

УДК 579.253 + 51.76
EDN: IOACHY

Цифровой метаанализ источников и путей передачи микробиоты *Apis mellifera* L.: применение методов биоинформатики для анализа 16S-секвенирования

Асадуллин А. Ф.¹, Кашченко Г. А.², Клочев А. С.³, Тальдаев А. Х.^{4,5}, Смутин Д. В.^{6,7}✉, Адонин Л. С.⁷✉

¹Научно-технологический университет «Сириус»,
Федеральная территория «Сириус», 354340, Российская Федерация

²Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К. А. Тимирязева,
Москва, 127434, Российская Федерация

³Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, 199034, Российская Федерация

⁴Московский физико-технический институт,
Москва, 117303, Российская Федерация

⁵Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича,
Москва, 119121, Российская Федерация

⁶Национальный исследовательский университет ИТМО,
Санкт-Петербург, 197101, Российская Федерация

⁷Санкт-Петербургский государственный университет телекоммуникаций им. проф. М. А. Бонч-Бруевича,
Санкт-Петербург, 193232, Российская Федерация

Постановка задачи. Микробиом медоносной пчелы *Apis mellifera* играет важную роль в ее физиологии, иммунитете и общей жизнеспособности. В то же время он формируется под влиянием множества внешних факторов, включая микробные сообщества растений, на которых пчелы собирают нектар и пыльцу, а также микрофлору внутриульевой среды. Несмотря на растущий интерес к изучению пчелиного микробиома, остается недостаточно ясным, как именно осуществляется передача микробных компонентов между этими экологическими нишами, и какие факторы ограничивают или способствуют такому обмену. **Цель работы:** выявление механизмов формирования микробного сообщества медоносных пчел и оценка объема и характера передачи микробиоты между растительными, пчелиными и внутриульевыми средами. **Используемые методы:** для решения поставленных задач применен комплексный подход, включающий высокопроизводительное секвенирование гипервариабельного участка V4 гена 16S рРНК с последующим биоинформатическим анализом полученных данных. Для сравнения микробных сообществ использовались методы альфа- и бета-разнообразия, а также статистические тесты на различия в таксономическом составе. С целью моделирования путей передачи микробиоты и выявления ключевых факторов, влияющих на межсредовые взаимодействия, было применено структурно-уравненное моделирование. **Новизна.** Впервые в рамках одного исследования проведено комплексное сравнение микробиомов трех взаимосвязанных экологических ниш — растений, пчел и внутриульевой среды — с применением структурно-уравненного моделирования для количественной оценки путей микробного обмена. Полученные данные позволили

Библиографическая ссылка на статью:

Асадуллин А. Ф., Кашченко Г. А., Клочев А. С., Тальдаев А. Х., Смутин Д. В., Адонин Л. С. Цифровой метаанализ источников и путей передачи микробиоты *Apis mellifera* L.: применение методов биоинформатики для анализа 16S-секвенирования // Вестник СПбГУТ. 2025. Т. 3. № 3. С. 5. EDN: IOACHY

Reference for citation:

Asadullin A., Kashchenko G., Klochev A., Taldaev A., Smutin D., Adonin L. Digital Meta-Analysis of *Apis mellifera* L. Microbiota Sources and Transmission Routes: Applying Bioinformatics to 16S Sequencing Data // Herald of SPbSUT. 2025. Vol. 3. Iss. 3. P. 5. EDN: IOACHY

выявить ключевые экологические ограничители передачи микробиоты, что существенно дополняет имеющиеся представления о формировании микробиома социальных насекомых. **Результаты.** Анализ микробиоты пчел, меда и растений выявил четкую обособленность микробных сообществ каждой среды, что указывает на существование экологических барьеров, ограничивающих прямую передачу микроорганизмов. Микробиота пчел оказалась наиболее специализированной, тогда как микробиота меда имеет смешанное происхождение и формируется под влиянием как растений, так и внутриульевых процессов. Структурно-уравненное моделирование показало отсутствие прямого переноса микробов с растений на пчел, но выявило возможное опосредованное влияние через мед, а также ключевую роль средовых факторов и социальных взаимодействий в поддержании стабильности микробиома пчелиной семьи. **Практическая значимость.** Полученные результаты расширяют понимание экологических и физиологических механизмов, лежащих в основе формирования микробиома медоносных пчел. Результаты исследования могут быть использованы для разработки стратегий поддержания здорового микробиома пчел в условиях интенсивного пчеловодства, а также для оценки влияния агроэкосистем и ландшафтного разнообразия на микробное здоровье пчелиных колоний. Кроме того, выявленные ограничения в передаче микробиоты открывают перспективы для целенаправленного управления микробными сообществами с целью повышения устойчивости пчел к стрессовым факторам.

