

BİYOLOJİK MÜCADELEDE KULLANILAN ENTOMOPATOJENLERİN ARILAR ÜZERİNE ETKİLERİ

Salih UZUNER, Beyza Gonca GÜNER, Ömür AYAR, Mustafa YAMAN

Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 61080, Trabzon, Türkiye
muyaman@hotmail.com

ÖZET

Böceklerde hastalık oluşturan organizmalara entomopatojen denir. Entomopatojenler, virüs, bakteri, protist, fungus ve nematodları içeren geniş bir mikroorganizma grubundan oluşur. Zararlı böcekler ile biyolojik mücadelede çevreye yan etkisi olmayan entomopatojenik organizmaların kullanımı her geçen gün daha popüler hale gelmektedir. Her ne kadar yan etkileri düşük olsa da uygulandıkları alanda bal arıları üzerine etkileri her zaman dikkat çeken konu olmuştur. Literatürde entomopatojenik organizmaların arılar üzerindeki etkileri ile ilgili oldukça fazla çalışma mevcuttur. Ülkemizde yeni yeni kullanılan entomopatojenlerin bal arıları üzerindeki etkisi her zaman tartışılacaktır. Bu derleme makalede, entomopatojenik organizmaların arılar üzerine etkileri ele alınarak, literatür desteğiyle birlikte detaylı bir şekilde irdelenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bal arısı, Apis mellifera, Entomopatojen, Etki

THE EFFECTS OF ENTOMOPATHOGENES USED IN BIOLOGICAL CONTROL ON BEES

ABSTRACT

Organisms infecting insects are known as entomopathogen. Entomopathogens include members of a large group of viruses, bacteria, protist, fungi and nematodes. Biological control of insect pests by using entomopathogenic organisms becomes more popular in the term of using ecological control strategies. Although they are non or less toxic to environment, their undesirable effects on honey bees are interested by bee keepers. There are several studies on the determination of entomopathogenic effects on honey bees in the literatures. However, their effects will be main topic in near future in our country. In this review article, the effects of entomopathogenic organisms on honey bees are discussed with current studies in the literature.

Keywords: Honey bee, Apis mellifera, Entomopathogen, Effect

1. Giriş

Tarım ve orman alanlarında ekonomik kayıplara neden olan zararlı böcekler ile mücadele insanlığın her zaman ilgi duyduğu ve çaba sarf ettiği bir olaydır. Zararlı böcekler ile bir taraftan mücadele ederken diğer taraftan ise hedef dışı organizmalara olumsuz etki bırakmamak, çevreyle dost ekolojik bir mücadele yapmak her zaman istenen bir durumdur. Günümüzde zararlı böceklerle mücadelede yaygın bir şekilde kimyasal insektisitler kullanılmakta ve böceklerin bu kimyasallara karşı direnç geliştirmesinden dolayı kullanılan kimyasal insektisit miktarı her geçen gün artmaktadır. Günümüzde kimyasal insektisitlere alternatif mücadele yöntemi olarak böceklerde hastalık oluşturan organizmaların kullanımı popüler hale gelmektedir (Yaman, 2012; Yaman ve ark., 2012, 2015, 2016). Böceklerde hastalık oluşturan mikroorganizmalara entomopatojen denir. Entomopatojenik organizmalar başlıca virüsler, bakteriler, protistler, funguslar ve nematodları içermektedir. Bu organizmalar çoğu zaman konak seçici olup hastalık oluşturduğu böceğin dışında diğer böceklerde hastalık oluşturmaz. Bununla birlikte bazı entomopatojenik organizmalar nispeten geniş konak spektrumlu olup farklı takımlardaki böcekleri dahi enfekte edip hastalık oluşturabilirler. Bu nedenle entomopatojenik organizmaların uygulandığı alanlarda hedef dışı organizmaların da bu uygulamalardan etkilenmesi ihtimal dahilindedir. Böcekler sınıfının zar kanatlılar takımında yer alan arılar, tarım ve orman alanlarında tozlaşmayı sağlayan en önemli ve yegane canlı organizmalar olmalarından dolayı bu alandaki entomopatojenik uygulamalardan en çok etkilenebilecek canlılardır. Gerek bal arılarını gerekse yabancı arıları bulunduğu ortamlarda zararlılarla mücadelede kullanılan entomopatojenik organizmaların doğru seçimi ortamdaki arıların hiç etkilenmemesi ya da en az seviyede etkilenmesi açısından önem taşımaktadır. Aşağıda zararlı böceklerle mücadelede kullanılmak amacıyla araştırılan ya da ticari amaçla üretilen entomopatojenlerin bal

arıları üzerindeki etkileri literatürdeki çalışmalar dâhilinde irdelenmektedir.

2. Zararlı Böceklerle Mücadelede Kullanılma Potansiyeli Olan Entomopatojenik Organizmalar

2.1. Virüsler

Bal arıları tüm dünyada, gerek tarım ve orman ürünlerinin gerekse diğer ekonomik ya da ekolojik açıdan önemli bitki türlerinin önemli polinatörleri olarak bilinir. Böceklerde hastalık oluşturan entomopatojenler istenen (zararlılar ile mücadelede kullanım amacıyla) ve istenmeyen (bal arısı, ipek böceği, predatör böcekler gibi faydalı böceklerin ölümüne neden olmaları nedeniyle) enfeksiyonlara neden olurlar. Özellikle istenmeyen enfeksiyonlardan dolayı zararlı böceklerle biyolojik mücadelede entomopatojenlerin kullanımı kritik tercih durumundadır.

