



# Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi

## Deltametrin'in *Allium cepa* L.'daki Fizyolojik, Anatomik ve Genotoksik Etkilerinin Araştırılması

Fatih KUTLUER<sup>a</sup>, Kültiğin ÇAVUŞOĞLU<sup>b\*</sup>, Emine YALÇIN<sup>b</sup>

a Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Kırıkkale Meslek Yüksekokulu, Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale, TÜRKİYE

b Biyoloji Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Giresun Üniversitesi, Giresun, TÜRKİYE

\* Sorumlu yazarın e-posta adresi: kultigincavusoglu@mynet.com

DOI : 10.29130/dubited.457074

### ÖZET

Bu çalışmanın amacı, *Allium cepa* L.'da deltametrin'in toksik etkilerini araştırmaktır. Bu amaçla, kök uzunluğu, ağırlık kazanımı, çimlenme yüzdesi, mikronukleus (MN), kromozomal anormallik sıklığı ve anatomik değişimler ile malondialdehit (MDA) düzeyi gibi parametreler kullanılmıştır. Bulblar 1 kontrol ve 3 uygulama olarak 4 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu bulblar çeşme suyu, uygulama grubu bulblar ise deltametrinin 5, 10 ve 20 mg L<sup>-1</sup> dozları ile 72 saat muamele edilmiştir. Sonuçlar, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, tüm uygulama gruplarında, kök uzunluğunu, ağırlık kazanımı ve çimlenme yüzdesinin azaldığını, MN ve kromozomal anormalliklerin sayısının ise arttığını göstermiştir. Yapışkan kromozom, köprü, fragment, c-mitoz ve kromatinin eşit olmayan dağılımı şeklinde kromozomal anormallikler gözlenmiştir. Ayrıca, sonuçlar, deltametrinin uygulanan tüm dozlarda yassılaşmış hücre çekirdeği, nekroz, iletim dokuda bazı maddelerin birikimi, korteks hücre duvarında kalınlaşma, belirgin olmayan iletim doku ve hücre deformasyonu vb. anatomik hasarlara neden olduğunu da göstermiştir. Diğer yandan, deltametrine maruz kalan kök uçlarının MDA düzeylerinde önemli bir değişim olduğu saptanmıştır. Deltametrin uygulamasının lipid peroksidasyonunu ölçüde artırdığı ve tüm uygulama gruplarında MDA düzeylerinde bir artışa neden olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen veriler, *A. cepa* biyo-analizlerinin deltametrin'in muhtemel toksisitesini belirlemeye önemli bir indikatör olarak kullanılabilceğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Allium cepa* L., Anatomi, Fizyoloji, Genotoksitesi, Malondialdehit

## The Investigation of the Physiological, Anatomical and Genotoxic Effects in *Allium Cepa* L. of Deltamethrin

### ABSTRACT

The purpose of the present study was to investigate toxic effects of deltamethrin in *Allium cepa* L. For this purpose, we used parameters such as the root length, weight gain, germination percentage, frequency of micronucleus (MN) and chromosomal aberrations, anatomical changes with malondialdehyde (MDA) levels.

Seeds were divided into 4 groups as 1 control and 3 application groups. The seeds of control group were treated with *tap water* only, and the seeds of application group were treated with 5, 10 ve 20 mg L<sup>-1</sup> doses of deltamethrin for 72 h. The results showed that significantly reduced the, root length, weight gain and germination percentage, and the number of MN and chromosomal aberrations increased in all the application groups compared with results the control group. Chromosomal abnormalities were observed as sticky chromosome, bridge, fragment, c- mitosis and unequal distribution of chromatin. Also, results showed that deltamethrin at all doses caused anatomical damages such as flattened cell nuclei, necrosis, accumulation of some substances in the vascular tissue, thickening in the cortex cell walls, nonspecific vascular tissue and cell deformation. On the other hand, there was significant an alteration in the MDA levels of the root tips exposed to deltamethrin. Deltamethrin treatment significantly enhanced the lipid peroxidation and caused an increase in MDA levels in all treatment groups. The data obtained in this study showed that *Allium cepa* bioassays can be used as an important indicator to detect possible toxicity of deltamethrin.

**Keywords:** *Allium cepa L.*, Anatomy, Deltamethrin, Physiology, Genotoxicity, Malondialdehyde

## I. GİRİŞ

Zararlı organizmalar; insanların gıdalarında ve mallarında hasara yol açan ayrıca sağlık sorunlarına neden olan; haşereler, patojenler, yumuşakçalar, yabani otlar, kuşlar, balıklar, memeliler, solucanlar ve mikroplar şeklinde sıralanabilir [1].

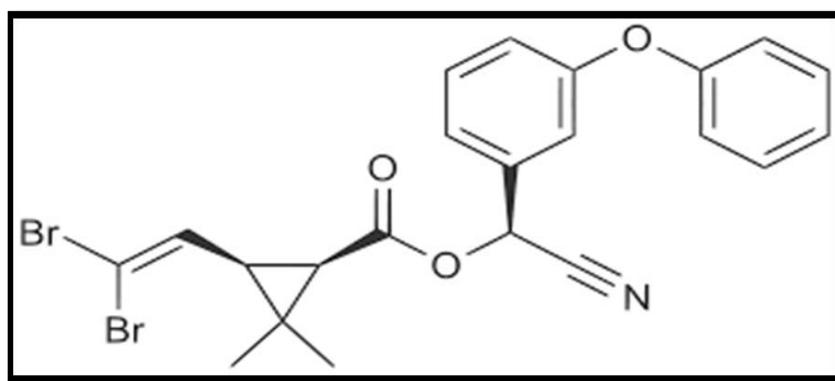
Pestisitler ise zararlıları kontrol altına almak, zararlarını azaltmak veya engellemek için kullanılan maddelerdir. Pestisit, kimyasal bir madde, bakteri veya virüs gibi biyolojik bir canlı, antimikrobiyal bir ürün veya dezenfektan vb. olabilir. Bunlardan en çok tercih edileni ise, kimyasal yapıdaki pestisitlerdir. Pestisitlerin tamamına yakını, sadece hedef organizmaya etki eden seçici bir özellik gösteremediklerinden, hedef olmayan organizmalarda da bazı hastalık ve ölümlere neden olabilmektedirler. Pestisitler besin zinciri, solunum veya temas yoluyla vücuta girerek toksik etkilere ve ciddi sağlık sorunlarına sebep olmaktadır [2].

