



***Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma hamatum* ve Diatom Toprağının *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae)'a Karşı Yalnız ve Kombinasyon Halinde Etkinliğinin Belirlenmesi**

Determination of the Effectiveness of *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma hamatum*, and Diatomoceanus Earth, Applied Alone and in Combination against *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae)

Mehmet YILDIRIM¹, Celal TUNCER², İsmail Oğuz ÖZDEMİR³

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Samsun
· yildirimmt55@gmail.com · ORCID > 0000-0002-4521-5959

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Samsun
· celalt@omu.edu.tr · ORCID > 0000-0002-9014-8003

³Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Sakarya
· oguzozdemir@subu.edu.tr · ORCID > 0000-0001-9095-2109

Makale Bilgisi/Article Information

Makale Türü/Article Types: Araştırma Makalesi/Research Article

Geliş Tarihi/Received: 13 Ocak/January 2024

Kabul Tarihi/Accepted: 29 Ocak/January 2024

Yıl/Year: 2024 | **Cilt-Volume:** 39 | **Sayı-Issue:** 1 | **Sayfa/Pages:** 195-206

Atıf/Cite as: Yıldırım, M., Tuncer, C., Özdemir, İ.O. "*Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma hamatum* ve Diatom Toprağının *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae)'a Karşı Yalnız ve Kombinasyon Halinde Etkinliğinin Belirlenmesi"
Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi, 39(1), Şubat 2024: 195-206.

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Mehmet YILDIRIM

***Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma hamatum* VE DİATOM TOPRAĞININ *Callosobruchus maculatus* F. (COLEOPTERA: BRUCHİDAE)'A KARŞI YALNIZ VE KOMBİNASYON HALİNDE ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

ÖZ

Bu çalışmada, diatom toprağı (DT) ile *Metarhizium anisopliae* (Ma) ve *Trichoderma hamatum* (Th) izolatlarının bireysel olarak ve kombinasyonlar halinde *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) erginlerine karşı laboratuvar koşullarında etkinlikleri araştırılmıştır. Ma ve Th izolatlarının bireysel olarak üç konsantrasyonu (1×10^4 , 1×10^6 ve 1×10^8 spor/mL) kullanılırken, kombinasyonlarda da DT'nin üç farklı dozu (200, 400 ve 800 mg/kg) ile her bir fungusu ait en yüksek doz (1×10^8 spor/mL) kullanılarak uygulamalar yapılmıştır. Denemeler 25°C, %70 nispi nem ve 16: 8 aydınlık-karanlık periyodunda yürütülmüştür. Bireysel uygulamalarda Ma ve Th'nin en yüksek dozu (1×10^8 spor/mL) için uygulamadan sonra 8. günde sırasıyla %87.5 ve %52.5 oranında ölüm meydana gelirken, DT'nin en yüksek dozunda (800 mg/kg) uygulamadan 7 gün sonra %100 ölüm ortaya çıkmıştır. Dahası zamanın ve dozun artışına bağlı olarak ölüm oranlarının arttığı gözlemlenmiştir. Kombinasyon denemelerinde ise en yüksek etkinlik 5. günün sonunda %100 ölüm oranı ile DT (800 mg/kg) + Ma (1×10^8 spor/mL) uygulamasında gözlemlenmesinin yanı sıra bireysel uygulamada düşük bir etkinlik gösteren Th en yüksek dozda (1×10^8) DT (800 mg/kg) ile kombinasyonu sonucunda 6. günde %100 ölüme sebep olmuştur. DT'nin entomopatojenlerle çalışmadaki düşük dozlarda bile önemli bir etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak, azalan uygulama oranlarına rağmen zararlıya karşı umut verici potansiyele sahip bu etmenler, ikili kombinasyonlarda kabul edilebilir sonuçlar ortaya koymuştur. Bu çalışma DT'nin uygulama oranlarının azaltılmasına yardımcı olabilecek bu umut verici bir yaklaşımı ortaya koymakla birlikte uzun süreli depolama koşullarında *C. maculatus*'a karşı pratik olarak kullanılacak bir yöntem için daha fazla araştırma yapılmasını teşvik edebilir.

Anahtar Kelimeler: Depo Zararlısı, Börülce Tohum Böceği, Entomopatojen Funguslar, Doğal İnsektisit, Biyolojik Etkinlik, Ölüm Oranı.