Ключевые слова: медоносная пчела *Apis mellifera*, 16S-секвенирование, микробиомы улья, метаанализ

Финансирование: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-26-00381.

Введение

Микробиота пчелиного улья представляет собой комплексную группу сообществ микроорганизмов, населяющих как различные среды улья, так и самих пчел. Эти микроорганизмы играют ключевую роль в поддержании иммунитета, влияют на протекание метаболических процессов, вовлечены в «созревание» перги и меда и в конечном итоге влияют на поведение пчел [1–5]. Эти микроорганизмы могут попадать в улей либо через контакт с окружающей средой — растениями и почвой, либо через контакт с обитателями улья: горизонтально — в результате взаимодействия между особями одной пчелиной семьи, внутриульевыми вредителями и другими компонентами улья, или вертикально — от матки к потомству [6–8]. Несмотря на кажущуюся простоту, выявление организмов, передающихся исключительно горизонтально или вертикально, затруднено из-за значительного видового разнообразия и количества ниш, занимаемых ими. Наличие бактерий, определяемых метагеномными методами как один вид, не говорит о том, что все такие бактерии передаются между этими средами. Для подтверждения или опровержения этой гипотезы необходима постановка модельных экспериментов. Косвенные доказательства выявляются через представления об экологических критериях вида: в случае, если взаимодействия между организмами в разных средах сохраняются, вероятно, соответствующие виды, к которым они относятся, с большей вероятностью совпадают, а, значит, целесообразно исследовать их передачу.

Ранее описаны потенциальные пути передачи и связности микробиомов по результатам различных секвенирований. Однако данные о генетическом разнообразии микрофлоры улья, например об *Apilactobacillus kunkeei* [9], указывают на то, что по крайней мере в некоторых случаях свободная передача этой бактерии даже между различными средами улья невозможна из-за ее специализации к определенным условиям. С другой стороны, некоторые авторы предполагают, что наблюдаемая специализация к средам не отменяет возможности передачи этой бактерии между ульями опосредованно через растения. Понимание этих процессов очень важно: наблюдаемые закономерности говорят о неисследованном скрытом функционале *Apilactobacillus kunkeei*, влияющем в том числе на экономические показатели пчеловодства — на производительность и стабильность ульев.

Около четверти биоразнообразия бактериальных сообществ пчел совпадают с растительными [4]. Таким образом, бактерии пчел частично поступают из окружающей среды, но основная их часть — специализированная кишечная микробиота. Однако подобные выводы не учитывают возможности внутривидовой

специализации и ранних этапов симпатрического видообразования путем подразделения ниш, а также возможности существования бактерий в неблагоприятной для них среде в «транзитных формах» — в процессе передачи между обычными средами их местообитания. Данное исследование посвящено анализу трех сред (меда, кишечника пчел и растений) и транзиту микроорганизмов через них.

Материалы и методы исследования

Использованные библиотеки данных. Для анализа микробиоты применялись последовательности 16S рРНК из открытых данных BioProject PRJNA930592. Данные обрабатывали с помощью конвейера QIIME2¹, включая очистку от прочтений низкого качества и таксономическую аннотацию [4]. Последовательности получены на основе анализа образцов, представленных гомогенатом из пчел-кормилиц и фуражиров, свежего меда и соцветий обильно цветущих растений. Пробоотбор производили каждую вторую декаду месяца летнего сезона 2021 г. вблизи пасек на территории Южной Финляндии. Более подробное описание локаций исследования представлено в работе [4].

Статистический анализ. Статистическая обработка выполнялась на языке программирования R 4.4.1 с применением пакета *vegan* для расчета экологических индексов, а также многомерного шкалирования². Для построения сетей взаимодействий между таксонами использовался пакет *SPRING*, который позволяет выявлять статистически значимые связи между таксонами, обеспечивая представление структуры микробного сообщества³. Анализ моделей структурных уравнений (SEM, аббр. от англ. Structural Equation Modeling) между экологическими и таксономическими характеристиками проводился с использованием пакета *lavaan*, что позволило оценить переход микробиоты между различными средами [10]. Визуализация была выполнена с использованием пакета *ggpubr*⁴.

