







## Entomopatojen Fungusların Açık Alan Koşullarında *Bombus Arısı* Üzerindeki Etkinliğinin Belirlenmesi

Asiye Uzun Yiğit<sup>1</sup> , Görkem Yanık<sup>2</sup> , İsmail Yaşhan Buluş<sup>2</sup> , Ayhan Gösterit<sup>2</sup> ,  
Ozan Demirözer<sup>1</sup> , Şerife Evrim Arıcı<sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Isparta

<sup>2</sup> Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootehni Bölümü, Isparta

Geliş Tarihi / Received Date: 26.05.2021

Kabul Tarihi / Accepted Date: 13.12.2021

### Özet

Bu çalışmada *Beauveria bassiana* BIM-001 ve *Fusarium subglutinans* 12A izolatının farklı koşullar altında *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) ergin işçi bireyleri ve domates bitkilerinin çiçeklerinde gelişimi ve bu ortamlarda canlı kalma başarısının belirlenmesi hedeflenmiştir. Çalışma üç farklı aşamada gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada, açık alan koşullarında bulunan domates bitkilerinin çiçeklerine her iki entomopatojen fungusu ait spor süspansiyonlarının püskürtme yöntemiyle uygulanmıştır. İkinci aşamada, her bir entomopatojen fungus izolatı (Efi) 50 adet *B. terrestris* işçi bireyine 1 atm basınçta püskürtme yapabilen sistem yardımıyla 20 sn süreyle (0.5 ml) uygulanmış ve uygulama yapılan bireyler ayrı ticari kovanlara aktarılmıştır. Üçüncü aşamada ise her iki Efi'na ait spor süspansiyonu laboratuvar koşullarında hazırlanmış ve bu ortam koşullarında bırakılmıştır. Her 3 aşamada da önce 10 saat boyunca 2 saat aralıkla, daha sonra 24., 48. ve 72. saatlerde işçi arı, çiçek ya da spor süspansiyonu patates dekstroz agar ortamına alınarak entomopatojen fungusların reizolasyonları gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre; *B. terrestris* işçi arıları ve domates çiçeklerinde ilk uygulamadan sonra 10. saate kadar her iki fungus izolat sporlarının canlı kalarak gelişebildiği belirlenmiştir. Dış ortam koşullarında bırakılan süspansiyonlarda ilk 24 saatte her iki entomopatojen fungusu ait hif gelişiminin meydana geldiği ancak, diğer gözlem zamanlarında herhangi bir gelişimin olmadığı kaydedilmiştir. Entomopatojen fungus uygulamalarından sonra 6. saatte *F. subglutinans* 12A'nın çiçekte gelişimi diğer ortamlara göre istatistiki olarak farklı ve daha düşük seviyelerde kalmıştır. Uygulamadan sonra 8. saatte ise *B. bassiana* BIM-001'in işçi arılarda gelişimi daha düşük ve farklı bulunmuştur ( $P < 0.05$ ).

**Anahtar Kelimeler:** hedef dışı organizma, abiyotik faktörler, biyolojik mücadele, spor çimlenmesi

## Determination of the Efficiency of Entomopathogenic Fungi on Bumble bee in Open Field Conditions

### Abstract

In this study, the growth of *Beauveria bassiana* BIM-001 and *Fusarium subglutinans* 12A in *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) individuals and flowers of tomato was investigated under different conditions. The study was carried out in three stages. In the first stage, spore suspensions of both entomopathogenic fungi were sprayed on flowers of tomato in open field conditions. In the second stage, each entomopathogenic fungus isolate was applied to 50 *B. terrestris* individuals for 20 seconds with a spraying system at 1 atm pressure and the treated individuals were transferred to separate commercial hives. In the third stage, the spore suspension of both entomopathogenic fungus was prepared and left under laboratory conditions. In all three stages, first at intervals of 2 hours for 10 hours, then at 24., 48. and 72. hours, the worker bee, flower or spore suspension was taken into potato dextrose agar medium, and entomopathogenic fungi were re-isolated. As a results of the study, it was determined that the spores of both fungus isolate remained alive until the 10<sup>th</sup> hour after the first application in *B. terrestris* workers and tomato flowers. It was noted that hyphae development of both entomopathogenic fungi occurred in 24 hours in suspensions left under outdoor conditions, but any development was observed at other observation times. Growth of *F. subglutinans* 12A in flower at the 6<sup>th</sup> hour after entomopathogenic fungus applications were statistically different and remained at lower levels compared to other conditions. The development of *B. bassiana* BIM-001 in bees at the 8<sup>th</sup> hour was found to be lower and different ( $P < 0.05$ ).