Bal arılarının kendi doğal ortamlarında kendilerine özgü virüsler ile enfekte olup, hastalandıkları ve bu nedenle yüksek koloni kayıplarının ortaya çıktığı bilinmektedir (Chen ve ark., 2004; Brutscher ve ark., 2015). Bal arılarını enfekte eden patojenlerin büyük bir çoğunluğu RNA virüsleri (Brutscher ve ark., 2015) olup günümüzde 20'den fazla virüs bal arılarını enfekte etmektedir (DeGraand-Hofman ve Chen, 2015; De Miranda ve ark., 2011). Bal arılarının tüm hayat safhaları virüsler tarafından enfekte edilebilir. Çoğu zaman kolonilerde halihazırda var olan virüsler semptom göstermeden uzun süre kalabilirler ve kolonideki stres durumlarında ortaya çıkarak koloni kayıplarına neden olabilirler. Birçok arı virüsü kontamine olmuş besinler vasıtasıyla fekal-oral yolla arıdan arıya bulaşabilir (Li ve ark., 2014; Chen ve Siede, 2007). Bu durumlardan dolayı zararlı böceklerin biyolojik mücadelesinde çevreye yan etkisi olmadığı ve konak spektrumlu oldukları bilinen virüslerin kullanımı, kullanım alanındaki hedef dışı

organizmalara özellikle de çok sayıda virüs tarafından oluşturulan hastalıklarla büyük koloni kayıplarının yaşandığı bal arılarına karşı olumsuz etkilerinin olup olmadığı büyük merak konusudur. Bu önemli konuyu aydınlatacak birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. En kayda değer çalışmalardan biri yabani ve rekombinant izolatlarının denendiği bir entomopatojenik bakulovirüsün arılar üzerinde olumsuz etkisinin gözlenmediği çalışmadır (Heinz ve ark., 1995). Bu çalışmada düşük aktivite gösteren *Autographa californica* NPV (AcNPV) virüsünün doğal suşu ile rekombinant teknoloji ile akrep nörotoksini üreten gen içeren rekombinant suşu enjekte edilmiş bal arılarında hem yabani suş için hem de rekombinant suş için olumsuz etki tespit edilmemiştir. Prabhu ve ark. (2017) tarafından gerçekleştirilen en güncel çalışmada DpNPV (*Diaphania pulverulentalis* Nuclearpolyhedrosis Virus) ile muamele edilmiş arıların kontrol grubu ile aynı ömür uzunluğuna sahip olduğu gösterilmiştir (Prabhu ve ark., 2017). Daha birçok çalışmada bakulovirüslerin arılar üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir.

2.2. Bakteriler

Böceklerde hastalık oluşturan entomopatojenlerden bir diğeri de bakterilerdir. Bakteriler ticari olarak kullanılan entomopatojenlerin başında gelir. Entomopatojen bakterilerin konak organizmalara girişi ağız yolu ile olmaktadır. Entomopatojen bakterilerin böcekte oluşturduğu ilk belirtiler, böceğin beslenmeden kesilmesi durumudur. Çevre dostu olan ve zararlılarla mücadelede en yaygın olarak kullanılan mikrobiyal patojen *Bacillus thuringiensis* (Bt)'tir. Bt suşlarının üzerinde en çok çalışılan entomopatojen olmasının sebebi türe özgü olmaları ve çevresel olarak güvenli olmalarıdır (Han ve ark., 2006). Sporulasyon sırasında parasporal kristal yapı

oluşturmasından dolayı *B. thuringiensis* karakterize edilerek, ticari süspansiyon olarak kullanılmaktadır. Lepidoptera, Diptera ve Coleoptera takımına ait zararlılara karşı Bt'nin farklı suşları sınırlı veya kapsamlı toksik etki göstermektedirler (Azizoğlu ve ark., 2012).

Porcar ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada, Bt'nin PS86Q3 suşu ile kozalaklıların önemli zararlıları (*Diprion pini*, *Gilpinia hercyniae* ve *Pristiphora abietina*) ve süs bitkilerinde zarar yapan (*Arge rosae*) ve bunların dışında bal arısı *Apis mellifera*'yı içeren 5 Hymenopteran türünün biyolojik etkinliğini incelemişler ve test edilen dört yaprak arısı türünün ikisinin PS86Q3 kristallerine veya spor / kristal süspansiyonlara karşı duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Bu suşun sporüle edilmiş bir kültürünün *D. pini* üzerinde orta derecede aktif olduğu ve *P. abietina*'nın PS86Q3'e duyarlı olduğu belirtilmiştir. Bt'nin bal arısını etkileyip etkilemediğini bulmak için istatistiksel olarak karşılaştırma yaparak, Bt ve Bt'nin toksik etkilerinin bal arısı üzerinde zararlı etkilerinin olmadığını bildirmişlerdir. Transjenik pamuk bitkilerinin nektar ve polenlerindeki Bt'ye ait Cry1Ac'nin normal konsantrasyonundan 25 kat fazla olan test edilmiş maksimum konsantrasyondaki PS86Q3'ün sindirim yoluyla uygulandığı bal arısı larvalarında bir ölüm artışı gözlemlenmemiştir (Sims, 1995). Diğer birçok çalışmada gösterilen Bt ya da saflaştırılmış Bt toksinlerinin, bal arıları üzerinde olumsuz etkilerinin olmadığını teyit etmektedir (Malone ve Pham-Dele`gue, 2001). Günümüzde, ticari olarak üretilmiş, genetiği değiştirilmiş böceklere dayanıklı bitkiler, toprakta yaşayan bakteri *B. thuringiensis*'den türetilmiş genler tarafından kodlanan kristal (Cry) proteinlerine dayanmaktadır. Çiftçiler tarafından yaygın olarak kullanılmasından ötürü tarım ekosistemlerinde, hedef olmayan türler üzerinde, Bt proteininin potansiyel

