

Entomopatojen fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. izolatlarının patates böceği [*Leptinotarsa decemlineata* Say. (Coleoptera: Chrysomelidae)] üzerindeki etkisi

Özlem GÜVEN^{1,2}, Durmuş ÇAYIR¹, Recep BAYDAR¹, İsmail KARACA¹

The effects of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill isolates on Colorado potato beetle, [*Leptinotarsa decemlineata* Say. (Coleoptera: Chrysomelidae)]

Abstract: Entomopathogenic fungal isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (BMAUM-001, BMAUM-002, BMAUM-003, BMAUM-004) from different sources and sites were evaluated for their pathogenicity against larvae and adult of *Leptinotarsa decemlineata* with spraying, dipping and residue methods under laboratory conditions at a concentration of 10^8 conidia/mL⁻¹. All treated insects were incubated at $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $60\% \pm 5\%$ relative humidity and a 16 L:8 D photoperiod in a climate chamber. The infection level was determined on the 3rd, 5th, and 7th day post inoculation. *Beauveria bassiana* was more effective with each method on the larval stage than adults. Very low mortality was observed on adult such as 1 for BMAUM-001 and BMAUM-002 and 2 for BMAUM-004. Larval mortalities obtained with the spraying, dipping and residual methods for BMAUM-001 were 72.7%, 64.5%, 67.7%; for BMAUM-002 were 83.6%, 92.9%, 90.8%; and for BMAUM-003 were 83.6 %, 59.7 %, 79.2 %, respectively.

Keywords: *Leptinotarsa decemlineata*, entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, biological control

Öz: Bu çalışmada farklı konukçu ve bölgelerden izole edilen entomopatojen funguslardan *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. izolatlarının (BMAUM-001, BMAUM-002, BMAUM-003, BMAUM-004) laboratuvar koşullarında patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata* (Say)) 3. dönem larva ve erginleri üzerine etkisi belirlenmiştir. *Beauveria bassiana* izolatları tek doz (10^8 konidi/mL⁻¹) olarak püskürtme, daldırma ve kalıntı yöntemleri ile uygulanmış ve uygulamadan 1, 3, 5 ve 7 gün sonra meydana gelen enfeksiyon ve ölümler kaydedilmiştir. Denemeler, tesadüf parselleri deneme deseninde 10 tekerrürlü olarak, $25 \pm 1^\circ\text{C}$, orantılı nemi % 60 ± 5 'e ayarlı, uzun gün aydınlatmalı (16A:8K) koşullara sahip iklim odalarında yürütülmüştür.

¹ Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü 32260/Isparta

² Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, 46100/ Kahramanmaraş
Sorumlu Yazar (Corresponding author) e-mail: okalkar@hotmail.com, ozlemkalkar@gmail.com

Alınış (Received): 22.01.2015

Kabul ediliş (Accepted): 25.11.2015

Çalışma sonucunda *B. bassiana* izolatlarının her uygulama yönteminde de larvalar üzerinde daha etkili olduğu, erginlerde ise BMAUM-001'de 1 tane, BMAUM-002'de 1 tane ve BMAUM-004'de 2 tane ölüm olduğu saptanmıştır. Püskürtme, daldırma ve kalıntı yöntemlerinde 3. dönem larvalardaki ölüm oranları sırasıyla BMAUM-001 izolatında % 72,7, % 64,5, % 67,7; BMAUM-002 izolatında % 83,6, % 92,9, % 90,8 ve BMAUM-003 izolatında % 83,6, % 59,7, % 79,2 olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *Leptinotarsa decemlineata*, entomopatojen fungus, *Beauveria bassiana*, biyolojik mücadele

Giriş

Geniş spektrumlu ilaçların yoğun ve gelişigüzel kullanılması sonucu meydana gelen olumsuzluklardan dolayı tarımda zararlı böceklerle karşı alternatif yöntemlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Zararlı böcekler ile mücadelede etkin bir yöntem olan biyolojik mücadele uygulamalarında predatör ve parazitoitlerin yanı sıra fungus, virüs, bakteri, protozoa ve nematodlar gibi etkili ve çevreye dost mikrobiyal patojenlerde kullanılmaktadır.

