

Kabuk ve ambrosya böceklerine karşı alternatif mücadele olarak entomopatojen fungusların kullanımı

Rahman KUSHİYEYEV (Orcid: 0000-0001-7952-8489)*, Celal TUNCER (Orcid: 0000-0002-9014-8003)¹, İsmail ERPER (Orcid: 0000-0001-7952-8489)¹

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, SAMSUN

* Sorumlu yazar/Corresponding author: rahmankushiyev@gmail.com, Geliş tarihi/Received: 25.04.2018, Kabul tarihi/Accepted: 08.06.2018

Öz

Kabuk ve ambrosya böcekleri (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae ve Platypodinae) dünyanın birçok ülkesinde orman ve meyve ağaçlarını ciddi şekilde tehdit eden önemli zararlılardır. Bu böceklerin hayatlarının uzun bir dönemini ağaçların içerisinde geçirmeleri, sadece ergin dönemde ağaçları terk etmeleri, birden fazla türün aynı bitki türü üzerinde zararlı olabilmesi ve bu türlerin ergin çıkış dönemlerinin uzun bir zaman dilimine yayılıyor olması gibi nedenlerle kimyasal mücadeleleri oldukça zor olmaktadır. Bu nedenle, söz konusu mücadele birden fazla kimyasal uygulama yapılmasını gerektirmektedir. Diğer yandan kimyasal mücadelenin bilinen olumsuzlukları nedeniyle bu zararlılarla mücadelede alternatif yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu açıdan entomopatojen funguslar kabuk ve ambrosya böcekleri gibi ağaç dokuları içinde yaşayan zararlıların mücadelesinde oldukça uygun biyolojik mücadele etmenleridir. Entomopatojen funguslar sadece ergin ölümlerine neden olmakla kalmamakta, aynı zamanda bu böceklerin galerileri içerisinde horizontal ve vertikal yolla taşınarak böcek popülasyonunu önemli derecede düşürmektedir. Ayrıca, entomopatojen funguslar kabuk ve ambrosya böcekleri üzerinde repellent (kaçırıcı) etkilere de sahiptir. Diğer yandan bu fungusların kitle üretimleri ve preparat haline getirilmeleri diğer birçok biyolojik etmene göre daha kolaydır. Halen bazı zararlı böceklerin biyolojik mücadelesi için ruhsat almış entomopatojen fungus preparatları piyasada mevcuttur. Ayrıca doğal koşullar altında yapılan çalışmalarda kabuk ve ambrosya böcekleri üzerinde etkili olan entomopatojen funguslara sıkça rastlanmaktadır. Sonuç olarak, bu çalışmada entomopatojen fungusların kabuk ve ambrosya böcekleriyle biyolojik mücadelede alternatif olarak kullanılabilme potansiyelleri değerlendirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Biyolojik mücadele, entomopatojen funguslar, Scolytinae

The use of entomopathogenic fungi as alternative control against bark and ambrosia beetles

Abstract

Bark and ambrosia beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae and Platypodinae) are serious pest group to forest and fruit trees in many countries across the world. Because they spend the most of their life inside the trees and only adults leave the trees for certain time of periods, the trees are infested by more than one species very often and adult emergence prevails a long time, chemical control of the beetles is very difficult and more than one application is needed. On the other hand, because of well-known negatives in chemical control, alternative pest control approaches are needed. From this perspective, entomopathogenic fungi may be highly suitable biological control agents for pests living inside of trees, such as bark and ambrosia beetles. The entomopathogenic fungi not only cause mortality of the beetles but also they may decrease the beetle population significantly through horizontal and vertical transportation in the galleries. Besides entomopathogenic fungi have repellent effects on bark and ambrosia beetles. On the other hand, mass production and preparation of entomopathogenic fungi is easier than some other biological agents. Currently, there are many commercial preparations registered for many insect pests in the market. Furthermore, entomopathogen fungi on bark and ambrosia beetles are observed very often in natural field conditions. In this review, the potential value of entomopathogenic fungi in the biological control of bark and ambrosia beetles has been discussed.

Keywords: Biological control, entomopathogenic fungi, Scolytinae

To cite this article (Atıf): KUSHİYEYEV, R., TUNCER, C., ERPER, İ. (2018). Kabuk ve ambrosya böceklerine karşı alternatif mücadele olarak entomopatojen fungusların kullanımı, Ormanlık Araştırma Dergisi, 5 (2), 176-184.
DOI: <https://doi.org/10.17568/ogmoad.418537>

1. Giriş

Curculionidae familyasında bulunan Scolytinae ve Platypodinae alt familyaları dünya üzerinde tanımlı 7.500'den fazla tür sayısı ile Coleoptera ta-

kımının en büyük gruplarından (Farrell ve ark., 2001). Scolytinae ve Platypodinae alt familyaları kabukta üreyen kabuk böcekleri (bark beetles) ve odunda üreyen ambrosya böcekleri (ambrosia beetles) olmak üzere iki ekolojik grubu içine almakta-

dır (Harrington, 2005). Scolytinae ve Platypodinae alt familyalarına bağlı türlerin yaklaşık 3.700'ünü kabuk böcekleri, 3.400'ünü ise ambrosya böcekleri oluşturmaktadır (Farrell ve ark., 2001; Harrington, 2005). Kabuk böcekleri phloeophagous özelliktedir, yani onlar doğrudan ölü bitki dokularını ve çoğu zaman da besince zengin floem ile kabuk içinde beslenmektedir (Harrington, 2005).