etkilerini değerlendirmek önemlidir (Andow ve Zwahlen, 2006). Çoğu uzman bu Bt ürünlerinin bal arısı (Hymenoptera: *Apis mellifera* L.) popülasyonlarını etkilemesinin muhtemel olmadığını düşünmektedir. Duan ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada, bal arısı larva ve erginlerinde Bt Cry proteinleri veya Bt bitki dokularının (polen) kronik veya akut toksisitesine odaklanan 25 laboratuvar çalışmasından oluşan bir meta-analizi yayınlamışlar ve Bt Cry protein sınıfından herhangi birisinin, bal arısı ve Hymenopteran böcekler için doğrudan toksik olmadığını belirtmişlerdir (Duan ve ark., 2008). Bir başka çalışmada, Ramirez-Romero ve ark. (2008) Cry1Ab proteininin iki konsantrasyonda (3 ve 5000 ppb) genç erişkin bal arılarındaki potansiyel etkilerini değerlendirmektedir. Test edilen Cry1Ab protein konsantrasyonlarının bal arılarında ölümcül etkilere neden olmadığı bildirilmiştir. Ancak, 5000 ppb Cry1Ab'ye maruz bırakılan bal arılarının, öğrenme performanslarının bozulduğu bildirilmiştir (Ramirez-Romero ve ark., 2008). Öğrenme, bal arısı beslemede birincil öneme sahiptir, dolayısıyla bu kabiliyetin dolaylı olarak veya doğrudan bozulması, bal arısı kolonilerinin gelişimini ve tarımsal bitkilerdeki tozlayıcı olarak rolünü etkileyebilir (Winston, 1987). Örneğin, Babendreier ve ark. (2005) Bt toksinlerinin, Bt ile kontamine edilmiş besinlerle beslenen bal arılarının hipofaringeal bezlerinde bulunduğunu bildirmiştir (Babendreier ve ark., 2005).

2.3. Mantarlar

Birçok mikrobiyal kontrol ajanının konağa özgü olduğu ve kimyasal pestisitlerle kıyaslandığında çok daha düşük riskler taşıdığı düşünülse de söz konusu patojenin doğasına ve kullanım şekline bağlı olarak potansiyel çevresel risk taşıyabilir (Goettel ve Jaronsky, 1997). Son yıllarda yapılan çalışmalarla birlikte dünya çapında tarım alanlarında tozlaşma oranının düştüğü ortaya koyulmuştur. (Kearns ve ark., 1998; Kevan ve Viana, 2003). Hastalıklara ve parazitlere karşı kullanılan geniş spektrumlu pestisitlerin, tozlaşmayı büyük oranda

azalttığı düşünülmektedir (Kevan ve Viana, 2003). Bunun en önemli sebebi mikrobiyal kontrol ajanlarının geniş konak spektrumlu olmasıdır. Örneğin, *Beauveria bassiana* (Balsamo), bal arısının (*Apis mellifera*) da dahil olduğu birçok yararlı böceği içeren 700 türden fazla konağa sahiptir. Bu risk durumu ve birçok ülkede gözlenen yüksek orandaki koloni kayıpları sonrasında, arı sağlığı oldukça büyük bir problem haline gelmiştir (Breeze ve ark., 2011; Evans ve Schwarz, 2011).

Entomopatojen funguslar, konak organizmaya aktif bir şekilde girebilmeleri ve dokularda hızlıca gelişebilmeleri, ucuz ve kolay uygulanabilir olmasından dolayı oldukça önemli bir entomopatojenik gruptur (Demirci ve ark., 2011). Ayrıca 2015 yılında Rosas-García ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma ile birlikte mikrokapsüller içerisine alınan bu patojenlerin etkinliğinin giderek artırılabilirdiği rapor edilmiştir (Rosas-García ve ark., 2015). Funguslar konak üzerinde hızlı bir şekilde gelişip farklı konaklara yayılabile kabiliyetindedir. Entomopatojenik fungus sporları, böcek kütikülasına yerleşip sporlarını çimlendirerek kütikülaya girerler. Daha sonra gelişen hifler, böcek vücudunda çoğalarak böceğin ölümüne sebep olurlar. Ölü bireyler üzerinde gelişerek eşeyli ve eşeysiz dönemleri oluştururlar (Erkılıç ve Uygun, 1993). Entomopatojenik fungusların en dikkat çeken özelliklerinden biri de toksin salgılamalarıdır. Örneğin, *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium anisophile* türlerinin doku içerisine yayılmadan ve spor oluşturmadan önce toksin madde salgılayarak böceğin ölümüne sebep olduğu bilinmektedir (Erkılıç ve Uygun, 1993). Bununla birlikte funguslar toprak orijinli organizmalar olduğu için olumsuz çevre şartlarına karşı dayanıklı formlara sahiptir (Samson ve ark., 1988). Ayrıca ölü böcekler üzerindeki saprofitik gelişimleri, farklı popülasyonlara kolayca yayılabilmelerinin en büyük sebebidir.

Entomopatojenik funguslar içerisinde en önemli biyolojik mücadele ajanlarından biri olan *B. bassiana*, geniş konak spektrumuna sahip *Hypocreales*

(Ascomycota) takımına bağlıdır (McCoy, 1990). *B. bassiana*, birçok ülkede tahıl, sebze, meyve ağaçları ve seralardaki zararlılara karşı ticari olarak kullanımı onaylanan bir kontrol ajanıdır. Öncelikle Sovyetler Birliği, Çin ve Brezilya gibi ülkeler tarafından onaylanan bu patojenin kullanımı, Kanada'da 2007 yılına kadar onay alamamıştır. Al mazra'awi (2007), bu fungal patojenin Kanada'da özellikle bal arısı gibi hedef olmayan organizmalar üzerindeki etkilerinin tam olarak bilinmemesi sebebiyle henüz onay alamadığını rapor etmiştir. *B. bassiana* türünün bal arıları üzerindeki etkisini aydınlatmak amacıyla yapılan bazı çalışmalar sonucunda, lokal dozların % 50-84 seviyesinde ölüm meydana getirdiği gözlenirken oral yolla verilen dozların % 76-90 seviyesinde ölüme sebep olduğu bildirilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmalarda, kafesli arılarda yüksek ölüm oranları görülürken arazi çalışmalarında yapılan denemelerde ölüm oranının oldukça düşük olduğu kaydedilmiştir (Al mazra'awi, 2007). Bazı çalışmalarda, *B. bassiana*'nın farklı izolatları bal arıları üzerinde denendiğinde izolatlarının virulansları arasında önemli bir farklılığın olmadığı gösterilmiştir. İlave olarak, 36 günlük çalışma sonrasında hem *B. bassiana* ile muamele edilen kovanlarda hem de kontrol kovanlardaki ölüm oranı % 2-3 seviyesinde olduğu görülmüştür. Bu sonuçlarla birlikte *B. bassiana*'nın güvenilir bir patojen olduğu belirlenmiştir (Al mazra'awi, 2007). Olumsuz koşullar altında ve stres durumunda, özellikle fungusların en iyi gelişebildiği sıcaklık ve nem ortamında, bal arıları patojenlere karşı çok daha hassas hale gelmektedir. Ancak kovanlardaki kuluçka odasının sıcaklığı, *B. bassiana*'nın gelişimine izin vermeyerek zarar vermesini önlemektedir. *B. bassiana*'nın kovandaki varlığı, stresli ya da hastalıklı kovan olduğunun göstergesidir. Normal şartlar altında kovan sıcaklığı *B. bassiana* gelişimine uygun değildir (Ekese ve ark., 1999).