Diğer entomopatojenlerden daha geniş konukçuya sahip olan entomopatojen fungusların, Lepidoptera, Homoptera, Coleoptera ve Diptera takımlarında yaygın olarak enfeksiyon yaptıkları gözlenmiştir (Deacon 1983). Bitki üzerinde bulunan ve entomopatojen funguslar ile enfekte olmuş böcekler toprağa düşerek toprakta önemli fungus rezervini oluştururlar. Ayrıca toprak ortamı, fungusları UV ışınlarından koruduğu ve biyotik ve abiyotik etkenlere karşı tampon görevi gördüğü için fungusların uzun süre canlılığını korumasını sağlar (Samson et al., 1988; Keller & Zimmermann 1989). Tarımsal ekosistemlerde toprakta çok sık rastlanan ve dünya çapında yaygın olarak bulunan *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuilemin geniş konukçu kitlesine sahip Hypocreales (Ascomycota) takımına bağlı entomopatojenik bir fungustur (McCoy 1990; Roberts & St. Leger 2004; Rehner, 2005).

Ülkemizde önemli patates zararlılarından biri olan patates böceği, *Leptinotarsa decemlineata* Say. (Coleoptera: Chrysomelidae), uygulanan her pestisite karşı birkaç generasyondan sonra çok hızlı direnç göstermesinden dolayı mücadelesi zor böceklerden birisidir (Forgash, 1981). Patatesle beslenerek ekonomik zarara neden olan patates böceği, virüs ve bakteri gibi hastalıkların yayılmasında da rol oynamaktadır (Anonim, 2013). Böcek kışı ergin olarak toprakta geçirmektedir ayrıca pupa döneminde toprakta geçirdiğinden dolayı toprakta bulunan entomopatojen funguslar ile temas etme olasılıkları oldukça yüksektir. *Beauveria bassiana*'nın patates böceğinde doğal olarak bulunduğu ve çeşitli dönemlerinde ölümlere neden olduğu bildirilmiştir (Anderson et al., 1988; Hare & Andreadis, 1983; Watt & LeBrun 1984; Çam et al., 2002). Bu fungusun ticari olarak kullanılmasında Sovyetler Birliği ve Doğu Avrupa öncü olan ülkelerdir. "Boverin" adlı biyopestisit 1960'ların başlarında geliştirilmiş ve bu yılı takiben 20 yıl üretimine devam edilmiştir (Deacon, 1983; Roberts et al., 1981). Amerika Birleşik

Devleti'nde yapılan çalışmalarda entomopatojen fungusun patates böceği üzerine kullanılmasında ümit var olduğu rapor edilmiştir (Campbell et al., 1985; Roberts et al., 1981).

Zararlı böcek popülasyonları ile mücadelede yüksek patojenite göstermesi ve böceğin yaşadığı ülkenin ve bölgenin koşullarına uyum sağlamış tür ve izolatların olması mücadele yüzdesini artırmaktadır (Tanada & Kaya, 1993). Bu çalışmada, 2013 yılında ülkemizin çeşitli illerindeki topraklardan ve patates böceğinden izole edilen *B. bassiana* izolatlarının patates böceğinin 3. dönem larva ve erginlerine laboratuvar koşullarında etkileri araştırılmıştır.

Materyal ve yöntem

Patates böceği üretimi

Patates böceği ergin ve 3. dönem larvaları Süleyman Demirel Üniversitesi, Bitki Koruma Bölümü seralarında yetiştirilen patatesler üzerinden toplanmıştır. Patates üretimi süresince herhangi bir ilaç uygulaması yapılmamıştır. Toplanan larvaların dönemleri baş genişliği, pronotum renklenmesi ve ortalama vücut uzunluğuna göre belirlenmiştir (Boiteau & Le Blanc, 1992).

