



***Allium cepa* (Amaryllidaceae) L.'da Tartrazin Uygulaması Sonucu Oluşan Fizyolojik, Sitogenetik ve Anatomik Değişimlerin Araştırılması**

Betül TAŞLI¹, Kültiğın ÇAVUŞOĞLU*¹, Emine YALÇIN¹

¹ Giresun Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Giresun, Türkiye

*Sorumlu yazar: kultigincavusoglu@mynet.com ORCID No: 0000-0002-4767-9132

(Alınış: 29.12.2017, Kabul: 23.10.2018, Online Yayınlanma: 31.12.2018)

Anahtar Kelimeler

Allium cepa L.,
Tartrazin,
Sitogenetik,
Fizyoloji,
Anatomi

Özet: Bu çalışmada; gıda katkı maddesi Tartrazin'in *Allium cepa* L. hücrelerinde meydana getirdiği fizyolojik, anatomik ve sitogenetik etkiler araştırılmıştır. Fizyolojik parametreler olarak çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık artışı; sitogenetik parametreler olarak kromozom hasarlar, mikronukleus (MN) ve mitotik indeks (MI) sıklığı; anatomik parametreler olarak ise anatomik hasarlar incelenmiştir. Uygulama grubundaki tohumlar 50, 100 ve 200 ppm dozunda Tartrazin ile 72 saat süresince muamele edilmiş ve elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık artışı, kromozom anormallikler, MI ve MN sıklığı ile kök anatomisinde önemli değişimler saptanmıştır. Tartrazin'in tüm uygulama gruplarında doza bağlı olarak çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık artışı ve MI'ı azalttığı; kromozom anormallikleri, MN sayısı ve anatomik hasarları ise arttırdığı tespit edilmiştir. Yapılan mikroskopik incelemeler sonucunda, Tartrazin uygulamasının *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde fragment, yapışkan kromozom, kromozom köprüsü, kromatinin eşit olmayan dağılımı ve C- mitoz şeklinde kromozomal hasarların oluşumunu teşvik ettiği görülmüştür. Ayrıca, Tartrazin uygulaması kök ucu hücrelerinde yassılaştırmış hücre çekirdeği, korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi, hücre deformasyonu, belirgin olmayan iletim doku, nekroz ve korteks hücre çeperlerinde kalınlaşma şeklinde anatomik hasarların oluşumuna da sebep olmuştur.

1

Investigation of the Physiological, Cytogenetic and Anatomic Changes Resulting from Tartrazine Application In *Allium cepa* (Amaryllidaceae) L.

Keywords

Allium cepa L.,
Tartrazine,
Cytogenetic,
Physiology,
Anatomy

Abstract: In this study; physiologic, anatomic and cytogenetic effects of Tartrazine as food additives on *Allium cepa* L. was investigated. Germination percentage, root length, weight gain were investigated as physiological parameters; chromosome aberrations, frequency of micronucleus (MN) and mitotic index (MI) were investigated as cytogenetic parameters, anatomical damages were investigated as anatomical parameter. The bulbs in treatment groups were treated with 50, 100 and 200 ppm Tartrazine and the results were evaluated by statistically analysis. As a result, significant changes were observed in germination percentage, root length, weight gain, chromosome aberrations, frequency of MI and MN with root anatomy. A decrease in germination percentage, root length, weight gain, MI and an increase in chromosome aberrations, MN frequency and anatomical aberration were observed in Tartrazine treated group with dose-dependent manner. As a result of the microscopic examination, it was determined that the Tartrazine induced the chromosomal aberrations in *A. cepa* L. root cells such as fragment, sticky chromosome, chromosome bridge, unequal distribution of chromatine, C-mitosis. And also, Tartrazine treatment caused anatomical changes such as flatted form of cell nucleus, accumulation of substances in cortex, cell deformation, unclear vascular tissue, necrosis and thickening in cell wall.

1. GİRİŞ

Endüstrideki hızlı gelişmeye paralel olarak, gıda katkı maddelerinin kullanımı her geçen gün geçtikçe artmaktadır [1]. Gıda katkı maddesi; gıdaların üretimi, hazırlanması, ambalajlanması ve depolanması sırasında gıdaya dayanıklılık, yoğunluk ve renk vermek amacıyla kullanılan maddelerdir [2,3].

Bu maddelerin ilk kullanımı M.Ö.'sine dayanmaktadır. M.Ö. 3000-900 yılları arasında gıdaların saklanması odun tütsüsünden, et ürünlerinin saklanmasında ise tuzdan yararlanılmıştır. Eski Romalılarda baharat olarak bilinen bazı bitkilerin ise İngiltere'de gıdalara hoş koku vermek amacıyla kullanıldığı bilinmektedir. Ayrıca, Mısır'da yiyeceklerin hazırlanmasında renklendirici maddelerin kullanıldığı tespit edilmiştir [4]. Örneğin; 1856 yılında Anilin Moru yapay boya maddesi olarak kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde ise Benzoik asit, Sakarin ve *Tartrazin* yaygın olarak kullanılan gıda katkı maddeleridir [5].