Aspergillus türlerinin de bal arıları üzerindeki etkisine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Özellikle larval safhaları besin yetersizliği durumunda patojenlere karşı oldukça hassas hale gelmektedir. Foley ve ark. (2012) yapmış olduğu bir çalışmada, kontrol grubunda hiçbir enfeksiyon belirtisi gözlemlenmezken, kütüküla üzerinde konidya veya hif gelişimi sadece ölü larvalar üzerinde görülmüştür. Farklı *Aspergillus* türlerine maruz bırakılan arı larvalarının yaşam sürelerinde farklılık gözlenmiştir. Kontrol grubunda % 67 olan yaşam süresi, *A. fumigatus*'a maruz bırakılan arılarda % 55'e, *A. ohoenicis*'te % 49'a ve *Aspergillus flavus*'ta % 37'ye kadar düşmektedir. Bu çalışmada arılara yapılan besin takviyesinin patojenlere karşı ne kadar etkili olduğu araştırılmıştır. Yapılan bu çalışmayla birlikte, besin yetersizliğinin arıları patojenlere karşı hassas hale getirdiği, polen destekleri sonrasında immünolojik sistemin geliştiği görülmüştür (Foley ve ark., 2012). Benzer şekilde bal arısı larvalarında enfeksiyon yapan *Bacillus larvae*'a karşı polifloral polen desteklerinin direnç oluşturduğu rapor edilmiştir (Rinderer ve ark., 1974). Besin şekline bakılmaksızın en yüksek hastalık oluşturan tür *A. flavus*'tur. *A. flavus*, pektinaz ve proteaz enzimlerini üreterek böceklerde en sık enfeksiyona sebep olan *Aspergillus* türü olarak bilinir (St Leger ve ark., 2000). Ayrıca *Aspergillus* türleri aflotoksin ve ochratoksinleri içeren çeşitli mikotoksinleri de üretmektedir (Medina ve ark., 2004).

2.4. Protistler

Entomopatojenik protistlerin arılar üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar sınırlı olmakla birlikte mevcut olanlar bu konuda bir ön fikir verebilmektedir. Arılarda protistlerin hastalık oluşturduğuna yönelik çalışmalar mevcuttur. Lipa ve Triggiani (1992) bal arısı ve bombus türlerinde hastalık oluşturan yeni bir neogregarine türü

tanımlamışlardır. Bununla birlikte Lipa ve Hokkanen (1992) bir başka protis olan ve *Meligethes aeneus*'tan izole edilen *Nosema meligethes*'e ait 70.000 spore/0.5 ml yoğunluğundaki süspansiyonunu bal arılarına denemişler ve bal arılarında bu protistin neden olduğu herhangi bir enfeksiyon gözlemlenmemişlerdir.

2.5. Nematodlar

Nematodlar biyolojik mücadele kullanılan en önemli entamopatojenik canlılardan biridir. Ticari önem bakımından da bakterilerden sonra ikinci sırayı alan etmen grubunu oluşturmaktadır (Flexner ve Belnavis, 2000). Özellikle *Steinernematidae* ve *Heterorhabditidae* familyalarına ait türlerin geniş bir konak dağılımına ve yüksek öldürücü özelliğe sahip olması bu organizmaların potansiyel biyolojik kontrol ajanı olarak tercih edilmelerini sağlamıştır (Begley, 1990; Gaugler ve Kaya, 1990; Hazir ve ark., 2003). Ayrıca nematodlar genellikle bazı bakterilerle simbiyotik bir ilişki gösterir. Konak böceklerine girdiklerinde patojenik bakteriler nematod tarafından salınır ve böceklerin ölümüne neden olan bakteri enfeksiyonu oluşturur (Dillman ve Sternberg, 2012). Bakteriyel simbiyont *Heterorhabditis* cinsi nematodlarda *Photorhabdus* ve *Steinernema* cinsi nematodlarında ise *Xenorhabdus*'tur. Bu bakteriler böceklerin vücudunda hızla çoğalabilir ve genellikle iki gün içinde, septisemi yoluyla öldürebilir (Goodrich-Blair ve Clarke, 2007). Örneğin, *Steinernema* cinsi bakteri simbiyontu *Xenorhabdus* bakterilerinin arıların bağışıklık savunmalarını aşabildiği ve septisemiye neden olabileceği, ancak nematod beslenmesine ve çoğalmasına izin vermek için dokuları yeterince parçalayamadığı; buna karşılık *Heterorhabditis* cinsinin bakteriyel simbiyontu olan *Photorhabdus* bakterilerinin arıların dokularını daha etkili bir şekilde sindirebildiği ve nematodlara daha iyi bir besin kaynağı sağlayabildiği belirtilmiştir (Nielsen-LeRoux ve ark., 2012).