DETERMINATION OF THE EFFECTIVENESS OF *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma hamatum*, AND DIATOMOCEAUS EARTH, APPLIED ALONE AND IN COMBINATION AGAINST *Callosobruchus maculatus* F. (COLEOPTERA: BRUCHIDAE)

ABSTRACT

In this study, the efficiency of diatomaceous earth (DT), *Metarhizium anisopliae* (Ma), and *Trichoderma hamatum* (Th) isolates against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) adults was investigated under laboratory conditions. While Ma and Th isolates were used at three different concentrations (1×10^4 , 1×10^6 and 1×10^8 spores/mL), the highest doses of each fungus (1×10^8 spores/mL) were used in combination with three different doses of DT (200, 400, and 800 mg/kg). The trials were conducted at 25°C, 70% relative humidity, and 16:8 h light-to-dark periods. Individual applications exhibited 87.5% and 52.5% mortality on the eighth day after application for the highest doses of Ma and Th (1×10^8 spores/mL), respectively, and 100% mortality on the seventh day after application for the highest dose of DT (800 mg/kg). Also, it was observed that mortality rates increase depending on time and dose. In combination trials, the most effective combination was DT (800 mg/kg) + Ma (1×10^8 spores/mL) with a 100% mortality rate at the end of the fifth day. Th, which was lower efficacy in separate applications, caused 100% mortality on the sixth day when combined with DT (800 mg/kg) at the maximum dose (1×10^8 spores/mL). It has been determined that DT is effective in combination with entomopathogens, even at low concentrations. As a result, despite lowering application rates, these agents, which have promising potential against the insect, have shown acceptable results in binary combinations. The study shows a potential strategy that may assist lower DT application rates and encourage additional research into a method that may be applied practically against *C. maculatus* under long-term storage conditions.

Keywords: Stored Product Insect, Cowpea Weevil, Entomopathogen Fungi, Natural Insecticide, Bioassay, Mortality Rate.



1. GİRİŞ

Dünya ve ülkemiz için önemli baklagillerden olan nohut, fasulye, mercimek, bezelye, bakla ve börülce, yüksek karbonhidrat ve protein içeriği ile insan beslenmesinde ve toprak verimliliğinin ve sürdürülebilirliğinin sağlanmasında önemli role sahiptir. *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchi-

nae) baklagillerde önemli bir zarara sebep olan Türkiye'nin pek çok bölgesinde ve Dünya çapında tropik ve subtropik iklimlerde bulunan en önemli zararlılardan birisidir (Ozdemir ve ark., 2020; Gad ve ark., 2021). Bu böcek depolarda ve tarlada baklagillere saldırarak ağırlık ve kalite kaybına, dolayısıyla ürünün piyasa değerinin düşmesine (Elhag, 2000), tohumların çimlenme kabiliyetinin (Baier ve Webster, 1992) ve protein değerinin azalmasına sebep olmaktadır (Mofunanya ve Namgbe, 2016). Zararlıya karşı fosfin ve piretroidler gibi kimyasal insektisitler kullanılmasına rağmen bunlara karşı zararlının uzun vadede dayanıklılık kazanması, insan sağlığı ve çevre üzerine olumsuz etkileri nedeniyle endişelerin artmasına sebep olmaktadır (Daglish, 2008). Bu nedenle, zararlıya karşı insan ve çevreye dost, sürdürülebilir alternatif mücadele yöntemleri kapsamında fiziksel uygulamalar, doğal ürünler [diatom toprağı (DT) gibi], mikrobiyal/biyokontrol etmenleri değerlendirilmiştir (Abdelgaleil ve ark., 2021).

Diatom toprağı yaygın bir şekilde tahıl koruyucu olarak kullanılmakta olup, depolanan ürünlerde zararlıların mücadelesi için tahıllarla karıştırılabilen toksik olmayan bileşenlere sahiptir. Diatom toprağı formülasyonları bozulmaz/parçalanmaz ve bu nedenle depolanan üründeki böceklerin uzun vadeli kontrolünü sağlar ve insanlara/memelilere zarar vermemekle birlikte (Athanassiou ve ark., 2014), elenerek ve yıkanarak tohumlardan kolayca uzaklaştırılabilmektedir (Korunic ve ark., 1996). Böceklerin kütikulasının çizilmesi ve hasar görmesiyle vücudun su kaybetmesi sonucu fiziksel olarak ölüm meydana gelmektedir (Korunic, 1998). Ancak DT yüksek uygulama oranlarında (1000-3500 mg/kg) kullanılmakta olup, bu da tane yığın yoğunluğunu, tane akışkanlığını etkilemekte ve işlenmiş ürünlere görünür kalıntılara sebep olmaktadır (Permual ve Le Patourel, 1992; Korunic ve ark., 1996). Bu problemlerin aşılması için DT'nin örneğin entomopatojen funguslar gibi tohum koruyucularla kombinasyonu ile dozların azaltılabileceğı ve depolanan üründe tatmin edici bir koruma sağlayabileceğı vurgulanmıştır (Ziaee ve ark., 2019). Diatom toprağının *Beauveria bassiana* (Balsamo) (Hypocreales: Clavicipitaceae) ve *Trichoderma harzianum* Rifai, *Trichoderma asperellum* Samuels (Hypocreales: Hypocreaceae) gibi çeşitli entomopatojen funguslarla (EPF) ikili kombinasyonunun etkinliğini değerlendirmek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Gad ve ark., 2021; Abdelgaleil ve ark., 2021; Ozdemir, 2023). Diatom toprağının ve EPF gibi farklı etki mekanizmalarına sahip doğal etmenlerin kombinasyonları, ürünlerin kalıntı riskini, uygulama dozlarını düşürerek ve bu etmenlerin etkinliğini artırarak depo zararlıların kontrolü üzerine önemli bir potansiyel taşımaktadır (Gad ve ark., 2021).