Tartrazin; sarı renkli, $534.36 \text{ g mol}^{-1}$ moleküler ağırlığa ve $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{N}_4\text{Na}_3\text{O}_9\text{S}_2$ şeklinde molekül formülüne sahip azo yapay boyar maddesidir. 25°C 'de sudaki çözünürlüğü $20 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$, gliseroldeki çözünürlüğü ise $18 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$ 'dir [6]. E102 katkı maddesi kodu ile "Acid Yellow 23", "Food Yellow 4" ve "Trisodium 1-(4-sulfonatfenil)-4-(4-sulfonatfenil azo)-5-pirazolon-3-karboksilat" isimleri ile de bilinmektedir. Tartrazinin dahil olduğu azo boyaları, -N=N-, azo grubu içeren bütün gıdaların pH aralığında kararlı ve ısıya karşı dayanıklı maddelerdir. Ayrıca ışık ya da oksijene maruz kaldıklarında renk değişimi göstermezler [7]. Tartrazin gıdalara sarı renk vermek amacıyla kullanılmakla birlikte, "Brilliant Blue FCF" ve "Green S" boyar maddeleri ile karışım halinde yeşil renk ve tonlarının oluşturulması amacıyla da faydalanılmaktadır. Özellikle dondurma, gazlı içecek ve meyveli soda üretiminde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca pasta ve şekerleme ürünleri, jöleler, aromalı içecekler ve pastacılık sektörlerinde de Tartrazin kullanılmaktadır. Gıda sektörü dışında deterjan, tarım ve temizlik ürünleri ile oyun hamurları ve oyuncak imalat sektörlerinde de renklendirici olarak kullanılmaktadır [8]. Gıdalarla birlikte vücuda alınan Tartrazin, değişikliğe uğramadan idrarla atılmakta, bir miktarı ise bağırsak mikroflorası tarafından metabolize edilmekte ve ortaya çıkan metabolitler ise barsakta absorbe edilmektedir [9]. Literatürde Tartrazinin toksik etkileri üzerine gerçekleştirilen bazı çalışmalar bulunmaktadır. Giri ve ark. [10] Tartrazin'in hamster ve rat somatik hücrelerinde kromozomal anormalliklere neden olduğunu, Sasaki ve ark. [11] ise Comet testi yardımıyla fare kolon hücrelerinde DNA hasarına yol açtığını rapor etmişlerdir. Ayrıca, Tartrazinin günlük kabul edilebilir doz değerlerinin üzerinde hayvanlarda nörotoksite, öğrenme ve hafıza kaybı bozukluklarına neden olduğu da gösterilmiştir [12].

Bu çalışmada, günlük yaşamımızda fazla miktarlarda tükettiğimiz, birçok gıda ürününün yapısında, gıda katkı maddesi olarak kullanılan Tartrazin'in *Allium cepa*

L.'daki muhtemel toksik etkileri fizyolojik, sitogenetik ve anatomik parametreler yardımıyla araştırılmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Çimlenme ve Preparasyon

Bu çalışmada, deney materyali olarak yaklaşık olarak eşit büyüklükteki *A. cepa* L. tohumları (ortalama çap: 2.2 cm) kullanılmıştır. Tohumlar bir (1) kontrol ve üç (3) uygulama olarak toplam dört (4) gruba ayrılmış, 85×100 çapında steril beherlerde 24°C 'de 72 saat süresince çimlendirilmiştir. Grup I (kontrol) çeşme suyu, Grup II 50 ppm Tartrazin, Grup III 100 ppm Tartrazin ve Grup IV ise 200 ppm Tartrazin ile muamele edilmiştir. Çimlenme sırasında tohumların kurumaması amacıyla, su ve Tartrazin seviyeleri düzenli olarak kontrol edilerek, gerekli ilaveler yapılmıştır. Uygulama periyodu sonunda, kök uçları dH_2O ile yıkanmış ve standart preparasyon teknikleri kullanılarak sitogenetik analizler için hazır hale getirilmiştir [13].