Nematodların son zamanlarda yaprak ve çiçek zararlılarına karşı da kullanılması bazı yararlı böceklerle arasındaki temas potansiyelinin artmasına neden olur

(Shannag ve ark., 1994). Bu istenilen bir durum değildir. Çünkü bu denli geniş bir konak dağılımına ve öldürücü etkiye sahip olan canlıların kullanımı sırasında faydalı böceklerle de zararlı bir etkisinin olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle biyolojik mücadelede nematodların kullanımı anında uygulama alanlarında hedef dışı organizmaların, özellikle de konu itibarıyla bal arılarının bulunup bulunmadığı büyük önem arz etmektedir. Özellikle böcek kontrol ajanı olarak entomopatojenik nematodların artan kullanımı, bal arılarındaki potansiyel etkilerine büyük bir ilgi uyandırmıştır (Morse ve Flotum, 1997; Lewis, 2000).

Nematodların uygulanmasından sonra istilacı larvaların erişkin bal arılarına doğal ortamlarında nektar, polen (Morse ve Flotum, 1997) ve su içmesi (Baur ve ark., 1995) sırasında bulaşabileceği ile ilgili tespitler mevcuttur. Alan uygulamasında bal arısının nematod tarafından enfekte olma ihtimali standart uygulama oranının dönüm başına bir milyar juvenil nematod ya da bitki başına 50000 IJ olması durumunda yüksek olabileceği bildirilmiştir (Ben-Yakir ve ark., 1998; Lewis, 2000). Bu düşük bir ihtimal olsa da konu hakkında birçok çalışma gerçekleştirilmiştir.

Laboratuvar koşullarında işçi ve bal arılarının nematod enfeksiyonuna duyarlı olduğu gözlenmiştir (Hackett ve Poinar, 1973; Cantwell ve ark., 1972). Kesin bir sonuca varabilmek için birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan birisi farklı sıcaklıklarda uygulanan *Steinernematid* ve *Heterorhabditid* nematodlarının bal arılarına etkisinin olup olmadığı çalışmasıdır (Baur ve ark., 1995). *S. carpocapsae*, *H. bacteriophora*, *S. riobravis* ve *S. glaseri* bal arılarına uygulanmış ve arılarda kontrol grubuna göre daha yüksek oranda ölüme neden olmuştur. Kontrol grubunda da düşük de olsa ölümler gerçekleşmiş fakat bu ölen arılardan herhangi birinde hiçbir nematod ve enfeksiyon bulgusu gözlenmemiştir (Baur ve ark., 1995). Başka bir çalışmada ise farklı dönemlerdeki erkek ve işçi arı larvalarına, kuluçka peteği ve laboratuvar petri

kaplarında, *S. feltiae* nematoduna ait larva süspansiyonu (20 µl süspansiyonu) ile enfekte edilmiştir. Enfeksiyon biçimine, nematod türlerine ve arı larvalarının cinslerine bağlı olarak çalışmada tespit edilen enfeksiyon oranının % 20 ile % 71.4 arasında değiştiği gözlenmiştir (Żółtowska ve ark., 2003). Kullanılan nematodlardan *S. feltiae*'nin bal arısı larvalarındaki enfeksiyonunun yüksek oranı, *Apis mellifera* (özellikle işçi arı larvaları) için oldukça istilacı bir nematod türü olduğunu göstermiştir (Żółtowska ve ark., 2003). Bal arılarının yanı sıra *Heterorhabditis* türleri ve *Steinernema* türleri *Bombus terrestris* üzerinde de denenmiştir. Her iki ticari olarak mevcut nematod ürünlerinin kullanımından sonra, ilk ölümler 48 saat sonra belirginleşmiş, 72 saat maruz kaldıktan sonra ise çok yüksek arı ölüm oranına neden olmuştur. Enfekte olan arıların gövdelerinde nematod bireyleri çoğalmış ve *B. terrestris*'in nematod türleri için uygun bir konakçı olduğunu kanıtlanmıştır. Araştırmada her nematoda maruz kalan arı gövdesinde önemli miktarda infektif juvenil nematod geliştiği bulunmuştur (Dutka ve ark., 2015). Ayrıca bu çalışmaların yanında yaban arılarının da nematodlara karşı duyarlı olduğu tespit edilmiş ve nematodların kullanılması sonucu, yaban arısı *Vespula vulgaris* ve *V. pennsylvanica* kolonilerinin bastırılabilceği bildirilmiştir (Gambino ve ark., 1992).

Laboratuvar ortamında yapılan çalışmaların genelinde bal arılarının entomopatojenik nematodlara karşı duyarlı olduğu saptanmıştır. Fakat bazı çalışmalar bu duyarlılığın koloni boyutunda etki etmediğini belirtmiştir. Bunlardan biri *S. carpocapsae*, *H. bacteriophora*, *S. riobravis* ve *S. glaseri* nematodlarının kullanıldığı çalışmadır.

Çalışmanın sonucunda bal arılarında mortalite görülmesine rağmen genel olarak, işçi arılarının

mortalitesinin düşük olduğu ve yüksek inokülüm seviyelerinde bile sadece orta derecede yavru kaybı gözlendiğinden, bu çalışmada test edilen nematod türlerinin bal arısı üzerinde olumsuz bir etkisi olmayacağı belirtilmiştir. Bunun nedeni de bireysel yetişkinlerin enfekte olabilmesine rağmen, nematodların kovan içindeki yavru ve diğer arılara enfeksiyonu bulaştırmaya devam edememesidir (Baur ve ark., 1995). Diğer bir çalışmada ise, enfektif nematod *Steinernema carpocapsae*'nin arı kovanına püskürtüldüğünde birkaç yetişkinin üzerinde mortaliteye neden olduğu fakat koloni üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Bu duruma kovadaki yüksek sıcaklıkların etkili olduğu ve nematod enfeksiyonunu en aza indirdiğini belirtmişlerdir (Kaya ve ark., 1982).

