



Yapay Besin Ortamında Yetiştirilen Model Böcek *Galleria mellonella*'nın Farklı Yaşam Evrelerindeki Mikrobiyal Floranın Belirlenmesi

Determination of Microbial Flora of Model Insect Galleria mellonella in Different Life Forms Reared on Artificial Diet

Serkan Sugeçti* 

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Çaycuma Gıda ve Tarım Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, Zonguldak, Türkiye

Öz

Model böcekler düşük üretim maliyeti, etik sorunlar ve laboratuvar koşullarında kolay kültüre alınabilmesi nedeniyle tıp, eczacılık ve veterinerlik gibi birçok alanda omurgalı deney hayvanlarına alternatif deneysel model olarak kullanılmaktadır. Model böceklerin laboratuvar koşullarında yapay besin ortamında üretilmesi sırasında en çok karşılaşılan sorun bakteri, maya ve küf kontaminasyonudur. Bu çalışmada model böcek *Galleria mellonella*'nın farklı yaşam evrelerinde dört gram negatif ve üç gram pozitif olmak üzere yedi farklı bakteri türü *in vitro* olarak tanımlandı. Mikrofungus cinsleri; *Alternaria spp.*, *Aspergillus spp.*, *Beauveria sp.*, *Penicillium spp.* ve *Verticillium sp.* olarak belirlendi. Yaşam evrelerinde en fazla koloni sayısı *Aspergillus ve Penicillium* cinsine ait türlerde tanımlanırken, en az koloni sayısının ise *Verticillium* cinsine ait olduğu belirlendi. Bu çalışma yapay besin ortamında mikrofloranın tanımlanması ve laboratuvar koşullarında böcek üretim alanlarının standardize edilmesi açısından oldukça önemlidir.

Anahtar Kelimeler: *Galleria mellonella*, Mikroflora, Mikrofungus, Model böcek, Yapay besin

Abstract

Model insects are used as an alternative experimental model to vertebrate experimental animals in many fields such as medicine, pharmacy and veterinary medicine due to their low production cost, ethical problems and easy culture in laboratory conditions. The most common problem encountered during the production of model insects in artificial diet under laboratory conditions is bacteria, yeast and mold contamination. In this study, seven different bacterial species, four gram negative and three gram positive, were identified *in vitro* in different life stages of the model insect *Galleria mellonella*. As microfungus genera *Alternaria spp.*, *Aspergillus spp.*, *Beauveria sp.*, *Penicillium spp.* and *Verticillium sp.* The highest number of colonies in their life stages is defined as the species belonging to the genus *Aspergillus* and *Penicillium*, while the least belong to the genus *Verticillium* determined. This study is very important in terms of defining microflora in artificial diet and standardizing production areas of insects under laboratory conditions.

Keywords: *Galleria mellonella*, Microflora, Microfungus, Model insect, Artificial diet

1. Giriş

Son yıllarda model böcekler düşük üretim maliyeti, etik sorunlar ve laboratuvar koşullarında kolay kültüre alınabilmesi nedeniyle pestisit araştırmaları, patojen mikroorganizmaların virülans seviyelerinin değerlendirilmesi ve patojenlere karşı geliştirilen ilaçların etkinliğinin araştırılması gibi birçok alanda omurgalı deney hayvanlarına alternatif deneysel model olarak kullanılmaktadır (Sugeçti vd. 2016, Rossoni vd. 2019). En çok tercih edilen model organizmalar,

Lepidoptera takımına ait *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae), *Manduca sexta* L. (Lepidoptera, Sphingidae), *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) gibi böcek türleridir (Zou vd. 2017, Noor-ul-Ane vd. 2018, Gegner vd. 2019, Santorum vd. 2019, Vertyporokh ve Wojda 2020). Bu model böcekler arasında yaşam döngüsünün kısa olması, larvalarının yüzey alanının geniş olması ve doğuştan gelen bağışıklık sisteminin memelilerin bağışıklık sistemine benzerlik göstermesi nedeniyle *G. mellonella* öne çıkmaktadır (Djainal vd. 2020, Shaik vd. 2020, Lapointe vd. 2020).