Kabuk böceklerinin floem dokusunda yaşamasının aksine, ambrosya böcekleri ağaçların ksilem (odun) dokusunda yaşamakta ve "ambrosya fungusları" olarak adlandırılan bazı funguslarla simbiyotik ilişki oluşturmaktadır (Harrington, 2005). Ambrosya böceklerinin dişileri ağaçların odun dokusunda simbiyotik fungusların gelişebilmesi için uygun galeriler açmakta ve "mycangia" olarak bilinen özel fungus keselerinde taşıdıkları bu fungusları açtıkları galerilere aşılamaktadır (Batra, 1967). Böcek tarafından aşılana ambrosya fungusları birkaç gün içerisinde gelişme göstermekte ve fungusların gelişim göstermeye başladıkları andan itibaren dişi böcekler yumurtalarını galeri içerisine bırakmaya başlamaktadır (Beaver, 1989). Genellikle çıkan larvalar ve erginlerin her ikisi de sadece galerilerde gelişen bu funguslar üzerinde beslenmektedir (Biedermann, 2007). Simbiyotik funguslar, ambrosya böceklerinin beslenebilmesi için ksilem ve diğer çevre dokulardan besin oluşturmakta, aminoasitler, vitaminler ve steroidler gibi önemli organik moleküller sağlamaktadır (Beaver, 1989). Ambrosya böcekleri ve onların fungus simbiyotları zorunlu bir ilişki geliştirmiştir ve her ikisi de birbiri olmadan hayatta kalamamaktadır (Beaver, 1989).

Kabuk ve ambrosya böcekleri dünyanın birçok bölgesinde bulunmakta olup orman ve meyve ağaçlarında önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Hulcr ve Dunn, 2011). Bu böceklerin binlercesi bir ağaçta bulunabilmekte ve zamanla çevredeki diğer ağaçlara da yayılarak büyük zararlar oluşturmaktadır. Bununla birlikte, bazı türlerin sıklıkla *Fusarium*, *Ophiostoma*, *Ceratocystiopsis* ve *Ceratocystis* gibi oldukça önemli bitki patojeni fungusların vektörlüğünü yaptığı belirtilmiştir (Harrington, 2005; Castrillo ve ark., 2011). Ayrıca, ambrosya böceklerinin kendi zararlarının yanında simbiyotik ilişkili olduğu ambrosya funguslarının da (*Ambrosiella* spp., *Raffaelea* spp., *Fusarium* spp. vb.) ağaçların besin ve su akışını bozarak büyümesini etkilediği ve hatta bazı fungus türlerinin ağaçların kurumasında önemli rol oynadığı bilinmektedir (Castrillo ve ark., 2011).

Ülkemiz ormanlarında birçok zararlı böcek türü yaşamakta ve değişik oranlarda zarar yapmaktadır. Bu böceklerin en önemlilerinden biri de kabuk bö-

cekleridir (Eroğlu, 1995). Öncelikle zayıf ve yaralanmış ağaçlara gelerek çoğalan bu böcekler, diğer sağlıklı ağaçlara da bulaşmakta, kabuktan başlayarak ağacın kabukla odun arasındaki su ve besin iletim demetlerine zarar vermekte ve böceğin türüne göre değişen zaman süreçlerinde ağaçlarda kurumalara neden olmaktadır. Özellikle de, *Dendroctonus micans* (Kugelann) (Dev soymuk böceği), *Ips typographus* (L.) (Sekiz dişli ladin kabuk böceği) ve *I. sexdentatus* (Boerner) (On iki dişli çam kabuk böceği) ekonomik açıdan en önemli kabuk böcekleridir. Bugün itibarıyla ormanlara zarar veren en önemli zararlı ise *D. micans*'dir. Bununla birlikte, *Dendroctonus* ve *Ips* türleri Kuzey yarı kürede büyük popülasyonlar oluşturarak birkaç yıl içerisinde milyonlarca ağacın kurummasına neden olmuştur (Christiansen ve Bakke, 1998; Fayt ve ark., 2005).

Ambrosya böcekleri de kabuk böcekleri gibi orman ve meyve ağaçlarının önemli zararlılarından ve odun dokusunda yaptıkları zarar sonucu ağaçların ölümüne neden olmaktadır (Oliver ve Mannion, 2001). Bu böcekler hızlı bir şekilde yeni bölgelere yayılmakta ve orman ve meyve bahçelerinde büyük sorunlara neden olmaktadır (Hulcr ve Dunn, 2011). Örneğin; *Xylosandrus germanus* (Blandford) Doğu Asya kökenli bir tür olup ABD'de ekonomik açıdan en önemli ambrosya böcekleri arasında görülmektedir (Oliver ve Mannion, 2001; Ranger ve ark., 2010). Ayrıca, bu türün son yıllarda Türkiye'deki fındık bahçelerinde de bulunduğu ve diğer ambrosya böcekleri *Anisandrus dispar* (Fabricius) ve *Xyloborinus saxesenii* (Ratzeburg) ile birlikte önemli derecede ekonomik kayıplara neden olduğu belirtilmiştir (Tuncer ve ark., 2017a). Buna ek olarak, fındık bahçelerinden toplanan *X. germanus*'un *Ambrosiella hartigii* (Batra) ile simbiyotik ilişkili olduğu ve birçok önemli bitki patojeni fungusun (*Pestalotiopsis* spp., *Fusarium oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. solani*, *Alternaria* sp. vb.) taşınmasında rol oynadığı tespit edilmiştir (Kushiyev, 2015).

Kabuk ve ambrosya böcekleri hayatlarının büyük bir kısmını ağaçların kabuk veya odun dokusu içinde geçirdiğinden dolayı, bunlarla mücadele oldukça zordur (Saruhan ve Akyol, 2012). Bu zararlılara karşı kültürel (bulaşık dal ve ağaçların kesilerek bahçeden uzaklaştırılması) ve kimyasal mücadele yöntemlerinin yanında, bazı farklı tipteki tuzakların (kırmızı kanatlı yapışkan tuzaklar vb.) kullanılmasına rağmen, bunların yayılmaları ve zararları tam olarak kontrol edilememektedir (Peña ve ark., 2011). Kimyasal mücadelenin etkili olabilmesi için uygulamanın böceğin ergin çıkış zamanı ile örtüşmesi, birden fazla uygulamanın yapılması veya etkinliğini uzun süre devam ettiren ilaçların

kullanılması gerekmektedir (Oliver ve Mannion, 2001). Yoğun olarak uygulanan kimyasal ilaçların insanlar ve evcil hayvanlar için risk oluşturması, yer altı sularına karışması, uygulanan zararlılarda direnç oluşturması ve canlının doğal düşmanlarını da öldürmesi gibi ekosistem üzerindeki olumsuz etkileri nedeni ile fazla tercih edilmemektedir. Bu nedenle, son yıllarda hedef zararlının dışındaki canlılara zarar vermeyen biyolojik mücadele çalışmalarına ağırlık verilmeye başlanmıştır. Özellikle de fungus, bakteri, virüs gibi mikrobiyal biyolojik mücadele etmenleri, zararlı böceklerle başa çıkabilmek için etkili, çevreye zararsız ve uzun vadede daha ucuz ekonomik yöntemler sunmaktadır. Bu mücadele etmenlerinin başında ise entomopatojen funguslar (EPF) gelmektedir.