Fungal Kültürler ve Spor süspansiyonlarının hazırlanması

Bu çalışmada kullanılan ve Humber (1997)'den faydalanılarak tür teşhisi yapılan entomopatojen fungus *B. bassiana* izolatlarının izole edildiği bölge, konukçu ve izolasyon yılları Çizelge 1'de listelenmiştir. Bu fungus izolatları daha önce *Galleria mellonella* (L.) larvaları üzerinde ön patojenite testi ile uygulanmış ve patojenitesi yüksek olduğu için bu çalışmada kullanılmıştır.

Patates böceği larvaları için BMAUM-001, BMAUM-002 ve BMAUM-003 izolatları kullanılırken erginlerinde BMAUM-001, BMAUM-002 ve *Coccinella septempunctata* L. erginlerinden izole edilen BMAUM-004 kullanılmıştır. BMAUM-004 izolatu larvalara da uygulanmış fakat entomopatojen fungus dışı ölüm oranları yüksek çıktığı için değerlendirmeye alınmamıştır. Fungus izolatları Patates Dekstroz Agar (PDA) besiyerinde geliştirilerek -80°C'de saklanmıştır. Denemelerde kullanılmadan önce her bir izolatu, spor çimlenme değerleri belirlenmiştir. Seyreltme yapılmış spor süspansiyonundan 100 µl alınarak 3 adet PDA içeren Petri kabı üzerine yayılmış ve 25°C'de karanlıkta inkübe edildikten 24 saat sonra sporların çimlenme değerleri gözlemlenmiştir. Herbir Petri kabında 100 spor sayılmış ve spor çimlenme değeri %90'ı geçen izolatlar denemelerde kullanılmıştır.

Funguslar, PDA üzerinde 25±2°C'de karanlıkta inkübe edilmiş ve ekimden 10-17 gün sonra gelişen sporlar toplanarak % 0.1 Tween 20 içeren 20 ml distile steril su (dH₂O) içersine eklenerek spor süspansiyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyondan spor yoğunluğunun hesaplanabilmesi için 10⁻² seyreltme yapılarak Thoma Lamı ve ışık mikroskobu yardımıyla sayım yapılmış ve her bir fungus

izolatı için 10^8 konidi/mL⁻¹ yoğunlukta spor süspansiyonları hazırlanmıştır (Çam et al., 2002; Fancelli et al., 2013).

Entomopatojen fungusların patates böceğine uygulanması

Her bir fungus izolatu püskürtme, daldırma ve kalıntı yöntemleri kullanılarak 5 adet patates böceğinin 3. dönem larva ve erginlerine uygulanmıştır. Her bir deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre 10 tekerrürlü kurulmuştur (Todorova et al., 2000; Çam et al., 2002; Erdoğan & Toros, 2005).

Püskürtme yöntemi

Püskürtme yönteminde spor süspansiyonları el püskürtme aleti ile 20 cm uzaklıktan üç defa olacak biçimde böcekler üzerine püskürtme yapılarak uygulanmıştır. Uygulamanın sonunda her bir böcek 90 mm çapındaki petri kaplarına transfer edilmiştir. Ortamda yüksek oranda nem sağlamak amacıyla petri kaplarının tabanları kurutma kağıdı ile kaplanmış ve bu kağıtlara 1 ml destile steril su emdirilmiştir. Besin ihtiyacını karşılamak amacıyla gelişmesini sürdüren patates yaprakları bu petri kaplarına eklenmiştir.

Daldırma yöntemi

Daldırma yönteminde böcekler 5 s spor süspansiyonlarının içinde tutulduktan sonra içinde nemlendirilmiş kurutma kağıdı ve besin olarak temiz patates yaprağı bulunan petri kaplarına (90 mm) konulmuştur.

Kalıntı yöntemi

Kalıntı yönteminde distile steril su ile yıkanıp kuruyan ve eşit boyutlarda olan patates yaprakları spor süspansiyonlarının içinde 5 s tutulduktan sonra steril kurutma kağıtlarının üzerinde kurutulmuştur. Kuruyan yapraklar, içinde kurutma kağıdı bulunan 90 mm çapındaki petri kaplarına konularak üzerine böcekler yerleştirilmiştir. Kontrol denemelerinde % 0.1 Tween 20 içeren distile steril su kullanılmıştır.