Результаты и обсуждение

Для анализа микробиоты было использовано 818 образцов с исходным числом прочтений 16 934 580. После фильтрации данных с применением алгоритма *Deblur* количество прочтений сократилось до 4 476 228. В результате анализа было идентифицировано 127 операционных таксономических единиц (OTU, аббр. от англ. Operational Taxonomic Unit), которые принадлежат 60 различным филам и 96 родам. При этом среди всех классифицированных таксонов не было обнаружено видов, а два рода остались неклассифицированными.

Анализ разнообразия и различий между образцами

Разные среды характеризуются различными значениями разнообразия. Наибольшая вариация индексов характерна для сообществ меда (рисунки 1а, 1б). Вероятно, это связано с микробной сукцессией между различными стадиями его созревания [3]. Группы образцов удается разделить и методами ординации (рисунки 1в, 1г). NMDS-анализ (аббр. от англ. Nonmetric MultiDimensional Scaling — неметрическое многомерное шкалирование) разделяет исследуемые микробные сообщества меда, растений и пчел, что свидетельствует о наличии выраженных барьеров, ограничивающих передачу микробиоты между средами (рисунок 1в). При этом встречается незначительное количество выпадающих образцов, не объединяемых с другими группами, что указывает на возможные неоднородности выборок. Наиболее обособленным оказалось микробное сообщество пчел, в высокой степени представленное специализи-

¹ QIIME 2 Library — Manifest generator. URL: <https://library.qiime2.org/plugins/qiime2-manifest-metadata-generator/23> (Accessed 12.07.2024); QIIME 2 Library — q2-pirust. URL: <https://library.qiime2.org/plugins/pirust/q2-pirust2> (Accessed 12.07.2024).

² R Core Team, R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2024. URL: <https://www.R-project.org> (Accessed 12.07.2024); J. Oksanen et al. Vegan: Community Ecology Package. 2024. URL: <https://CRAN.R-project.org/package=vegan> (Accessed 12.07.2024).

³ Yoon G., Gaynanova I., Müller C. SPRING: Semi-Parametric Rank-based approach for INference in Graphical model. 2024. URL: <https://github.com/GraceYoon/SPRING> (Accessed 12.07.2024).

⁴ <https://ggplot2.tidyverse.org>

рованными анаэробными или микроаэробными видами. Микробиота меда занимает промежуточное положение, что отражает ее смешанное происхождение и влияние на внутриульевые процессы ферментации. Минимальное перекрытие между микробиомами растений и пчел обусловлено экологическими различиями между данными средами.