Bu çalışmanın amacı; orman ve meyve ağaçlarında önemli derecede zarara sebep olan kabuk ve ambrosya böceklerinin alternatif mücadelesinde entomopatojen fungusların kullanılabilme potansiyellerinin ortaya konmasıdır.

2. Entomopatojen Funguslar (EPF)

Entomopatojen funguslar birçok zararlı böcek popülasyonunun baskı altında tutulmasında önemli rol oynayan biyolojik mücadele etmenleridir (Roy ve ark., 2006). Son yıllarda kimyasal ilaçların insan ve çevreye olan olumsuz etkilerinden dolayı daha da önemli hale gelmiş ve zararlıların mücadelesinde kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Entomopatojen bakteri ve virüslerden farklı olarak, entomopatojen funguslar konukçu böceklerin kutikulasından doğrudan girerek enfekte edebilme özelliğine sahiptir (Sevim ve ak., 2015). Bu özellik entomopatojen fungusları özellikle de bakteri ve virüs gibi biyolojik mücadele etmenleri için uygun olmayan Coleoptera takımındaki bazı böceklerin mücadelesinde öncü aday konumuna getirmektedir (Sevim ve ark., 2015).

Fungi alemi içerisinde bulunan yaklaşık 90 cinsine ait 700'den fazla entomopatojen fungus türü yer almaktadır (Goettel ve ark., 2005). Bunların çoğu Ascomycota bölümü içerisindeki Hypocreales takımında ve Zygomycota bölümü içerisinde bulunmaktadır. Bunların dışında Entomophthorales takımı da önemli entomopatojen fungus türlerini içine almaktadır (Roy ve ark., 2006). Zararlı böceklere karşı yaygın olarak kullanılan türlerin çoğu *Beauveria*, *Lecanicillium*, *Metarhizium*, *Isaria* ve *Hirsutella* cinslerine aittir. Entomopatojen fungus türleri arasında *B. bassiana* ve *M. anisopliae* en çok bilinen türlerden olup, önemli bir yere sahiptir (Zimmermann, 2007a; Zimmermann, 2007b).

Entomopatojen funguslar konukçu böceklerde hastalık oluşturabilmek için bazı abiyotik ve biyotik koşullara ihtiyaç duymaktadır. Bu koşulların bazıları veya tümünün bir arada bulunması durumunda funguslar konukçu böceklerde hastalık oluşumuna neden olabilmektedir. Bu entomopatojen fungusların hastalık oluşturmasında sıcaklık, nem ve ışık gibi abiyotik faktörler çok önemli rol oynamaktadır (Goettel ve ark., 2005). Bunun yanında fungusun virülensliği, spor yoğunluğu, konukçu böceğin biyolojik dönemi, böceğin fizyolojik durumu, böceğin popülasyon yoğunluğu gibi biyotik faktörlerde enfeksiyon için oldukça önemlidir.

Entomopatojen funguslar tarafından böceklerin enfeksiyonunda ilk adım, fungus sporları (konidileri) ile konukçu böcek arasındaki temastır. Uygun koşullar altında, böcek kutikulası üzerine tutunan spor çimlenerek çim tüpünü oluşturmakta ve bunu takiben apresoryum oluşumu meydana gelmektedir. Daha sonra ince bir penetrasyon hifi gelişmekte, bu yapı ya epikutikula ve prokutikulanın her ikisine veya sadece epikutikulaya penetre olmakta ve yayılmaya devam etmektedir. Daha sonra entomopatojen funguslar büyüme göstererek epidermise ve hipodermise penetre olmaktadır. Ancak bu aşamada, böcekte bulunan bazı savunma mekanizmaları harekete geçerek patojeni etkisiz hale getirebilmektedir. Eğer fungus konukçu böceğin savunma mekanizmasından geçebilirse konukçusunun vücut boşluğuna ulaşarak istila etmekte ve sonuç olarak toksin üretimi veya fungal yapıların çoğalması gibi nedenlerle böceğin ölümüne neden olmaktadır. Konukçu böceğin ölümü sırasında veya öldükten sonra vücudun her tarafında gelişen hifler kutikuladan geçip, kadavra (ölü böcek)'nin dış yüzeyinde fungal bir kitle oluşturmaktadır (Goettel ve ark., 2005). Burada oluşan eşeysiz çoğalma yapıları olan konidiler etrafa dağılarak yeniden enfeksiyon başlatabilmekte ve bu şekilde döngü tekrar etmektedir.

Bu grup funguslar, farklı metabolitler üreterek zararlı böcekleri farklı şekillerde etkilemekte ve öldürmektedir. Kimyasal olarak farklı toksik metabolitlerin varlığı *Beauveria*, *Metarhizium*, *Isaria* ve *Lecanicillium* gibi entomopatojen fungus cinslerinde bulunan türlerde belirlenmiştir. Şimdiye kadar *B. bassiana*'dan beauverisin, bassianin, bassianolide ve beauverolidler; *M. anisopliae*'den destruksinler, sitokalsin C ve swainsonie; *Isaria* spp.'den beauvricin ve beauverolidler; *Lecanicillium* spp.'den siklosporin gibi toksik metabolitler tespit edilmiştir (Zimmermann, 2007a; Zimmermann, 2007b).

