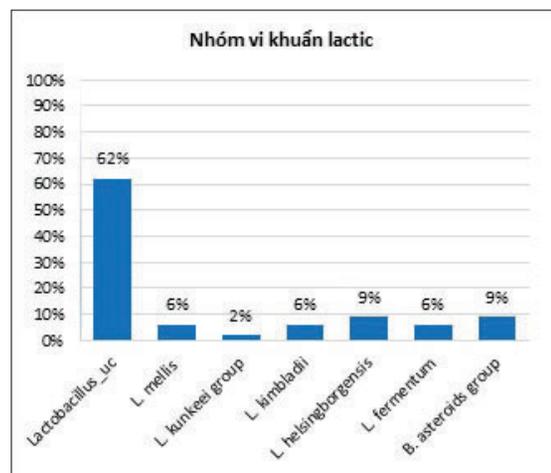
Ở cấp độ phân loại chi, ruột ong mật có sự có mặt của 10 chi vi sinh vật bao gồm *Lactobacillus* (44,02%), *Gilliamella* (10%), *Klebsiella* (8%), *Enterobacteriaceae* group (6%), *Enterobacter* (5%),

*Bartonella* (5%), *Bifidobacterium* (4,2%), *Kosakonia* (3%), *Pantoea* (2,7%) và *Apibacter* (2%).

Tám nhóm vi sinh vật chính có mặt trong hệ vi sinh vật đường ruột ong (hình 2).



Hình 2. Các nhóm vi khuẩn chiếm ưu thế trong ruột ong mật *A. cerana* tại Hưng Yên, Việt Nam (cut-off 1%)

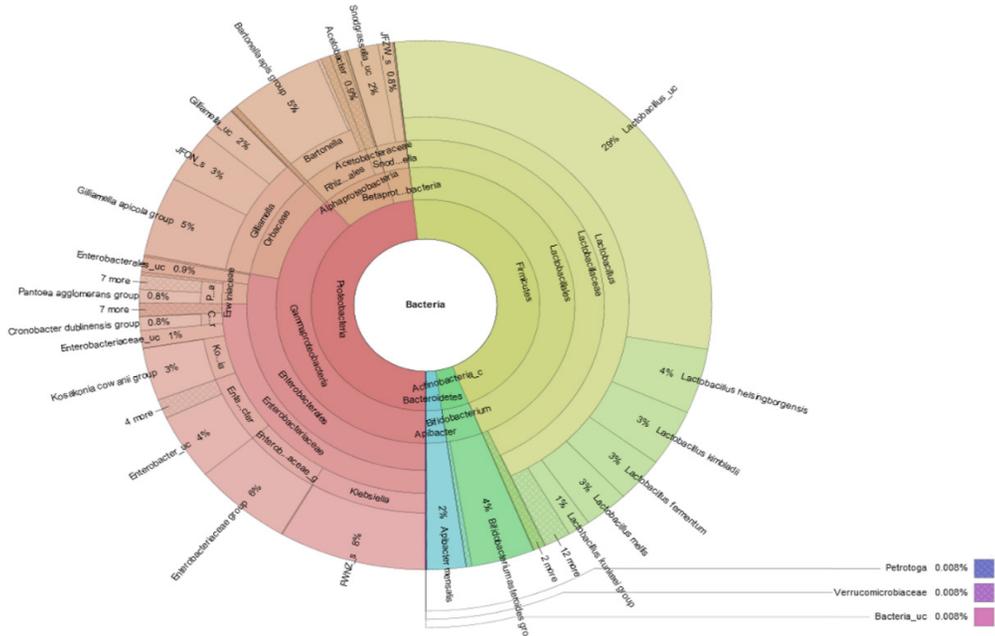


Hình 3. Nhóm vi khuẩn lactic trong ruột ong mật *A. cerana* tại Hưng Yên, Việt Nam (cut-off 1%)

Trong đó, *Lactobacillus\_uc* là loài chiếm cao nhất với tỷ lệ 29%. Bên cạnh đó, 4 nhóm vi khuẩn lõi ở đường ruột ong mật được tìm thấy chiếm tổng tỷ lệ là 19% bao gồm *L. Firm-5* (7%) (*L. kimbladii* 3%, *L. helsingborgensis* 4%) và *L. Firm-4* (3%) (*L. mellis* 3%), *G. apicola* group (5%) và *B. asteroides* group (4%). Ngoài ra, *Bartonella apis* là nhóm vi sinh vật cộng sinh trong ruột ong mật nhưng hiếm gặp, cũng được tìm thấy trong ruột ong mật *A. cerana* tại Hưng Yên với tỷ lệ 5%. Kết quả cũng cho thấy nhóm vi sinh vật gây bệnh cơ

hội chiếm tỷ lệ 12% bao gồm *Klebsiella\_FWNZ* (8%) và *Enterobacteriaceae* group (6%).