**Keywords:** non-target organism, abiotic factors, biological control, spore germination

## Giriş

Arılar, yabani ve tarımsal bitkilerin birincil tozlayıcıları olarak ekosistemde önemli bir işleve sahiptir (Free, 1993; Klein vd., 2007). *Bombus* arıları (*Bombus* Latreille) ise *Apis* Linnaeus (Hymenoptera: Apidae) türleri dışında en çok bilinen tozlayıcılardır (Kevan, 1999; Williams ve Osborne, 2009). *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae), Avrasya kökenli olup 1800'lerden beri dünyanın dört bir yanına yayılmıştır. Bu türün yayılması, arıların Avrupa'da seralarda tozlaşma amacıyla ticari olarak tedarik edildiği 1980'lerde ivme kazanmıştır (Dafni vd., 2010). *Bombus terrestris* Şili, Tazmania ve Yeni Zelanda gibi doğal olarak bulunduğu bölgelerden daha sıcak olan ülkelerde de hayatta kalabilmesi ve devamlılığını sağlayabilmesi için termoregülasyon metabolizmasına sahiptir. Bu metabolizma düşük sıcaklıklara dayanmasını ve kışın aktif olmasını sağlamaktadır (Dafni vd., 2010; Goulson, 2003; Heinrich, 1979). Tozlaşma için oldukça önemli olarak kabul edilen bu canlıların yaşamları üzerinde olumsuzluklar yaratan en etkili faktörler arasında pestisitler ilk sıralarda gösterilmektedir. Pestisitler özellikle *bombus* türlerinin gelişim, üreme ve yuva bulma gibi davranışlarında bozulmalara, kolonilerde çökmelere sebep olurken aynı zamanda ölümcül olmayan farklı etkilere de neden olabilmektedir (Blacquiere vd., 2012; Bryden vd., 2013; Smaghe vd., 2013; Wu vd., 2011). Pestisitlerin doğrudan ve dolaylı olarak oluşturdukları riskler, çevre sağlığı için daha güvenli olan yeni bileşiklerin araştırılmasını teşvik etmiş ve tarım alanlarında zararlı kontrolü amacıyla kullanımlarını hızlandırmıştır (Villaverde vd., 2014). Bu bağlamda, biyolojik kontrol etmenleri ve biyoinsektisitler zararlı yönetiminde önemli ölçüde kabul görmektedir (Barbosa vd., 2015; Cantrell vd., 2012). Biyolojik kökenli kontrol etmenlerinin çevre dostu ve kimyasallara göre daha güvenilir oldukları bilinmektedir (Shipp vd., 2007; van Lenteren, 2007). Dünya genelinde botanik, fungus ve bakteri kökenli olan biyoinsektisitler en yaygın olarak tercih edilenlerdir. Özellikle entomopatojen funguslar zararlı mücadelesinde dikkat çekici bir paya sahip olmuştur. Biyolojik mücadelede kullanılan *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Hypomycetes)'nin *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae), *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Crambidae), *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) ve sera zararlılarının popülasyonunun baskılanmasında etkili olduğu bilinmektedir (Goettel vd., 1990; Lewis vd., 1996; Poprawski vd., 1997). Buna karşın tam da istenildiği gibi *B. bassiana*'nın açık alan koşullarında tozlayıcılar ve diğer faydalı organizmalar için tehlike yaratmadığı bildirilmektedir (Al-mazra'awi vd., 2006; Goettel vd., 1990; Kevan vd., 2003). Entomopatojen fungusların virülansı her zaman sıcaklık, nem, ışık gibi çevresel faktörlerden etkilenmekte olup, entomopatojen fungus sporunun hayatta kalması, kalıcılığı ve sporülasyonunun büyük ölçüde sıcaklıktan etkilendiği bilinmektedir (Hajek vd., 1990; Ignoffo vd., 1985; Tang ve Hou, 2001). Entomopatojen fungusların değişen iklim koşullarına fizyolojik adaptasyonları, böceklere karşı biyolojik kontrol ajanları olarak potansiyellerini artırmaktadır (Ment vd., 2010). Bu nedenle, etkili bir enfeksiyon için optimum koşulları belirlemek için inokulum yoğunluğu, sıcaklık, nem ve toprak dokusu gibi faktörleri değerlendirmek büyük önem taşımaktadır (Wilson vd., 2017). Güneş ışığı, nem, sıcaklık gibi abiyotik faktörler, mikoinsektisitlerin bitkiler üzerindeki hem anlık etkinliği hem de kalıcılığını da etkileyebilmektedir. Genel olarak, güneş ışığının, özellikle UV-A ve UV-B bileşenlerinin, yaprak yüzeyinde üzerindeki fungal propagüller için önemli bir ölüm faktörü olduğu ve toprak yüzeyindeki mikoinsektisitlerin kısa süreli kalıcılığında büyük ölçüde sorumlu olduğu kabul edilmektedir (Jaronski, 2010). Özellikle sıcaklık ve nem, entomopatojen fungusların hayatta kalmasını ve etkinliğini etkileyen en önemli çevresel faktörlerdir (Bugeme vd., 2008; Mishra vd., 2015). 16 °C'nin altındaki sıcaklıklar, entomopatojen fungusların çoğu için çimlenme ve büyüme oranlarını giderek yavaşlatır ve böylece hedef popülasyonun daha uzun süre hayatta kalması açısından etkinliği etkilemektedir (Ihara vd., 2008; Inglis vd., 1999; Jaronski, 2010). Bu çalışmada, söz konusu entomopatojen fungusların açık alan şartlarında uygulandıktan sonra hayatta kalma, infekte edebilme özelliklerini ortaya koyabilmek için reizolasyonları yapılmıştır. Ayrıca tarımsal üretimde genel tozlayıcı tür olarak kullanılan *B. terrestris* bireylerinde iki farklı Efi'nin etkililikleri araştırılmıştır.