G. mellonella'nın model organizma olarak birçok alanda kullanılması steril yapay besinlerin önemini arttırmıştır. G.

*Sorumlu yazarın e-posta adresi: serkan.sugecti@hotmail.com

Serkan Sugeçti  orcid.org/0000-0003-3412-2367

mellonella yapay besini; nem, sıcaklık ve beslenme koşulları açısından mikroorganizmalar için ideal bir çoğalma ortamıdır. Yapay besinlerde maya ve küfler en çok rastlanan kontaminasyon etmenleridir ve bu kontaminasyonların engellenmesi oldukça zordur. Böceklerin büyüme, yaşama, gelişme, ergin oluşumu ve erginleşen bireylerin bazı özellikleri besin kalitesiyle doğrudan ilişkilidir (Büyükgüzel vd. 2010, Aslan vd. 2019). Bu nedenle; antibakteriyel ve antifungal maddeler, beslenme çalışmaları sırasında yapay besinlerde oluşabilecek kontaminasyonlardan böceği koruyarak yüksek kalitede ergin bireyler yetiştirmek için oldukça önemlidirler (Büyükgüzel ve Büyükgüzel 2016). *G. mellonella* yapay besin üzerinde patojen kontaminasyonları engellemek amacı ile ilave edilen antibakteriyel, antiviral, antihelmintik ve antifungal ajanlar ile çeşitli çalışmalar yürütülmüştür. Yapay besine farklı konsantrasyonda ilave edilen bu antibiyotiklerin, *G. mellonella*'nın farklı yaşam formlarında olumsuz fizyolojik ve biyokimyasal etkilere neden olduğu tespit edilmiştir (Büyükgüzel ve Kalender 2009; Kılıç ve ark. 2015; Sugeçti vd. 2016, Sugeçti ve Büyükgüzel 2018). Bu çalışmada; model böcek *G. mellonella*'nın farklı yaşam evreleri üzerinde bulunan mikrofloranın ve bulaşma yollarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Gereç ve Yöntem

2.1. Böcek Kültürü ve Örneklerinin Hazırlanması

Bu çalışmada Bronskill (1961) tarafından geliştirilen yapay besin kullanıldı. *G. mellonella* larvaları, 28 ± 2 °C sıcaklıkta ve 65 ± 5 bağıl neme ayarlı bir inkübatörde sürekli karanlık ortamda yetiştirildi. *G. mellonella* larva, pupa ve ergin evreleri laboratuvar koşullarında daha önce yürütülen çalışmalarda kullanılan teknikler kullanılarak elde edildi (Büyükgüzel vd. 2010, Sugeçti vd. 2016). Elde edilen *G. mellonella* larva, pupa ve ergin evrelerinden beşer birey alınarak, 10 ml izotonik çözelti içerisinde vortekslenildi ve örnekler hazırlandı.

2.2. Bakteri Florasının İzolasyonu ve Tanımlanması

Sıvı ortamdan 200 µl alınarak örnekler, koyun kanlı agara (%5 koyun kanlı agar, BD, Amerika) Eozin Metilen Mavisi agara (E.M.B, BD, Amerika), çikolata agara (BD, Amerika) steril eküvyon çubukları ile seyreltme yöntemi kullanılarak ekildi. Besiyerlerine ekimleri yapılan örnekler etüvde 37 °C derecede 24 saat inkübe edildi. Elde edilen kolonilere oksidaz ve indol testi uygulandı. Koloniler morfolojik ve biyokimyasal parametreleri göz önünde bulundurularak Gram (+) ve Gram (-) tanımlama panellerine ayrıldı. Yarı otomatik bakteri tanımlama cihazı (BD BBL Crystal E/