Entomopatojen funguslar, hedef olmayan organizmalara zarar vermemesi, ürünlere toksik kalıntı bırakmaması ve insanlar için güvenli olması gibi depolanmış ürün zararlılarına karşı kullanmak için onları mükemmel aday haline getiren çeşitli özelliklere sahip olmaları nedeniyle depo alanlarındaki bu böceklerle-

rin kontrolü için olası seçeneklerden birisidir (Moore ve ark., 2000; Athanassiou ve ark., 2008). *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin çeşitli zararlı böceklerle karşı yaygın olarak kullanılan bir fungus iken (Zimmerman, 1993), *Trichoderma* türleri çeşitli bitki patojenlerine karşı kullanılan yaygın olarak kabul gören bir biyokontrol etmenidir. Bu funguslar insektisitlere göre daha güvenli görünmektedir. Ancak önemli bir depo zararlısı olan ve depo şartlarında çok döl veren *C. maculatus*'a karşı insektisidal aktivitesi üzerine çok az çalışma rapor edilmiştir (Mahdneshein ve ark., 2011; Ozdemir ve ark., 2020; Gad ve ark., 2021; Abdelgaleil ve ark., 2021; Ozdemir, 2023).

Depo zararlılarına karşı önemli bir potansiyel taşıyan DT'nin EPF'lar ile kombinasyon halinde kullanılması ile yüksek muamele oranlarının en aza indirilebilmesi sağlanabilir. Düşük oranlarda kullanılan DT ile EPF'lerin kombinasyonu *C. maculatus*'a karşı artan bir etkinlik göstermiştir (Abdelgaleil ve ark., 2021; Ozdemir, 2023). Yukarıda da bahsedildiği üzere bu yaklaşımın zararlının mücadelesinde kullanılması üzerine kısıtlı sayıda çalışma mevcuttur. Bu nedenle, bu çalışma EPF'lerin [*M. anisopliae* (Ma) ve *Trichoderma hamatum* Samuels (Th)] bireysel olarak ve DT ile kombinasyon halinde *C. maculatus*'a karşı etkinliğini belirlemeyi amaçlamaktadır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Böcek Kültürü

Callosobruchus maculatus, Samsun, Ondokuz Mays Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Entomoloji Laboratuvarına ait kültürlerden elde edilmiştir. Denemelere başlamadan önce nohutlar diğer zararlıların yok edilmesi amacıyla 1 hafta süreyle -18°C 'de tutulmuştur. Zararlıların erginleri, içinde 200 g sterilize edilmiş nohut (*Cicer arietinum* L. var. Koçbasi) bulunan cam kavanozlara (500 ml) yerleştirilmiş ve hava girişini sağlayacak şekilde üzeri bir tülle kapatılmıştır. Cam kavanozlar $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ve $\%65 \pm 5$ bağıl nem koşullarında ve 16:8 saatlik ışık-karanlık periyodunda yumurtlama için inkübe edilmiştir. Denemelerde kullanılacak ergin erkek ve dişileri elde etmek için kültür her gün kontrol edilmiştir (Ozdemir ve ark., 2020).

2.2. DT Formülasyonu

Denemelerde kullanılan K14 kodlu DT, Türkiye'nin İç Anadolu Bölgesi'nin üç farklı ilinden elde edilen yerli DT'nin belirli oranlarda kombinasyonu ile oluşturulmuş olup, Bayram (2018) tarafından K14'ün bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

2.3. Entomopatojen Fungus Kültürleri

Bu çalışmada kullanılan entomopatojen funguslardan ilki Ma (TR-55-019) , önemli bir fındık zararlısı olan *Anisandrus dispar* Fabricius (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) erginlerinden izole edilmiştir ve bu izolat moleküler olarak karakterize edilmiştir (GenBank erişim no: MN588143) (Kushiyev ve ark., 2022). Diğeri ise Th (F4), Türkiye'nin Karadeniz Bölgesi'nden toplanan toprak örneklerinden elde edilmiş ve moleküler olarak karakterize edilmiştir (GenBank erişim no: MT341773) (Kushiyev ve ark., 2021). Her iki fungus izolatu Samsun'da Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Entomoloji Laboratuvarı koleksiyonunda muhafaza edilmiştir. Bu funguslar kültüre alınarak geliştirilmiş ve spor süspansiyonu Abdelgaleil ve ark. (2021)'nin metoduna göre hazırlanmıştır. Sporlar, Olympus CX31 ışık mikroskobu (Olympus America Inc., Lake Success, NY) altında Neubauer hemositometresi kullanılarak 1×10^4 , 1×10^6 ve 1×10^8 spor/mL dozlarında ayarlanarak biyolojik etkinlik testlerinde kullanılmıştır.