Yapısında organofosfat, karbamat ve klorlanmış hidrokarbona sahip bazı pestisitlerin, insanlarda genotoksik etkilere neden olduğu bilinmektedir. Örneğin bu tarz pestisitlere maruz kalan tarım işçilerinde çeşitli tipte yapısal ve sayısal kromozomal anormallikleri ile kardeş kromatit değişimlerinin sayısında artış, ayrıca karaciğer, böbrek ve kaslarda ise bozukluk tespit edilmiştir [3]. Pestisitin canlılar üzerindeki etkisinin fetal dönemde başladığı, bu maddelerin insanlarda plasentadan fetüse geçerek düşüklere, hiperpigmente ve hiperkeratatik çocuk doğumlarına sebep olduğu gösterilmiştir [4]. Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalar ise radyoaktif olarak işaretlenmiş pestisitin, yaklaşık 5 saat sonra fetüse geçerek, fetüsün sinir sistemi, karaciğer ve gözüne yerleştiğini rapor etmiştir [5].

Pestisitlerin önemli bir grubu ise *insektisitlerdir*. İnsektisit zararlı böceklerle karşı kullanılan kimyasal maddelerdir. Bunlar böceklerin yumurtalarına karşı kullanılan ovisid ve larvalarına karşı kullanılan larvisidleri içerir. Günümüzde insektisitler ziraat, tip ve endüstriyel alanlar ile ev ortamında zararlı böceklerle mücadelede sıkılıkla kullanılmaktadır. Ayrıca 20. yüzyılda tarımsal verimliğin artışının arkasındaki en önemli faktörlerden biri olduğuna inanılmaktadır [2].

Deltametrin ise hamamböceği, karınca, karasinek, sivrisinek, bit, pire vb. haşereler için yaygın olarak kullanılan en etkili ve kalıcı insektisitlerden biridir. Kontakt etkili mide zehiri olarak anılır. Yaz aylarında belediyelerin sineklerle mücadele kapsamında kullandığı duman karışımının ana maddesidir. Ucuz, her yerde bulunabilmesi ve kullanım kolaylığı tercih nedenleridir [6]. Deltametrin parazitlerle mücadelede oldukça etkili olan Piretroidlerin bir üyesi olup, sentetik Dibromo-Piretroid yapısında etkili bir insektisit'dir. Piretroidlerin akut etkisine maruz kalan insanlarda sinir sistemi, gastrointestinal sistem, solunum sistemi ve kardiyovasküler sistemde hasar tespit edilmiştir. Piretroid insektisitlerin ana hedefi voltaj kapılı sodyum kanallarıdır. Söz konusu kanalların inaktivasyonunu geciktirerek hedef olmayan canlılarda nöronal eksitabiliteye yol açarlar. Akut oral LD<sub>50</sub> dozu sincanlar için 135mg kg<sup>-1</sup>'dır [7].

Bu çalışmada, tarım zararlısı böceklerle mücadelede etkin şekilde kullanılan deltametrin insektisitinin toksik etkileri *A. cepa* test materyali kullanılarak araştırılmıştır. *Allium* testi, mutagen ya da kanserojen maddelere maruz kalan sistemlerde, hasar tespiti için kullanılan birkaç direkt yöntemden biridir. Bu test diğer testlere göre, daha hızlı sonuç veren, uygulaması kolay ve oldukça düşük maliyetli bir yöntemdir. Ayrıca *Allium* testi ve kemirgenlerdeki kanserojenlik testi arasında %82'lik korelasyon olduğu saptanmış ve bu testin güvenilirliği pek çok çalışma ile doğrulanmıştır [8]. Bu bilgiler ışığında deltametrinin toksik etkileri *Allium* testi kullanılarak fizyolojik, sitogenetik ve anatomik açıdan değerlendirilmiş, kök hücrelerinde oluşan oksidatif stres ise MDA düzeyi belirlenerek araştırılmıştır.



*Sekil 1. Deltametrin'in kimyasal formülü [9]*

## II. MATERYAL VE METOT

### *A. ÇİMLENME VE PREPARASYON*

Araştırma materyali olarak ticari olarak satılan, hemen hemen aynı büyüklükteki *A. cepa* bulbrları tercih edilmiştir. TARKİM'den temin edilen ve aktif bileşen olarak 25g/L deltametrin içeren Efdal Delmetrin 25EC insektisitinin dilüsyonu ile üç farklı konsantrasyonda çözelti hazırlanmıştır. Bulbralar 1 kontrol ve 3 uygulama olarak toplam 4 gruba ayrılmış, kontrol grubundakilerçeşme suyu, uygulama grubundakiler ise deltametrinin 5, 10 ve 20 mg L<sup>-1</sup> dozlariyla muamele edilmiştir. Bulbralar 85x100 mm çapında plastik beherlerde 72 saat süresince çimlenmeye bırakılmıştır. Çimlenen bulbraların kurumasını önlemek amacıyla 24 saat aralıklarla gerekli kontroller yapılarak, solüsyonlar ilaveleri gerçekleştirilmiştir. Deneysel periyot bitiminde, kökler distile su ile yıkanmış ve geleneksel preparasyon yöntemleri uygulanarak, mikroskopik incelemelere hazır hale getirilmiştir [10].