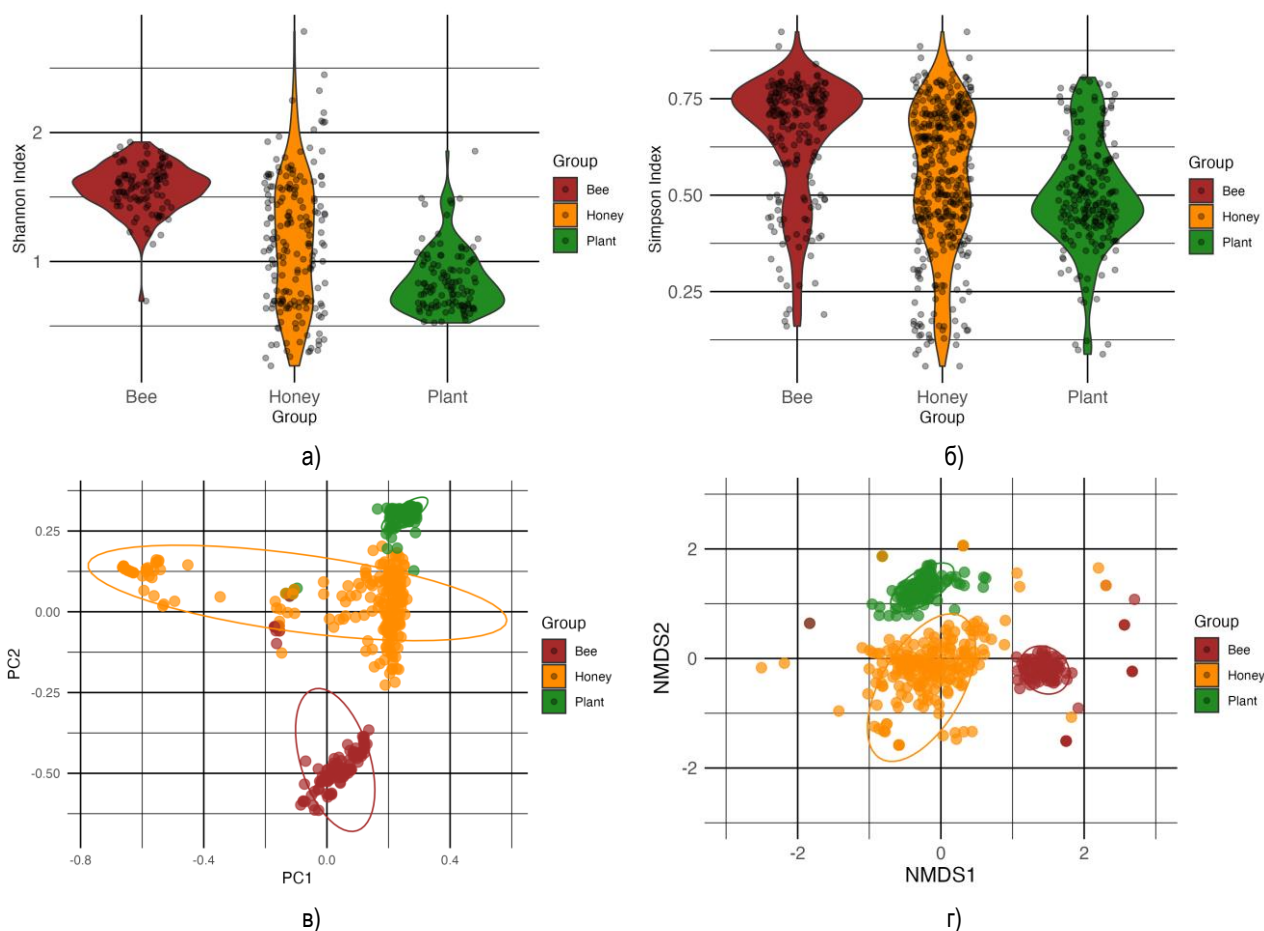


Рис. 1. Структура микробного сообщества пчел, меда и растений по показателям альфа- и бета-разнообразия: а) индекс Шеннона; б) индекс Симпсона; в) NMDS-анализ микробных сообществ; г) PCoA-анализ микробных сообществ, выполненный на основе расстояний Брея – Кертиса

Анализ экологии микроорганизмов

Определенный уровень влажности, нивелированные суточные колебания температуры, «селективность» среды (относительно среды за пределами улья количество ниш и уже имеющиеся условия более специфичны, однако постоянны) формируют микроклимат, оказывающий влияние на облик микробных сообществ улья.

В норме микробные сообщества «молодого» меда, некоторых отделов кишечника и наружных покровов пчел имеют определенные сходства в таксономическом составе. В число их представителей входят *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Frischella* и *Gilliamella*, для профиля меда также характерно наличие осмолюбительных дрожжей. Первые два представителя отвечают не только за пониженные значения pH различных сред улья (что может играть в том числе защитную функцию от ряда патогенов), но и способны участвовать в процессе метаболизма ди- и моносахаридов, входящих в состав меда. Отдельные исследования демонстрируют наличие патогенной микрофлоры растений в составе микробных сообществ медоносной пчелы и улья [1, 3, 9, 11, 12].

Сахаролитики, встречающиеся среди изолированных от растительного материала микроорганизмов и выполняющие заведомо те же функции внутри пчелиной семьи, являются доминантой во всех средах, за исключением внутриульевого пространства [11]. Перенос их из внешней среды происходит в результате сбора пыльцы и нектара.