## Materyal ve Yöntem

Bu çalışmada virülens olduğu bilinen ve +4 °C'de muhafaza edilen entomopatojen fungus stok kültürlerinden *B. bassiana* BIM-001 (10<sup>8</sup> spor/ml) (*Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera:

Chrysomelidae)'dan elde edilen) ve *F. subglutinans* 12A ( $10^6$  spor/ml) (*Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae)'den elde edilen) izolatlarının PDA ortamında üretimi yapılmış ve spor süspansiyonları hazırlanarak *B. terrestris* ergin işçi bireyleri ve domates bitkilerinin çiçeklerinde kullanılmıştır. Çalışma üç farklı aşamadan oluşmaktadır. Birinci aşamada, açık alan koşullarında bulunan domates bitkilerinin çiçeklerine her iki Efi'na ait spor süspansiyonları ayrı ayrı olacak şekilde 20'şer bitkiye püskürtme yöntemiyle uygulanmıştır. İkinci aşamada, her bir entomopatojen izolatı 50 adet *B. terrestris* işçi bireyine 1 atm basınçta 20 sn (0.5 ml) püskürtme şeklinde uygulanmış ve uygulama yapılan bireyler dış ortam koşullarında tutulan ticari kovanlara aktarılmıştır. Bu kovanlardan belirlenen gözlem zamanlarında 3'er işçi alınarak mekanik yöntemle ölmesi sağlandıktan sonra entomopatojen fungusların gelişimi takip edilmiştir. Üçüncü aşamada ise her iki Efi'na ait spor süspansiyonu laboratuvar koşullarında hazırlanmış ve bu aşama laboratuvar koşullarında yürütülmüştür.