## *B. FİZYOLOJİK PARAMETRELERİN TESPİTİ*

72 saatlik çimlenme periyodu sonunda, kök uzunlukları radikula oluşum esasına göre milimetrik cetvel yardımıyla, ağırlık artışları hassas terazi kullanılarak, uygulama öncesi ve sonrası ölçülen bulb ağırlık farklarının belirlenmesiyle, çimlenme yüzdesi ise eşitlik (1) yardımıyla tespit edilmiştir [11].

$$\text{Çimlenme Yüzdesi (\%)} = (\text{Çimlenen tohum sayısı} / \text{Toplam tohum sayısı}) \times 100 \quad (1)$$

## *C. KROMOZOMAL HASAR VE MİKRONÜKLEUS (MN) TESTİ*

Kromozomal hasarların gözlenmesi için kök uçları ortalama 1-2 cm uzunluğunda kesilerek, 2 saat 3: etanol / 1: glasial asetik asit oranında Clarke fiksatöründe tespit edilmiş, %96'lık etil alkolde 15 dakika yılanmış ve %70'lik etil alkolde +4 °C'de bekletilmiştir. Sonrasında, kök uçları 17 dakika 60 °C'de 1N hidroklorik asitte hidrolize edilmiş, %45'lik asetik asitte 30 dakika bekletilmiş, 1 gün süresince ise aseto-orsein de boyanarak, %45'lik asetik asitte ezilmiş ve x500 objektif büyütmesine sahip araştırma mikroskopunda fotoğraflanmıştır ve kromozomal anormallik tespiti için toplamda 1.000 hücre sayılmıştır [12].

MN sıklığını belirlemek amacıyla ise hazırlanan preparatlardan, her bir grupta 1.000 hücre sayılmış ve MN'lı hücreler mikroskopta 100'lük objektif altında gözlenerek x500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır. MN tespiti Fenench ve ark. [13] tarafından ortaya konulan ölçütler dikkate alınarak gerçekleştirılmıştır. Buna göre:

- MN çapı hücre nükleusunun 3'de 1'i olmalı,
- MN ve hücre nükleusunun zarları birbirlerine temas edebileceği gibi etmeyebilir de, fakat temas halinde bunun net bir şekilde gözlenebilmesi gerekmektedir,
- MN boyandığında nükleusun aldığı renge benzer renk almalıdır.

## *D. ANATOMİK HASARLARIN GÖZLENMESİ*

Anatomik hasarların tespiti amacıyla, deltametrin'in 5, 10 ve 20 mg L<sup>-1</sup> dozlarıyla muamele edilen *A. cepa* kök uçları distile su ile yılanmış, enine kesitleri alınmış, metilen mavisi (CAS Number: 61-73-4) ile boyanarak, entellan (CAS: 25608-33-7) yardımıyla daimi preparat haline getirilmiş ve x500 büyütmede araştırma mikroskopunda fotoğraflandırılmıştır.

## *E. LİPİD PEROKSİDASYONU TAYİNİ*

Lipid peroksidasyonu, Ünyayar ve ark. [14] tarafından verilen metod yardımıyla MDA miktarı ölçülerek belirlendi. Kök uçlarından alınan yaklaşık 0.5 g doku örneği, küçük parçalar halinde kesilerek, %5'lik trikloroasetik asit (TCA, CAS Number 76-03-9) ilave edilmek suretiyle homojenize edildi. Homojenatlar yeni tüplere aktarıldı ve oda sıcaklığında 12.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. %20'lik TCA solüsyonunda %0.5'lik tiyobarbitürük asit (CAS Number: 31645-12-2) ve süpernatan eşit hacimlerde yeni bir tüpe aktarılıarak, 96 °C'de 25 dakika kaynatıldı. Sonrasında tüpler buz banyosuna aktarıldı ve 10.000 rmp'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatan'ın absorbansı 532 nm'de ölçüldü ve MDA içeriği 155 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> ekstinksyon (sönümleme) katsayısı kullanılarak hesaplandı. MDA içeriğinin değerleri üç bağımsız örneklemenin ölçümlerinden alındı ve ortalama standart hata (SD) olarak belirtildi.

## F. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Değerlerin istatiksel analizi “IBM SPSS Statistics 22” paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma (SD) şeklinde gösterilmiş, ortalamaların istatistiksel önemi “One-way ANOVA ve Duncan testi” ile belirlenmiş ve  $p<0.05$  değeri istatistiksel bakımdan anlamlı kabul edilmiştir.