Благодаря деятельности осмотолерантных микроорганизмов и молочнокислых бактерий (группа LAB), в перге и меде — продуктах жизнедеятельности пчел — уже на ранних этапах созревания создаются микробные профили, которые практически исключают возможность развития заведомо патогенной микрофлоры. Создаваемые условия подавляют развитие большинства микроорганизмов, значительно снижая их разнообразие в этих продуктах [3]. Следствием процессов, приводящих к сокращению численности бактерий, может являться низкая вероятность эффективного перехода микрофлоры от пищевых ресурсов в нативные микробиомы пчел. Здесь, несмотря на значительный коэффициент регрессии, характеризующий количественный переход микробиоты из одной среды в другую, между растением (пыльцой и нектаром) и медом (рисунок 2а), происходит явное сокращение как разнообразия, так и численности микроорганизмов ввиду «экстремальности» условий, порождаемых этим же сообществом (рисунок 2б).

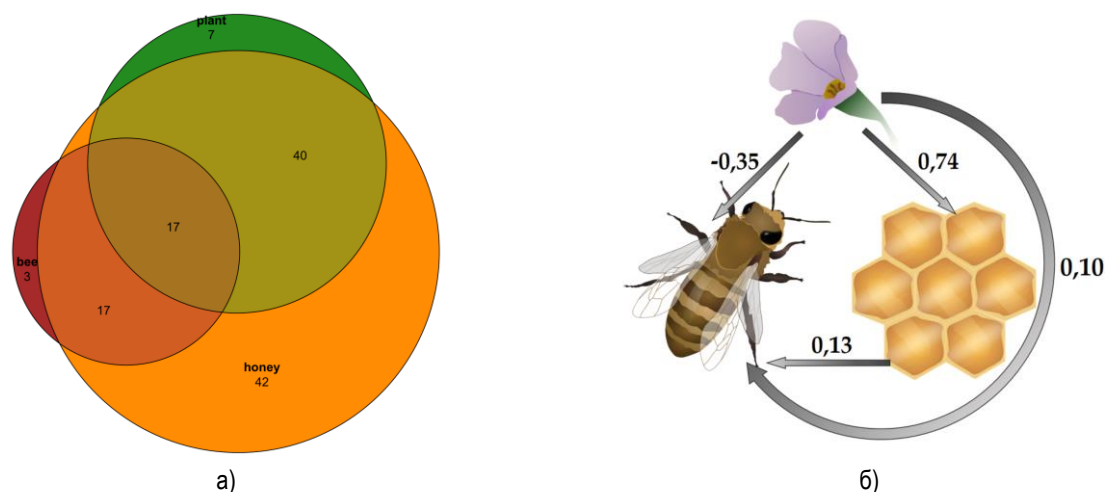


Рис. 2. а) Диаграмма Эйлера — Венна, показывающая количество уникальных и общих таксонов микробиоты между пчелами (красный), медом (оранжевый) и растениями (зеленый); б) SEM-анализ передачи микробиоты между растениями, пчелами и медом

Результаты SEM-анализа показали, что прямой перенос микробиоты с растений на пчел практически отсутствует. Однако высокая вероятность перехода растительной микробиоты в мед и низкая вероятность ее последующего переноса из меда к пчелам свидетельствуют о том, что микробиота растений может опосредованно наследоваться пчелами через мед, но в ограниченном количестве и с низким уровнем разнообразия. Полученный результат говорит о сложном и комплексном характере переноса микроорганизмов. Причина может заключаться в вариациях диеты. Основой рациона фуражиров в летний период времени являются пыльца и нектар, а не произведенный за текущий сезон мед [13, 14]. Лишь за редким исключением, в случае, когда наблюдается изменение условий среды, ведущее к сокращению кормовой базы у семьи, начинается его активное потребление [15, 16]. Закрепление микроорганизмов на покровах и внутри организма пчел протекает по-разному. Микрофлора, нативная для кишечника пчел, попадая в организм из внешней среды, имеет куда большие шансы на выживание в оптимальных для нее условиях. Наследование пчелами растительной микробиоты из меда свидетельствует о том, что микрофлора, связанная с продуктами питания, может играть роль в поддержании и формировании бактериального профиля пчелиной семьи. В результате трофаллаксии и аллогруминга, происходящих между всеми особями улья, возникает микробная сукцессия, не только поддерживающая, но и дополняющая уже существующие бактериальные профили.