NF. ABD) ile tür tanımlaması yapıldı. Cihazın hassasiyeti % 95 üzeridir. Tür tanımlaması için koloniler 2 ml BD BBL Crystal Enteric/Stool Inoculum Sıvı tüpünde homojen olarak dağıtıldı. Daha sonra solüsyon tanımlama test paneline döküldü ve 24 saat süreyle 37 °C'de inkübasyonu sağlandı. İnkübasyon sonucunda değerlendirilen yarı otomatize bakteri tanımlama panelleri, BDMSID programında değerlendirmeye alınarak türler belirlendi

2.3. Mikrofungus Florasının İzolasyonu ve Tanımlanması

İzolasyon ve tanımlama için ilk besiyeri olarak Rose-bengal-Streptomisin ilaveli Pepton Dekstroz Agar kullanıldı (Asan vd. 2004). Daha sonra sıvı ortamdan 200 µl alınan örnekler Rose Bengal- Streptomisin Agara (Sigma Aldrich, Missouri, ABD), Malt Ekstrakt Agara (Merck, Almanya) ve Czapek Agara (Merck, Almanya) yüzeye yayma yöntemi kullanılarak ekildi (Larone Davise, 1993; Pitt, 2000; Samson ve Pitt, 2000; Ellis vd. 2007).

İnkübasyon (27 °C' de 7 gün) dönemi sonunda gelişen fungus kolonilerin makroskopik ve mikroskopik kriterleri incelendi ve tanımlamaları yapıldı. İzole edilen fungusların teşhislerinde; Domsch vd. (1980), Hasenekoğlu (1991), Pitt (2000), Samson ve Pitt (2000), Ellis vd. 2007, Pitt ve Hocking (2009) ve Watanabe (2010) mikoloji ile ilgili teşhis anahtarlarından yararlanıldı.

3. Bulgular

Bu çalışmada, *G. mellonella* yaşam formlarının *in vitro* olarak bakteri ve mikrofungus florasının izolasyonu ve tanımlamaları yapıldı. *G. mellonella* üzerinde bulunan mikroflora *in vitro* olarak belirlendi.

Bu çalışmada 6 cinse ait 4 gram negatif ve 3 gram pozitif olmak üzere *G. mellonella* yaşam evrelerinde 7 farklı bakteri türü *in vitro* olarak tanımlandı. Böceğin larva evresinde; *Citrobacter freundii*, *Staphylococcus hominis*, *Shigella* spp., pup evresinde; *Burkholderia cepacia*, *Corynebacterium genitalium*, *Staphylococcus hominis*, *Pseudomonas putida*, *Citrobacter freundii* ve ergin evresinde ise *Staphylococcus xyloso* ve *Pseudomonas putida* türleri tanımlandı (Çizelge 1).

Çalışmada, tamamı Ascomycota şubesinde olmak üzere 5 cinse ait mikrofungus türleri belirlenmiş olup bu cinsler; *Alternaria* spp. (% 23, 53), *Aspergillus* spp. (% 29,41), *Beauveria* sp. (% 11,41), *Penicillium* spp. (% 29,41) ve *Verticillium* sp. (% 5,88) olarak belirlendi. Yaşam formlarında en fazla koloni sayısı *Aspergillus* (n=5, % 29,41) ve *Penicillium* (n=5, % 29,41) cinsine ait türlerdir. En az tanımlanan türün *Verticillium* (n=1, % 5,88) cinsine ait olduğu tespit edildi.

Çizelge 1. *G. mellonella*'nın farklı yaşam evrelerinde tanımlanan bakteri türleri.

Evre	Familiya	Tanımlanan Bakteri Türleri	Gram Pozitif/Negatif
Larva	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	Gram (-)
	<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>	Gram (+)
	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Shigella spp.</i>	Gram (-)
Pup	<i>Burkholderiaceae</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>	Gram (-)
	<i>Corynebacteriaceae</i>	<i>Corynebacterium genitalium</i>	Gram (+)
	<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>	Gram (+)
	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	Gram (-)
	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	Gram (-)
Ergin	<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i>	Gram (+)
	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	Gram (-)

Çizelge 2. *G. mellonella*'nın farklı yaşam evrelerine göre mikrofungus cinsine ait tür sayıları (n) ve yüzdesi (%)