3. Kabuk ve Ambrosya Böcekleri ile Mücadelede Entomopatojen Fungusların Kullanımı

Entomopatojen fungusların etkili olabilmeleri için konukçuları ile doğrudan temas halinde olmasına gerek yoktur. Bunların uygulandığı yüzeylere böceğin sonradan temas etmesiyle de, entomopatojen funguslar konukçularına penetre olup hastalık oluşumuna neden olabilmektedir (Castrillo ve ark., 2013). Özellikle bu böceklerin hayatlarının çoğunu ağaçların kabuk veya odun dokusu içerisinde geçirmesi ve mücadelesinin oldukça zor olması nedeniyle, bu etmenlerin önemi daha açık bir şekilde ortaya çıkmaktadır. Ancak, şu ana kadar kabuk ve ambrosya böceklerinin mücadelesinde entomopatojen fungusların kullanımı yeterli derecede araştırılmamıştır (Fang ve ark., 2005). Buna rağmen, birçok entomopatojen fungusun kabuk ve ambrosya türleri ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Popa ve ark., 2011). Bunlar arasında *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *I. farinosa*, *I. fumosorosea* ve *Lecanicillium* spp. gösterilebilir.

3.1. Kabuk ve ambrosya böceklerinden izole edilen entomopatojen funguslar

Entomopatojen funguslardan *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii* (Sacc.) Petch, *M. anisopliae*, *Isaria* spp. ve *Lecanicillium* spp. birçok önemli kabuk ve ambrosya böcek türünden izole edilmiştir (Landa ve ark., 2001; Draganova ve ark., 2006; Sevim ve ark., 2010a; Sevim ve ark., 2010b; Esmer, 2011; Kushiyeve, 2015). Bunlardan *B. bassiana*, *B. brongniartii* ve *I. farinosa* ormanların ana zararlıları olan kabuk böcekleri *I. sexdentatus* ve *I. typographus*'tan yoğun olarak izole edilmiştir (Landa ve ark., 2001; Draganova ve ark., 2006). Ülkemizde yapılan bir çalışmada, Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki fındık bahçelerinden alınan toplam 301 toprak örneğinden, *M. anisopliae* var. *anisopliae*, *Metarhizium* sp., *B. bassiana*, *I. fumosorosea* ve *Evlachovaea* sp.'ni içeren 62 adet entomopatojen fungal izolat elde edilmiş ve entomopatojen fungusların fındık bahçelerinde yaygın olarak bulunabileceği, orman ve fındık zararlılarına karşı kullanılabilmesi ileri sürülmüştür (Sevim ve ark., 2010a). Benzer olarak, Karadeniz Bölgesi'ndeki ormanların en önemli kabuk böceklerinden biri olarak bilinen *D. micans*'ın larva ve ergin bireylerinden *L. muscarium*, *I. farinosa*, *Fusarium* sp., *B. bassiana* ve *Beauveria* sp.'ne ait 12 izolat elde edilmiştir (Esmer, 2011). Yapılan başka bir çalışmada, fındık bahçelerinin ana zararlılarından biri olan ambrosya böcekleri *A. dispar* ve *X. germanus*'un sırasıyla % 3,5 ve % 5,0 oranında entomopatojen funguslar tarafından enfekte edildiği saptanmıştır. Ayrıca, bu iki ambrosya böceğinin hastalıklı dişi erginlerinden yapılan

izolasyonlar sonucunda *M. anisopliae*, *B. bassiana*, *L. muscarium* ve *Isaria* spp.'ne ait toplam 24 izolat elde edilmiştir (Kushiyeve, 2015). Bu çalışma sonucunda fındık bahçelerinde entomopatojen fungusların doğal olarak bulunabileceği ve fındık zararlılarının mücadelesinde kullanılabilmesi belirtilmiştir.

3.2. Entomopatojen fungusların kabuk ve ambrosya böceklerine karşı etkinliği

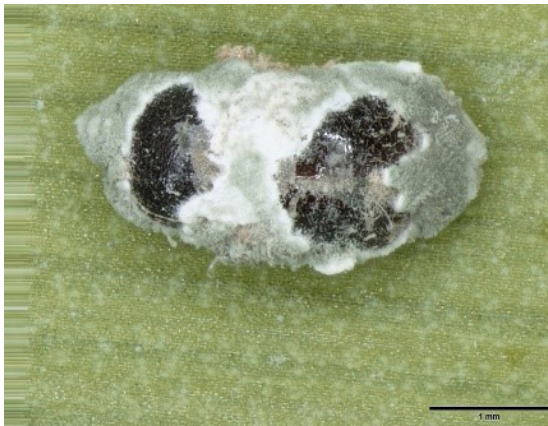
Entomopatojen funguslardan bazıları farklı kabuk ve ambrosya böceklerine karşı biyolojik etkinlik çalışmalarında kullanılmıştır. Bunlar arasında *M. anisopliae* ve *B. bassiana*'nın *I. typographus*'un da içinde bulunduğu pek çok kabuk böceğini enfekte edebildiği ve bunların mücadelesinde iyi bir potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir (Kreutz ve ark., 2004; Draganova ve ark., 2006; Batta, 2007). Benzer olarak Steinwender ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada *B. bassiana*'nın *I. sexdentatus* popülasyonu üzerinde oldukça yüksek (% 100'e yakın) öldürücü etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Ülkemizde yapılan başka bir çalışmada Sevim ve ark. (2010b), Doğu Karadeniz Bölgesi'nden izole edilen entomopatojen fungusların *D. micans*'a karşı iyi bir biyolojik mücadele etmeni olabileceğini göstermiştir. Benzer olarak Kocaçevik ve ark. (2015), *B. pseudobassiana* ARSEF 9271 izolatının kabuk böceği *D. micans*'ın ergin ve larvalarına karşı 1×10^8 konidi mL^{-1} konsantrasyonda uygulanmasında sırasıyla 5. ve 6. gün sonunda % 100 ölüm meydana getirdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca, bu izolatın aynı konsantrasyonda uygulanması sonucu *I. sexdentatus* ve *I. typographus* erginlerinde sırasıyla 5. ve 7. gün sonunda % 100 ölüm görülmüştür (Kocaçevik ve ark., 2016). Yapılan başka bir çalışmada, bazı ambrosya böceklerinden elde edilen *M. anisopliae* TR-106 ve *B. bassiana* TR-217 izolatları 1×10^8 konidi mL^{-1} konsantrasyonda fındıkta zararlı *X. germanus*'un dişi erginlerine (Şekil 1) uygulandığında LT_{50} değeri sırasıyla 4,43 ve 6,03 gün olurken, fındıkta zararlı diğer bir ambrosya böcek türü *A. dispar*'ın dişi erginlerinde ise bu değer sırasıyla 3,67 ve 4,47 gün olarak belirlenmiştir. Ayrıca, uygulamadan sonraki 8. günde *M. anisopliae* TR-106 izolatı her iki türde % 100, *B. bassiana* TR-217 izolatı ise % 80-100 arasında ölüm meydana getirmiştir (Tuncer ve ark., 2016; Kushiyeve ve ark., 2017a). Buna ek olarak deneme sonunda, *M. anisopliae* TR-106 izolatı uygulanmış ölü ambrosya böcekleri üzerinde mavi-yeşil renkte fungal gelişme (Şekil 2), *B. bassiana* TR-217 izolatı uygulanmış ölü bireylerde ise beyazımsı fungal gelişme (Şekil 3) gözlenmiştir. Benzer olarak, fındıkta zararlı olan Amerikan beyaz kelebeğinden (*Hyphantria cunea* D.) izole edilen *I. fumosorosea* TR-78-3 izolatının