Заключение

Исследование микробиоты пчел, меда и растений выявило ключевые закономерности в структуре и передаче микробных сообществ. Анализ альфа- и бета-разнообразия показал уникальность микробных сообществ каждой среды, что свидетельствует о наличии экологических барьеров, ограничивающих свободный перенос микроорганизмов. Микробиота пчел оказалась наиболее обособленной, что подчеркивает ее специализацию, тогда как микробиота меда демонстрирует смешанное происхождение, отражая влияние как растений, так и внутриульевых процессов ферментации.

SEM-анализ подтвердил, что прямой перенос микробиоты с растений на пчел практически отсутствует, но опосредованное влияние через мед возможно, хотя и в ограниченных масштабах. Это указывает на сложность взаимодействия микробных сообществ и важность факторов среды, таких как диета пчел и условия внутри улья. Микробные профили меда и перги формируются под влиянием микроорганизмов, продуцирующих молочную кислоту и короткоцепочечные жирные кислоты, что создает неблагоприятные условия для патогенов.

Стабильность микробиоты пчелиной семьи в поколениях обеспечивается в том числе за счет процессов трофаллаксии и аллогруминга, которые способствуют передаче и закреплению микробных сообществ между особями. Полученные данные демонстрируют уникальность и обособленность микробиоты пчел относительно других сред, что, вероятно, обуславливает устойчивость к патогенам. Эти механизмы подчеркивают сложность и высокую специализацию микробных взаимодействий в пчелиной семье, что имеет большое значение для понимания биологии и экосистемной роли пчел, а также для разработки эффективных стратегий их сохранения в условиях современных экологических вызовов.

Соблюдение этических стандартов: настоящая статья не содержит результатов исследований, в которых в качестве объектов использовались люди или животные.

Литература

1. Kwong W. K., Moran N. A. Gut microbial communities of social bees // *Nature Reviews Microbiology*. 2016. Vol. 14. Iss. 6. PP. 374–384. DOI: 10.1038/nrmicro.2016.43
2. Iqbal M., Jützel M., França S. C., Wäckers F., Andreasson E., et al. Bee-Vectored *Aureobasidium pullulans* for Biological Control of Gray Mold in Strawberry // *Phytopathology*. 2022. Vol. 112. Iss. 2. PP. 232–237. DOI: 10.1094/PHYTO-05-21-0205-R. EDN: TBFVLE
3. Anderson K. E., Mott B. M. Ecology of Pollen Storage in Honey Bees: Sugar Tolerant Yeast and the Aerobic Social Microbiota // *Insects*. 2023. Vol. 14. Iss. 3. P. 265. DOI: 10.3390/insects14030265. EDN: YBHBRV
4. Tiusanen M., Becker-Scarpitta A., Wirta H. Distinct Communities and Differing Dispersal Routes in Bacteria and Fungi of Honey Bees, Honey, and Flowers // *Microbial Ecology*. 2024. Vol. 87. Iss. 1. P. 100. DOI: 10.1007/s00248-024-02413-z. EDN: FCHNWJ
5. Smutin D., Lebedev E., Selitskiy M., Panyushev N., Adonin L. Micro“bee”ota: Honey Bee Normal Microbiota as a Part of Superorganism // *Microorganisms*. 2022. Vol. 10. Iss. 12. P. 2359. DOI: 10.3390/microorganisms10122359. EDN: GNIEXX
6. Powell J. E., Martinson V. G., Urban-Mead K., Moran N. A. Routes of Acquisition of the Gut Microbiota of the Honey Bee *Apis mellifera* // *Applied and Environmental Microbiology*. 2014. Vol. 80. Iss. 23. PP. 7378–7387. DOI: 10.1128/AEM.01861-14.
7. Anderson K. E., Ricigliano V. A., Copeland D. C., Mott B. M., Maes P. Social Interaction is Unnecessary for Hindgut Microbiome Transmission in Honey Bees: The Effect of Diet and Social Exposure on Tissue-Specific Microbiome Assembly // *Microbial Ecology*. 2023. Vol. 85. Iss. 4. PP. 1498–1513. DOI: 10.1007/s00248-022-02025-5. EDN: NJRHUE
8. Miller D. L., Parish A. J., Newton I. L. Transitions and Transmission: Behavior and Physiology as Drivers of Honey Bee-Associated Microbial Communities // *Current Opinion in Microbiology*. 2019. Vol. 50. PP. 1–7. DOI: 10.1016/j.mib.2019.08.001
9. Neveling D. P., Endo A., Dicks L. M. T. Fructophilic *Lactobacillus kunkeei* and *Lactobacillus brevis* Isolated from Fresh Flowers, Bees and Bee-Hives // *Current Microbiology*. 2012. Vol. 65. Iss. 5. PP. 507–515. DOI: 10.1007/s00284-012-0186-4. EDN: AARZSY
10. Rosseel Y. lavaan: An R Package for Structural Equation Modeling // *Journal of Statistical Software*. 2012. Vol. 48. Iss. 2. PP. 1–36. DOI: 10.18637/jss.v048.i02
11. Thamm M., Reiß F., Sohl L., Gabel M., Noll M., et al. Solitary Bees Host More Bacteria and Fungi on Their Cuticle than Social Bees // *Microorganisms*. 2023. Vol. 11. Iss. 11. P. 2780. DOI: 10.3390/microorganisms11112780. EDN: KZEXVW
12. Anderson K. E., Copeland D. C. The Honey Bee “Hive” Microbiota: Meta-Analysis Reveals a Native and Aerobic Microbiota Prevalent throughout the Social Resource Niche // *Frontiers in Bee Science*. 2024. Vol. 2. P. 1410331.