2.4. Biyolojik Etkinlik Testleri

Ma ve Th'nin 3 dozu [1×10^4 , 1×10^6 ve 1×10^8 spor/mL] ve DT'nin 3 dozu (200, 400 ve 800 mg/kg) *C. maculatus*'a karşı ayrı ayrı ve kombinasyon halinde uygulanmıştır. DT için bu oranlar, yüksek oranlı uygulamaların (1000–3500 mg/kg) zararlı etkileri dikkate alınarak seçilmiştir. Abdelgaleil ark., (2021) tarafından uygulanan bir tohum karıştırma tekniği ikili kombinasyonlar için kullanılmıştır. Bu amaçla temiz ve steril 50 g nohut tohumu (var. Koçbaşı) 200 ml'lik cam kavanozlara yerleştirilmiştir. 50 g nohut içeren her bir cam kavanoza Ma ve Th'nin uygulama dozunu içeren şekilde 50 µl spor süspansiyonu olarak uygulanmıştır. Uygulama yapılan kavanozdaki nohutlarda fungus sporlarının eşit bir şekilde dağılmasını sağlamak için 2 dakika boyunca elle çalkalanmıştır. Bu kavanozlar, *C. maculatus*'un erginleri salınmadan veya kombinasyon halinde DT ile işleme tabi tutulmadan önce 30 dakika bekletilmiştir. Benzer şekilde, DT için 50 g nohut cam kavanozlara konulmuş ve ardından 200, 400 ve 800 mg/kg konsantrasyonlarda DT uygulanmıştır. Daha sonra bu kavanozlara ergin böcekleri salmadan önce DT'nin kavanozdaki nohutlar içerisinde eşit şekilde dağıldığından emin olmak için 5 dakika boyunca elle çalkalanmıştır. Toplam 15 muamele (9 bireysel ve 6 kombinasyon muamelesi) Tablo 1'de gösterildiği gibi uygulanmıştır. Kontrol kavanozlarındaki nohutlar ise 50 µl distile su ile muameleye tabi tutulmuştur (Abdelgaleil ve ark., 2021). Bu kavanozdaki nohutlara her bir muameleden sonra, ≤ 24 saatlik yaştaki 10 *C. maculatus* ergini (5 ♂ + 5 ♀) her bir cam kavanoza ayrı ayrı konulmuştur. Tüm kavanozlar, $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ve 70 ± 5 bağıl nemde ve 16:8 saat aydınlık/karanlık şartlara sahip inkübatöre (KBWF 240) yerleştirilmiştir. Denemeler her bir muamele için 4 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Denemelerde her bir günün gözlemlerinin birbirinden bağımsız olmasını sağlamak için ölümler birbirini takip eden 8 gün boyunca kay-

dedilmiştir (Ozdemir ve ark., 2020). Denemelerdeki tüm muamelelerde her gün için aynı sayıda farklı bireyler ($n = 40$ böcek/gün/izolat/oran) kullanılarak denemeler kurulmuş olup, her sayım gününde ilgili gündeki böceklerin ölümleri değerlendirildikten sonra o güne ait kavanozlar denemeden çıkarılmıştır (Robertson ve ark., 2007). Kontrol grupları için de aynı yöntem izlenmiştir.

Table 1. Çalışmada kullanılan DT, Ma ve Th'nin bireysel olarak ve ikili kombinasyonlar halinde uygulanan dozları