2.2. Fizyolojik Parametrelerin Ölçümü

Çimlenen tohumların kök ucu uzunlukları radikula oluşumu esas alınarak milimetrik cetvel yardımıyla, ağırlık kazanımları ise hassas terazi yardımıyla ölçülmüştür. Ağırlık kazanımı uygulama öncesi ve sonrasında elde edilen tohum ağırlık farkları dikkate alınarak belirlenmiştir. Diğer bir fizyolojik parametre olan çimlenme yüzdesi ise aşağıdaki Eşitlik 1 kullanılarak tespit edilmiştir [14].

$$\text{Çimlenme Yüzdesi (\%)} = \frac{\text{Çimlenen Tohum Sayısı}}{\text{Toplam Tohum Sayısı}} \times 100 \quad (1)$$

2.3. Sitogenetik Parametre Testleri

Kromozomal hasarların belirlenmesi amacıyla yaklaşık 1 cm uzunluğunda kesilen kök uçları 2 saat "Clarke" fiksatoründe (3:Etanol/1:Glacial Asetik Asit) fikse edilmiş, 15 dakika %96'lık etanolde yıkanmış ve $+4^\circ\text{C}$ 'de %70'lik etanolde saklanmıştır. Sonraki aşamada, kök uçları 60°C 'de 17 dk 1N HCl içerisinde hidrolize edilmiş, 30 dk %45'lik asetik asit içerisinde bekletilmiş, süre sonunda 24 saat aseto-karmin ile boyanmış, %45'lik asetik asitte ezilmiş ve binoküler araştırma mikroskopunda X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır [15].

Mikronukleus (MN) sıklığını tespit etmek için her bir uygulama grubundan toplamda 1000 hücre sayılmış ve MN içeren hücreler araştırma mikroskopunda tespit edilerek X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır. MN'li hücrelerin tespitinde Fench ve ark. [16]'nın kriterleri dikkate alınmıştır. Bu kriterlere göre;

- MN çapı, nükleus boyutunun 1/3'ü kadar veya bu orandan daha küçük olmalıdır,
- MN yuvarlak veya oval bir şekle sahip olmalıdır,
- Mikronükleer sınırlar, nükleer sınırlardan net bir biçimde ayırt edilebilir olmalıdır.

Mitotik indeks (MI) yüzdesini belirlemek için ise hazırlanan preparatlardan her grup için 10.000 hücre sayılmış ve mitozaya giren hücrelerin yüzdesi Eşitlik 2 kullanılarak tespit edilmiştir [17].

$$\text{Mitotik İndeks (MI)} = \frac{\text{Mitoza Girmiş Hücre}}{\text{Toplam Hücre Sayısı}} \times 100 \quad (2)$$

2.4. Anatmik Gözlemler

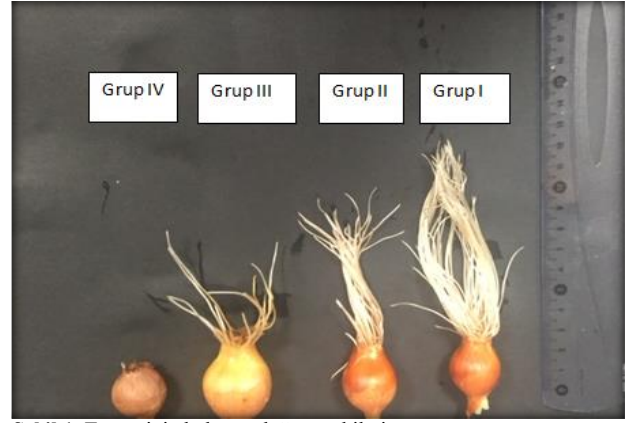
Anatomik hasarın tespiti amacıyla 50, 100 ve 200 ppm dozlarında Tartrazin ile 72 saat süresince çimlendirilen *A. cepa* L. tohumlarının kök uçlarından, süre sonunda dH₂O ile yıkanarak enine kesitler alınmış ve metilen mavisi ile boyanmıştır. Boyanan kesitler araştırma mikroskopunda incelenerek X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır [18].