DOI: 10.3389/frbee.2024.1410331. EDN: UEBBZY

13. Vaudo A. D., Dyer L. A., Leonard A. S. Pollen Nutrition Structures Bee and Plant Community Interactions // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2024. Vol. 121. Iss. 3. P. e2317228120. DOI: 10.1073/pnas.2317228120. EDN: RJRRMC

14. Nicolson S. W. Bee Food: the Chemistry and Nutritional Value of Nectar, Pollen and Mixtures of the Two // African Zoology. 2011. Vol. 46. Iss. 2. PP. 197–204. DOI: 10.1080/15627020.2011.11407495

15. Karbassioon A., Yearlsey J., Dirilgen T., Hodge S., Stout J. C., et al. Responses in Honeybee and Bumblebee Activity to Changes in Weather Conditions // Oecologia. 2023. Vol. 201. Iss. 3. PP. 689–701. DOI: 10.1007/s00442-023-05332-x. EDN: JLAGAQ

16. Blaschon B., Guttenger H., Hrassnigg N., Crailsheim K. Impact of Bad Weather on the Development of the Broodnest and Pollen Stores in a Honeybee Colony (Hymenoptera: Apidae) // Entomologia Generalis. 1999. Vol. 24. Iss. 1. PP. 49–60. DOI: 10.1127/entom.gen/24/1999/49

**Статья поступила 25 сентября 2025 г.
Одобрена после рецензирования 05 ноября 2025 г.
Принята к публикации 11 декабря 2025 г.**

Информация об авторах

Асадуллин Артур Фанилевич – студент 1-го курса магистратуры Научно-технологического университета «Сириус». E-mail: asadullin-artur.asadullin@yandex.ru

Кащенко Григорий Алексеевич – студент 4-го курса Российского государственного аграрного университета – МСХА им. К. А. Тимирязева. E-mail: grigory.kashchenko@mail.ru

Ключев Александр Сергеевич – студент 1-го курса магистратуры Санкт-Петербургского государственного университета. E-mail: klochev03@bk.ru

Тальдаев Амир Халилевич – аспирант кафедры физико-химической биологии и биотехнологии Московского физико-технического института, младший научный сотрудник Научно-исследовательского института биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича. E-mail: t-amir@bk.ru

Смутин Даниил Валерьевич – студент 2-го курса магистратуры Национального исследовательского университета ИТМО, ассистент кафедры конструирования и производства радиоэлектронных средств Санкт-Петербургского государственного университета телекоммуникаций им. проф. М. А. Бонч-Бруевича. E-mail: smutin@sut.ru

Адонин Леонид Сергеевич – кандидат биологических наук, доцент, заведующий кафедрой конструирования и производства радиоэлектронных средств Санкт-Петербургского государственного университета телекоммуникаций им. проф. М. А. Бонч-Бруевича. E-mail: adonin.ls@sut.ru

Digital Meta-Analysis of *Apis mellifera* L. Microbiota Sources and Transmission Routes: Applying Bioinformatics to 16S Sequencing Data