Denemede kullanılan böceklerin besin ihtiyacını karşılamak amacıyla her gün ya da iki günde bir distile su ile yıkanmış taze patates yaprakları 90 mm çapındaki petri kaplarına eklenmiştir. Denemeler 25 ± 1 °C, orantılı nemi 60 ± 5 'e ayarlı uzun gün aydınlatmalı (16A:8K) koşullara sahip iklim odalarında yürütülmüştür. Uygulamadan 1, 3, 5 ve 7 gün sonra meydana gelen enfeksiyon ve ölümler kayıt altına alınmıştır. Denemede kullanılan böceklerde meydana gelen ölümler değerlendirilirken fungus miselyumların gözle görülür bir tabaka oluşturması kriter olarak alınmıştır.

Verilerin analizi ve değerlendirilmesi

Böcek ölüm yüzdelerinin hesaplanmasında Yüzdesiz Abbott formülü kullanılmış ve ölüm oranının yüzdesi formüle göre hesaplanmıştır. $\{P = [(C-T)/C] * 100$ (P: Entomopatojen fungus tarafından öldürülen tahmini % böcek oranı, C: uygulama sonrası kontrol grubu yaşayan % böcek oranı, T: fungus uygulama sonrası yaşayan

% böcek oranı)} (Abbott 1925). Elde edilen veriler arcsin transformasyonuna (Zar, 1999) tabi tutulmuş, daha sonra varyans analizi (ANOVA) ve ortalamalar arasındaki farklılıklar TUKEY çoklu karşılaştırma testine göre $P < 0.05$. önem seviyesinde karşılaştırılmıştır. Veri analizleri SPSS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, Illionis, USA) istatistik yazılımı kullanılarak yapılmıştır.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan *B. bassiana* izolatlarının isimleri, numaraları, izole edildikleri yer ve yıllar

Table 1. Name, isolate number, locations and isolation year of *B. bassiana* isolates used in the study

Fungus izolat No	Konukçusu/Bölge özelliği	Bölge	Yıl
BMAUM-001	<i>L. decemlineata</i>	Pasinler/Erzurum	2004
BMAUM-002	Tarım dışı arazi	Gelendost/Isparta	2013
BMAUM-003	Buğday ekili arazi	Önsen/Kahramanmaraş	2011
BMAUM-004	<i>C. septempunctata</i>	Uludaz Dağı/ Kahramanmaraş	2009