2.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel verilerin analizi için SPSS for Windows V 22.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA, 2013) paket programı kullanılmıştır. Gruplar arasında istatistiksel farklılıkların değerlendirilmesi "One-way ANOVA" ve "Duncan" testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Veriler ortalama \pm SD değerleri olarak verilmiş ve p değeri 0.05'den küçük olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, gıda katkı boyar maddesi olan Tartrazin'in *A. cepa*'da çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık artışı MN sıklığı, MI, kromozomal anormollükler ve anatomik hasar oluşumu üzerine etkileri incelenmiştir. 50-200 ppm aralığında Tartrazin uygulamasının tohum çimlenmesi, ağırlık artışı ve kök uzunluğu üzerine etkileri Tablo 1'de gösterilmiştir. En yüksek çimlenme yüzdesi %97'lik oranla kontrol grubunda (Grup I), en düşük ise %43'lük oranla Tartrazin'in 200 ppm dozuyla muamele edilen Grup IV'de gözlenmiştir. 200 ppm dozunda Tartrazin uygulamasının çimlenme yüzdesini kontrol grubuna oranla 2, 3 kat azalttığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, Tartrazin uygulaması doz artışına bağlı olarak tohum çimlenme yüzdesini azaltmış, bu azalmanın da istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Tartrazin uygulamasının *A. cepa*'da kök uzunluğu üzerine etkileri ise Şekil 1 ve Tablo 1'de gösterilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde, en fazla kök uzunluğunun kontrol grubunda, en az ise Tartrazin'in 200 ppm dozu ile muamele edilen Grup IV'de olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubunda ortalama 10,90 cm, Tartrazin uygulama gruplarında ise sırasıyla 8,22 cm, 6,29 cm ve 3,39 cm kök uzunluğu ölçülmüştür. Kök uzunluğunun Tartrazin dozundaki artışa bağlı olarak azaldığı, bu azalışın da istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Ağırlık artışının Tartrazin uygulama dozunun artması ile azaldığı gözlenmiş ve kontrol grubunda ortalama 8,14 gr ağırlık kazanımı, Grup IV'de ise ortalama 0,92 gr ağırlık kazanımı elde edilmiştir. 200 ppm dozunda Tartrazin uygulaması tohum ağırlık artışını kontrol grubuna göre 8,8 kat azaltmıştır.



Şekil 1. Tartrazin'in kök uzunluğuna etkileri

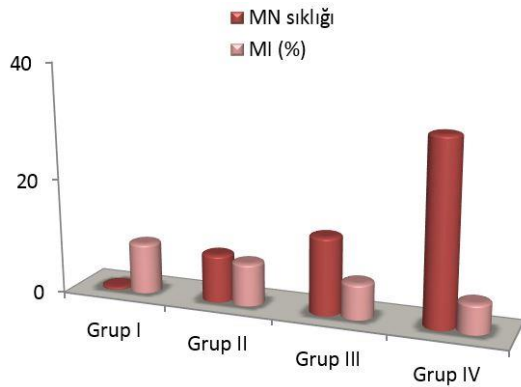
Literatürde Tartrazin'in bitkilerde çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık artışı üzerine etkilerinin incelendiği kapsamlı bir çalışma bulunmamasına rağmen, diğer kimyasal ajanlar ve ağır metal iyonları ile gerçekleştirilen benzer tarzda bazı çalışmalar bulunmaktadır. El-Barghatti ve Asoyri [19] tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, 1000 mg L⁻¹ fenol uygulamasının *A. cepa* L. tohum çimlenmesini kontrol grubuna kıyasla 18.38 kat azalttığı, Muscolo ve ark. [20] tarafından yapılan benzer bir çalışmada ise *Fagus sylvatica* L. (Avrupa kayını) ve *Pinus nigra* subsp. *laricio* Maire. (Karaçam) örneklerinde fenolik maddelerin çimlenme oranını azalttığı, bu azalışında solunum enzimlerinin inhibisyonu ile ilişkili olduğunu rapor edilmiştir. Alüminyum uygulamasının bitkilerde kök hücre bölünmesini; çinko, bakır ve kurşun uygulamasının ise kök hücre uzamasını azalttığı rapor edilmiştir [21-23]. Düşük konsantrasyonlarda Pb uygulamasının *Zea mays* L. ve *A. cepa* L.'daki kök gelişimini azalttığı [24,25], kurşun ve civa uygulamasının *Cicer arietinum* L.'da doza bağlı olarak kök büyümesini engellediği belirlenmiştir [26]. Carlson ve Donald [27] tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise Glifosfat uygulamasının *Cirsium arvense* L. 'de doza bağlı olarak kök büyümesini azalttığı saptanmıştır. Çavuşoğlu ve ark. [28], çinko ve kadmiyumun *P. vulgaris* L. tohumlarının ağırlık artışı üzerine etkilerini araştırmış, sonuçta çinko uygulamasının tohum ağırlığını kontrol grubuna göre 4.7 kat, kadmiyum uygulamasının ise 8.9 kat azalttığı belirlenmiştir. Tartrazin'in *A. cepa* L.'daki çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık artışında neden olduğu azalma, gelişme ve büyüme ile ilgili metabolik yollarda görevli enzimlerin Tartrazin tarafından inhibe edilmesi ile açıklanabilir [29,30].