3. Sonuç

Dünyada ve ülkemizde entomopatojenik organizmalar biyolojik mücadele kapsamında sıklıkla kullanılmaktadır. Bu durum saha çalışmalarında entomopatojenlerin zararlı böceklerin yanı sıra faydalı böceklerde de etki potansiyelinin artmasına neden olmaktadır. Bu makalede, tüm dünyada özellikle tarımsal tozlaşma ve ekonomik açıdan değerli olan bal arılarının zararlılar ile mücadele amaçlı kullanılan entomopatojenik organizmalara duyarlılığı ve toksik etkilerinin olup olmadığı literatür çalışmaları dikkate alınarak değinilmiştir. Arılarda hastalık yapan kendi virüslerinin bal arılarının tüm hayat safhalarını enfekte edebildiği ve kolonilerde strese bağlı koloni kayıplarına neden olabileceği bildirilmiştir. Özellikle RNA virüsleri çok sayıda bal arılarında enfeksiyona neden olabilmektedir. Bunun yanı sıra zararlı böcekler ile mücadelede kullanılan bakulovirüslerle yapılan çalışmalarda, bakulovirüslerin bal arıları üzerinde

olumsuz bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Entomopatojenik organizmalar arasında çevre dostu olarak bilinen bakterilerin de bal arıları üzerindeki biyolojik etkinliği birçok çalışmayla belirtilmiştir. En yaygın olarak kullanılan entomopatojenik bakteri *Bacillus thuringiensis* (Bt)'nin, ticari süspansiyonlarının ve Cry proteinlerinin bal arıları üzerinde doğrudan veya dolaylı olarak herhangi bir etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir. Bt'nin PS86Q3 suşu ile yapılan çalışmada, iki yaprak arısının bu suşa duyarlı olduğu fakat bal arıları üzerinde zararlı etkilerinin olmadığı bildirilmektedir.

Geniş konak spektrumlu entomopatojenik funguslarla yapılan deneyler sonucunda, laboratuvar ortamında yetiştirilen arılarda yüksek seviyede ölüm oranı gözlenirken, arazi ortamında yetiştirilen arılarda kayda değer bir seviyede ölüm oranı gözlenmemiştir. Zararlı böceklerle karşı ticari olarak geliştirilmiş olan *B. bassiana* ve *M. anisophile* suşlarının, arılar için herhangi bir tehlike oluşturmadığı tespit edilmiş mikrobiyal kontrol ajanı olarak kullanılmasında herhangi bir sakınca bulunmamıştır. Bunun yanı sıra pektinaz ve proteaz enzimleri ile bazı mikotoksinleri üreterek böceklerde ölüme sebep olan *Aspergillus* cinsi fungusların, arıların yaşam süresini önemli seviyede kısalttığı kaydedilmiştir. Günümüzde iklim koşullarının değişmesiyle birlikte hem fauna hem flora olumsuz şekilde etkilenmektedir. Sıcaklık ve nem dengesizlikleri birçok canlının yaşam döngüsünü etkilediği gibi arıları da tehdit etmektedir. Normal koşullarda patojenik etki göstermeyen funguslar, uygun sıcaklık ve nem ortamında arılar için büyük bir tehdit haline gelmektedir. Aynı zamanda bitki özü çeşitlerinin sınırlanmasıyla birlikte arılar doğadan yeterli besin takviyesi alamamakta ve bağışıklık sistemleri olması gerekenin altına düşmekte, bunun sonucunda da kovanlardaki arı sayısı günden güne düşmektedir. Arı sağlığının bu durumdan etkilenmemesi için çeşitli besin takviyeleri yapılması önerilmektedir. Bal arılarının olumsuz koşullardan minimum seviyede etkilenmesi için hem patojenlerin arılar üzerindeki etkileri detaylı olarak

araştırılmalı hem de arıların bağışıklık seviyesini maksimum seviyeye getirebilecek alternatif destekler bulunmalıdır.

Entomopatojenik organizmalar arasında ticari önem bakımından bakterilerden sonra yer alan nematodların saha uygulamalarında geniş ölçekte kullanılması bal arılarına bulaşabileceği riskini ortaya koymaktadır. Yapılan laboratuvar çalışmalarında nematodların bal arılarında enfeksiyona ve ölümlere neden olduğu tespit edilmiştir. Bal arıları ve yaban arılarının laboratuvar çalışmalarında özellikle *Steinernema* ve *Heterorhabditis* türlerine karşı duyarlı olduğu anlaşılmıştır. Her ne kadar bu duyarlılık sıcaklık, uygulanma şartları gibi nedenlerden dolayı koloni boyutunda olmasa da bireysel ölümlere neden olabilmektedir. Fakat bazı çalışmalarda da bu ölüm oranlarının düşük olması ve enfeksiyonun koloniyeye yayılmamasından dolayı nematodların bal arıları üzerinde yüksek derecede olumsuz bir etkisinin olamayacağı bildirilmiştir. Tabi ki bu yapılan çalışmaların laboratuvar ortamında olduğu, saha uygulamalarında ise durumun ne olacağı bilinmediğinden bu konu hakkında daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

4. Literatür

Al mazra'awi, M.S. 2007. Impact of the Entomopatogenic Fungus *Beauveria bassiana* on the Honey Bees, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *World Journal of Agricultural Sciences* 3(1):07-11.

Andow, D.A., Zwahlen, C. 2006. Assessing environmental risks of transgenic plants. *Ecol. Lett.* 9, 196-214.

Azizoğlu, U., Bulut, S., Yılmaz, S. 2012. Organik tarımda biyolojik mücadele; entomopatojen biyoinsektisitler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 28(5):375-381.

Babendreier, D., Kalberer, N.M., Romeis, J., Fluri, P., Mulligan, E., Bigler, F. 2005. Influence of Bt-transgenic pollen, Bt-toxin and protease inhibitor (SBTI) ingestion on development of the hypopharyngeal glands in honeybees. *Apidologie* 36, 585-594.

Baur, M.E., Kaya, H.K., Peng, Y.S. and Jiang, J. 1995. Nonsusceptibility of the Honey Bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), to Steinernematid and Heterorhabditid. *Nematodes Journal of Nematology* 27(3):378-381.