aynı zararlılara aynı konsantrasyonda uygulanması sonucu LT_{50} değeri *X. germanus*'ta 4,18 gün ve *A. dispar*'da ise 4,78 gün olarak bulunmuştur (Tuncer ve ark., 2017b). Ayrıca, bu izolat uygulamadan 8 gün sonra her iki böcek üzerinde % 100 ölüm meydana getirmiştir.

Entomopatojen funguslardan üretilen bazı ticari preparatlar da farklı kabuk ve ambrosya böceklerine karşı test edilmiştir (Matha ve Weiser 1985; Castrillo ve ark., 2011; Castrillo ve ark., 2013). Yapılan çalışmalarda, ambrosya böcekleri *X. germanus* ve *Xylosandrus crassiusculus*'un (Motschulsky) ergin bireylerine karşı uygulanan *B. bassiana*'ya ait "Naturalis" ve *M. anisopliae*'ya ait "F2" ticari preparatları önemli derece de etkili bulunmuştur (Castrillo ve ark., 2011; Castrillo ve ark., 2013).



Şekil 1. *Xylosandrus germanus*'un ergin dişi (Tuncer ve ark., 2016; Kushiyeve ve ark., 2017a).
Figure 1. Female adult of *Xylosandrus germanus*.



Şekil 2. *Metarhizium anisopliae* TR-106 ile enfekteli *Xylosandrus germanus*'un ergin dişi (Tuncer ve ark., 2016; Kushiyeve ve ark., 2017a).
Figure 2. Female adult of *Xylosandrus germanus* infected with *Metarhizium anisopliae* TR-106.



Şekil 3. *Beauveria bassiana* TR-217 ile enfekteli *Xylosandrus germanus*'un ergin dişi (Tuncer ve ark., 2016; Kushiyeve ve ark., 2017a).
Figure 3. Female adult of *Xylosandrus germanus* infected with *Beauveria bassiana* TR-217.

3.3. Entomopatojen fungusların kabuk ve ambrosya böcekleri tarafından taşınması

Entomopatojen fungusların kabuk ve ambrosya böceklerine uygulanması sonucunda sadece ergin böcek ölümüne neden olmadığı, aynı zamanda horizontal (fungal inokulumun enfekteli bireyler tarafından sağlıklı bireylere taşınması) veya vertikal (inokulumun böceğin biyolojik dönemleri arasında taşınması) yolla taşınarak galerilerinde bulunan böceklerin diğer bireylerini ve biyolojik dönemlerini de etkileyebildiği belirlenmiştir (Prazak, 1991; Prazak, 1997; Kreutz ve ark., 2004; Castrillo ve ark., 2011; Castrillo ve ark., 2013; Kocaçevik ve ark., 2015; Kocaçevik ve ark., 2016). Laboratuvar ve arazi çalışmalarında *B. bassiana* ile muamele edilmiş ambrosya böceği *Trypodendron lineatum* Olivier'un erkek bireylerinin fungusları çiftleşme yoluyla dişi erginlerine bulaştırdığı ve bu nedenle dişiler tarafından bırakılan yumurta sayısının kontrol ile kıyaslandığında % 20 oranında azaldığı tespit edilmiştir (Prazak, 1991; Prazak, 1997). Bunun yanında, "Naturalis" ve "F2" ticari preparatları uygulanan *X. germanus* ve *X. crassiusculus*'un erginlerinin kontrole göre daha az galeri oluşturduğu ve uygulama görmüş bireylerin bu fungusları galerilerinde bulunan diğer bireylere ve diğer biyolojik dönemlere aktarabildiği tespit edilmiştir. Ayrıca, fungus uygulanmış dişi erginler tarafından bırakılan yumurtaların ve aynı zamanda yumurtadan çıkan larvaların % 100'e kadar enfekteli olduğu bulunmuştur (Castrillo ve ark., 2011; Castrillo ve ark., 2013). Entomopatojen fungusların özellikle de *B. bassiana*'nın hem laboratuvar hem de arazi çalışmalarında *I. sexdentatus* ve *I. typographus* gibi kabuk böcekleri arasında horizontal olarak iyi bir şekilde yayıldığı ve oldukça yüksek ölüme ne-

den olduğunu görülmüştür (Kreutz ve ark., 2004; Kocaçevik ve ark., 2015; Kocaçevik ve ark., 2016).

3.4. Entomopatojen fungusların kabuk ve ambrosya böceklerine karşı repellent etkileri

Entomopatojen funguslar ile yapılan çalışmaların çoğu zararlı böceklerle karşı biyolojik etkinlik denemeleri üzerinde olup böcek davranışına etkileri çoğunlukla göz ardı edilmiştir. Bu fungusların böcek davranışı üzerinde yaptığı etkilerden biri repellent etkidir. Bu konuda yapılmış fazla bir araştırmanın olmadığı görülmektedir. Yapılan bir çalışmada *M. anisopliae*'nin bazı Coleoptera türlerine karşı önemli derecede repellent etkisinin olduğu belirlenmiştir (Villani ve ark., 1994). Diğer taraftan, ambrosya böceği *X. germanus* erginlerinin *M. anisopliae* uygulanmış dallara daha az saldırdığı ve daha az galeri oluşturduğu gözlemlenmiştir (Castrillo ve ark., 2013). Benzer olarak Kushiyeve ve ark. (2017b) tarafından yapılan çalışmada, *X. germanus*'un dişilerine karşı fındık dallarına uygulanan *M. anisopliae*'nin repellent etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak entomopatojen fungusların bu grup böceklerle karşı repellent etkileri daha detaylı çalışmalarla ortaya konmalıdır.