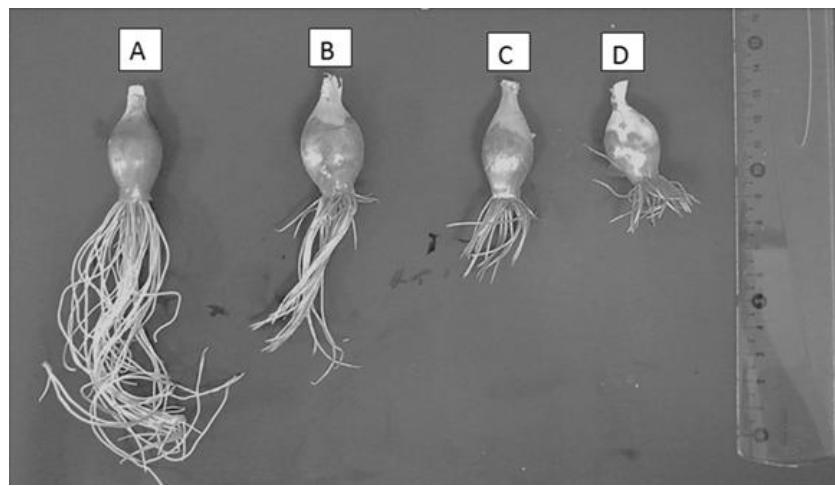
## III. ARAŞTIRMA BULGULARI

Deltametrin uygulamasının fizyolojik parametreler üzerine etkisi Tablo 1’de verilmiştir. Deltametrin uygulaması ile çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık artışında önemli azalmalar gözlenmiştir. En fazla çimlenme oranı kontrol grubunda, en az ise  $20 \text{ mg L}^{-1}$  deltametrine maruz kalan Grup IV’de belirlenmiştir. Grup I’de %100, Grup IV’de ise %43 oranında çimlenme yüzdesi belirlenmiştir. Deltametrin uygulaması kontrol grubuna göre çimlenme yüzdesini %57 oranında azaltmıştır. Deltametrin uygulamasının kök uzunluğu üzerine de ciddi toksik etkileri gözlenmiştir (Şekil 2). En fazla kök uzunluğu ortalama 9,48 cm ile kontrol grubunda, en az ise ortalama 3,17 cm ile  $20 \text{ mg L}^{-1}$  deltametrin uygulanan grupta gözlenmiştir. Kök uzunluğu deltametrin dozundaki artısla ters orantılı olarak azalmış, bu azalış da istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ) bulunmuştur. Çimlenme ve kök uzaması bulblarda ağırlık artışına yol açmaktadır. Her bir grupta ağırlık artışı gözlenmekle birlikte, bu artışların deltametrin uygulanan grplarda kontrole kıyasla oldukça düşük olduğu gözlenmiştir. En yüksek artış kontrol grubunda, en düşük ise deltametrinin  $20 \text{ mg L}^{-1}$  dozuna maruz kalan Grup IV’de tespit edilmiştir. Grup I’de ortalama 10,13 g’lık artış belirlenirken, deltametrin’in 5, 10 ve  $20 \text{ mg L}^{-1}$  dozlarıyla muamele edilen grplarda ise sırasıyla 8,09 g, 4,98 g ve 1,53 g bulb ağırlığı belirlenmiştir. Kontrol grubuna göre, deltametrin uygulanan grplarda gözlenen bu azalışların istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ) olduğu bulunmuştur.

**Tablo 1.** Deltametrinin fizyolojik parametreler üzerine etkisi

Gruplar	Ağırlık Artışı (g)	Çimlenme Yüzdesi (%)	Kök uzunluğu Ortalama (cm)
<i>Kontrol</i>	+10,13	100	$9,48 \pm 1,11^{\text{a}}$
<i>5 mg L<sup>-1</sup> Deltametrin</i>	+8,09	80	$7,74 \pm 0,92^{\text{b}}$
<i>10 mg L<sup>-1</sup> Deltametrin</i>	+4,98	63	$5,86 \pm 1,14^{\text{c}}$
<i>20 mg L<sup>-1</sup> Deltametrin</i>	+1,53	43	$3,17 \pm 0,92^{\text{d}}$

\* Değerler ortalama  $\pm$  SD olarak gösterildi ( $n=10$ ). Aynı sütunda, değişik harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p<0.05$ ).



**Sekil 2.** Deltametrinin kök uzunluğuna etkisi

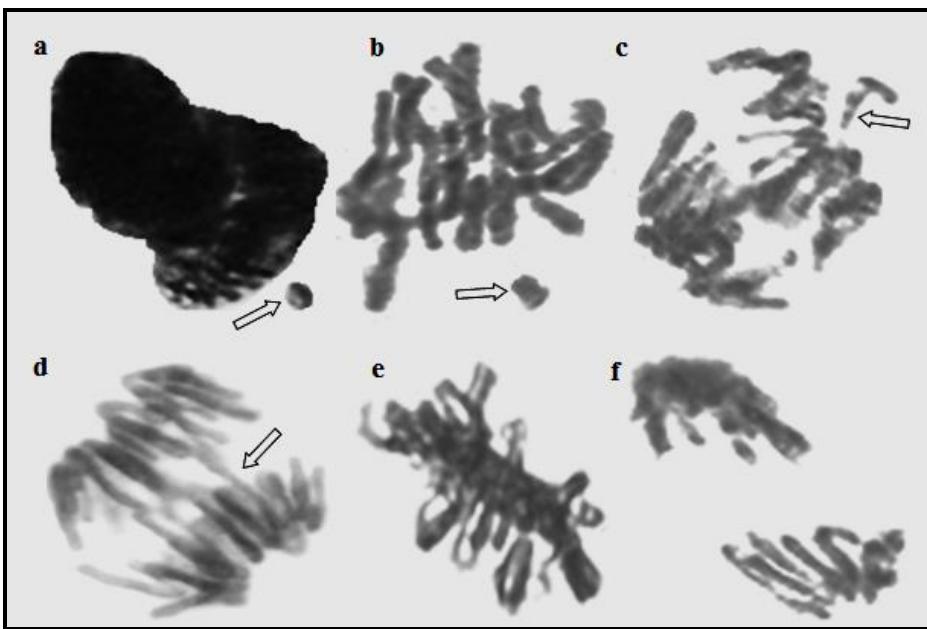
(A: Kontrol, B:  $5 \text{ mg L}^{-1}$  Deltametrin, C:  $10 \text{ mg L}^{-1}$  Deltametrin, D:  $20 \text{ mg L}^{-1}$  Deltametrin)

Deltametrin tarafından indüklenen MN oluşumu ve sıklığı Şekil 3(a) ve Tablo 2'de gösterilmiştir. Kontrol grubunda ortalama  $0,20 \pm 0,42$  oranında MN sıklığı gözlenirken, deltametrin farklı dozlarına maruz kalan gruplarda ise sırasıyla  $6,90 \pm 1,66$ ,  $16,60 \pm 2,76$  ve  $29,00 \pm 5,77$  oranında MN sıklığı elde edilmiştir. Sonuç olarak, uygulanan deltametrin dozuna bağlı olarak MN sayısı artmış, söz konusu artış da istatistik analizde anlamlı ( $p < 0,05$ ) bulunmuştur. Kök ucu hücrelerinde deltametrin uygulamasının özellikle  $20 \text{ mg L}^{-1}$  dozunda ciddi kromozomal anormalliklere sebep olduğu bulunmuştur. Deltametrinin kök hücrelerinde teşvik ettiği en önemli hasar fragment oluşumu şeklinde gerçekleşmiştir. Fragment hasarını sırasıyla; yapışkan kromozom > kromozom köprüsü > kromatinin eşit olmayan dağılımı > c-mitoz takip etmiştir. Kontrol grubunda sadece istatistiksel olarak anlamlı olmayan sayıda c-mitoz, kromatinin eşit olmayan dağılımı ve yapışkan kromozom tespit edilirken, deltametrin dozlarındaki artışla birlikte kromozomal hasar sayılarının arttığı ve bu artışın ise istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $p < 0,05$ ) belirlenmiştir.