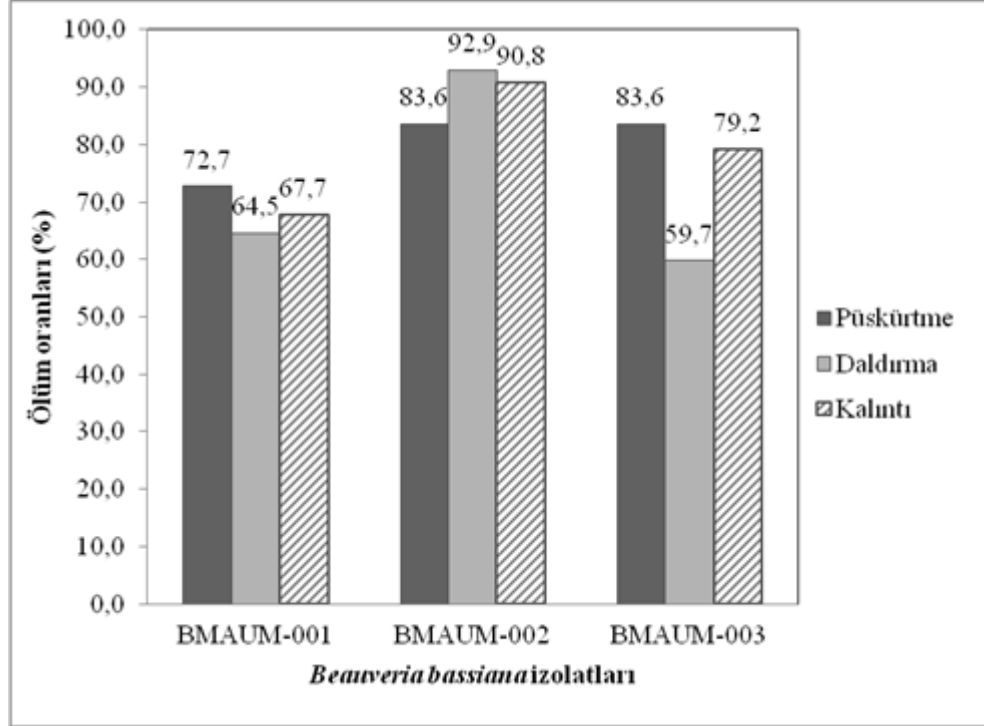
Bulgular ve tartışma

Bu çalışmada kullanılan *B. bassiana* izolatlarının püskürtme, daldırma ve kalıntı yöntemleri sonucunda patates böceğinin 3. dönem larvaları üzerine oldukça etkili oldukları saptanmış ve larvalardaki ölüm oranları Şekil 1'de verilmiştir. Püskürtme, daldırma ve kalıntı yöntemlerinde 3. dönem larvalardaki ölüm oranları BMAUM-001 izolatında % 72.7, % 64.5, % 67.7; BMAUM-002 izolatında % 83.6, % 92.9, % 90.8 ve BMAUM-003 izolatında % 83.6, % 59.7, % 79.2 olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, daha önce yürütülen araştırmalar ile paralellik göstermektedir. Çam et al., (2002) *B. bassiana* izolatının patates böceğine olan etkisini belirlemek için yaptıkları ön çalışmada 6. günün sonunda fungal enfeksiyon sonucu görülen ölümlerin % 89 olarak gerçekleştiğini ve bu oranın istatistiksel olarak kontrolden farklı fakat imidaclopridden farklı olmadığını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada Todorova et al., (2000) benzer sonuçlarla, farklı *B. bassiana* izolatlarının uygulamadan 8 gün sonra patates böceğine karşı % 100, % 93.3, % 90 ve % 86.7 oranında oldukça etkili olduklarını saptamışlardır.

Farklı *B. bassiana* izolat uygulamaları ve kontrol denemeleri sonucunda patates böceğinin 3. dönem larvalarına ait ortalama canlı birey sayıları Çizelge 2'de verilmiştir. Çizelge 2. incelendiğinde *B. bassiana* izolatlarının patates böceğine olan etkisinin püskürtme, daldırma ve kalıntı yöntemlerinde kontrolden farklı olduğu saptanmıştır. Püskürtme yönteminde izolatlar istatistiki olarak aynı grupta yer almıştır. Daldırma yönteminde BMAUM-002 izolatı BMAUM-001 ve

BMAUM-003'den farklı bulunmuş, kalıntı yönteminde ise BMAUM-002 izolatu BMAUM-003 izolatu ile aynı grupta yer alırken, bu izolatlar BMAUM-001 izolatında farklı bulunmuştur. Yüzsüz Abbott değerlendirmelerine göre BMAUM-002 izolatu püskürtme denemesinde BMAUM-003 ile aynı etkiyi gösterirken, daldırma ve kalıntı yönteminde daha etkili olmuştur.



Şekil 1. *Leptinotarsa decemlineata* larvalarına *B. bassiana* izolatlarının püskürtme, daldırma ve kalıntı yöntemleri uygulanmasından sonra meydana gelen ölüm oranı (%).

Figure 1. Percentage mortality rates of *B. bassiana* isolates applied on *L. decemlineata* larvae with spraying, dipping and the residue methods.