Yaşam formları	Larva		Pup		Ergin		Toplam	
Cinsler	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Alternaria ssp.</i>	1	5,88	1	5,88	2	11,76	4	23,53
<i>Aspergillus ssp.</i>	2	11,76	2	11,76	1	5,88	5	29,41
<i>Beauveria sp.</i>	1	5,88	1	5,88	0	0,00	2	11,76
<i>Penicillium ssp.</i>	1	5,88	3	17,65	1	5,88	5	29,41
<i>Verticillium sp.</i>	0	0,00	0	0,00	1	5,88	1	5,88
Toplam	5	29,41	7	41,18	5	29,41	17	100,00

Yaşam formlarına göre ise larva (% 29,41), pup (%41,18) ve ergin (%29,41) olarak belirlendi. Pup evresinde mikrofungal kontaminasyonun daha yüksek olduğu tespit edildi (Çizelge 2 ve 3).

4. Tartışma

Böceklerin deneysel model olarak kullanmak amacıyla laboratuvar koşullarında toplu olarak üretilmesi, besin kontaminasyonu, yeni açılan yumurtaların sterilizasyonunun sağlanması gibi birçok mikrobiyolojik kökenli problemi ortaya çıkarmıştır. Model böceklerin stok kültürlerinin oluşturulmasında yapay besinlerin mikrobiyal kontrolünün sağlanması en zahmetli aşamalardan biridir. Yapay besin ortamının sıcaklık ve nem koşulları, küf, mantar, maya ve bakteriler dahil olmak üzere mikrobiyal büyüme için oldukça idealdir. Son yıllarda *G. mellonella* larvalarının farklı alanlarda model böcek olarak kullanılması, yapay besinlerde mikrobiyal kontaminasyonların tespit edilmesi ve böceğin fizyolojisini minimum düzeyde etkileyecek şekilde kontaminasyonların engellenmesi gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Bu çalışmada yapay besin ortamında *G. mellonella* larva, pup ve erginlerinde *Staphylococcus spp.* cinsine ait iki farklı bakteri türleri belirlendi. Böceğin larva

ve pup evresinde *S. hominis*, ergin evresinde ise *S. xylosus* bakteri türleri tanımlandı. Bu çalışmada ayrıca, 5 farklı cinsine ait mikrofungus türü tespit edildi. En fazla *Aspergillus* cinsine ait türlerin oluşturduğu koloniler belirlendi. Daha önce yapılan çalışmalarda *Aspergillus niger*'in, kontrolü en zor olan en sık karşılaşılan küf olduğu bildirilmiştir (Singh ve Bucher 1971, Gifawesen vd. 1975). Bu nedenle özellikle *Aspergillus* cinsine ait türlerin yapay besinlerde üremesinin engellenmesi oldukça önemlidir. Yapılan bir çalışmada, *Cnaphalocrocis medinalis* (Güenée) (Lepidoptera: Crambidae) yapay besinine çeşitli küf inhibitörleri eklenerek *Aspergillus niger* (van Tieghem) (Euroiales: Trichocomaceae) kontaminasyonları engellenmeye çalışılmıştır. Sorbik asit ve metil parafen gibi küf inhibitörleri yapay besine ilave edilerek küf kontaminasyonunun engellendiği bildirilmiştir. Fakat bu çalışmada yapay besine ilave edilen küf inhibitörlerinin böceğin biyolojik parametreleri üzerinde olumsuz etki yaptığı tespit edilmiştir (Su vd. 2014). Mikrobiyal kontaminasyonun engellenmesi için kullanılan ajanların böceğin fizyolojisini olumsuz yönde etkilememesi oldukça önemlidir. Bu amaç ile yapılan başka bir çalışmada; *G. mellonella* yapay besinine farklı konsantrasyonlarda (%0,001; 0,01; 0,1 ve 1) antifungal bir ajan olan terbinafin

Çizelge 3. *G. mellonella*'nın farklı yaşam evrelerinde belirlenen mikrofungus türleri