**Tablo 2.** Deltametrin tarafından teşvik edilen MN sıklığı ve kromozomal anormallikler

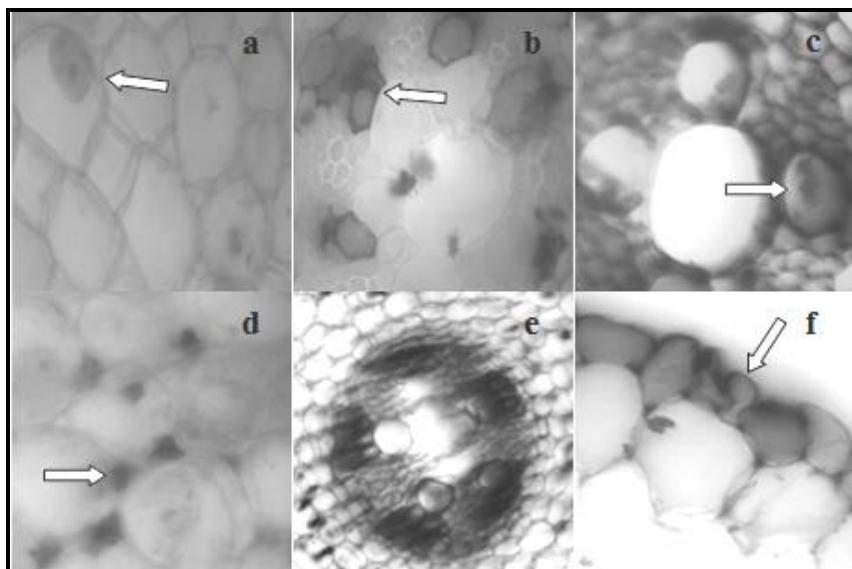
	Gruplar			
	Kontrol	$5 \text{ mg L}^{-1}$ Deltametrin	$10 \text{ mg L}^{-1}$ Deltametrin	$20 \text{ mg L}^{-1}$ Deltametrin
<b>MN Sıklığı</b>	$0,20 \pm 0,42^d$	$6,90 \pm 1,66^c$	$16,60 \pm 2,76^b$	$29,00 \pm 5,77^a$
<b>FRG</b>	$0,00 \pm 0,00^d$	$12,30 \pm 2,26^c$	$22,50 \pm 3,44^b$	$34,10 \pm 3,63^a$
<b>YK</b>	$0,20 \pm 0,42^d$	$9,20 \pm 2,39^c$	$15,40 \pm 3,31^b$	$26,00 \pm 2,94^a$
<b>KK</b>	$0,00 \pm 0,00^d$	$7,00 \pm 1,89^c$	$11,60 \pm 2,80^b$	$18,30 \pm 4,35^a$
<b>KED</b>	$0,10 \pm 0,32^d$	$4,60 \pm 0,97^c$	$6,80 \pm 1,93^b$	$12,60 \pm 2,41^a$
<b>CM</b>	$0,20 \pm 0,42^d$	$2,20 \pm 1,03^c$	$3,80 \pm 1,03^b$	$5,90 \pm 1,91^a$

\*Değerler ortalama  $\pm SD$  olarak gösterildi ( $n=10$ ). Aynı sütunduda değişik harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ). FRG: fragment, YK: yapışkan kromozom, KK: kromozom köprüsü, KED: kromatinin eşit olmayan dağılımı, CM: c-mitoz



**Şekil 3.** Deltametrin'in teşvik ettiği kromozom hasarları [a: MN, b: c-mitoz, fragment (ok), c: fragment, d: köprü, e: yapışkan kromozom, f: kromatinin eşit olmayan dağılımı]

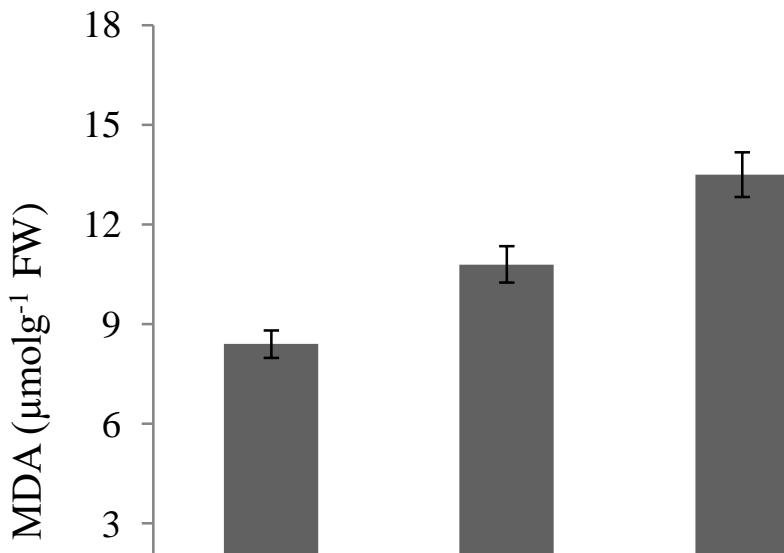
Deltametrin uygulamasının kök ucu meristem hücrelerinde meydana getirdiği değişimler Şekil 4'de gösterilmiştir. Deltametrin kök meristem hücrelerinde nekroz, yassılaşmış nukleusu, iletim dokuda bazı maddelerin birikimi, korteks hücrelerinin çeperlerinde kalınlaşma, belirsiz iletim doku ve hücre deformasyonu biçiminde uygulanan deltametrin'in dozuna bağlı olarak artan anatomik hasarlara neden olmuştur.



**Şekil 4.** Deltametrin uygulamasının sebep olduğu anatomik hasarlar (a: yassılaşmış nukleus, b: nekroz, c: bazı maddelerin birikimi, d: korteks hücre çeperlerinde kalınlaşma, e: belirsiz iletim doku, f: deformasyon)

Deltametrin uygulamasının lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesi olan MDA düzeyine etkisi Şekil 5'te gösterilmiştir. Tablodaki sonuçlardan, deltametrin uygulamasının kontrol grubuna göre MDA düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde artttığı ( $p<0.05$ ) ve bu artışında doza bağlı

olduğu görülmektedir. Kontrol grubunda ortalama  $8,40 \mu\text{mol g}^{-1}$  MDA düzeyi ölçülürken,  $5 \text{ mg L}^{-1}$  deltametrin uygulanan grupta  $10,80 \mu\text{mol g}^{-1}$ ,  $10 \text{ mg L}^{-1}$  dozunda  $13,50 \mu\text{mol g}^{-1}$  ve  $20 \text{ mg L}^{-1}$  dozunda ise  $16,30 \mu\text{mol g}^{-1}$  MDA düzeyi ölçülmüştür. Deltametrin'in  $20 \text{ mg L}^{-1}$  dozunda MDA düzeyi kontrol grubuna oranla %94'lük bir artış göstermiştir.



