



Sipermetrinin *Begonia semperflorens*'de Polen Tüpü Oluşumu Üzerindeki Etkisi

The Effect of Cypermethrin on Pollen Tube Development of Begonia semperflorens

Özlem AKSOY^{1,*} Salih DİKİLİTAŞ² Sibel SÜTLÜOĞLU³ Duygu AYDIN⁴

¹ Biyoloji, Fen Edebiyat Fakültesi, Kocaeli Üniversitesi, Kocaeli, Türkiye, **Orcid:** 0000-0003-0969-5171

² Biyoloji, Fen Edebiyat Fakültesi, Kocaeli Üniversitesi, Kocaeli, Türkiye, **Orcid:** 0000-0002-4516-3407

³ Biyoloji, Fen Edebiyat Fakültesi, Kocaeli Üniversitesi, Kocaeli, Türkiye, **Orcid:** 0000-0002-0381-1613

⁴ Biyoloji, Fen Edebiyat Fakültesi, Kocaeli Üniversitesi, Kocaeli, Türkiye, **Orcid:** 0000-0003-4909-3562

Araştırma Makalesi

Gönderilme Tarihi : 25/02/2020

Kabul Tarihi : 29/09/2020

Anahtar Kelimeler

Begonia semperflorens
Polen Tüpü Anormalliği
Polen Çimlenmesi
Polen Tüpü Uzunluğu
Sipermetrin

Özet

Parazit öldürücü insektisit olan sipermetrin, düşük sulu çözünürlük ve ucucu özelliğe sahiptir. Evde ve açık havada kullanılan böcek öldürücü kimyasalların içerisinde bulunan sentetik bir kimyasaldır. Bu çalışmanın amacı, sipermetrinin ev ve bahçe dekorasyonlarında yaygın olarak kullanılan *Begonia semperflorens*'in polen tüpü gelişimi üzerinde etkisinin tespit edilmesidir. *B. semperflorens*'den alınan olgun anterler polen çimlendirme besiyerine (%10 süzkroz, %0.01 H₃BO₃, %0.01 CaCl₂, %0.02 MgSO₄.7H₂O, %0.01 KH₂PO₄) alındıktan sonra lam üzerine 50µl 0.12 M ve 0.24 M konsantrasyonlarında sipermetrin ile 50 µl polen çimlenme besiyeri konuldu. Kontrol grubunda ise distile su uygulanan örnekler 2., 4. ve 6. saatler sonunda polen çimlenmesi, polen tüpü uzunluğu ve polen tüpü anormalliklerini belirlemek için incelendi. 0.24 M sipermetrin uygulamasında, 4 saat sonunda polen çimlenmesinin %65 olduğu gözlenirken, kontrol grubunda bu değer %39.5 olarak saptandı. Polen tüpü uzunluğunun ise kontrol grubuna göre 0.12 M ve 0.24 M sipermetrin uygulamasında arttığı gözlemlendi. En fazla polen tüpü anormalliğinin 0.24 M sipermetrin uygulamasında 6. saatin sonunda olduğu tespit edilirken, anormallikteki artışın uygulanan sipermetrin konsantrasyonuna paralel olduğu görüldü. Elde edilen verilere göre, yüksek dozda sipermetrinin polen çimlenmesini artırdığı ancak polen tüpü uzunluklarını inhibe ettiği ve polen tüpü anormalliklerinin artmasına neden olduğu tespit edildi.

Research Paper

Received Date : 25/02/2020

Accepted Date : 29/09/2020

Keywords

Begonia semperflorens
pollen tube abnormality
pollen germination
pollen tube length
cypermethrin

Abstract

Cypermethrin is a parasitic insecticide which has low aqueous solubility and volatile properties. It is a synthetic chemical found in insecticides used at home and outdoors. The aim of this study is to determine the effect of cypermethrin on the pollen development of *Begonia semperflorens*, which is widely used in home and garden decorations. The dried anthers collected from *B. semperflorens* placed to the pollen germination medium (10% sucrose, 0.01% H₃BO₃, 0.01% CaCl₂, 0.02% MgSO₄.7H₂O, 0.01% KH₂PO₄) and were pipetted on the slide that treated with 50 µl 0.12M and 0.24M cypermethrin and 50 µl pollen germination medium. Distilled water was used for the control group. Pollen germination, pollen tube length and pollen tube abnormalities were investigated at the end of 2nd, 4th and 6th hours. Pollen germination was observed at the end of the 4th hour with a maximum of 65% at 0.24M, while this value was 39.5% in the control group. Pollen tube length increased at both 0.12M and 0.24M. The highest rate of pollen tube abnormality was found at the end of the 6th hour at 0.24M and it was seen that the increasing of abnormality was parallel to the applied cypermethrine concentration. According to the results, it was determined that high doses of cypermethrin increased pollen germination but inhibited pollen tube lengths and caused the increasing of pollen tube abnormalities.