Evre	Mikrofungus		Teşhis anahtarı
	Cins	Tür	
Larva	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria alternata</i>	Hasenekoğlu, (1991); Pitt ve Hocking (2009)
	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Hasenekoğlu, (1991); Samson ve Pitt (2000)
	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	Hasenekoğlu, (1991); Samson ve Pitt (2000)
	<i>Beauveria</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	Domsch vd. (1980); Watanabe (2010)
	<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium verruculosum</i>	Hasenekoğlu, (1991); Pitt (2000)
Pup	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria alternata</i>	Hasenekoğlu, (1991); Pitt ve Hocking (2009)
	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus</i> sp.	Hasenekoğlu, (1991); Samson ve Pitt (2000)
	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	Hasenekoğlu, (1991); Samson ve Pitt (2000)
	<i>Beauveria</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	Domsch vd. (1980); Watanabe (2010)
	<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium verruculosum</i>	Hasenekoğlu, (1991); Pitt (2000)
	<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium</i> sp.	Hasenekoğlu, (1991); Pitt (2000); Pitt ve Hocking (2009)
	<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium</i> sp.	Hasenekoğlu, (1991); Pitt (2000); Pitt ve Hocking (2009)
Ergin	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria alternata</i>	Hasenekoğlu, (1991); Pitt ve Hocking (2009)
	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria</i> sp.	Hasenekoğlu, (1991); Pitt ve Hocking (2009)
	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	Hasenekoğlu, (1991); Samson ve Pitt (2000)
	<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium verruculosum</i>	Hasenekoğlu, (1991); Pitt (2000)
	<i>Verticillium</i>	<i>Verticillium</i> sp.	Hasenekoğlu, (1991); Watanabe (2010)

eklenmiştir. Bu çalışmada en düşük dozda terbinafinin böceğin fizyolojisini olumsuz yönde etkilemediği ve yapay besinlerde mikrobiyal kontaminasyonu engellemek için kullanılabilceği bildirilmiştir (Kastamonuluoğlu vd. 2020). Yapılan başka bir çalışmada *G. mellonella* yapay ve doğal besininde patojen bakteri *S. aureus* popülasyonu ile maya ve küf miktarının oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada diyete ilave edilen asiklovirin yapay besin ortamındaki mikrobiyal yükü azalttığı belirtilmiştir (Büyükgüzel ve Büyükgüzel 2016).

Özellikle son yıllarda *G. mellonella* larvalarının infeksiyon modeli olarak tıp alanında yaygın olarak kullanılması, pup evresinin ise biyolojik mücadele çalışmalarında kullanılan parazitoidlerin kitle üretiminde tercih edilmesi yapay besin ortamında mikrobiyal floranın belirlenerek engellenmesinin önemini arttırmıştır. Laboratuvar koşullarında böcek üretim alanlarının standardize edilmesi, larvaların gelişiminde muhtemel kontaminasyonların direkt veya dolaylı etkilerinin ortadan kaldırılmasında oldukça önemlidir.

5. Teşekkür

Bu çalışmada mikrofungus türlerinin teşhisi aşamasında yardımlarından dolayı Uzm. Biyolog Ferudun KOÇER'e teşekkür ederim.