Tablo 1. Tartrazin'in tohum çimlenmesi, ağırlık artışı ve kök uzunluğuna etkileri

Gruplar	Çimlendirilen tohum sayısı	Çimlenme yüzdesi (%)	Ağırlık artışı (Gr)	Kök uzunluğu (cm)
Grup I	30	97	+8,14 ^a	10,90 \pm 1,51 ^a
Grup II	30	80	+5,03 ^b	8,22 \pm 1,47 ^b
Grup III	30	67	+2,58 ^c	6,29 \pm 1,29 ^c
Grup IV	30	43	+0,92 ^d	3,39 \pm 1,31 ^d

* Veriler ortalama \pm standart sapma (SD) olarak gösterildi (n= 10). Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir ($p < 0,05$).

A. cepa L. kök ucu hücrelerinde Tartrazin'in teşvik ettiği MN sıklığı ve MI oranları Şekil 2'de gösterilmiştir. Kontrol grubunda (Grup I) çok az sayıda MN oluşumuna rastlanırken, en fazla MN oluşumu Tartrazin'in 200 ppm dozu ile muamele edilen Grup IV'de gözlenmiştir. Kontrol grubunda ortalama 0,5 oranında MN oluşumu tespit edilirken, Tartrazin uygulanan Grup II'de ortalama 8,30, Grup III'de ortalama 13,40 ve Grup IV'de ise ortalama 31,60 oranında MN oluşumu belirlenmiştir. Söz konusu gruplarda gözlenen MN sayılarındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu da tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

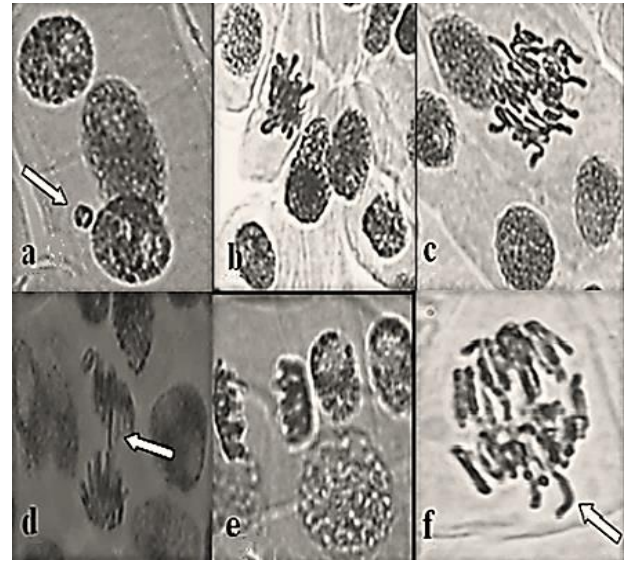


Şekil 2. Tartrazin'in MI yüzdesi ve MN oluşumu üzerine etkisi (MN 1000, MI ise 10000 hücre sayılarak hesaplandı)

Sonuç olarak, uygulanan Tartrazin'in artan dozu ile MN sıklığı arasında doğru bir orantı olduğu görülmüştür. Benzer şekilde Roychoudhury ve Giri [31] tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, Tartrazin ve Eritrozin gibi gıda katkı maddelerinin *A. cepa* L. üzerine genotoksik ve sitotoksik etkileri araştırılmış, sonuçta poliploidi hücre sayısı ve MN sıklığında artış belirlenmiştir. Fernandes ve ark. [32] tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise farklı dozlarda Trifluralin uygulamasının *A. cepa* L.'da MN sıklığını artırdığı tespit edilmiştir. MI hücre proliferasyonuna işaret eden ve sitotoksitenin değerlendirilmesinde kullanılan hassas bir parametredir. Tartrazin uygulamasının MI yüzdesini önemli oranda azalttığı belirlenmiştir. Tartrazin uygulanan Grup II'de %7,39, Grup III'de %6,18 ve Grup IV'de ise %5,16 oranında MI tespit edilmiştir. 200 ppm dozunda Tartrazin uygulamasının, kontrol grubuna oranla MI yüzdesini 1,7 kat azalttığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, Tartrazin dozundaki artış ile MI yüzdesi arasında ters bir orantının olduğu gözlenmiştir. Çalışma bulguları literatürdeki bazı çalışmalar tarafından da desteklenmektedir. Gomes ve ark. [33] Sunset, Tartrazin Sarısı ve Bordo Kırmızısı gıda boyalarının *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde MI oranını azalttığını rapor etmişlerdir. Dönbak ve ark. [34] tarafından gerçekleştirilen, benzer tarzdaki bir diğer

çalışmada ise gıdalarda antioksidan olarak kullanılan sodyum metabisülfid uygulamasının *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde MI oranını düşürdüğü rapor edilmiştir.