Ben-Yakir, D., Efron, D., Chen, M. and Glazer, I. 1998. Evaluation of Entomopathogenic Nematodes for Biocontrol of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, on Sweet Corn in Israel. *Phytoparasitica*, 26(2):1-8.

Begley, J.W. 1990. Efficacy Against Insects in Habitats Other Than Soil. *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*, 215-231.

Breeze, T.D., Bailey, A.P., Balcombe, K.G., Potts, S.G., 2011. Pollination services in the UK: How important are honeybees? *Agric. Ecosyst. Environ.* 142, 137-143.

Brutscher, L.M., Daughenbaugh, K.F., and Flenniken, M.L., 2015. Antiviral defense mechanisms in honey bees. *Current Opinion in Insect Science* 10:71-82.

Cantwell, G.E., Lehnert, T. and Fowler, J. 1972. Are biological insecticides harmful to the honey bee? *American Bee Journal* 112: 255-258.

Chen, Y.P., Siede, R. 2007. Honey Bee Viruses. In *Advances in Virus Research*. Elsevier; 33-80.

Chen, Y., Zhao, Y., Hammond, J., Hsu, H., Evans, J., Feldlaufer, Mark. 2004. Multiple virus infections in the honey bee and genome divergence of honey bee viruses. *Journal of Invertebrate Pathology* 87:84-93.

DeGrandi-Hoffman, G. and Chen, Y. 2015. Nutrition, immunity and viral infections in honey bees. *Curr. Opin. Insect Sci.* 10, 170-176, 10.1016/j.cois.2015.05.007.

De Miranda, J.R., Ribière, G.L, Chen, M.Y.P. 2011. Honey bee viruses and their effects on bee and colony health. In *Honey Bee Colony Health: Challenges and Sustainable Solution*. Edited by Sammaturo, D., Yoder, J.A., CRC Press Taylor & Francis Group; 71-102.

Demirci, F., Muştu, M., Kaydan, M.B., Ülgentürk, S. 2011. Laboratory evaluation of the effectiveness of the entomopathogen; *Isaria farinosa*, on citrus mealybug, *Planococcus citri*. *Journal of Pest Science*, 84:337-342.

Dillman, A.R., Sternberg, P.W. 2012. Entomopathogenic nematodes. *Current Biology* 22:R430-R431 DOI 10.1016/j.cub.2012.03.047.

Duan, J.J., Marvier, M., Huesing, J., Dively, G., Huang, Z.Y. 2008. A Meta-Analysis of Effects of Bt Crops on Honey Bees (Hymenoptera: Apidae). *PLoS ONE* 3(1): e1415. doi:10.1371/journal.pone.0001415.

Dutka, A., McNulty A. and Williamson, S.M. 2015. A new threat to bees? Entomopathogenic nematodes used in biological pest control cause rapid mortality in *Bombus terrestris*. *PeerJ* 3:e1413.

Ekesi, S., Maniania, N.K. and Ampong-Nyarko, K. 1999. Effect of temperature on germination, radial growth and virulence of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on *Megalurothrips sjostedti*. *Biocont. Sci. Technol.*, 9:177-185.

Erkılıç, L. and Uygun, N. 1993. Entomopatojen fungusların biyolojik mücadelede kullanım olanakları. *Türk. Entomol. Der.* 17(2):117-128.

Evans, J.D., Schwarz, R.S., 2011. Bees brought to their knees: microbes affecting honey bee health. *Trends Microbiol.* 19, 614-620.

Foley, K., Fazio, G., Jensen, A.B. and Hughes, W.O.H. 2012. Nutritional limitation and resistance to opportunistic *Aspergillus* parasites in honey bee larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 111:68-73.