Denemede kullanılan *B. bassiana* izolatları erginlerde larvalar kadar patojenite göstermemiştir. Erginlerde püskürtme yönteminde BMAUM-002 izolatında bir ergin, daldırma yönteminde BMAUM-001 izolatında bir ergin ve BMAUM-004 izolatında iki ergin böcekte entomopatojen fungus enfeksiyonu gözlenmiştir. Kalıntı yönteminde ergin böceklerde herhangi bir enfeksiyona rastlanmamıştır. Watt & Lebrun (1984) ve Çam et al., (2002) ergin böcekler üzerine *B. bassiana*'nın patates böceği larvalarına karşı etkin olduğu kadar etkili olmadığını bildirmişlerdir. Bu nedenle patates böceğinin ergin dönemine karşı fungusun bir insektisit ile birlikte uygulanmasının daha uygun olacağını belirtmişlerdir. Watt & Lebrun

(1984) toprağa *B. bassiana* uygulamasının patates böceğinin birinci ve ikinci nesil pupalarına sırası ile % 74 ve % 77 oranında etkili olduğunu ve pupadan ergin çıkışını azalttığını bildirmişlerdir.

Çizelge 2. *Leptinotarsa decemlineata* larvalarına *B. bassiana* izolatlarının püskürtme, daldırma ve kalıntı yöntemleri uygulanması sonucu ortalama canlı birey sayıları (Ortalama \pm Standart hata)

Table 2. Mean number of live individuals of *L. decemlineata* larvae after application of *B. bassiana* isolates with spraying, dipping and the residue methods (Mean \pm SE)

İzolat Adı	Uygulanan Yöntemler		
	Püskürtme *	Daldırma *	Kalıntı *
BMAUM-001	1.00 \pm 0.29 a	1.50 \pm 0.26 b	1.40 \pm 0.33 b
BMAUM-002	0.60 \pm 0.26 a	0.30 \pm 0.21 a	0.40 \pm 0.22 a
BMAUM-003	0.60 \pm 0.22 a	1.70 \pm 0.30 b	0.90 \pm 0.17 ab
Kontrol	3.67 \pm 0.23 b	4.22 \pm 0.43 c	4.33 \pm 0.33 c

*Her sütundaki aynı harfler istatistiki olarak benzer ($P>0.05$, Tukey testi), farklı harfler istatistiki olarak farklı olduklarını belirtmektedir ($P<0.05$, Tukey testi).

Fransa'da 1970 yılında ve Amerika Birleşik Devletinde 1980'li yıllarda bu çalışmalar hız kazanmıştır. Ülkemizde patates böceğinden izole edilen entomopatojen bir fungusun (*B. bassiana*) patates böceğine karşı denemesi ilk kez Çam et al., (2002) tarafından yapılmış olup, bu çalışmadan sonra yeni kayıtlara rastlanılmamıştır. Bu çalışmada elde edilen deneme sonuçları özellikle larva dönemi için oldukça ümit var olup, gelecekte daha kapsamlı çalışmalara temel oluşturacağı kanaatine varılmıştır. Tarım dışı araziden izole edilen BMAUM-002 izolatın diğer izolatlara göre daha etkili olduğu gözlenmiştir. İleriki aşamalarda bu izolatın çevre faktörleri ile patates tarımında kullanılan pestisitlerle etkileşimlerinin araştırılması ve direk toprağa fungus uygulama çalışmalarını kapsayacak şekilde genişletilmesi gerekmektedir. Ayrıca patates böceği ile mücadelede entomopatojen fungus izolatlarının kullanımının geliştirilmesi organik tarım, iyi tarım uygulamaları ve entegre mücadele açısından yararlı olacaktır.

Kaynaklar

- Abbott W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Anderson T.E., D.W Roberts & R.S. Soper 1988. Use of *Beauveria bassiana* for suppression of Colorado potato beetle population in New York State (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology* 17: 140-145.