1. Giriş

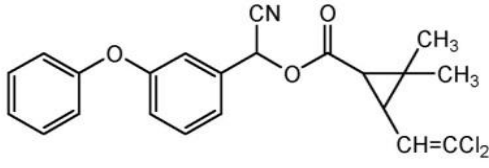
Düşük sulu çözünürlüğe ve uçucu bir özelliğe sahip olan sipermetrin [1] (Şekil. 1), pamuk güvesi ile meyve ve sebzelerdeki çeşitli güvelerin kontrolünü sağlayan [2], kentsel ve tarımsal ortamlarda yaygın olarak kullanılan bir

pestisitir [3]. Memeliler üzerinde toksik etkiye sahip olduğu tespit edilen [4, 5] sipermetrin, ağız yolu ile yüksek dozlarda alındığında kas titremesi, ataksi, uzuvlarda zayıflık, solunum yollarında konvülsiyonlar, koma ve ölüm gibi etkilere neden olduğu gözlenmiştir [6]. Sipermetrin gibi sentetik piretrin türevlerinin uygulanması, çok düşük konsantrasyonlarda bile arılar, tatlı su balıkları ve suda yaşayan hedef olmayan diğer organizmalar [7, 8, 9] ile

* Sorumlu Yazar (Corresponding Author): ozlem.aksoy@kocaeli.edu.tr



karides gibi canlıları da etkileyebilmektedir [10].



Şekil 1. Sipermetrinin moleküler formülü

B. semperflorens, gölgeli ve güneşli alanlarda yetişebilen [11], sürekli çiçek açabilen bir süs bitkisidir. Model organizma olarak kullanılan *B. semperflorens* [12, 13, 14] anterlerine, polen çimlendirme besiyerinde, bazı pestisitler uygulandığında polen tüpü gelişiminin engellendiği ve kontrole göre çeşitli anormallikler olduğu tespit edilmiştir [15].

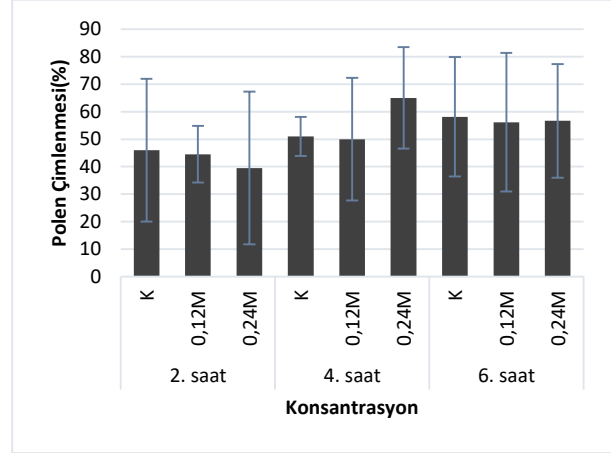
Bu çalışmanın amacı, ev ve bahçe dekorasyonlarında yaygın olarak kullanılan *B. semperflorens*'de normal polen tüpü oluşumunun in vitro koşullarda incelenmesi ve farklı konsantrasyonlarda sipermetrin uygulamasının polen tüpü oluşumundaki etkilerinin karşılaştırmalı olarak tespit edilmesidir.