6. Kaynaklar

- Asan, A., İlhan, S., Sen, B., Erkara, I.P., Filik, C., Cabuk, A., Demirel, R., Ture, M., Okten, S.S., Tokur, S. 2004. Airborne Fungi and Actinomycetes Concentrations in the Air of Eskisehir City (Turkey), Indoor. *Built. Environ.*, 13(1): 63-74. <https://doi.org/10.1177/1420326X04033843>.
- Aslan, N., Büyükgüzel, E., Büyükgüzel, K. 2019. Oxidative effects of gemifloxacin on some biological traits of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Environ. Entomol.*, 48 (3): 667-673. <https://doi.org/10.1093/ee/nvz039>.
- Bronskill JF. 1961. A Cage to Simplify the Rearing of the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella* (Pyralidae). *Journal of the Lepidopterists' Society*, 15(2): 102-104.
- Büyükgüzel, E., Büyükgüzel, K. 2016. Effect of Acyclovir on the Microbial Contamination in the Artificial and Natural Diets for Rearing of *Galleria mellonella* L. larvae. *Karaelmas Fen ve Müh. Derg.*, 6(1): 105-110. <http://dx.doi.org/10.7212%2Fzkufbd.v6i1.272>.
- Büyükgüzel, E., Hyršl, P., Büyükgüzel, K. 2010. Eicosanoids Mediate Hemolymph Oxidative and Antioxidative Response in Larvae of *Galleria mellonella* L. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 156(2): 176-183. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.01.020>.

- Büyükgüzel, E., Kalender, Y. 2009.** Exposure to Streptomycin Alters Oxidative and Antioxidative Response in Larval Midgut Tissues of *Galleria mellonella*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 94(2-3): 112-118. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2009.04.008>.
- Djainal, WAS., Shahin, K., Metselaar, M., Adams, A., Desbois, AP. 2020.** Larva of Greater Wax Moth *Galleria mellonella* is a suitable Alternative Host for the Fish Pathogen *Francisella noatumensis* subsp. orientalis. *BMC Microbiol.*, 20(1): 1-14. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-1695-0>.
- Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T.H. 1980.** Compendium of soil fungi, London, Academic press, Volume 1, 860 s.
- Ellis, D., Davis, S., Alexiou, H., Handke, R., Bartley, R. 2007.** Descriptions of medical fungi. Nexus Print Solutions, Adelaide, South Australia, 264 s.
- Gegner, J., Baudach, A., Mukherjee, K., Halitschke, R., Vogel, H., Vilcinskas, A. 2019.** Epigenetic Mechanisms are Involved in Sex-Specific Trans-Generational Immune Priming in The Lepidopteran Model Host *Manduca sexta*. *Front. Physiol.*, 10: 1-13. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00137>.
- Gifawesen, C., Funke, BR., Proshold, FI. 1975.** Control of antifungal-resistant strain of *Aspergillus niger* mold contaminants in insect rearing media. *J. Econ. Entomol.*, 68: 441-444. <https://doi.org/10.1093/jee/68.4.441>.
- Hasenekoğlu, İ. 1991.** Toprak Mikrofungusları, Cilt:1-7, Atatürk Üniversitesi Yayınları, No: 689, Erzurum.
- Kastamonuluoğlu, S., Büyükgüzel, K., Büyükgüzel, E. 2020.** The Use of Dietary Antifungal Agent Terbinafine in Artificial Diet and Its Effects on Some Biological and Biochemical Parameters of the Model Organism *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.*, 113(3): 1110-1117. <https://doi.org/10.1093/jee/toaa039>.
- Kılıç, A., Büyükgüzel, K., Büyükgüzel, E. 2015.** Antihelmintik Triklabendazolun Yapay Besin ile Beslenen *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) Larvalarının Yaşama ve Gelişimine Etkisi. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 21(6): 841-847. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2016.15393>.
- Lapointe, JF., McCarthy, CD., Dunphy, GB., Mandato, CA. 2020.** Physiological Evidence of Integrin-Antibody Reactive Proteins Influencing the Innate Cellular Immune Responses of Larval *Galleria mellonella* Hemocytes. *Insect Sci.*, 27(2): 239-255. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12646>.
- Larone Davise, H. 1993.** Medically Important Fungi A Guide To Identification. Chief Microbiologist, Department of Pathology Lenox Hill Hospital, New York: 230 s.