Tartrazin uygulamasının *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği kromozomal hasarlar Şekil 3 ve Tablo 2'de gösterilmiştir. Mikroskopik incelemeler sonucunda, Tartrazin uygulamasının kromatinin eşit olmayan dağılımı, fragment, yapışkan kromozom, köprü ve C-mitoz şeklinde kromozomal hasarlara neden olduğu belirlenmiştir. Tartrazin kromozomlar üzerine en büyük etkisi fragment oluşumu şeklinde gerçekleşmiştir. Kontrol grubunda (Grup I) birkaç yapışkan kromozom ve köprü dışında herhangi bir kromozomal hasara rastlanmamıştır. Tartrazin uygulanan gruplarda ise artan Tartrazin dozuna bağlı olarak, farklı oranda pek çok kromozomal hasar tespit edilmiştir. Ayrıca Tartrazin uygulanan gruplarda gözlenen kromozomal hasar sayılarındaki artışın, kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı olduğuda belirlenmiştir ($p < 0,05$). İndigo Karmin, Turuncu G, Tartrazin gibi boyar maddelerin toksik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde doza bağlı olarak, kromozomal hasarların arttığı rapor edilmiştir [35]. Rencüzoğulları [36] tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada gıda koruyucu maddesi sodyum metabisülfid ile muamele edilen *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde C-mitoz, anormal anafaz ve telofaz, yapışkan kromozom gibi hasarlar rapor edilmiştir.



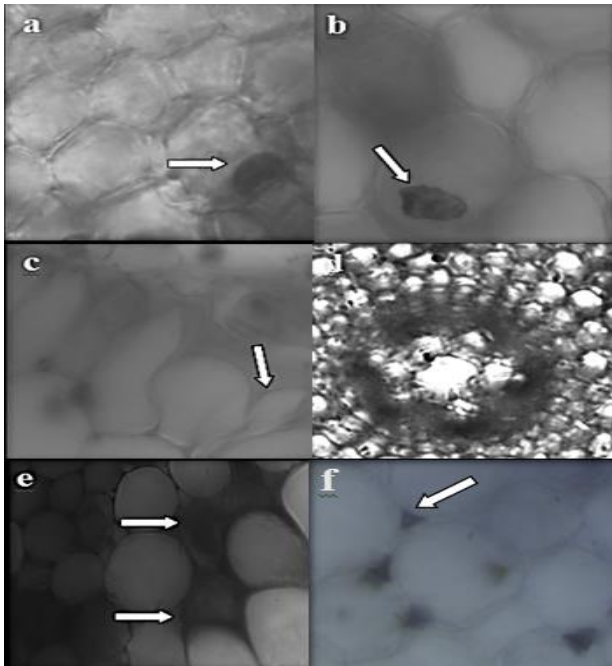
Şekil 3. Tartrazin tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar (a: MN, b: yapışkan kromozom, c: C-mitoz, d: köprü, e: kromatinin eşit olmayan dağılımı, f: fragment)

Tablo 2. Tartrazin tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar

Gruplar	FRG	YK	K	KED	CM
Grup I	0,00±0,00 ^d	0,20±0,42 ^d	0,10±0,32 ^d	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^d
Grup II	8,40±2,84 ^c	7,20±2,44 ^c	6,20±1,99 ^c	3,30±1,49 ^c	2,00±0,82 ^c
Grup III	19,10±3,76 ^b	16,80±3,52 ^b	12,70±3,06 ^b	7,20±2,15 ^b	4,50±1,35 ^b
Grup IV	31,60±4,58 ^a	26,10±3,57 ^a	21,10±3,18 ^a	15,90±3,18 ^a	9,90±2,85 ^a

* Grup I: kontrol, Grup II: 50 ppm Tartrazin, Grup III: 100 ppm Tartrazin, Grup IV: 200 ppm Tartrazin. FRG: fragment, YK: yapışkan kromozom, K: köprü, KED: kromatinin eşit olmayan dağılımı, CM: c-mitoz. Kromozomal hasarlar her bir gruptaki, her bir kök ucundan 100 hücre, toplamda ise 1000 hücre analiz edilerek hesaplandı. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 10). Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir ($p < 0,05$).