2. Materyal ve Metot

B. semperflorens fideleri ticari olarak temin edildi ve olgun çiçeklerden anterler toplandı. % 10 sükröz, % 0,01 H₃BO₃, % 0,01 CaCl₂, % 0,02 MgSO₄.7H₂O, % 0,01 KH₂PO₄ içeren polen çimlendirme besiyeri hazırlanarak 5 cm x 5 cm petri kaplarına aktarıldı. Lam üzerine alınıp, ezilen anter üzerine 50 µl besiyeri ile 0,12 M ve 0,24 M konsantrasyonlarında 50 µl sipermetrin uygulandı. Kullanılan sipermetrin konsantrasyonları, evlerimizde yaygın olarak kullanılan böcek öldürücü kimyasallardaki sipermetrin konsantrasyonu baz alınarak belirlendi. Kontrol grubu için distile su kullanıldı. Daha sonra her gruptan alınan örnekler ile hazırlanan preparatlar 2., 4., ve 6. saat sonunda polen tüpü çimlenmesi, polen tüpü uzunluğu ve polen tüpü oluşumundaki anormallikleri gözlemek için ışık mikroskobu altında incelendi. Polen tüpünün doğal büyüme ve gelişmesinden farklı gerçekleşen durumlar polen tüpü anormalliği olarak kabul edilmiş ve bu anormalliklerin belirlenmesinde literatürdeki benzer çalışmalardan faydalanıldı. Tüm uygulamalar için her bir preparattan rastgele 200 polen sayıldı ve üç tekrarlı olacak şekilde preparasyon yapıldı. Verilerin istatistiksel analizi SPSS V22.0 istatistik yazılımı (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak yapıldı. Gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklar Tukey testi kullanılarak karşılaştırıldı. Veriler ortalama ± standart sapma (SS) olarak gösterildi ve P < 0,05 olarak alındı.

3. Bulgular ve Tartışma

Farklı konsantrasyonlarda ve farklı sürelerde sipermetrin uygulamasının *B. semperflorens* polenlerinin çimlenmesi üzerinde önemli bir etki göstermediği ve istatistiki olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edildi (Şekil 2).



Şekil 2. Sipermetrin uygulamasının *B. semperflorens*'de polen çimlenmesi üzerine etkisi

İnsektisit, herbisit ve fungusit gruplarından toplamda 15 pestisit in arpa bitkisinde mayoz bölünme üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, kullanılan bütün pestisitlerin polen oluşumu sırasında kromozom anormalliklerini arttırdığı tespit edilmiştir [16]. Polen gelişiminin incelendiği başka bir çalışmada, *Allium cepa* çiçeklerine uygulanan beş insektisit ve iki pestisit, polen çimlenmesi ve polen tüpü uzunluğu üzerinde önemli ölçüde inhibisyona neden olduğu tespit edilmiştir [17]. Zambon ve ark. (2018) yaptığı çalışmada, iki farklı çeşit zeytin ağacı çiçeği üzerinde dört farklı insektisit uygulanmış ve 10. gün sonunda polenler incelendiğinde, polen canlılığında azalma ve mayoz bölünme anormalliklerinde artış olduğu tespit edilmiştir. En fazla toksik etkiye sahip olan insektisit, sentetik bir piretrin türevi olan deltametrin olduğu gözlenmiştir [18]. Yapılan çalışmada, kontrol grubuna göre polen tüpü uzunluğunun ise 0,12 M sipermetrin uygulamasında artış gösterirken 0,24 M sipermetrin uygulamasında azalma gösterdiği gözlemlendi (Tablo 1). Benzer sonuçlar önceki çalışmalarda da elde edilmiştir. Ağır metaller düşük dozlarda uygulandığında polen çimlenmesi ve polen tüpü uzunluğu üzerinde uyarıcı etkisi olduğu tespit edilmiştir [19, 20, 21]. Hormesis etkisi olarak adlandırılan bu durum toksik etkiye sahip bir maddenin düşük dozlarda uyarıcı etkiye sahip olmasıdır [22, 23, 21].

Tablo 1. Sipermetrin uygulanan *B. semperflorens*'te polen tüpü uzunluğunun zamana bağlı değişimi.

Süre/Konsantrasyon	Polen tüpü uzunluğu(μm)±SS*		
	Kontrol	0,12 M	0,24 M
2. Saat	59,60±15,29 ^a	66,70±20,86 ^a	82,44±13,43 ^a
4. Saat	188,93±28,42 ^{ab}	261,32±53,75 ^a	150,93±21,86 ^b
6. Saat	344,98±40,53 ^a	349,98±60,11 ^a	202,51±42,10 ^a

*Aynı satırda aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P < 0,05).

En fazla polen tüpü anormalliğinin ise 6. saat sonunda 0.24 M sipermetrin uygulamasında olduğu görüldü (Tablo 2). Polen tüplerinde, dirsek oluşumu, tüp ucu şişmesi, tüp kıvrılması gibi anormallikler gözlemlendi (Şekil 3).