Trong ruột ong mật trưởng thành, nhóm vi khuẩn LAB được tìm thấy với tỷ lệ 47%, chủ yếu thuộc 2 chi *Lactobacillus* (62%) và *Bifidobacterium* (9%) bao gồm các vi sinh vật: *Lactobacillus\_uc* (29%), *L. helsingborgensis* (9%), *Lactobacillus fermentum* (6%), *L. mellis*(6%), *L. kimbladii*(6%), *Lactobacillus kunkeei* group (2%) và *B. asteroides* group (9%) (hình 3, 4).



**Hình 4. Thành phần hệ vi sinh vật trong ruột ong mật *A. cerana* tại tỉnh Hưng Yên, Việt Nam (cut-off 1%)**

**IV. THẢO LUẬN**

Hệ vi sinh vật đường ruột được chứng minh là có vai trò rất quan trọng đối với sức khỏe của ong mật (Engelvà cs., 2016; Kakumanu và cs., 2016; Kwong và cs., 2017; Wu và cs., 2020). Hiện nay, đã có rất nhiều bằng chứng cho thấy hệ vi sinh vật đường ruột có số gen cao hơn rất nhiều so với vật chủ của chúng, điều đó cho thấy, rất có thể chúng đóng vai trò đáng kể trong việc thực hiện các quá trình trao đổi chất mà chính ong mật không hoặc chỉ có thể làm được một phần.

Trong nghiên cứu này, hệ vi sinh vật đường ruột của loài ong nội *A. cerana* tại tỉnh Hưng Yên, Việt

Nam bao gồm 4 ngành chính là *Proteobacteria* (47,6%), *Firmicutes* (45,20%), *Actinobacteria* (4,20%) và *Bacteroidetes* (2%). Kết quả này là tương tự với các nghiên cứu đã được công bố trước đây về hệ vi sinh đường ruột của ong mật thợ trưởng thành (*A. cerana* và *A. mellifera*) (Duongvà cs., 2020; Ellegaard và cs., 2020; Kwong và cs., 2016a; Romero và cs., 2019; Yoshiyama và cs., 2009). Tuy nhiên, một số nghiên cứu khác chỉ ghi nhận sự có mặt của 3 ngành vi sinh vật chính trong đường ruột của ong mật thợ *A. mellifera* bao gồm *Firmicutes* (62,1%), *Proteobacteria* (20,7%) và *Actinobacteria* (16%) (Lombogia và cs., 2020; Yun và cs., 2018). Bên cạnh đó, trong nghiên cứu trước đây của chúng

tôi, hệ vi sinh vật đường ruột của mẫu ong *A. cerana* tại Gia Lâm, Hà Nội có cùng thành phần ngành vi sinh vật như mẫu ong thu tại Hưng Yên trong nghiên cứu này nhưng có sự khác biệt đáng kể về tỷ lệ các ngành với *Proteobacteria* (70,7%), *Actinobacteria* (10,7%), *Firmicutes* (10,3%) và *Bacteroidetes* (8,4%) (Duong và cs., 2020). Tương tự, Luo và cs. (2020) cũng ghi nhận sự khác biệt về tỷ lệ các ngành/chi/loài vi sinh vật chiếm ưu thế trong ruột ong *A. cerana* trưởng thành được thu thập tại ba vùng địa lý khác nhau tại Vân Nam, Trung Quốc (Luo và cs., 2020). Không như ong ngoại *A. mellifera*, người nuôi ong thường di chuyển đàn ong theo mùa hoa đến các địa phương khác nhau để lấy mật, ong nội *A. cerana* chỉ nuôi tại một địa điểm. Như vậy, sự khác biệt về thành phần và tỷ lệ các ngành vi sinh vật có thể do sự khác biệt về địa lý và các điều kiện tự nhiên. Sự khác biệt về đa dạng hệ vi sinh vật đường ruột và tỷ lệ các ngành vi sinh vật trong nghiên cứu này so với kết quả nghiên cứu trước của chúng tôi một lần nữa củng cố giả thuyết này.

Một số nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng, các vi sinh vật lõi trong hệ vi sinh vật đường ruột của ong bao gồm *S. alvi*, *G. apicola*, *Lactobacillus* Firm-4, *Lactobacillus* Firm-5 và *B. asteroides* có vai trò quan trọng trong quá trình tiêu hóa thức ăn và tổng hợp các chất dinh dưỡng cần thiết cho ong mật như lên men các chất carbohydrates có cấu tạo phức tạp, phân giải các chất hữu cơ, cung cấp các con đường dị hóa (ví dụ *S.alvi*) (Ellegaard và cs., 2015a; Kwong và cs., 2016a). Trong nghiên cứu này, bốn trong năm loài vi sinh vật lõi đã được tìm thấy trong ruột của ong mật tại Hưng Yên bao gồm *L. Firm-5* (7%) và *L. Firm-4* (3%), *G. apicola* group (5%) và *B. asteroides* group (4%), tương tự như đã được ghi nhận trong công bố trước đó (Duong và cs., 2020).