Her 3 aşamada da önce 10 saat boyunca 2 saat aralıkla, daha sonra 24., 48. ve 72. saatlerde işçi arı, çiçek ve spor süspansiyonu (0.5 ml) steril cam petrielerde (9 cm) Patates Dekstroz Agar (PDA) ortamına alınmıştır. Her bir aşamada Efi'larının gelişimleri takip edilmiştir. Çalışmanın her aşamasına ait sıcaklık ve nem koşulları kaydedilmiştir. Her 3 aşama için Efi'larının farklı zaman dilimlerinde gerçekleşen fungus gelişimi rekolasyon sonuçları dikkate alınarak elde edilen veriler Tukey testi (SPSS 20) ile analiz edilerek karşılaştırılmıştır.

### Bulgular ve Tartışma

Çalışmada entomopatojen fungus türlerinden *F. subglutinans* ve *B. bassiana*'nın sırasıyla 12A ve BIM-001 izolatlarının uygulanmalarının ardından 10 saat süresince 2 saat periyotlarla ve daha sonra ilk gözlem zamanını takip eden 24., 48. ve 72. saatlerde Efi'larının uygulandıkları organizma ve ortam üzerindeki gelişimleri gözlenmiştir. Araştırmada yer verilen Efi'ların *B. terrestris* işçi arılarında ve domates çiçeklerinde ilk uygulamadan sonra 10. saate kadar entomopatojen fungusun sporlarının canlı kalarak gelişebildiği belirlenmiştir. Laboratuvar koşullarında petri denemelerinde ise 24. saati de içine alacak şekilde ilk 24 saatte her iki entomopatojen fungusu ait hif gelişiminin meydana geldiği ancak diğer gözlem zamanlarında herhangi bir gelişimin olmadığı kaydedilmiştir (Tablo 1).

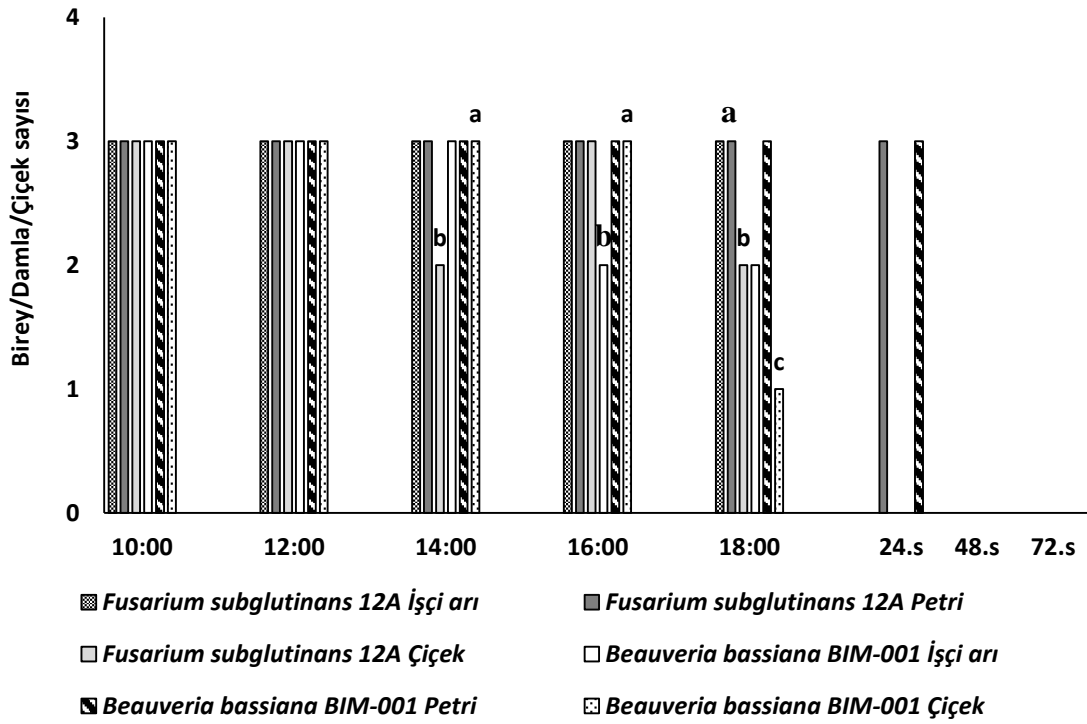
**Tablo 1.** Entomopatojen Fungusların Uygulandığı Farklı Ortam ve Organizmalardaki Gelişim Durumu