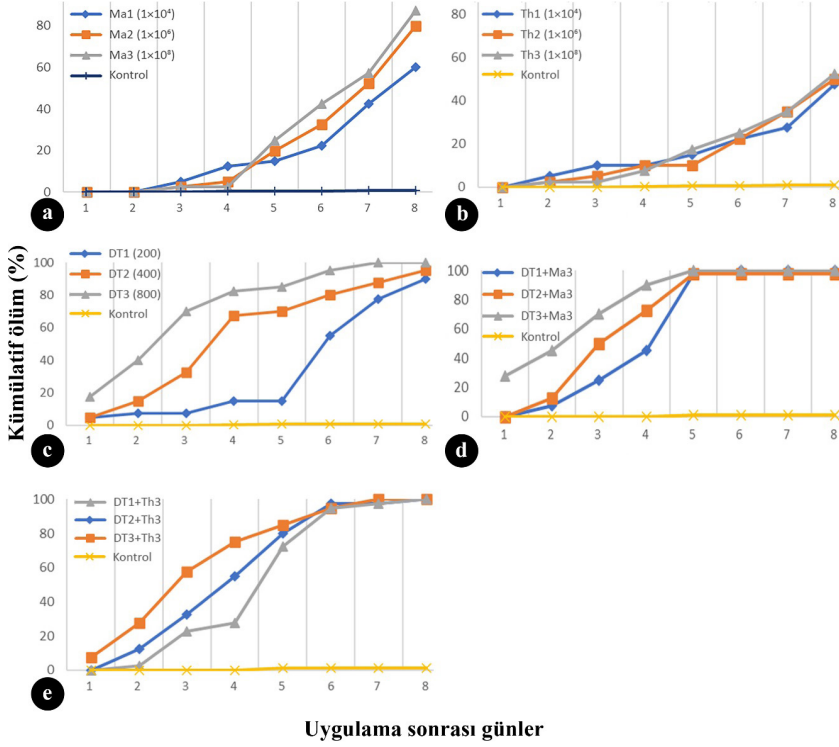
Diatom toprağı (mg/kg)	<i>M. anisopliae</i> (spor/mL)	<i>T. hamatum</i> (spor/mL)	Diatom toprağı (mg/kg) + <i>T. hamatum</i> (spor/mL)	Diatom toprağı (mg/kg) + <i>M. anisopliae</i> (spor/mL)
200 (DT1)	1×10^4 (Ma1)	1×10^4 (Th1)	$200 + 1 \times 10^8$ (DT1+ Ma3)	$200 + 1 \times 10^8$ (DT1+Th3)
400 (DT2)	1×10^6 (Ma2)	1×10^6 (Th2)	$400 + 1 \times 10^8$ (DT2+ Ma3)	$400 + 1 \times 10^8$ (DT2+Th3)
800 (DT3)	1×10^8 (Ma3)	1×10^8 (Th3)	$800 + 1 \times 10^8$ (DT3+ Ma3)	$800 + 1 \times 10^8$ (DT3+Th3)

2.4. İstatistiksel Analizler

Her bir muameleye ait günlük ölüm oranları, ölü böceklerin muameledeki toplam böcek sayısına bölünmesi ve ortalamalarının alınmasıyla bulunmuştur.

3. BULGULAR

Bu çalışmada bireysel olarak kullanılan Ma ve Th izolatlarının 1×10^4 , 1×10^6 , 1×10^8 spor/mL konsantrasyonlarında *C. maculatus*'a karşı uygulanması sonucunda, ölüm oranlarının %47,5 ile %87,5 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Ma izolatında en düşük ölüm %60 ile 1×10^4 konsantrasyonunda olurken en yüksek ölüm ise %87,5 ile 1×10^8 konsantrasyonunda elde edilmiştir. Th izolatında ise, en düşük ölüm %47,5 ile 1×10^4 konsantrasyonunda gözlemlenirken en yüksek ölüm ise %52,5 ile 1×10^8 konsantrasyonunda elde edilmiştir (Şekil 1a, b). Tek başına denenen DT'nin ise 200, 400 ve 800 mg/kg dozu *C. maculatus* erginlerinde 8 günün sonunda sırasıyla %90, %95 ve %100 oranında ölüme sebep olmuştur (Şekil 1c). Bireysel uygulamaların tümünde (DT, Ma ve Th) uygulama dozlarının artmasına paralel olarak ölüm oranında artış gözlemlenmiştir.



Şekil 1. a) DT 200, 400, 800 mg/kg; **b)** Ma 1×10^4 , 1×10^6 , 1×10^8 spor/mL; **c)** Th 1×10^4 , 1×10^6 , 1×10^8 spor/mL; **d)** 200, 400, 800 mg/kg DT ile kombinasyon halinde 1×10^8 spor/mL Ma; **e)** 200, 400, 800 mg/kg DT ile kombinasyon halinde 1×10^8 spor/mL Th ile uygulama yapılan nohut tohumlarında *C. maculatus*'un ölüm oranları

Ma'nın 1×10^8 spor/mL dozu ile DT'nin 200, 400, 800 mg/kg dozdaki kombinasyonlarının *C. maculatus* erginlerine uygulanması sonucunda, DT (800 mg/kg) + Ma (1×10^8 spor/mL) ilk günden itibaren 5. günün sonuna kadar en yüksek etkinliği (%100) gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 1d). Th'nin 1×10^8 spor/kg dozu ile DT'nin 200, 400, 800 mg/kg dozdaki kombinasyonlarında da, benzer şekilde ilk günden itibaren zararlının popülasyonunda ölüm meydana getiren DT (800 mg/kg) + Th (1×10^8 spor/mL) kombinasyonu 6. günün sonunda %100 ölüme sebep olmuştur (Şekil 1e).