Şekil 4. Sağlıklı *Anisandrus dispar*'ın galerisinde gelişen simbiyotik fungus *Ambrosiella hartigii* (Kushiyeve ve ark., 2017a).

Figure 4. The symbiotic fungus *Ambrosiella hartigii* developing in the gallery of healthy *Anisandrus dispar*.

3.5. Entomopatojen fungusların simbiyotik funguslara karşı etkileri

Çok yıllık bitkilerde zararlı olan ambrosya böcekleri ile simbiyotik ilişkide olan bazı ambrosya fungusları, odun dokusu içinde gelişmekte ve burada bulunan larva ve erginlerin besin kaynağını oluşturmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda ambrosya böcekleri ile simbiyotik ilişkili ambrosya funguslarının gelişmesini engelleyen entomopato-



Şekil 5. *Anisandrus dispar*'ın galerisinde gelişen *Metarhizium anisopliae* (Kushiyeve ve ark., 2017a).

Figure 5. *Metarhizium anisopliae* developing in the gallery of *Anisandrus dispar*.

jen fungusların olduğu tespit edilmiştir (Castrillo ve ark., 2011; Castrillo ve ark., 2013). Özellikle de, *B. bassiana* ve *M. anisopliae* uygulanan *X. crassiusculus* ve *X. germanus*'un erginleri tarafından galerilerine taşınabildiği ve galerilerinde gelişen simbiyotik fungusların gelişmesini engelleyebildiği gözlemlenmiştir (Castrillo ve ark., 2011; Castrillo ve ark., 2013). Bunun sonucunda simbiyotik fungusların gelişmediği galerilerdeki yumurta ve larvaların kontrol galeriler ile kıyaslandığında daha az olduğu tespit edilmiştir. Benzer olarak yapılan diğer bir çalışmada, *A. dispar*'ın kontrol galerilerinde simbiyotik fungus *A. hartigii* gelişmesine rağmen (Şekil 4), *M. anisopliae* ve *B. bassiana* uygulanmış bireylerin galerilerinde ise bu simbiyotik fungusun yerine uygulanan entomopatojen fungusların geliştiği gözlemlenmiştir (Şekil 5) (Kushiyeve ve ark., 2017a).

4. Entomopatojenik Fungusların Mikrobiyal Mücadelede Kullanımı

Entomopatojen funguslar diğer biyolojik mücadele etmenleri gibi, klasik (yeni bir türün ithal edilip salınması) salım, inoculative (periyodik ve mevsimsel olarak destekleyici) salım ve inundative (kısa süre içinde yüksek yoğunlukta) salım gibi değişik biyolojik mücadele stratejileri halinde kullanılmaktadır (Eilenberg ve ark., 2001). Özellikle de orman zararlılarına karşı yaygın olarak klasik ve "inundative" salım biyolojik mücadele stratejileri tercih edilmektedir. Klasik biyolojik mücadele stratejisi uzun vadeli bir kontrol sağlamak amacıyla, entomopatojen fungusların farklı bir ülke veya bölgeden alınıp getirilerek doğal olarak bulunmadığı bir yere bulaştırılmasıdır (Eilenberg ve ark., 2001; Sevim ve ark., 2015). Bu strateji genellikle uzun süre sürdürülebilir ve ekonomik bir müca-

dele sağlamaktadır (Eilenberg ve ark., 2001; Shah ve Pell, 2003). Fakat salımı yapılan entomopatojen fungal etmenin bulunduğu bölgenin iklim ve diğer şartlarına uyum sağlaması gerekmektedir. Bu nedenle, bu etmenlerin biyolojisinin iyi bilinmesi ve bölgedeki durumunun sürekli olarak takip edilmesi oldukça önemlidir. "Inoculative" salım stratejisinde ise biyolojik mücadele etmeninin, istenilen bölgeye salınarak zaman içinde çoğalması ve zararlı böcekleri baskı altına alması amaçlanmaktadır (Eilenberg ve ark., 2001). Üçüncüsü olan "inundative" salım stratejisinde kısa süre içinde ve yüksek etkili bir mücadele hedeflenmekte olup zararlı popülasyonunu düşürmek amacıyla biyolojik mücadele etmeni büyük miktarlarda uygulanmaktadır (Shah ve Pell, 2003). Bu stratejide diğerlerinden farklı olarak sadece canlı etmenler kullanılmaktadır. Entomopatojen funguslardan üretilen biyopreparatların kullanılması ile yapılan mücadele, "inundative" biyolojik mücadele stratejisine örnek olarak gösterilebilir (Goettel ve ark., 2005).

5. Entomopatojen Fungusların Avantaj ve Dezavantajları

Entomopatojen funguslar, yüksek konukçu seçiciliğine sahip olmaları (zararsız ve yararlı böcekleri etkilememesi), sıcakkanlılar üzerinde herhangi bir toksik etkilerinin olmaması veya az olması, böceklerde direnç probleminin olmaması, biyoteknolojik gelişmelere yönelik yüksek bir potansiyele sahip olmaları, uygulama sonrası çevrede uzun süre kalarak uzun süreli mücadele sağlamları, zararlı böceklerin tüm gelişme dönemlerini enfekte etmeleri, genellikle insektisitler ile birlikte sinerjistik hareket etmeleri ve onlarla beraber kullanılabilmeleri ve kitle üretimi problemlerinin üstesinden kolayca gelinmeleri gibi biyolojik mücadelede kullanılmaları açısından birçok önemli avantaja sahiptir (Demirbağ, 2008; Sevim ve ark., 2015). Ancak, entomopatojen fungusların kullanılmalarının bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Bunlar; kimyasal insektisitlerin zararlıları kısa sürede öldürmesine rağmen, entomopatojen fungusların daha uzun bir süre gerektirmesi, uygulanmasında yüksek nem gibi bazı çevre koşullarına ihtiyaç duyması, saklanması için uygun koşulları gerektirmesi, etkinliğinin farklı böceklerde değişiklik göstermesi, fungusların hedef böceği öldürmek için çeşitli toksinleri salgılamaları ve bu toksinlerin diğer canlılar üzerindeki etkilerinin tam olarak bilinmemesi şeklinde ifade edilebilir (Sevim ve ark., 2015). Ancak izolat seçimi, genetik mühendislik, formülasyon ve uygulama teknikleri sayesinde bazı dezavantajlar ortadan kaldırılmaktadır (Goettel ve ark., 2005; Sevim ve ark., 2015).