- Noor-ul-Ane, M., Kim, DS., Zalucki, MP. 2018.** Fecundity and Egg Laying in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): Model Development and Field Validation. *J. Econ. Entomol.*, 111(5): 2208-2216. <https://doi.org/10.1093/jee/toy183>.
- Pitt, J.I. 2000.** A laboratory guide to common *Penicillium* species. Food Science Australia a Joint Venture of CSIRO and AFISC, Australia, North Ryde., 197s.
- Pitt, J.I., Hocking, A.D. 2009.** Fungi and food spoilage. Third edition. Springer 519 s.
- Rossoni, RD., de Camargo Ribeiro, F., Dos Santos, HFS., Dos Santos, JD., de Sousa Oliveira, N., dos Santos Dutra, MT., de Lapena, SAB., Junqueira, JC. 2019.** *Galleria mellonella* as an Experimental Model to Study Human Oral Pathogens. *Arch. Oral. Biol.*, 101: 13-22. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2019.03.002>
- Samson, RA., Pitt, JI. 2000.** Integration of Modern Taxonomic Methods for *Penicillium* and *Aspergillus* Classification, (4rd ed.) Singapore: Harwood Academic Publishers, 510 s.
- Santorum, M., Brancalhão, RMC., Guimarães, ATB., Padovani, CR., Tettamanti, G., Dos Santos, DC. 2019.** Negative Impact of Novaluron on The Nontarget Insect *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Environ. Pollut.*, 249: 82-90. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.02.095>.
- Sertçelik, M., Sugeçti, S., Büyükgüzel, E., Necefoğlu, H., Büyükgüzel, K. 2018.** Diaquabis (N,N-dietilnikotinamid-N1) bis (4-formilbenzoato-O) kobalt (II) Kompleksinin Model Organizma *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) Üzerindeki Toksikolojik ve Fizyolojik Etkileri. *Karaelmas Fen ve Müh. Derg.*, 8(1): 359-364. <http://dx.doi.org/10.7212%2Fzkufbd.v8i1.1207>.
- Shaik, HA., Mishra, A., Sehadová, H., Kodrik, D. 2020.** Responses of Sericotropin to Toxic and Pathogenic Challenges: Possible Role in Defense of The Wax Moth *Galleria mellonella*. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, 227: 108633. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.108633>.
- Singh, P., Bucher, GE. 1971.** Efficacy of "safe" levels of antimicrobial food additives to control microbial contaminants in a synthetic diet for *Agria affinis* larvae. *Entomol. Exp. Appl.*, 14: 297-309. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1971.tb00167.x>.
- Su, J., Wang, YC., Zhang, SK., Ren, XB. 2014.** Antifungal Agents Against *Aspergillus niger* for Rearing Rice Leafhopper Larvae (Lepidoptera: Pyralidae) on Artificial Diet. *J. Econ. Entomol.*, 107: 1092-1100. <https://doi.org/10.1603/ec13296>.
- Sugeçti, S., Büyükgüzel, K. 2018.** Effects of Oxfendazole on Metabolic Enzymes in Hemolymph of *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) Larvae Reared on Artificial Diet. *Karaelmas Fen ve Müh. Derg.*, 8(2): 590-594. <http://dx.doi.org/10.7212%2Fzkufbd.v8i2.1380>.
- Sugeçti, S., Büyükgüzel, K., Büyükgüzel, E. 2016.** Laboratory Assays of the Effects of Oxfendazole on Biological Parameters of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Entomol. Sci.*, 51(2): 129-137. <https://doi.org/10.18474/JES15-36.1>.

- Vertyporokh, L., Wojda, I. 2020.** Immune Response of *Galleria mellonella* After Injection with Non-Lethal and Lethal dosages of *Candida albicans*. *J. Invertebr. Patbol.*, 170: 107327. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107327>.
- Watanabe, T. 2010.** Pictorial atlas of soil and seed fungi: Morphologies of cultured fungi and key to Species. Boca Raton: Crc Press/Taylor & Francis. 404 s.
- Zou, YX., Hu, TG., Shi, Y., Liu, J., Mu, LX., Xiao, Y., Liao, ST. 2017.** Establishment of A Model to Evaluate The Nutritional Quality of *Bombyx mori* Linnaeus (Lepidoptera, Bombycidae) Pupae Lipid Based on Principal Components. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 20(4): 1364-1371. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2017.05.012>.