Bên cạnh đó, các nghiên cứu gần đây cũng chỉ ra rằng nhóm vi khuẩn LAB bao gồm hai chi là *Lactobacillus* và *Bifidobacterium* đóng vai trò quan trọng trong bảo vệ vật chủ khỏi các tác nhân gây bệnh bằng thông qua việc tạo ra các chất kháng khuẩn và các chất tăng cường đáp ứng miễn dịch (Piccart và cs., 2016). Tỷ lệ và thành phần của chi *Lactobacillus* sẽ thay đổi tùy theo điều kiện dinh dưỡng và tương tác giữa các cá thể ong mật (Dong và cs., 2020). Trong nghiên cứu này, vi khuẩn *Lactobacillus* uc là nhóm chiếm tỷ lệ lớn nhất trong ruột ong, tiếp đến

là nhóm vi khuẩn *L. Firm-4* và *L. Firm-5* (*L. mellis*, *L. mellifer*, *L.helsingborgensis* và *L. kimbladii*). Đặc biệt, *Bifidobacteria* được biết đến là vi khuẩn kỵ khí, nhưng vi khuẩn *B. asteroides* lại được tìm thấy ở trực tràng ong mật, chúng mang gen liên quan đến quá trình hô hấp giúp chúng có thể thích nghi với điều kiện giàu oxy (Alberoni và cs., 2016; Bonilla-Rosso và cs., 2018). Ngoài ra, *B. asteroides* còn chứa các gen tham gia vào quá trình tổng hợp vitamin B9, nhưng không thể tổng hợp vitamin B khác (Alberoni và cs., 2016). Như vậy, khả năng cộng sinh tự nhiên của nhóm vi khuẩn đường ruột có thể là một đáp án cho khả năng bảo vệ vật chủ khỏi tác nhân gây bệnh (Sakamoto và cs., 2006).

## V. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã ghi nhận sự có mặt của 4 ngành vi sinh vật chính trong ống tiêu hóa của ong mật *A. cerana* được nuôi tại tỉnh Hưng Yên gồm *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* và *Proteobacteria*; và các loài lợi khuẩn như *L. helsingborgensis*, *L. fermentum*, *L. mellis*, *L. kimbladii*, *L. kunkeei* và *B. asteroides*. Những nhóm vi khuẩn trên đóng vai trò quan trọng trong sức khỏe của ong mật và có thể là những nhóm vi khuẩn tiềm năng trong việc phát triển chế phẩm probiotic, nhằm nâng cao sức khỏe và tăng sức đề kháng cho ong mật, góp phần đảm bảo sự phát triển bền vững của ngành nuôi ong mật tại Việt Nam.

*Lời cảm ơn:* Công trình này được thực hiện với sự hỗ trợ về kinh phí bởi Quỹ Nafosted, mã số đề tài 106.04-2019.24.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Alberoni D, Gaggia, F, Baffoni, L, & Di Gioia, D., 2016. Beneficial microorganisms for honey bees: problems and progresses. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(22), 9469-9482.
2. Bonilla-Rosso G, & Engel, P., 2018. Functional roles and metabolic niches in the honey bee gut microbiota. *Current opinion in microbiology*, 43, 69-76.
3. Dong Z-X, Li, H-Y, Chen, Y-F, Wang, F, Deng, X-Y, Lin, L-B, Zhang, Q-L, Li, J-L, & Guo, J., 2020. Colonization of the gut microbiota of honey bee (*Apis mellifera*) workers at different developmental stages. *Microbiological research*, 231, 126370.
4. Duong BTT, Lien, NTK, Thu, HT, Hoa, NT, Lanh, PT, Yun, B-R, Yoo, M-S, Cho, YS, & Van Quyen,