6. Sonuç

Yapılan çalışmalarda birçok entomopatojen fungus türünün kabuk ve ambrosya böceklerine karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda bu entomopatojen funguslardan elde edilmiş ticari preparatlarının da etkili olduğu yapılan bazı çalışmalarda görülmüştür. Bunun yanında, uygulanan entomopatojen fungusların galerilerine taşınabildiği ve yeni nesillerine de bulaştığı tespit edilmiştir. Ayrıca, ambrosya böceklerine karşı uygulanan bazı entomopatojen fungusların simbiyotik fungusların gelişmesini de engellediği belirlenmiştir. Tüm bu sonuçlar kabuk ve ambrosya böceklerine karşı entomopatojen fungusların başarılı bir alternatif yöntem olabileceğini göstermektedir. Ancak, bu konuyla ilgili detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Kaynaklar

- Batra, L.R., 1967. Ambrosia fungi: a taxonomic revision and nutritional studies of some species. *Mycologia* 59: 976-1017.
- Batta, Y.A., 2007. Biocontrol of almond bark beetle (*Scolytus amygdali* Geurin Meneville, Coleoptera: Scolytidae) using *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Journal of Applied Microbiology* 103 (5):1406-1414.
- Beaver, R.A., 1989. Insect-fungus relationships in the bark and ambrosia beetles. In: Wilding, N., Collins, N. M., Hammond, P.M., Webber, J. F. (eds.), In insect fungus interactions, Academic Press, London, pp. 121-143.
- Biedermann, P.H.W., 2007. Social behavior in sib mating fungus farmers. MS thesis, University of Berne, Berne, Switzerland, pp. 85.
- Castrillo, L.A., Griggs, M.H., Ranger, C.M., Reding, M.E., Vandenberg, J.D., 2011. Virulence of commercial strains of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum* (Ascomycota: Hypocreales) against adult *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae) and impact on brood. *Biological Control* 58: 121-126.
- Castrillo, L.A., Griggs, M.H., Vandenberg, J.D., 2013. Granulate ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Coleoptera: Curculionidae), survival and brood production following exposure to entomopathogenic and mycoparasitic fungi. *Biological Control* 67: 220-226.
- Christiansen, E., Bakke, A., 1988. The spruce bark beetle of Eurasia. In: Berryman, A.A. (Ed.), Dynamics of forest insect populations; Patterns, Causes, Implications, Plenum Press, New York, pp. 479.
- Demirbağ, Z., 2008. Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele. Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon, pp. 325
- Draganova, S., Takov, D., Doychev, D., 2006. Bioassay

- with isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Paecilomyces farinosus* (Holm.) Brown & Smith against *Ips sexdentatus* Boerner and *Ips acuminatus* Gyll. (Coleoptera: Scolytidae). *Plant Science* 44: 24-28.
- Eilenberg, J., Hajek, A., Lomer, C., 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *Bio-control* 46: 387-400.
- Eroğlu, M., 1995. *Dendroctonus micans* (Kug.) (Coleoptera, Scolytidae)'ın popülasyon dinamiğine etki eden faktörler üzerine araştırmalar. I. Ulusal Karadeniz Ormancılık Kongresi, Trabzon, pp. 148-159.
- Esmer, E.T., (2011). *Dendroctonus micans*'tan entomopatogenik fungusların izolasyonu, karakterizasyonu ve mikrobiyal mücadele potansiyelinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 69 s.
- Fang, W., Leng, B., Xiao, Y., Jin, K., Ma, J., Fan, Y., Feng, J., Yang, X., Zhang, Y., Pei, Y. 2005. Cloning of *Beauveria bassiana* chitinase gene *bbchit1* and its application to improve fungal strain virulence. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 363- 370.
- Farrell, B.D., Sequeira, A.S., O'Meara, B.C., Normark, B.B., Chung, J.H., Jordal, B.H., 2001. The evolution of agriculture in beetles (Curculionidae: Scolytinae and Platypodinae). *Evolution* 55: 2011-2027.
- Fayt, P., Machmer, M.M., Steeger, C., 2005. Regulation of spruce bark beetles by woodpeckers-a literature review. *Forest Ecology and Management* 206(1): 14-503.
- Goettel, M.S., Eilenberg, J., Glare, T., 2005. Entomopathogenic fungi and their role in regulation of insect populations. In: Gilbert, L.I., Iatrou, K., Gill, S.S. (eds.), *Comprehensive Molecular Insect Science*, Elsevier, Amsterdam, Netherlands, pp. 361-405.
- Harrington, T.C., 2005. Ecology and evolution of mycophagous bark beetles and their fungal partners. Vega, F.E., Blackwell, M. (eds.), *Ecological and evolutionary advances in insect-fungal associations*, Oxford University Press, New York, pp. 257-291.
- Hulcr, J., Dunn, R.R., 2011. The sudden emergence of pathogenicity in insect fungus symbioses threatens native forest ecosystems. *Proceedings of the Royal Society B.*, 278: 2866-2873.
- Kocaçevik, S., Sevim, A., Eroglu, M., Demirbag, Z., Demir, I., 2015. Molecular characterization, virulence and horizontal transmission of *Beauveria pseudobassiana* from *Dendroctonus micans* (Kug.) (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Applied Entomology* 139: 381-389.
- Kocaçevik, S., Sevim, A., Eroğlu, M., Demirbağ, Z., Demir, I., 2016. Virulence and horizontal transmission of *Beauveria pseudobassiana* S.A. Rehner & Humber in *Ips sexdentatus* and *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 40: 241-248.
- Kreutz, J., Vaupel, O., Zimmermann, G., 2004. Horizontal transmission of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* among the spruce bark beetle, *Ips typographus* (Col., Scolytidae) in the laboratory and under field conditions. *Biocontrol Science and Technology* 14: 837-848.
- Kushiyevev, R., 2015. Fındıkta önemli yazıcı böcek türlerindeki fungusların belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 63 s.
- Kushiyevev, R., Tuncer, C., Erper, I., Saruhan. I., 2017a. Effectiveness of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Anisandrus dispar* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). IX. International congress on Hazelnut, Samsun, Turkey, 15-19 August 2017, pp.152.
- Kushiyevev, R., Erper, I., Saruhan, I., Ozdemir, I.O., Toksöz, Ş., Tuncer, C., 2017b. Repellent effects of some entomopathogenic fungi and commercial bio-insecticides against *Xylosandrus germanus* Blandford (Scolytinae). 6 th. Entomopathogens and microbial control congress, Tokat, Turkey 14-16 September 2017, pp. 122.
- Landa Z., Hornak, P., Osborne, L.S., Novakova, A., Bursova, E., 2001. Entomogeneous fungi associated with spruce bark beetle *Ips typographus* L. (Coleoptera. Scolytidae) in the Bohemian Forest. *Silva Gabreta* 6: 250-272.
- Matha, V., Weiser, J., 1985. Effect of the fungus *Beauveria bassiana* on adult bark beetles *Ips typographus*. Conference biological and Biotechnical Control of Forest pests. Tabor (CSFR).
- Oliver, J.B., Mannion, C.M., 2001. Ambrosia beetle (Coleoptera: Scolytidae) species attacking chestnut and captured in ethanol-baited traps in middle Tennessee. *Environmental Entomology* 30: 909-918.
- Peña, J.E., Crane, J.H., Capinera, J.L., Duncan, R.E., Kendra, P., Ploetz, R., Mclean, S., Brar, G., Thomas, M.C., Cave, R., 2011. Chemical control of the redbay ambrosia beetle, *Xyleborus glabratus*, and other Scolytinae. *Florida Entomology* 94: 882-896.
- Popa, V., Deziel, E., Lavallee, R., Bauce, E., Guertin, C., 2011. The complex symbiotic relationship of bark beetles with microorganisms: a potential practical approach for biological control in Forestry. *Pest Management Science* 68: 963-975.
- Prazak, R.A., 1991. Studies on indirect infection of *Trypodendron lineatum* Oliv. with *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* 111: 431-441.
- Prazak, R.A., 1997. Laboratory evaluation of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hypomyces) against *Trypodendron lineatum* Oliv. (Coleoptera:

- Scolytidae). *Journal of Plant Diseases and Protection* 104: 459-465.
- Ranger, C.M., Reding, M.E., Persad, A.B., Herms, D.A., 2010. Ability of stress related volatiles to attract and induce attacks by *Xylosandrus germanus* and other ambrosia beetles. *Agricultural and Forest Entomology* 12: 177-185.
- Roy, H.E., Steinkraus, D.C., Eilenberg, J., Hajek, A.E., Pell, J.K., 2006. Bizarre interactions and endgames: entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. *Annual Review of Entomology* 331: 51-57.
- Saruhan, I., Akyol, H., 2012. Monitoring population density and fluctuations of *Anisandrus dispar* and *Xyleborinus saxesenii* (Coleoptera: Scolytinae, Curculionidae) in hazelnut orchards. *African Journal of Biotechnology* 11(18): 4202-4207.
- Sevim, A., Demir, I., Höfte, M., Humber, R.A., Demirbağ, Z., 2010a. Isolation and characterization of entomopathogenic fungi from hazelnut-growing region of Turkey. *Biocontrol* 55: 279-97.
- Sevim, A., Demir, I., Tanyeli, E., Demirbag, Z., 2010b. Screening of entomopathogenic fungi against the european spruce bark beetle, *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae). *Biocontrol Science and Technology* 20: 3-11.
- Sevim, A., Sevim, E., Demirbağ, Z., 2015. Entomopatogenik fungusların genel biyolojileri ve türkiye’de zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılma potansiyelleri. *Erzincan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 8(1): 115-147.
- Shah, P.A., Pell, J.K., 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied Microbiology and Biotechnology* 61: 413-423.
- Steinwender, B.M., Krenn, H.W., Wegensteiner, R., 2010. Different effects of the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Deuteromycota) on the bark beetle *Ips sexdentatus* (Coleoptera: Curculionidae) and on its predator *Thanasimus formicarius* (Coleoptera: Cleridae). *Journal of Plant Diseases and Protection* 117(1): 33-38.
- Tuncer, T., Kushiyeve, R., Saruhan, I., Erper, I., 2016. Entomopatogen funguslar *Metarhizium anisopliae* ve *Baeuveria bassiana*’nın *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)’a karşı etkinliğinin belirlenmesi. Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi, Konya, 5-8 Eylül 2016, 126 s.
- Tuncer, C., Knížek, M., Hulcr J., 2017a. Scolytinae in hazelnut orchards of Turkey: clarification of species and identification key (Coleoptera, Curculionidae). *ZooKeys* 710: 65-76.
- Tuncer, C., Kushiyeve, R., Erper, I., Ozdemir I.O., Saruhan, I., 2017b. Effectiveness of entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* against *Anisandrus dispar* Fabricius and *Xylosandrus germanus* Blandford (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). 6 th. Entomopathogens and microbial control congress, Tokat, Turkey 14-16 September 2017, pp. 44.
- Villani, M.G., Krueger, S.R., Schroeder, P.C., Consolie, F., Consolie, N.H., Prestonwilsey, L.M., Roberts, D.W., 1994. Soil application effects of *Metarhizium anisopliae* on Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) behavior and survival in turf grass microcosms. *Environmental Entomology* 23: 502-513.
- Zimmermann, G., 2007a. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology* 17: 553-596.
- Zimmermann, G., 2007b. Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology* 17: 879-920.