- Flexner, J.L. and Belnavis, D.L. 2000. Microbial insecticides. Editör: J.E. Rechcigl ve N.A. Rechcigl. Biological and Biotechnological Control of Insect Pests. CRC Press, Boca Raton, USA, 35-62.
- Gambino, P., Pierluisi, G.J. and Poinar, G.O.Jr. 1992. Field test of the nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) against yellowjacket colonies (Hym: Vespidae). *Entomophaga* 37:107-114.
- Gaugler, R., Kaya, H.K. 1990. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control, CRC Press, Boca Raton, FL, 1-365.
- Goodrich-Blair, H., Clarke, D.J. 2007. Mutualism and pathogenesis in *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*: two roads to the same destination. *Molecular Microbiology* 64:260-268.
- Goettel, M.S. and Jaronsky, S.T. 1997. Safety and registration of microbial agenst for control of grasshoppers and locut. *Mem. Entomol. Soc. Can.*, 171:83-99.
- Han, C.S., Xie, G., Challaconbe, J.F. 2006. Pathogenomic Sequence Analysis of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* Isolates Closely Related to *Bacillus anthracis*, *J. Bacteriol.*, 188(9), 3382-3390.
- Hackett, K.J. and Poinar, G.O.Jr. 1973. The ability of *Neoaplectana carpocapsae* Weiser (*Steinernematidae*: *Rhabditoidea*) to infect adult honey bees (*Apis Mellifera*, *Apidae*: *Hymenoptera*). *American Bee Journal* 113:100.
- Hazir, S., Kaya, H.K., Stock, S.P., Keskin, N. 2003. Entomopathogenic Nematodes (*Steinernematidae* and *Heterorhabditidae*) for Biological Control od Soil Pests, *Türk J. Biology*, 27, 181-202.
- Heinz, K.M., McCutchen, B.F., Herrman, R., Parrella, M.P. and Hammock, B.D. 1995. Direct effects of recombinant nuclear polyhedrosis viruses on selected nontarget organisms. *J. Econ. Entomol*, 88:259-264.
- Kaya, H.K., Marston, J.M., Lindegren, J.E. and Peng. Y.S. 1982. Low susceptibility of the honey bee, *Apis mellifera* L. (*Hymenoptera*: *Apidae*), to the entomogenous nematode, *Neoaplectana carpocapsae* Weiser. *Environmental Entomology* 11:920-924.
- Kearns, C.A., Inouye D.W. and Waser, N.M. 1998. Endangered Mutualism: the conservation of plant-pollinator interaction. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 29:83-122.
- Kevan., P.G. and Viana, B.F. 2003. The global decline of pollination services. *Biodiversity*, 4:3-8.
- Lewis, E.E. 2000. Biology, selection, handling and application of entomopathogenic nematodes. In Gothro, P (ed) *Proceedings of beneficial nematode workshop. Application in greenhouse, nursery, and small-fruit operations.* Oregon State University; USA; 6-11.
- Li, J.L., Cornman, R.S., Evans, J.D., Pettis, J.S., Zhao, Y., Murphy, C., Peng, W.J., Wu, J., Hamilton, M., Boncristiani, H.F. 2014. Systemic spread and propagation of a plant-pathogenic virus in European honeybees, *Apis mellifera*. *mBio*. 5:e00898-13. doi: 10.1128/mBio.00898-13.
- Lipa, J.J. and Triggiani, O. 1992. A newly recorded neogregarine (Protozoa, Apicomplexa), parasite in honey bees (*Apis mellifera*) and bumble bees (*Bombus* spp). *Apidologie* (1992) 23:533-536.
- Lipa, J.J. and Hokkanen, H.M.T. 1992. Safety of *Nosema meligethi* I. and R. (Microsporida) to *Apis mellifera* L. and *Coccinella septempunctata* L.J. *Invertebrate Pathol.* 60:310-311.
- Malone, L.A., Pham-Dele`gue, M.H. 2001. Effects of transgene products on honey bees (*Apis mellifera*) and bumblebees (*Bombus* sp). *Apidologie* 32, 1-18.
- Medina, A., González, G., Sáez, J.M., Mateo, R. and Jiménez, M. 2004. Bee pollen, a substrate that stimulates ochratoxin a production by *Aspergillus ochraceus* Wilh. *Syst. Appl. Microbiol.* 27, 261-267.
- McCoy, C.W. 1990. Entomogenous fungi as microbial pesticides. In Baker R.R. and Dunn P.E. (eds.), *New Direction in Biological Control.* A.R. Liss, New York, 139-159.
- Morse, R.A, Flotum, K. 1997. Honeybee pests, predators, and diseases. *A I Root Co.*; Medina, OH, USA; 113-116.
- Nielsen-LeRoux, C., Gaudriault, S., Ramarao, N., Lereclus, D., Givaudan, A., (2012). How the insect pathogen bacteria *Bacillus thuringiensis* and *Xenorhabdus/Photorhabdus* occupy their hosts. *Current Opinion in Microbiology* 15(3):220–231 DOI 10.1016/j.mib.2012.04.006.
- Poinar, G.O.Jr. 1990. Taxonomy and biology of *Steinernematidae* and *Heterorhabditidae*. In Gaugler, R; Kaya, H K (eds) *Entomophatogenic nematodes in biological control.* CRC Press; Baca Raton; 23-61.
- Porcar, M., Go´mez, F., Gruppe, A., Go´mez-Pajuelo, A., Segura, I., Schro¨der, R.2008. Hymenopteran specificity of *Bacillus thuringiensis* strain PS86Q3. *Biological Control* 45:427-432.
- Prabhu, S., Mahalingam, C.A. and Krishnamoorthy, S.V. 2017. Safety Studies of DpNPV (*Diaphania pulverulentalis* Nuclearpolyhedrosis Virus) Suspension and its Formulation on Non-Target Organisms in Mulberry Ecosystem. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 6(6):1903-1913.

Ramirez-Romero, R., Desneux, N., Decourtye, A., Chaffiol, A., Pham-Dele`gue, M.H.2008. Does Cry1Ab protein affect learning performances of the honey bee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae)?. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 70:327-333.

Rinderer, T.E., Rothenbuhler, W.C. and Gochnauer, T.A. 1974. The influence of pollen on the susceptibility of honey-bee larvae to *Bacillus* larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 23, 347-350.

Rosas-García, N.M., Acuña-Jiménez, M., López-Meyer, M., Sainz-Hernández, C.J., Mundo-Ocampo, M. and García-Gutiérrez, C. 2015. Pathogenicity of microencapsulated insecticide from *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against Tobacco Budworm, *Heliothis virescens* (Fabricius). *Society of Southwestern Entomologists, Southwestern Entomologist*, 40(3):531-538.

Samson, R.A., Evans, H.C. and Latge, J.P. 1988. *Atlas of entomopathogenic fungi*. Springer-Verlag, New York.

Shannag, H.K., Webb, S.E. and Capinera, J.L. 1994. Entomopathogenic nematode effect on pickleworm (Lepidoptera: Pyralidae) under laboratory and field conditions. *Journal of Economic Entomology* 87:1205-1212.

Sims, S.R. 1995. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (CryIA(c)) protein expressed in transgenic cotton: effects on beneficial and other nontarget insects. *Southwestern Entomologist* 20, 493-500.

St Leger, R.J., Screen, S.E., Shams-Pirzadeh, B. 2000. Lack of host specialization in *Aspergillus flavus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 320-324.

Winston, M.L. 1987. *The Biology of the Honeybee*. Harvard University Press, Cambridge, MA.

Yaman, M. 2012. *Böcek Patolojisi Atlası*, Trabzon.

Yaman, M., Radek, R., Linde, A. 2012. A new neogregarine pathogen of *Rhizophagus grandis*. *North-West Journal of Zoology*, 8: 353-357.

Yaman, M., Acar, K. F., Radek, R. 2015. A Nucleopolyhedrovirus from the Mediterranean flour moth, *Ephesia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Applied Entomology and Zoology*. 50:355–359.

Yaman, M., Eroğlu, M., Radek, R. 2016. Occurrence of a microsporidium in the predatory beetle *Calosoma sycophanta*

L. (Coleoptera: Carabidae). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 40: 420-424.

Żóltowska, K., Lipiński Z. And Łopieńska E. 2003. Beneficial nematodes: a potential threat to honey bees?. *Bee World* 84: 125-129.