- D., 2020. Investigation of the gut microbiome of *Apis cerana* honeybees from Vietnam. *Biotechnology Letters*, 42(11), 2309-2317.
5. Ellegaard KM, Suenami, S, Miyazaki, R, & Engel, P., 2020. Vast differences in strain-level diversity in the gut microbiota of two closely related honey bee species. *Current Biology*.
  6. Ellegaard KM, Tamarit, D, Javelind, E, Olofsson, TC, Andersson, SG, & Vásquez, A., 2015a. Extensive intra-phyloptype diversity in lactobacilli and bifidobacteria from the honeybee gut. *BMC genomics.*, 16(1), 1-22.
  7. Ellegaard KM, Tamarit, D, Javelind, E, Olofsson, TC, Andersson, SG, & Vásquez, A., 2015b. Extensive intra-phyloptype diversity in lactobacilli and bifidobacteria from the honeybee gut. *BMC Genomics* 16 (1), 1-22. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1476-6>
  8. Engel P, Kwong, WK, McFrederick, Q, Anderson, KE, Barribeau, SM, Chandler, JA, Cornman, RS, Dainat, J, De Miranda, JR, & Doublet, V., 2016. The bee microbiome: impact on bee health and model for evolution and ecology of host-microbe interactions. *MBio*, 7(2).
  9. Kakumanu ML, Reeves, AM, Anderson, TD, Rodrigues, RR, & Williams, MA., 2016. Honey bee gut microbiome is altered by in-hive pesticide exposures. *Frontiers in microbiology*, 7, 1255.
  10. Kwong WK, Mancenido, AL, & Moran, NA., 2017. Immune system stimulation by the native gut microbiota of honey bees. *Royal Society open science*, 4(2), 170003.
  11. Kwong WK, & Moran, NA., 2016a. Gut microbial communities of social bees. *Nature Reviews Microbiology*, 14(6), 374-384.
  12. Kwong WK, & Moran, NA., 2016b. Gut microbial communities of social bees. *Nat Rev Microbiol*, 14(6):374-84. doi: 10.1038/nrmicro.2016.43.
  13. Lombogia CA, Tulung, M, Posangi, J, & Tallei, TEJJoM., 2020. Bacterial composition, community structure, and diversity in *apis nigrocincta* gut. *International Journal of Microbiology*, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2020/6906921>.
  14. Luo Z-W, Dong, Z-X, Chen, Y-F, Li, H-Y, Tang, Q-H, Li, J-L, & Guo, J., 2020. Comparative analysis of the gut microbiota of *Apis cerana* in Yunnan using high-throughput sequencing. *Archives of Microbiology*, 202(9), 2557-2567.
  15. Marušćáková IC, Schusterová, P, Bielik, B, Toporčák, J, Bíliková, K, Mudroňová, DJP, 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.
  16. McMenamin AJ, Daughenbaugh, KF, Parekh, F, Pizzorno, MC, & Flenniken, ML., 2018. Honey bee and bumble bee antiviral defense. *Viruses*, 10(8), 395.
  17. Piccart K, Vasquez, A, Piepers, S, De Vliegheer, S, & Olofsson, T., 2016. Lactic acid bacteria from the honeybee inhibit the in vitro growth of mastitis pathogens. *Journal of dairy science*, 99(4), 2940-2944.
  18. Procházková M, Škubník, K, Füzik, T, Mukhamedova, L, Přidal, A, & Plevka, P., 2020. Virion structures and genome delivery of honeybee viruses. *Current Opinion in Virology*, 45, 17-24.
  19. Romero S, Nastasa, A, Chapman, A, Kwong, W, & Foster, L., 2019. The honey bee gut microbiota: strategies for study and characterization. *Insect molecular biology*, 28(4), 455-472.
  20. Sakamoto M, Rôças, I, Siqueira Jr, J, Benno, YJO, 2006. Molecular analysis of bacteria in asymptomatic and symptomatic endodontic infections. *Oral Microbiol Immunol*. 21(2):112-22. doi: 10.1111/j.1399-302X.2006.00270.x.
  21. Thai PH, Huyen, NT, Van Toan, T, & Jung, C., 2018. *Apis cerana* Beekeeping and Sacbrood Disease Management in Vietnam. *Journal of Apiculture*, 33(4), 269-275.
  22. Thai PH, & Van Toan, T., 2018. Beekeeping in Vietnam. In *Asian Beekeeping in the 21st Century* (pp. 247-267): Springer.
  23. Wu Y, Zheng, Y, Chen, Y, Chen, G, Zheng, H, & Hu, F., 2020. *Apis cerana* gut microbiota contribute to host health though stimulating host immune system and strengthening host resistance to *Nosema ceranae*. *Royal Society open science*, 7(5), 192100.
  24. Yoshiyama M, & Kimura, KJJoIP., 2009. Bacteria in the gut of Japanese honeybee, *Apis cerana japonica*, and their antagonistic effect against *Paenibacillus* larvae, the causal agent of American foulbrood. *J Invertebr Pathol.*, 102(2):91-6. doi: 10.1016/j.jip.2009.07.005.
  25. Yun J-H, Jung, M-J, Kim, PS, & Bae, J-WJSr., 2018. Social status shapes the bacterial and fungal gut communities of the honey bee. *Sci Rep* 8, 2019 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19860-7>
- Ngày nhận 22-12-2021  
 Ngày phản biện 28-1-2022  
 Ngày đăng 1-5-2022