**Şekil 5.** Deltametrin uygulamasının kök ucu hücrelerinin MDA düzeyine etkisi. Değerler ortalama  $\pm SD$  olarak gösterildi ( $n=10$ ).

#### IV. TARTIŞMA

Bu çalışmada, deltametrinin *A. cepa*'da teşvik ettiği fizyolojik, sitogenetik ve anatominik etkiler araştırılmıştır. Fizyolojik etkiler; kök uzunluğu, ağırlık kazanımının ve çimlenme yüzdesinin belirlenmesiyle, sitogenetik etkiler; kromozomal hasar ve MN sayılarının tespitiyle, anatominik etkiler ise kök ucu hücrelerinden alınan kesitlerin mikroskopta incelenmesiyle araştırılmıştır. Ayrıca deltametrin uygulamasının kök ucu hücrelerinde sebep olduğu lipid peroksidasyonunun seviyeside MDA ölçümü ile belirlenmeye çalışılmıştır.

Sonuç olarak, deltametrin uygulamasının özellikle çimlenme gibi fizyolojik parametrelerde önemli değişimlere neden olduğu belirlenmiştir. Deltametrin uygulama dozunun artması ile çimlenme oranının azaldığı,  $20 \text{ mg L}^{-1}$  deltametrin uygulamasının çimlenme oranını kontrol grubuna kıyasla 2,32 kat azalttığı belirlenmiştir. Literatürde farklı pestisitlerin çimlenme yüzdesine etkileri üzerine gerçekleştirilmiş benzer tarzda araştırmalar mevcuttur. Örneğin Shakir ve ark. [15] deltametrin gibi piretroid yapıda olan sipermetrin ve lambda-sihalotrin pestisitlerinin *Lycopersicon esculentum* L.'da çimlenme yüzdesi üzerine etkisini araştırmışlar, sonuçta tohum çimlenme yüzdesinin azaldığı ve bu azalmanın erken büyümeye evresinde oldukça belirgin olduğunu rapor etmişlerdir. Deltametrinin kök uzunluğu üzerinde de engelleyici etki göstermiş ve  $20 \text{ mg L}^{-1}$  deltametrin uygulaması kontrol grubuna kıyasla kök uzunlığında %33,4'lük bir azalmaya neden olmuştur. Benzer şekilde Yeeken ve Adeboye [16] sipermetrin, deltametrin, lambda sihalotrin ve endosulfan pestisitlerinin *A. cepa* kök uzunlığında bir azalmaya neden olduğunu belirtmişlerdir. Özellikle dört pestisit içinde 10, 20 ve 40 ppm dozlarında bu azalmanın daha da bariz olduğu rapor edilmiştir. Çimlenmede ve kök uzamasında gözlenen toksik etkiler ağırlık kazanımına da yansımıştır. Kontrol grubundaki bulblarda 10,13 g

ağırlık artışı gözlenirken  $20 \text{ mg L}^{-1}$  deltametrin uygulanan grupta 6,62 katlık bir azalma ile sadece 1,53 g artış belirlenmiştir. Etken madde olarak piretroid yapıda lambda-sihalotrin içeren eforia insektisitinin *A. cepa*'daki toksik etkilerinin araştırıldığı benzer bir çalışmada da kontrol grubuna kıyasla ağırlık artışında belirgin azalmalar saptanmıştır [17]. Piretroid insektisitler, biyolojik aktiviteleri doğrudan kimyasal yapılarına bağlı lipofilik yapılardır. Lipofilik özelliklerinden dolayı hücre zarı yapısına katılarak çeşitli anormalliklere ve özellikle  $\text{Na}^+$  kanalı gibi zarda bulunan taşıyıcı kanallara ciddi zarar vermektedir. Bu durum hücrede transport mekanizmalarının bozulmasına, hücre içi sinyal yolaklarında duraksamalara ve çeşitli metabolik reaksiyonların inhibisyonuna neden olabilmektedir [18, 19]. Deltametrine maruz kalan kök ucu hücrelerinde oluşabilecek bu anormallikler hücrenin büyümesinde, kök uzamasında, çimlenmede ve doğal olarak ağırlık artışında anormalliklere neden olabilecektir.