Tartrazinin *A. cepa* L. kök ucu meristematik hücrelerinde teşvik ettiği anatomik hasarlar Şekil 4'de gösterilmiştir. Mikroskopik gözlemler sonucunda, Tartrazin uygulamasının kök ucu meristematik hücrelerinde yassılaştırmış hücre çekirdeği, korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi, hücre deformasyonu, belirgin olmayan iletim doku, nekroz ve korteks hücre çeperlerinde kalınlaşma şeklinde anatomik hasarlara neden olduğu belirlenmiştir. Bu hasarların hücrelerin tartrazinin toksik etkisine karşı koruyucu ya da tolerans geliştirici mekanizmaları sonucunda oluştuğu söylenebilir. Literatürde Tartrazin'in *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği anatomik değişimler ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmasa da, diğer kimyasal ajanların sebep olduğu anatomik değişimler ile ilgili bazı çalışmalar mevcuttur. Örneğin; Çavuşoğlu ve ark. [37] tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, Glyphosate uygulamasının *A. cepa* L. kök ucu meristematik hücrelerinde; belirgin olmayan vasküler doku, belirgin olmayan epidermis tabakası, hücre deformasyonu, anormal hücre çekirdeği ve binükleuslu hücre oluşumuna neden olduğu tespit edilmiştir. Demirtaş ve ark. [38] tarafından gerçekleştirilen, benzer tarzdaki bir başka çalışmada ise Dinikanazol fungusitinin *A. cepa* L.'nin kök ucu hücrelerine olası anatomik etkileri araştırılmış, sonuçta kök uç hücrelerinde hücre deformasyonu, spesifik olmayan vasküler doku, hücre çekirdeğini düzleştiren ve nekroz gibi anatomik hasarlar tespit edilmiştir.



Şekil 4. Tartrazinin kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği anatomik hasarlar (a: yassılaştırmış hücre çekirdeği, b: korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi, c: hücre deformasyonu, d: belirgin olmayan iletim doku, e: nekroz, f: korteks hücre çeperlerinde kalınlaşma)

Günlük yaşamımızda sıkça kullandığımız gıda maddelerinin yapısında yer alan Tartrazin'in belli bir konsantrasyona ulaştığında toksik etkilere sebep olabileceği, *A. cepa* L. test materyali kullanılarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak Tartrazin gıda boya maddesinin *A. cepa* L.'da fizyolojik, sitogenetik ve anatomik

hasarlara neden olduğu, söz konusu hasarların ise uygulanan Tartrazin dozuna bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Bu nedenle, söz konusu gıda katkı maddesinin kullanılmasının zaruri olduğu ürünlerde, kullanılmadan önce mutlaka uygun doz seviyesinin ayarlanması ve toksik etkiler oluşturabilecek doz seviyelerinden kaçınılması gerekmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Giresun Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü tarafından FEN-BAP-C-200515-19 kodlu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Arslan G. Gıda katkı maddeleri ve yeni yapılan dioksimlerin gıda katkı maddesi olarak kullanılabilirliğinin incelenmesi. Konya: Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2011.
- [2] Boğa A, Binokay S. Gıda katkı maddeleri ve sağlığımıza etkileri. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi.2010; 19(3): 141-54.
- [3] Doğruyol H. Gıdalardaki katkı maddeleri ve zararları. I. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2007.
- [4] Altuğ T. Gıda katkı maddeleri. İzmir: Meta Basım; 2001.
- [5] Chakravorty A. Structure chemistry of transition metal complexes of oximes. Coord Chem Rev. 1974; 13: 1-46.
- [6] Marmion D. Colorants for foods. Kirk-othmer encyclopedia of chemical technology. New York: John Wiley & Sons; 2007.
- [7] Azo Boyalar; 2017 [cited 25.12.2017]. Available from: <http://www.food-info.net/tr/colour/azo.html>.
- [8] Elhkim MO, Héraud F, Bemrah N, Gauchard F, Lorino T, Lambré C, et al. New considerations regarding the risk assessment on Tartrazine: an update toxicological assessment, intolerance reactions and maximum theoretical daily intake in France. Regul Toxicol Pharm. 2007; 47(3): 308-16.
- [9] Watabe T, Ozawa N, Kobayashi F, Kurata H. Reduction of sulphonated water-soluble azo dyes by micro-organisms from human faeces. Food Cosmet Toxicol. 1980; 18(4): 349-52.
- [10] Giri AK, Das SK, Talukder G, Sharma . Sister chromatid exchange and chromosome aberrations induced by curcumin and tartrazine on mammalian cells in vivo. Cytobios. 1990; 62(249): 111-17.
- [11] Sasaki YF, Kawaguchi S, Kamaya A, Ohshita M, Kabasawa K, Iwama K, et al. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. Mutat Res-Gen Tox En. 2002; 519(1): 103-19.
- [12] Gao Y, Li C, Yin H, An X, Jin H. Effect of food azo dye tartrazine on learning and memory functions in mice and rats, and the possible mechanisms involved, J Food Sci. 2011; 76(6): T125-9. doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02267.x.