Tablo 1. Sipermetrin uygulaması ile *B. semperflorens*'te polen tüpü anormalliğinin (%) zamana bağlı değişimi

Süre /Konsantrasyon	Polen tüpü anormalliği (%) ±SS*		
	Kontrol	0,12 M	0,24 M
2.saat	4,73±2,78 ^a	7,25±2,2 ^a	13,19±1,51 ^b
4.saat	7,14±4,33 ^a	7,59±2,35 ^a	21,77±1,45 ^b
6.saat	3,96±2,39 ^a	12,39±4,77 ^b	23,53±1,02 ^c

*Aynı satırda aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P < 0,05).



Şekil 3. *B.semperflorens*'de polen tüpü anormallikleri örnekleri (A) normal polen tüpü(Kontrol grubu); (B) polen tüpü ucunda şişme(0,12 M); (C) dirsek oluşumu (0,12 M); (D) heliks oluşumu (0,24M); (E) dirsek oluşumu (0,24 M); (F) polen tüpünde kıvrılma (0,24 M).

4. Sonuçlar

Elde edilen verilere göre yüksek dozda sipermetrinin, polen çimlenmesi, polen tüpü uzunluğunu inhibe ettiği ve

polen tüpü anormalliklerinde artışa neden olduğu tespit edildi. 0,12 M ve 0,24 M sipermetrin konsantrasyonları kullanılan çalışmamızda, yüksek dozda sipermetrinin yalnızca 4.saat sonunda polen çimlenmesinde kısmi bir artış sağladığı, diğer uygulamalarda ise çimlenmeyi inhibe ettiği, düşük dozda sipermetrinin ise polen tüpü uzunluğunu arttırdığı gözlemlendi. Memeliler üzerinde yapılan çalışmalarda, sipermetrinin Swiss albino fareleri üzerinde karsinogenik etkiye sahip olduğu [24], alfametrinin ise fare kemik iliği hücrelerinde mikronükleer polikromatik eritrositlerin sıklığını arttırdığı tespit edilmiştir [25, 26]. Ayrıca alfa-sipermetrin bileşiğinin, insan periferik lenfositleri üzerinde genotoksik ve sitotoksik etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir [27]. Ülkemizde yaygın olarak kullanılan sipermetrinin miktarına bağlı olarak organizmalar üzerinde toksik etki gösterebileceği [28] ve özellikle sucul ortama karıştığında hedef olmayan organizmalara da zarar verebileceği için [29, 30] bu bileşiğin daha dikkatli şekilde kullanılması gerekmektedir. Bu çalışmanın sonuçlarının ileriki çalışmalara referans olacağı ve sipermetrinin dünya çapında kullanılan ilk beş pestisitlerden biri olması [29] nedeni ile sitotoksik ve genotoksik etkilerinin yanı sıra moleküler ve fizyolojik düzeydeki etkilerinin de incelenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

- [1] N. E. Programme, "Cypermethrin," 1989.
- [2] Farm chemicals handbook. Meister Pub. Co, 2001.
- [3] Casida J.E., 1980. Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides, Environmental Health and Perspectives, 34, 189–202.
- [4] Barlow S., Sullivan F., Lines J., 2001. Risk assessment of the use of deltamethrin on bednets for the prevention of malaria, Food Chemistry and Toxicology, 39(5), 407–422.
- [5] He F., 2000. Neurotoxic effects of insecticides--current and future research: a review., Neurotoxicology, 21(5), 829–835,
- [6] Sandhu H.S., Brar R.S., 2014. Textbook of veterinary toxicology, 1.th ed. Kalyani Publishers, New Delhi, Hindistan
- [7] Oudou H.C., Alonso R.M, Jiménez R.M., 2001. Voltammetric Study of the Synthetic Pyrethroid Insecticides Cypermethrin and Deltamethrin and Their Determination in Environmental Samples, Electroanalysis, 13(1), 72–77
- [8] Begum G., 2005. In vivo biochemical changes in