Deltametrinin *A. cepa*'da neden olduğu sitogenetik etkiler MN sıklığı ve kromozomal anormallikler tespit edilerek belirlenmiştir. Deltametrin uygulanan kök ucu hücrelerinde MN sayılarında artış ile birlikte yapışkan kromozom, köprü, fragment, c-mitoz ve kromatinin eşit olmayan dağılımı şeklinde kromozomal anormallikler gözlenmiştir. Deltametrin uygulaması sonucunda oluşan yapışkan kromozomlar, kromozomların organizasyonunda görevli olan histon ve histon benzeri proteinlerindeki anormallikler sonucu oluşmaktadır. Gözlenen bu anormallikler daha çok yapısal genlerdeki mutasyon ya da toksik ajanlarla doğrudan maruziyet sonucunda meydana gelmektedir [20]. Deltametrin uygulaması ile oluşan kromatinin eşit olmayan dağılımı iğ ipliği proteinlerindeki bozulmalarla ilişkilendirilmektedir [21]. Bu bozulmalar MN oluşumu gibi başka anormalliklerin ortaya çıkmasına da katkı sağlamaktadır. Literatürde de deltametrin ya da benzer yapıdaki insektisitlerin neden olduğu sitogenetik anormalliklere rastlamak mümkündür. Chauhan ve ark. [22] deltametrinin 0,05 ile 2 ppm arasında değişen konsantrasyonlarının *A. cepa*'da kromozomal ve mitotik anormalliklere neden olduğunu rapor etmişlerdir. Yüksek konsantrasyonlarda gözlenen kromozom ve kromatit kırılmaları, bu bileşigin klastojenik etkisini ortaya koymuştur. Yekeen ve Adeboye [16] ise sipermetrin ve deltametrin gibi pestisitlerinin 1, 5, 10, 20 ve 40 ppm konsantrasyonlarının *A. cepa*'da yapışkan kromozom, iğ ipliği anormalliği ve köprü oluşumuna neden olduğunu göstermişlerdir. Saxena ve ark. [23] tarafından ise *Allium sativum* L. ve *A. cepa*'nın kök meristem hücrelerinde deltametrin sebep olduğu kromozomal ve mitotik aberasyonlar incelenmiş, sonuçta her iki test sisteminde de konsantrasyona bağlı olarak mitotik ve kromozomal anormallik sayılarında artış tespit edilmiş, ayrıca gözlenen bu artışın *A. cepa*'ya kıyasla *A. sativum* test sisteminde nispeten daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Anatomik incelemeler sonucunda deltametrin uygulamasının *A. cepa* kök meristem hücrelerinde yassılaşmış hücre çekirdeği, nekroz, iletim dokuda bazı maddelerin birikimi, korteks hücre ceperinde kalınlaşma, belirgin olmayan iletim doku ve hücre deformasyonu şeklinde hasarlara neden olduğu ve bahse konu hasarların sayısının ise uygulanan deltametrin dozuna bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Hücre ceperinde kalınlaşma ve dokularda madde birikimi daha çok deltametrin toksisitesine karşı hücre savunması için geliştirilen anatomik değişimlerdir. Nekroz ve hücre deformasyonu ise özellikle  $20 \text{ mg L}^{-1}$  deltametrin uygulamasında daha sık rastlanan anatomik hasarlardır. Kısaca hücre düşük toksisite durumlarında adaptasyon için anatomik yapıda değişimlere giderken, daha yüksek toksisiteye maruz kaldığında geri dönüşümsüz anatomik hasar meydana gelmektedir. Benzer şekilde Liu ve ark. [24] toksik ajana maruziyetin *Vicia faba* L.'de kalınlaşmış hücre duvarına neden olduğunu, bu anatomik değişimin toksik maddelerin diğer hücrelere geçişin azaltılması ile ilgili olduğunu ve toksisiteye karşı tolerans gelişliğini rapor etmişlerdir. Demirtaş ve ark. [25] 25, 50 ve 100 ppm'lik dinikanazol fungisit dozlarının, *A. cepa* kök ucu hücrelerinde hücre deformasyonu, belirgin olmayan iletim dokusu, yassılaşmış hücre çekirdeği ve nekroz gibi anatomik hasarlara yol açtığını belirtmişlerdir.

Deltametrin uygulamasının gözlenen bir diğer etkisi ise lipid peroksidasyonunun önemli bir indikatörü olarak kullanılan kök MDA düzeyine olmuştur. Uygulanan deltametrin dozuyla doğru orantılı olarak

kök MDA düzeyi de artmıştır. Literatürde deltametrinin bitkisel materyallerde teşvik ettiği lipid peroksidasyonu konusunda herhangi bir çalışma olmasa da, benzer yapıda insektisitlerin etkileri üzerine gerçekleştirilmiş bazı çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin Çavuşoğlu ve ark. [26] 6 ppm sipermetrin uygulamasının *A. cepa* kök ucu hücrelerinde MDA düzeyini 3,4 kat artırdığını rapor etmişlerdir. Benzer şekilde Kale ve arkadaşları [27] sipermetrinin hücrelerde oksidatif stres oluşturduğunu ve lipid peroksidasyonuna neden olduğunu belirtmiştir. Hücrelerde antioksidan sistem ve oksidan sistem bir denge halindedir. Bu dengenin bozulması hücrede oksidatif hasara yol açmaktadır. Antioksidan enzimlerin aktivitelerindeki azalma ya da serbest radikal oluşumundaki artış bu dengenin bozulmasında başlıca etkenlerdir. Hücre zarında oluşan oksidatif stres hücre zarındaki lipitlerin peroksidasyonuna ve MDA ara ürünün oluşmasına neden olmaktadır. Deltametrin uygulaması ile kök ucu hücrelerinde gözlenen MDA düzeyindeki artış, hücrede antioksidan-oksidan dengenin bozulduğuna işaret etmektedir.

#### IV. SONUÇ

Sonuç olarak, tarım zararlısı böceklerle mücadelede yaygın olarak kullanılan deltametrinin, yüksek konsantrasyonlara ulaşması halinde, toksik özellikler gösterebileceği *A. cepa* test materyali yardımıyla gösterilmiştir. Bu nedenle, söz konusu insektisitin kullanımının sınırlanılması yâda hedef organizmalar dışındaki canlılara toksik etkilerini en aza indirecek, tolere edilebilir konsantrasyonlarının belirlenmesi gerekmektedir.

**TEŞEKKÜR:** Bu çalışma Giresun Üniversitesi (GRÜ) Bilimsel Araştırma Projeler (BAP) Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje no: FEN-BAP-C-200515-17).

#### V. KAYNAKLAR

- [1] S. Toros, S. Maden ve S. Sözeri, *Tarımsal Savaşım Yöntem ve İlaçları*, 4. baskı, Ankara, Türkiye: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 2001, ss. 473.
- [2] Vikipedi, (6 Aralık 2016). *Pestisit*. [Online]. Erişim: <http://www.tr.wikipedia.org/wiki/Pestisit>
- [3] Y. K. Daş ve A. Aksoy, “Pestisitler,” *Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri-Farmakoloji ve Toksikoloji Özel Dergisi*, c. 2, s. 2, ss. 1-17, 2016.
- [4] R. Hu, X. Huang, J. Huang, Y. Li, C. Zhang, Y. Yin, Z. Chen, Y. Jin, J. Cai and F. Cui, “Long-and Short-Term Health Effects of Pesticide Exposure: A Cohort Study from China,” *PLoS One*, c. 10, s. 6, ss. 1-13, 2015.
- [5] B. Kara ve Z. Şimşek, “Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Pestisit Satış Yerlerinin Yasal Düzenlemelere Uygunluk Durumunun Değerlendirilmesi,” *Turkish Journal of Public Health*, c. 14, s. 1, ss. 32-42, 2016.
- [6] O. Ozkan and O. Ustuner, “Investigations about Genotoxicity of Deltamethrin,” *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, vol. 18, no. 1, pp. 69-74, 2012.
- [7] E. Ballı, S. Yalın, B. Mazmancı, M. A. Mazmancı, F. Söğüt, P. Eroğlu, D. Yetkin, S. Korkutan ve Ü. Çomelekoğlu, “Deltametrinin Oluşturduğu Periferik Sinir Hasarı Üzerine E Vitamininin Etkisinin Araştırılması,” *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, c. 7, s. 1, ss. 17-23, 2014.