Gözlem Saatleri	Uygulama yapılan ortam ve organizmalardaki gelişim durumları						Sıcaklık (°C)	Nem (%)
	<i>Fusarium subglutinans</i> 12A			<i>Beauveria bassiana</i> BIM-001				
	İşçi arı	Petri	Çiçek	İşçi arı	Petri	Çiçek		
10:00	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●	29.2	37.0
12:00	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●	35.2	34.8
14:00	●●●	●●●	●●-	●●●	●●●	●●●	34.4	32.0
16:00	●●●	●●●	●●●	●●-	●●●	●●●	34.7	30.8
18:00	●●●	●●●	●●-	●●-	●●●	●--	32.1	29.3
24. saat	---	●●●	---	---	●●●	---	29.1	31.8
48. saat	---	---	---	---	---	---	29.7	32.0
72. saat	---	---	---	---	---	---	30.9	26.8

●: Entomopatojen Fungus Gelişimi Var, -: Entomopatojen Fungus Gelişimi Yok

Açık veya kapalı alan üretim koşullarında tarımsal zararlıların kontrolü amacıyla yapılan entomopatojen fungus uygulamaları ve uygulanan organizmaların ortamdaki kalıcılık süreleri hem hedef hem de hedef dışı organizmalar açısından önem taşımaktadır. Entomopatojen funguslara dayalı biyo-kontrol stratejileri, yalnızca konukçu ve patojen arasındaki etkileşime değil, aynı zamanda maruz kaldıkları ortama da bağlıdır (Mishra vd., 2015). Pratikte, yeni bir izolat için, sıcaklık, nem ve fotoperiyod gibi çevresel faktörlerin entomopatojen fungus sporlarında hayatta kalma, çimlenme, penetrasyon ve sporülasyon üzerindeki etkisinin yanı sıra konukçularda hastalık gelişimi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi gereklidir (Tang ve Hou, 2001). Entomopatojen fungusların konukçunun vücuduna

girdikten sonra, böcek üzerindeki etkileri yoluyla sıcaklıktan ve dolaylı olarak nemden etkilenmeye devam ettiği de bildirilmektedir (Jaronski, 2010). Bu abiyotik faktörler entomopatojen fungusların biyolojik kontrol ajanı olarak etkinliğini sınırlayabilmektedir (Garrido-Jurado vd., 2011; Jaronski, 2010; Wilson vd., 2017). Hem etkinliği hem de kalıcılığı etkileyen bu faktörlerin anlaşılması, zararlı böcek popülasyonunun tatmin edici şekilde yönetilmesini sağlamak için böcek, patojen, ürün ve özellikle buldukları ortamın manipülasyonuna izin verecektir (Jaronski, 2010). Uygun ortam koşulları sağlandığında bu sporların ne kadar süreyle canlı kalabilecekleri ve enfektivite durumlarının araştırılmış olması preparat haline getirilecek entomopatojen organizmalar için hayati önem taşımaktadır. Özellikle hedef dışı organizmaların yaşayabilecekleri maruziyet ve bu maruziyet etkileri de ayrı bir soru işaretidir. Entomopatojen fungusların *Bombus* spp. gibi kültür bitkilerinin tozlaşmasında önemli rol oynayan canlılar için oluşturdukları ve/veya oluşturabilecekleri tehditleri elemine etmek amacıyla bekleme sürelerinin çalışılmış olması gereklidir. Bundan farklı olarak son yıllarda bombus türlerine zararsız olduğu kanıtlanmış olan bu biyolojik kontrol etmenleri tozlayıcı arılar vasıtasıyla üretim alanlarında zararlı Arthropod türlerine ulaştırılmaya çalışılmaktadır. Bu açıdan da bombus arısı üzerine bulaşması sağlanan entomopatojen fungusa ait spor/sporların canlı kalma süreleri sürdürülen mücadele çalışmalarının başarısı için önemlidir.