A. Asadullin¹, G. Kashchenko², A. Klochev³, A. Taldaev^{4,5}, D. Smutin^{6,7} ✉, L. Adonin⁷ ✉

¹Sirius University of Science and Technology,
Federal Territory "Sirius", 354340, Russian Federation

²Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy,
Moscow, 127434, Russian Federation

³Saint Petersburg State University,
St. Petersburg, 199034, Russian Federation

⁴Moscow Institute of Physics and Technology,
Moscow, 117303, Russian Federation

⁵Institute of Biomedical Chemistry,
Moscow, 119121, Russian Federation

⁶ITMO University,
St. Petersburg, 197101, Russian Federation

⁷The Bonch-Bruевич Saint Petersburg State University of Telecommunications,
St. Petersburg, 193232, Russian Federation

Problem statement. The microbiome of the honey bee *Apis mellifera* plays a crucial role in its physiology, immunity, and overall viability. At the same time, it is shaped by numerous external factors, including the microbial communities of the plants from which bees collect nectar and pollen, as well as the microflora of the intra-hive environment. Despite growing interest in studying the bee microbiome, it remains insufficiently clear how the transfer of microbial components between these ecological niches occurs and what factors limit or facilitate such exchange. **Objective.** To identify the mechanisms shaping the microbial community of honey bees and to assess the extent and nature of microbiota transfer between plant, bee, and intra-hive environments. **Methods.** A comprehensive approach was applied, involving high-throughput sequencing of the hypervariable V4 region of the 16S rRNA gene, followed by bioinformatic analysis of the obtained data. Methods for assessing alpha and beta diversity, as well as statistical tests for differences in taxonomic composition, were used to compare microbial communities. Structural equation modeling was applied to model microbiota transmission pathways and identify key factors influencing cross-environmental interactions. **Novelty.** For the first time within a single study, a comprehensive comparison of the microbiomes of three interconnected ecological niches – plants, bees, and the intra-hive environment – has been conducted using structural equation modeling to quantitatively assess microbial exchange pathways. The obtained data revealed key ecological constraints on microbiota transfer, significantly supplementing existing knowledge on the formation of the microbiome in social insects. **Results.** Analysis of the microbiota of bees, honey, and plants revealed distinct separation of the microbial communities in each environment, indicating the existence of ecological barriers limiting direct microorganism transfer. The bee microbiota was found to be the most specialized, whereas the honey microbiota is of mixed origin, formed under the influence of both plants and intra-hive processes. Structural equation modeling showed no direct transfer of microbes from plants to bees but revealed a possible indirect influence via honey, as well as the key role of environmental factors and social interactions in maintaining the stability of the bee colony microbiome. **Practical significance.** The obtained results expand the understanding of the ecological and physiological mechanisms underlying the formation of the honey bee microbiome. The findings can be used to develop strategies for maintaining a healthy bee microbiome under intensive beekeeping conditions, as well as for assessing the impact of agroecosystems and landscape diversity on the microbial health of bee colonies. Furthermore, the identified constraints in microbiota transfer open prospects for the targeted management of microbial communities to enhance bee resilience to stress factors.

Keywords: honey bee *Apis mellifera*, 16S sequencing, hive microbiomes, meta-analysis

Funding: This work was supported by the Russian Science Foundation grant № 25-26-00381.

Information about Authors

Asadullin Artur – 1st Year Master's Student (Sirius University of Science and Technology).
E-mail: asadullin-artur.asadullin@yandex.ru

Kashchenko Grigory – 4th Year Student (Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy). E-mail: grigory.kashchenko@mail.ru

Klochev Alexander – 1st Year Master's Student (Saint Petersburg State University).
E-mail: klochev03@bk.ru

Taldayev Amir – Postgraduate Student of Department of Physic-Chemical Biology and Biotechnology (Moscow Institute of Physics and Technology), Research Assistant (Institute of Biomedical Chemistry).
E-mail: t-amir@bk.ru

Smutin Daniil – 1st Year Master's Student (ITMO University), Assistant of the Department of Design and Production of Radioelectronic Devices (The Bonch-Bruевич Saint Petersburg State University of Telecommunications). E-mail: smutin@sut.ru

Adonin Leonid – Ph. D. of Biology, Associate Professor, Head of the Department of Design and Production of Radioelectronic Devices (The Bonch-Bruевич Saint Petersburg State University of Telecommunications). E-mail: adonin.ls@sut.ru