- [8] J. Rank, M. H. Nielsen, "Evaluation of the Allium anaphase-telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater", *Mutation Research*, vol. 312, pp. 17- 24, 1994.
- [9] Pubchem, (25 Şubat 2019). Deltamethrine. [Online] Erişim: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>. (Description: Data deposited in or computed by PubChem).
- [10] O. X. Wei, "Mutagenic Effects of Chromium Trioxide on Root Tip Cells of *Vicia faba*," *Journal of Zhejiang University Science*, vol. 5, pp. 1570–1576, 2004.
- [11] M. Atik, O. Karagüzel ve S. Ersoy, "Sıcaklığın *Dalbergia sissoo* Tohumlarının Çimlenme Özelliklerine Etkisi," *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, c. 20, s. 2, ss. 203–210, 2007.
- [12] T. A. Staykova, E. N. Ivanova and I. G. Velcheva, "Cytogenetic Effect of Heavy Metal and Cyanide in Contaminated Waters from the Region of Southwest Bulgaria," *Journal of Cell and Molecular Biology*, no. 4, pp. 41–46, 2005.
- [13] M. Fenech, W. P Chang, M. Kirsch-Volders, N. Holland, S. Bonassi and E. Zeiger, "Human MicronNucleus Project. HUMN Project: Detailed Description of the Scoring Criteria for the Cytokinesis-Block Micronucleus Assay using Isolated Human Lymphocyte Cultures," *Mutation Research*, vol. 534, no. 1-2, pp. 65-75, 2003.
- [14] S. Unayyar, A. Celik, F. O. Cekic and A. Gozel, "Cadmium-Induced Genotoxicity, Cytotoxicity and Lipid Peroxidation in *Allium sativum* and *Vicia faba*," *Mutagenesis*, vol. 21, pp. 77–81, 2006.
- [15] S. K. Shakir, M. Kanwal, W. Murad, Z. ur Rehman, S. ur Rehman, M. K. Daud and A. Azizullah, "Effect of Some Commonly used Pesticides on Seed Germination, Biomass Production and Photosynthetic Pigments in Tomato (*Lycopersicon esculentum*)," *Ecotoxicology*, vol. 25, no. 2, pp. 329-341, 2016.
- [16] T. A. Yekeen and M. K. Adeboye, "Cytogenotoxic Effects of Cypermethrin, Deltamethrin, Lambdacyhalothrin and Endosulfan Pesticides on *Allium cepa* Root Cells," *African Journal of Biotechnology*, vol. 12, no. 41, pp. 6000-6006, 2013.
- [17] K. Cavusoglu, E. Yalcin, Z. Turkmen, K. Yapar and S. Sagir, "Physiological, Anatomical, Biochemical, and Cytogenetic Effects of Thiamethoxam Treatment on *Allium cepa* (Amaryllidaceae) L," *Environmental Toxicology*, vol. 27, no. 11, pp. 635-643, 2012.
- [18] K. J. Stelzer, M. Gordon, "Effects of pyrethroids on lymphocyte mitogenic responsiveness", *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*, vol. 46, pp.137-150, 1984.
- [19] M. R. Moya-Quiles, E. Munoz-Delgado, C. J. Vidal, "Effects of the pyrethroid insecticide permethrin on membrane fluidity". *Chemistry and Physics of Lipids*, vol. 79, pp. 21-28, 1996.
- [20] S. Türkoğlu, "Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L." *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, vol. 626, pp. 4-14, 2007.
- [21] S. M. Amer, E. M. Ali, "Cytological effects of pesticides—Effects of some herbicides on *Vicia faba*", *Cytologia*, vol. 39, pp. 633–643, 1974.

- [22] L. K. S. Chauhan, T. S. S. Dikshith and V. Sundararaman, "Effect of Deltamethrin on Plant Cells I. Cytological Effects on the Root Meristems of *Allium cepa*," *Mutation Research/Genetic Toxicology*, vol. 171, no. 1, pp. 25-30, 1986.
- [23] P. N. Saxena, R. C. Murthy and S. K. Gupta, "Evaluation of Cytogenetic Effects of Deltamethrin in Root Meristem Cells of *Allium sativum* and *Allium cepa*: A Possible Mechanism of Chromosome Damage," *Toxicological and Environmental Chemistry*, vol. 91, no. 3, pp. 577-594, 2009.
- [24] H. Y. Liu, B. Liao, S. Q. Lu, "Toxicity of surfactant, acid rain and Cd<sup>2+</sup> combined pollution to the nucleus of Vicia faba root tip cells", *Chinese Journal of Applied Ecology*, vol. 15, pp. 493-496, 2004.
- [25] G. Demirtas, K. Cavusoglu and E. Yalcin, "Anatomic, Physiologic and Cytogenetic Changes in *Allium cepa* L. Induced by Diniconazole," *Cytologia*, vol. 80, no. 1, pp. 51-57, 2015.
- [26] K. Çavuşoğlu, A. Kaya, F. Yılmaz, E. Yalçın, "Effects Of Cypermethrin on *Allium cepa*", *Environmental Toxicology*, vol. 27, no. 10, pp. 583-589, 2012.
- [27] M. Kale, N. Rathore, S. John, D. Bhatnagar, "Lipid peroxidation damage on pyrethroid exposure and alterations in antioxidant status in rat erythrocytes: A possible involvement of reactive oxygen species", *Toxicology Letters*, vol. 105, pp.197–205, 1999.