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, Entomopatojen fungus Ma ve Th izolatları bireysel olarak ve DT ile kombinasyon halinde *C. maculatus* erginlerine karşı nohutlara laboratuvar şartlarında uygulanmış ve kombinasyon halindeki uygulamaların bireysel uygulamalara göre daha yüksek bir etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. Pek çok depo zararlısına karşı bazı entomopatojen fungusların DT ile kombinasyon halinde değerlendirilmesine rağmen (Kavallieratos ve ark., 2006; Athanassiou ve Steenberg, 2007; Riasat ve ark., 2011), *C. maculatus* ilişkili bu tip çalışma sayısı oldukça kısıtlıdır (Abdelgaleil ark., 2021; Gad ve ark., 2021; Ozdemir, 2023). Abdelgaleil ve ark. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada, bireysel olarak en yüksek dozda uygulanan DT (1000 mg/kg) ve *T. harzianum* (1×10^7 spor/kg)'un *C. maculatus* ve *C. chinensis* (L.)'e karşı 7. günün sonunda %90'nın altında bir etkinlik gösterirken, aynı böceklere DT (1000) + *T. harzianum* (1×10^7) ve kaolin (KA) (1000 mg/kg) + *T. harzianum* (1×10^7)'un en yüksek dozdaki ikili kombinasyonlarının %100 ölüme neden olduğunu ve 7 gün içinde en yüksek etkinliği gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Gad ve ark. (2021) benzer bir çalışmada, DT, spinosad (SP), *T. harzianum*'un *C. maculatus* ve *C. chinensis*'e karşı bireysel olarak kullanımına göre ikili ve üçlü kombinasyonlar halinde uygulanmasının daha yüksek bir etkinlik gösterdiğini belirtmiştir. DE (500 mg/kg) + *T. harzianum* (1×10^6 spor/kg)'un ikili kombinasyonu her iki böcekte de %83,1 ve %85,7 oranında bir ölüme meydana getirirken, üçlü kombinasyonun en yüksek uygulama oranında [DE (500 mg/kg) + SP (0,5) mg/kg) + Th (1×10^6 spor/kg)] her iki böcekte de %100 ölümle sonuçlanmıştır. Benzer amaçla, Ozdemir (2023) tarafından yürütülen bir çalışmada, DT, *T. asperellum*, ve *B. bassiana* bireysel olarak ve kombinasyon halinde *C. maculatus* karşı nohutlara uygulanmış, DT (800 mg/kg) + BB (1×10^8 spor/kg) ve DT (800 mg/kg) + *T. asperellum* (1×10^8 mg/kg)'nın ikili kombinasyonları en yüksek etkinliği göstererek uygulamadan sonra sırasıyla 6. günde ve 7. günde %100 ölüme sebep olmuştur. Daha önce yürütülen tüm çalışmalar göz önünde bulundurularak, DT içeren iki ve üçlü kombinasyonlar bireysel uygulamalara göre daha yüksek bir etkinlik gösterdiği belirlenmiş olup, bizim çalışmalarımızın sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir.

Bizim çalışmamızdaki Th ve Ma'nın 1×10^8 spor/mL dozda bireysel uygulamalarından elde edilen bulgulara göre, bu izolatların 8. günün sonunda sırasıyla %52,5 ve %87,5 oranında bir ölüme sebep olduğu bulunmuştur. Özellikle *Trichoderma* türlerinin virülensliğinin bireysel olarak düşük olduğu literatürde görülmekte olup (Abdelgaleil ark., 2021; Gad ve ark., 2021; Ozdemir, 2023), bizim çalışmamızla uyum göstermektedir. Fakat bu kapsamda *C. maculatus*'a karşı farklı Ma izolatlarıyla ilgili birkaç çalışma önemli bir virülenslik bildirmiştir. Ma'ya ait farklı izolatlar farklı konsantrasyonlarda (1.9×10^7 , 9.8×10^6 , 2.4×10^7 , 2.6×10^8 ve 1.2×10^8 konidi/mL), Mahdeshin ve ark. (2011) tarafından *C. maculatus* erginlerinde 11. gün sonunda yaklaşık olarak % 20-80 arasında ölüm meydana getirdiği