**Şekil 1.** Entomopatojen Fungus İzolatlarının Farklı Ortam Koşullarındaki Gelişimlerinin Karşılaştırılması

Yapılan bu çalışmada ticari preparat olmayan ve saha çalışmalarından elde edilmiş iki farklı entomopatojen fungus türüne ait izolatların farklı yaşam ortamları üzerindeki dış ortam koşullarına maruz kalmaları durumunda sporlarının ne kadar süre ile canlı kalabildikleri incelenmiştir. Entomopatojen fungus uygulamalarından sonra 6. saatte *F. subglutinans* 12A'nın çiçekte gelişimi diğer ortamlara göre istatistik olarak farklı iken 8. saatte *B. bassiana* BIM-001'in işçi arılarda gelişimi daha düşük ve farklı bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Uygulamadan sonraki 10. saatte ise *F. subglutinans* 12A gelişiminin işçi arılarda en düşük seviyede olduğu, *F. subglutinans* 12A'nın çiçekte gelişimi ile *B. bassiana* BIM-001'in işçi arılarda gelişimi arasında fark olmadığı belirlenmiştir (Şekil 1).

## Sonuç

Çalışmada kullanılan Efi'lerinin sporlarının ilk 8 saat tüm ortamlarda başarılı bir şekilde hayatta kaldığı ve gelişim gözlemlendiği, 10. saatte ise her iki fungus türünün de domates çiçeklerindeki gelişimi biraz azalmış ancak yine de çiçeklerde canlı sporların kaldığı belirlenmiştir. Çalışmada *F. subglutinans* 12A'nın tüm ortamlarda 10. saat'e kadar *B. bassiana* BIM-001'e göre canlı kalma başarısının biraz daha yüksek olduğu söylenebilmektedir. Bu çalışmada elde edilen verilerin, özellikle sera koşullarında entomopatojen fungus uygulaması sırasında ve sonrasında ortamda bulunma ihtimali olan hedef dışı *B. terrestris* bireyleri üzerindeki etkileri ve ortamda kalıcılığının ortaya çıkarılmasında yararlı olacağına inanılmaktadır. Ayrıca bulaşık *B. terrestris* bireyleri ile bu etmenlerin yayılmasının araştırılması için önemli bir ön çalışma niteliğinde olduğu düşünülmektedir.

## Yazar Katkısı

Çalışmada kullanılan entomopatojen fungus izolatlarının üretimi ve hazırlanması, laboratuvar ve sera koşullarında uygulanması aşamalarını *Asiye Uzun Yiğit*, *Ozan Demirözer* ve *Şerife Evrim Arıcı* gerçekleştirirken, *Ayhan Gösterit*, *Görkem Yanık* ve *İsmail Yaşhan Buluş* çalışmanın ana materyallerinden olan *B. terrestris* işçi arılarının üretimi ve entomopatojen fungus izolatlarının uygulanması aşamasını yürütmüştür. Çalışmanın sonucunda elde edilen verilerin analizleri *Asiye Uzun Yiğit* ve *Ozan Demirözer* tarafından yapılmıştır. Yazarlar makaleyi birlikte yazdı, okudu ve onayladı.

## Etik

Bu makalenin yayınlanmasıyla ilgili herhangi bir etik sorun bulunmamaktadır.

## Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

## ORCID

*Asiye Uzun Yiğit*  <https://orcid.org/0000-0002-4822-4762>

*Görkem Yanık*  <https://orcid.org/0000-0003-4616-1283>

*İsmail Yaşhan Buluş*  <https://orcid.org/0000-0003-4418-588X>

*Ayhan Gösterit*  <https://orcid.org/0000-0001-9686-7992>

*Ozan Demirözer*  <https://orcid.org/0000-0001-7240-8898>

*Şerife Evrim Arıcı*  <https://orcid.org/0000-0001-5453-5869>

## Kaynaklar

Al-mazra'awi, M. S., Shipp, L., Broadbent, B. ve Kevan, P. (2006). Biological control of *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae) and *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) by *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae) vectored *Beauveria bassiana* in greenhouse sweet pepper. *Biological Control*, 37, 89–97. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2005.11.014>

Barbosa, W. F., De Meyer, L., Guedes, R. N. C. ve Smagghe, G. (2015.) Lethal and sublethal effects of azadirachtin on the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Ecotoxicology*, 24, 130–142. <https://doi.org/10.1007/s10646-014-1365-9>