- liver and gill of *Clarias batrachus* during cypermethrin exposure and following cessation of exposure, *Pestic. Biochem. Physiol.*, 82(3), 185–196
- [9] Suvetha L., Ramesh M., Saravanan M., 2010. Influence of cypermethrin toxicity on ionic regulation and gill Na⁺/K⁺-ATPase activity of a freshwater teleost fish *Cyprinus carpio*, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 29(1), 44–49
- [10] Adhikari S., Sarkar B., Chatterjee A., Mahapatra C.T., Ayyappan S., 2004. Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost, *Labeo rohita* (Hamilton), *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 58(2), 220–226
- [11] Kessler J.R., Armitage A.M., 1993. Effects of carbon dioxide, light and temperature on seedling growth of *Begonia x semperflorens-cultorum*, *J. Hortic. Sci.*, 68(682), 281–287
- [12] Bi H., Guo M., Wang J., Qu Y., Du W., Zhang K., 2018. Transcriptome analysis reveals anthocyanin acts as a protectant in *Begonia semperflorens* under low temperature, *Acta Physiol. Plant.*, 40(1), 1–12
- [13] Zhang K.M., Yu H.J., Shi K., Zhou Y.H., Yu J.Q., Xia X.J., 2010. Photoprotective roles of anthocyanins in *Begonia semperflorens*, *Plant Sci.*, 179(3), 202–208
- [14] Jin H.J., Zhou Y.G., Liu H.C., Chen S.F., 2011. *Paenibacillus jilunlii* sp. nov., a nitrogen-fixing species isolated from the rhizosphere of *Begonia semperflorens*, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 61(6), 1350–1355
- [15] Aksoy Ö., Deveci A., Gonca A., 2013. The Effects of Some Pesticides on Pollen Germination of *Begonia semperflorens*, *J. Funct. Environ. Bot.*, 3(2), 114–119
- [16] Wu K.D., Grant W.F., 1967. Chromosomal Aberrations Induced by Pesticides in Meiotic Cells of Barley, *Cytologia*, 32(1), 31–41
- [17] Gillespie S., Long R., Seitz N., Williams N., 2014. Insecticide Use in Hybrid Onion Seed Production Affects Pre- and Postpollination Processes Insecticide Use in Hybrid Onion Seed Production Affects Pre- and Postpollination Processes, 107(1), 29–37.
- [18] Zambon C.R., Techio V.H., Fernando L., Oliveira D., De Oliveira A.F., Pio R., 2018. Abnormalities induced by agricultural pesticides in the microsporogenesis of olive tree (*Olea europaea* L.) cultivars, *Plant Biosyst.*, 153(1), 1–9
- [19] Searcy K.B., Mulcahy D.L., 1985. The parallel expression of metal tolerance in pollen and sporophytes of *Silene dioica* (L.) Clairv., *S. alba* (mill.) krause and *Mimulus guttatus* DC, *Theor. Appl. Genet.*, 69(5–6), 597–602
- [20] Sawidis T., Reiss H.D., 1995. Effects of heavy metals on pollen tube growth and ultrastructure, *Protoplasma*, 185(3–4), 113–122
- [21] Sawidis T., 2008. Effect of cadmium on pollen germination and tube growth in *Lilium longiflorum* and *Nicotiana tabacum*, *Protoplasma*, 233(1–2), 95–106
- [22] Stebbing A.R.D., 1998. A theory for growth hormesis, *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.*, 403(1–2), 249–258
- [23] Turner A.P., Dickinson N.M., Lepp N.W., *Water, air, and soil pollution.*, 57–58, 1.th ed. Kluwer Academic Publishers
- [24] Shukla Y., Yadav A., Arora A., 2002. Carcinogenic and cocarcinogenic potential of cypermethrin on mouse skin, 182, 33–41, 2002.
- [25] Benova D.K., Rupova I.M., Iagova A.K., Bineva M.V., 1989. Mutagenic effect of pesticides fastac 10 EK and durs ban 4E studied in a micronucleus test in mouse bone marrow cells, *Genetika*, 25(12), 2266–2268,
- [26] Rudek Z., Rozek M., 1992. Induction of micronuclei in tadpoles of *Rana temporaria* and *Xenopus laevis* by the pyrethroid Fastac 10 EC., *Mutat. Res.*, 298(1), 25–29
- [27] Lymphocytes B., 2009. The In Vitro Genotoxic Effects of a Commercial Formulation of a - Cypermethrin in Human Peripheral, 36
- [28] A. A. Alkahtane *et al.*, 2018. Cytotoxicity and Genotoxicity of Cypermethrin in Hepatocarcinoma Cells : A Dose- and Time-Dependent Study, 1–9
- [29] Nema S., Bhargava Y., 2018. Quantitative assessment of cypermethrin induced behavioural and biochemical anomalies in adult zebrafish, *Neurotoxicol. Teratol.*, 68, 57–65
- [30] Korkmaz V., Güngördü A., Ozmen M., 2018. Comparative evaluation of toxicological effects and recovery patterns in zebrafish (*Danio rerio*) after exposure to phosalone-based and cypermethrin-based pesticides, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 160, 265–272, 2018.