saptanmıştır. Benzer şekilde, Ozdemir ve ark. (2020) *C. maculatus* erginleri üzerine püskürtülerek uygulanan Ma izolatinın 1×10^8 spor/mL dozunda 26°C de 7. gün sonunda %100 ölüme neden olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan ve en etkili olduğu belirlenen Ma izolatu, bahsedilen önceki çalışmalarla karşılaştırıldığında önemli bir etkinlik gösterse de, zararlının erginleri üzerindeki virülensliği dozlara bağlı olarak uygulamadan sonra her geçen gün arttığı, ancak genelde tatmin edici bir ölüm oranının geç ve ergin böceğin ömrünün sonlarına doğru ortaya çıktığı görülmektedir. Dolayısıyla, bu izolatin DT ile en yüksek dozdaki ikili kombinasyonu [DT (800) + Ma (1×10^8)] uygulamadan 5. gün sonra %100 ölüm meydana getirmiş ve dolayısıyla DT ile Ma izolatinın kabul edilebilir bir sinerjist etki gösterdiği gözlenmiştir.

SONUÇ

Bu çalışmada Ma, Th ve DT'nin bireysel ve ikili kombinasyonları test edilmiştir. Ma veya Th'nin DT ile birlikte kullanıldığı uygulamalar, *C. maculatus*'a karşı artan insektisidal etkinlikle sonuçlanmıştır. Azalan uygulama oranlarına rağmen zararlıya karşı umut verici potansiyele sahip etmenler, ikili kombinasyonlarda kabul edilebilir sonuçlar ortaya koymuştur. Bu çalışma DT'nin uygulama oranlarının azaltılmasına yardımcı olabilecek bu umut verici bir yaklaşımı ortaya koymakla birlikte uzun süreli depolama koşullarında *C. maculatus*'a karşı pratik olarak kullanılacak bir yöntem için daha fazla araştırma yapılmasını teşvik edebilir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Etik

Bu çalışma etik kurul onayı gerektirmez.

Yazar Katkı Oranları

Çalışmanın Tasarlanması (Design of Study): MY(%10), CT(%60), İÖÖ(%30)

Veri Toplanması (Data Acquisition): MY(%60), CT(%20), İÖÖ(%20)

Veri Analizi (Data Analysis): MY(%40), CT(%30), İÖÖ(%30)

Makalenin Yazımı (Writing Up): MY(%50), CT(%25), İÖÖ(%25)

Makalenin Gönderimi ve Revizyonu (Submission and Revision): MY(%40), CT(%30), İÖÖ(%30)