Blacquiere, T., Smagghe, G., Van Gestel, C. A. M. ve Mommaerts, V. (2012). Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk-assessment. *Ecotoxicology*, 21, 973–992. <https://doi.org/10.1007/s10646-012-0863-x>

- Bryden, J., Gill, R. J., Mitton, R. A. A., Raine, N. E. ve Jansen, V. A. A. (2013). Chronic sublethal stress causes bee colony failure. *Ecology Letters*, 16, 1463–1469. <https://doi.org/10.1111/ele.12188>
- Bugeme, D. M., Maniania, N. K., Knapp, M. ve Boga, H. I. (2008). Effect of temperature on virulence of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates to *Tetranychus evansi*. *Experimental and Applied Acarology*, 46, 275–285. <https://doi.org/10.1007/s10493-008-9179-1>
- Cantrell, C. L., Dayan, F. E. ve Duke, S. O. (2012). Natural products as sources for new pesticides. *Journal of Natural Products*, 75, 1231–1242. <https://doi.org/10.1021/np300024u>
- Dafni, A., Kevan, P., Gross, C. L. ve Goka, K. (2010). *Bombus terrestris*, pollinator, invasive and pest: An assessment of problems associated with its widespread introductions for commercial purposes. *Applied Entomology and Zoology*, 45(1), 101–113. <https://doi.org/10.1303/aez.2010.101>
- Free, J. B. (1993). *Insect pollination of crops* 2nd ed. Academic Press.
- Garrido-Jurado, I., Torrent, J., Barron, V., Corpas, A. ve Quesada-Moraga, E. (2011). Soil properties affect the availability, movement, and virulence of entomopathogenic fungi conidia against puparia of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Biological Control*, 58, 277–285. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.05.017>
- Goettel, M. S., Poprawski, T. J., Vandenberg, J. D., Li, Z. ve Roberts, D. W. (1990). Safety to nontarget invertebrates of fungal biocontrol agents. Laird, M., Lacey, L. A. ve Davidson, E. W. (Eds.), *Safety of Microbial Insecticides*, (pp. 209–229) CRC Press.
- Goulson, D. (2003). *Bumblebees-Their Behaviour and Ecology*. Oxford University Press.
- Hajek, A. E., Carruthers, R. I. ve Soper, R. S. (1990). Temperature and moisture relations of sporulation and germination by *Entomophaga mainaiga* (Zygomycetes: Entomophthoraceae), a fungal pathogen of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae). *Environmental Entomology*, 19, 85-90.
- Heinrich, B. (1979.) *Bumblebee Economics*. Harvard University Press.
- Ignoffo, C. M., Garcia, C. ve Gardner, W. A. (1985). Temperature stability of wet and dry conidia of *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson. *Environmental Entomology*, 14, 87-91. <https://doi.org/10.1093/ee/14.1.87>
- Ihara, F., Toyama, M., Mishiro, K. ve Yaginuma, K. (2008). Laboratory studies on the infection of stink bugs with *Metarhizium anisopliae* strain FRM515. *Applied Entomology and Zoology*, 43(4), 503–509. <https://doi.org/10.1303/aez.2008.503>
- Inglis, G. D., Duke, G. M., Kawchuk, L. M. ve Goettel, M. S. (1999). Influence of oscillating temperatures on the competitive infection and colonization of the migratory grasshopper by *Beauveria bassiana* and *Metarhizium flavoviride*. *Biological Control*, 14(1), 111–120. <https://doi.org/10.1006/BCON.1998.0666>
- Jaronski, S. T. (2010). Ecological factors in the inundative use of fungal entomopathogens. *BioControl*, 55, 159–185. [https://doi.org/10.1007/978-90-481-3966-8\\_12](https://doi.org/10.1007/978-90-481-3966-8_12)
- Kevan, P. G. (1999). Pollinators as bioindicators of the state of the environment: species, activity and diversity. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 74, 373–393. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(99\)00044-4](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(99)00044-4)
- Kevan, P. G., Al-mazra'awi, M. S., Sutton, J. C., Tam, L., Boland, G., Broadbent, B., Thomson, S. V. ve Brewer, G. J. (2003). Using pollinators to deliver biological control agents against crop pests. Downer, R. A., Mueninghov, J. C. ve Volgas, G. C. (Eds.), *Pesticide Formulations and Delivery Systems: Meeting the Challenges of the Current Crop Protection Industry*, American Society for Testing and Materials International, West Conshohocken, PA. ASTM STP 1430