- Anonim, 2013. Ziraî Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü web sayfası. Ziraî mücadele rehberi. http://www.zmmae.gov.tr/rehber/patates_bocegi.pdf (Erişim tarihi Mayıs 2013).
- Boiteau G. & I.P.R. Le Blanc 1992. Colorado potato beetle life stages. *Agriculture Canada, Communication Branch*, Otiawa 6s.
- Campbell R.K., T.E Anderson, M. Semel & D.V. Roberts 1985. Management of the Colorado potato beetle using the entomogenous fungus *Beauveria bassiana*. *American Potato Journal*, 62:29-37.
- Çam H., A. Gökçe, Y. Yanar & İ. Kadioğlu 2002. Entomopatojen fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill 'nın patates böceği, *Leptinotarsa decemlineata* Say., üzerindeki etkisi. Türkiye 5. Biyolojik Mücadele Kongresi Bildirileri, 4-7 Eylül 2002, Erzurum, 359-364.
- Deacon J.W. 1983. Microbial Control of Plant Pests and Diseases. Van Nostrand Reinhold Co, Wokingham, UK.
- Erdoğan P. & S. Toros 2005. *Melia azedarach* L. (Meliaceae) ekstraktlarının Patates böceği [*Leptinotarsa decemlineata* Say (Col.: Chrysomelidae)] larvalarının gelişimi üzerine etkisi. *Bitki Koruma Bülteni*, 45 (1-4): 99-118.
- Fancelli M., A.B. Dias, I.J. Delalibera, S. Cerqueira de Jesus, A. Souza do Nascimento & S. Oliveira e Silva 2013. *Beauveria bassiana* Strains for Biological Control of *Cosmopolites sordidus* (Germ.) (Coleoptera: Curculionidae) in Plantain. *BioMed Research International*, Volume 2013, Article ID 184756, 7s, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/184756>.
- Forgash A.J. 1981. Insecticide resistance of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). In: Lashomb, J.H., Casagrande, R. (Eds.), Advances in Potato Pest Management. *Hutchinson Ross Publishing Co, Stroudsburg, PA*, pp. 34-46.
- Humber R.A. 1997. Fungi: identification. In: Lacey LA (ed) Manual of techniques in insect pathology. *Academic Press, San Diego*, Chapter V-3, pp 153-185.
- Hare J.D. & T.G. Andreadis 1983. Variation in the susceptibility of *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) when reared on different host plants to the fungal pathogen, *Beauveria bassiana* in the field and laboratory. *Environmental Entomology*, 12: 1892-1897.
- Keller S. & G. Zimmerman 1989. Mycopathogens of soil insects. In: Wilding, N., Collins, N.M., Hammond, P.M., Webber, J.F. (Eds.), Insect-Fungus Interactions. *Academic Press, London*, pp. 240-270.
- McCoy C.W. 1990. Entomogenous fungi as microbial pesticides. Pages 139-159 in R.R. Baker and P.E. Dunn (eds.), *New Direction in Biological Control*. A.R. Liss, New York.
- Rehner S.A. 2005. Phylogenetics of the insect pathogenic genus *Beauveria*. In: Vega, F.E., Blackwell, M. (Eds.), *Insect-Fungal Associations: Ecology and Evolution*. *Oxford University Press*, pp. 3-27.
- Roberts D.W., R.A. LeBrun & M. Semel 1981. Control of the Colorado potato beetle with fungi. In: Lashomb, J.H., Casagrande, R. (Eds.), *Advances in Potato Pest Management*. *Hutchinson Ross Publishing Company, Stroudsburg*, pp. 119-137.
- Roberts D.W. & R.J. St. Leger 2004. *Metarhizium* spp., cosmopolitan insect-pathogenic fungi: Mycological aspects. *Advances in Applied Microbiology* 54: 1-70.
- Samson R. A., H. C. Evans & J. P. Latge 1988. Atlas of entomopathogenic fungi. *Springer-Verlag*, New York.

- Tanada Y. & H. K. Kaya 1993. Insect pathology. *Academic Press, Inc.*, USA, 633s.
- Todorova S.I., D. Coderre & J.C. Cote 2000. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* isolates toward *Leptinotarsa decemlineata* [Coleoptera: Chrysomelidae], *Myzus persicae* [Homoptera: Aphididae] and their predator *Coleomegilla maculata lengi* [Coleoptera: Coccinellidae]. *Phytoprotection*, 81(1): 15-22.
- Watt B.A. & R.A. LeBrun 1984. Soil effects of *Beauveria bassiana* on pupal populations of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology* 13: 15-18.
- Zar J.H. 1999. Biostatistical Analysis. 4th ed., *Prentice Hall*, New Jersey, USA, pp. 929.