KAYNAKLAR

- Abdelgaleil, S.A., Gad, H.A., Hamza, A.F., Al-Anany, M.S., 2021. Insecticidal efficacy of two inert dusts and *Trichoderma harzianum*, applied alone or in combination, against *Callosobruchus maculatus* and *Callosobruchus chinensis* on stored cowpea seeds. *Crop Protection*, 146, 105656. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105656>
- Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Lazzari, F.A., 2014. Insecticidal effect of Keepdry® for the control of *Sitophilus oryzae* (L.)(Coleoptera: Curculionidae) and *Rhyzopertha dominica* (F.)(Coleoptera: Bostrychidae) on wheat under laboratory conditions. *Journal of Stored Products Research*, 59, 133-139. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2014.06.011>
- Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Vayias, B.J., Tsakiri, J.B., Mikeli, N.H., Meletsis, C.M., Tomanović, Ž., 2008. Persistence and efficacy of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) and diatomaceous earth against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Rhyzopertha dominica* (F.)(Coleoptera: Bostrychidae) on wheat and maize. *Crop Protection*, 27, 1303-1311. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2008.03.004>
- Athanassiou, C.G., Steenberg, T., 2007. Insecticidal effect of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) in combination with three diatomaceous earth formulations against *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Biological Control*, 40, 411-416. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.12.001>
- Baier, A.H., Webster, B.D., 1992. Control of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae) in *Phaseolus vulgaris* L. seed stored on small farms—I. Evaluation of damage. *Journal of Stored Products Research*, 28, 289-293. Doi: [https://doi.org/10.1016/0022-474X\(92\)90011-E](https://doi.org/10.1016/0022-474X(92)90011-E)
- Bayram A., 2018. Determination of repellent effects of local diatomaceous earths against some stored grain insects. Dissertation, Kahramanmaraş Sütçü İmam University.
- Daglish, G.J., 2008. Impact of resistance on the efficacy of binary combinations of spinosad, chlorpyrifos-methyl and s-methoprene against five stored-grain beetles. *Journal of Stored Products Research*, 44, 71-76. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2007.06.003>
- Elhag, E.A., 2000. Deterrent effects of some botanical products on oviposition of the cowpea bruchid *Callosobruchus maculatus* (F.)(Coleoptera: Bruchidae). *International Journal of Pest Management*, 46, 109-113. Doi: <https://doi.org/10.1080/096708700227462>
- Gad, H.A., Al-Anany, M.S., Atta, A.A., Abdelgaleil, S. A., 2021. Efficacy of low-dose combinations of diatomaceous earth, spinosad and *Trichoderma harzianum* for the control of *Callosobruchus maculatus* and *Callosobruchus chinensis* on stored cowpea seeds. *Journal of Stored Products Research*, 91, 101778. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2021.101778>
- Kavallieratos, N.G., Athanassiou, C.G., Michalaki, M.P., Batta, Y.A., Rigatos, H.A., Pashalidou, F.G., Balotis G.N., Tomanović Ž., Vayias, B.J., 2006. Effect of the combined use of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin and diatomaceous earth for the control of three stored-product beetle species. *Crop Protection*, 25, 1087-1094. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.02.009>
- Korunic, Z., 1998. Review Diatomaceous earths, a group of natural insecticides. *Journal of Stored Products Research*, 34, 87-97. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(97\)00039-8](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(97)00039-8)
- Korunic, Z., Fields, P.G., Kovacs, M.I.P., Noll, J. S., Lukow, O. M., Demianyk, C. J., Shibley, K. J., 1996. The effect of diatomaceous earth on grain quality. *Postharvest Biology and Technology*, 9, 373-387. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(96\)00038-5](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(96)00038-5)
- Kushiyeve, R., Tuncer, C., Erper, I., Özer, G., 2021. The utility of *Trichoderma* spp. isolates to control of *Xylosandrus germanus* Blandford (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 128, 153-160. Doi: <https://doi.org/10.1007/s41348-020-00375-1>
- Kushiyeve, R., Tunçer, C., Özdemir, İ. O., Erper, İ., Kalendar, R., Alkan, M., Özer, G., 2022. Molecular characterization of native entomopathogenic fungi from ambrosia beetles in hazelnut orchards of Turkey and evaluation of their in vitro efficacy. *Insects*, 13, 824. Doi: <https://doi.org/10.3390/insects13090824>
- Mahdnesin, Z., Vojoudi, S., Ghosta, Y., Safaralizadea, M.H., Saber, M., 2011. Laboratory evaluation of the entomopathogenic fungi, Iranian isolates of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin against the control of the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* F.(Coleoptera: Bruchidae). *African Journal of Microbiology Research*, 5, 5215-5220. Doi: 10.5897/AJMR11.876
- Mofunanya, A.A.J., Namgbe, E.E. 2016. Assessment of damage due to *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) infestation on germination and nutrient quality of *Vigna unguiculata* L.(Walp). *Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 9(12), 96-101.
- Moore, D., Lord, J.C., Smith, S.M., 2000. Pathogens. In: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (eds) *Alternatives to Pesticides in Stored-Product IPM*. Springer, Boston, MA, pp. 193-227. Doi: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4353-4_8

- Ozdemir, I.O., 2023. Efficacy of diatomaceous earth, and entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, and *Trichoderma asperellum* in combination and separately, against *Callosobruchus maculatus* (F.)(Coleoptera: Chrysomelidae). Egyptian Journal of Biological Pest Control, 33, 48. Doi: <https://doi.org/10.1186/s41938-023-00699-8>
- Ozdemir, I.O., Tuncer, C., Erper, I., Kushiyev, R., 2020. Efficacy of the entomopathogenic fungi; *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* F.(Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). Egyptian Journal of Biological Pest Control, 30, 1-5. Doi: <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00219-y>
- Permul, D., Le Patourel, G., 1992. Small bin trials to determine the effectiveness of acid-activated kaolin against four species of beetles infesting paddy under tropical storage conditions. Journal of Stored Products Research, 28, 193-199. Doi: [https://doi.org/10.1016/0022-474X\(92\)90041-N](https://doi.org/10.1016/0022-474X(92)90041-N)
- Riasat, T., Wakil, W., Ashfaq, M., Sahi, S.T., 2011. Effect of *Beauveria bassiana* mixed with diatomaceous earth on mortality, mycosis and sporulation of *Rhyzopertha dominica* on stored wheat. Phytoparasitica, 39, 325-331. Doi: <https://doi.org/10.1007/s12600-011-0164-6>
- Robertson J.L., Russell R.M., Preisler H.K., Savin E., 2007. Bioassays with Arthropods. CRC Press, Boca Raton, FL, U.S.A. 2nd edition, xxii + 199 pp. Doi: [https://doi.org/10.1653/0015-4040\(2008\)91\[510:BWA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1653/0015-4040(2008)91[510:BWA]2.0.CO;2)
- Ziaee, M., Ebadollahi, A., Wakil, W., 2019. Integrating inert dusts with other technologies in stored products protection. Toxin reviews, 40, 404-409. Doi: <https://doi.org/10.1080/15569543.2019.1633673>
- Zimmermann, G., 1993. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. Pesticide Science, 37, 375-379. Doi: <https://doi.org/10.1002/ps.2780370410>