- Klein, A. M., Vaissie`re, B. E., Cane, J. H., SteffanDewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C. ve Tscharrntke, T. (2007). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274, 303–313. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721>
- Lewis, L., Berry, E. C., Obrycki, J. J. ve Bing, L. A. (1996). Aptness of insecticides (*Bacillus thuringiensis* and carbofuran) with the endophytic *Beauveria bassiana*, in suppressing larval populations of the European corn borer. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 57, 27–34. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(95\)01011-4](https://doi.org/10.1016/0167-8809(95)01011-4)
- Ment, D. G., Gindin Glazer, I., Perl, S., Elad, D. ve Samish, M. (2010). The effect of temperature and relative humidity on the formation of *Metarhizium anisopliae* chlamydospores in tick eggs. *Fungal biology*, 114, 49-56. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2009.10.005>
- Mishra, S., Kumar, P. ve Malik, A. (2015). Effect of temperature and humidity on pathogenicity of native *Beauveria bassiana* isolate against *Musca domestica* L. *Journal of Parasitic Diseases*, 39(4), 697–704. <https://doi.org/10.1007/s12639-013-0408-0>
- Poprawski, T. J., Carruthers, R. I., Speese, I. I. J., Vacek C & Wendel L (1997) Early-season applications of the fungus *Beauveria bassiana* and introduction of the hemipteran predator, *Perillus bioculatus* for control of Colorado potato beetle. *Biology Control*, 10, 48–57.
- Shipp, L., Elliot, D., Gillespie, D. ve Brodeur, J. (2007). From chemical to biological control in Canadian greenhouse crops. Vincent, C., Goettel, M. S. ve Lazarovits, G. (Eds.), *Biological Control, A Global Perspective*, (pp. 118–127), CAB International, UK.
- Smagghe, G., Deknopper, J., Meeus, I. ve Mommaerts, V. (2013). Dietary chlorantraniliprole suppresses reproduction in worker bumblebees. *Pest Management Science*, 69, 787–791. <https://doi.org/10.1002/ps.3504>
- Tang, L. C. ve Hou, R. F. (2001). Effects of environmental factors on virulence of the entomopathogenic fungus, *Nomuraea rileyi*, against the corn earworm, *Helicoverpa armigera* (Lep., Noctuidae). *Journal of Applied Entomology*, 125, 243-248. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0418.2001.00544.x>
- Williams, P. H. ve Osborne, J. L. (2009). Bumblebee vulnerability and conservation world-wide. *Apidologie*, 40, 367–387. <https://doi.org/10.1051/apido/2009025>
- Wilson, W. M., Ibarra, J. E., Oropeza, A., Hernández, M. A., Toledo-Hernández, R. A. ve Toledo, J. (2017). Infection of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) Adults During Emergence from Soil Treated with *Beauveria bassiana* Under Various Texture, Humidity, and Temperature Conditions. *Florida Entomologist*, 100(3), 503-508. <https://doi.org/10.1653/024.100.0302>
- Wu, J. Y., Anelli, C. M. ve Sheppard, W. S. (2011). Sub-lethal effects of pesticide residues in brood comb on worker honey bee (*Apis mellifera*) development and longevity. *PLoS ONE*, 6, e14720.
- van Lenteren, J. C. (2007). Biological control for insect pests in greenhouses: an unexpected success. Vincent, C., Goettel, M. S. ve Lazarovits, G. (Eds.), *Biological Control, A Global Perspective*, (pp. 105–117), CAB International, UK
- Villaverde, J. J., Sevilla-Moran, B., Sandin-Espana, P., Lopez-Goti, C. ve Alonso-Prados, J. L. (2014). Biopesticides in the framework of the European Pesticide Regulation (EC). *Pest Management Science*, 70, 2–5. <https://doi.org/10.1002/ps.3663>