- [13] Qian XW. Mutagenic effects of chromium trioxide on root tip cells of *Vicia faba*. Journal of Zhejiang University-Science A. 2004; 5(12): 1570-76.
- [14] Atik M, Karagüzel O, Ersoy S. Sıcaklığın *Dalbergia sissoo* tohumlarının çimlenme özelliklerine etkisi. *Mediterr Agric Sci*. 2007; 20(2): 203-10.
- [15] Staykova T A, Ivanova E N, Velcheva IG. Cytogenetic effect of heavy-metal and cyanide in contaminated waters from the region of southwest Bulgaria. *J Cell Mol Biol*. 2005; 4(1): 41-6.
- [16] Fenech M, Chang WP, Kirsch-Volders M, Holland N, Bonassi S, Zeiger E. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutat Res-Gen Tox En*. 2003; 534(1):65-75.
- [17] Öztürk NS. İmazethapyr herbisitinin *Allium cepa* L. kök meristem hücreleri üzerine sitogenetik etkileri. Afyon: Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2013.
- [18] Makbul S, Kandemir A, Turkmen Z, Beyazoglu O. Morphological and anatomical features of *Verbascum alyssifolium* Boiss. and *Verbascum calycosum* Hausskn. ex Murb.(Scrophulariaceae). *Herb J Sys Bot*. 2008; 15: 125-140.
- [19] El-Barghathi M, Asoyri H. Effect of phenol, naphthol and gibberalic acid on seed germination of *Allium cepa* L. (Onion). *J Sci App*. 2007; 1(1): 6-13.
- [20] Muscolo A, Panuccio MR, Sidari M. Respiratory enzyme activities during germination of *Pinus laricio* seeds treated with phenols extracted from different forest soils. *Plant Growth Regul*. 2001; 35: 31-5.
- [21] Morimura S, Takahashi E, Matsumoto H. Association of aluminium with nuclei and inhibition of cell division in onion (*Allium cepa*) roots. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*. 1978; 88(5): 395-401.
- [22] Bennet RJ, Breen CM, Bandu V. Aluminium toxicity and regeneration of the root cap: preliminary evidence for a Golgi apparatus derived morphogen in the primary root of *Zea mays*. *S Afr J Bot*. 1985; 51(5): 363-70.
- [23] She Z, Wang J, Guan H. Effect of aluminium and calcium on growth of wheat seedlings and germination of seeds, *Journal of plant nutrition*. 1993; 16(11): 2135-48.
- [24] Dou ZX. The pollution in soil and its effects on plants. *Agro Environ Prot*. 1988; 7(3):38-9.
- [25] Jiang W, Liu D. Effects of Pb²⁺ on root growth, cell division, and nucleolus of *Brassica juncea* L. *Isr J Plant Sci*. 1999; 47(3): 153-6.
- [26] Çavusoglu K, Ergene A, Yalçın E, Tan S, Çavusoglu K, Yapar K. Cytotoxic effects of lead (Pb) and mercury (Hg) ions on root tip cells of *Cicer arietinum* L. *Fresen Environ Bull*. 2009; 18(9): 1654-61.
- [27] Carlson SJ, Donald WW. Glyphosate effects on Canada thistle (*Cirsium arvense*) roots, root buds, and shoots. *Weed Res*. 1988; 28(1): 37-45.
- [28] Çavusoglu K, Yalçın E, Ergene A. The cytotoxic effects of zinc and cadmium metal ions on root tip cells of *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae). *SDU J Sci (e-journal)*. 2009; 4(1): 1-11.
- [29] Azmat R, Haider S, Riaz M. An inverse relation between Pb²⁺ and Ca²⁺ ions accumulation in *Phaseolus mungo* and *Lens culinaris* under Pb stress. *Pak J Bot*. 2009; 41: 2289-95.
- [30] Walsh LM, Keeny DR. Behavior and phytotoxicity of inorganic arsenicals in soils in: arsenical pesticides. American Chemical Society Symposium Series. 1975; 7: 35-52.
- [31] Roychoudhury A, Giri AK. Effects of certain food dyes on chromosomes of *Allium cepa*. *Mut Res Gen Toxicol*. 1989; 223(3): 313-19.
- [32] Fernandes TC, Mazzeo DEC, Marin-Morales MA. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. *Pestic Biochem Phys*. 2007; 88(3): 252-59.
- [33] Gomes KMS, Oliveira MVGAD, Carvalho FRDS, Menezes CC, Peron AP. Citotoxicity of food dyes sunset yellow (E-110), bordeaux red (E-123), and tartrazine yellow (E-102) on *Allium cepa* L. root meristematic cells. *Food Sci Technol*. 2013; 33(1): 218-23.
- [34] Dönbak L, Rencüzoğulları E, Topaktas M. The cytogenetic effects of the food additive boric acid in *Allium cepa* L. *Cytologia*. 2002; 67(2): 153-57.
- [35] Türkoğlu Ş. Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. *Mutat Res-Gen Tox En*. 2007; 626(1): 4-14.
- [36] Rencüzoğulları E, Kayraldız A, İla HB, Çakmak T, Topaktaş M. the cytogenetic effects of sodium metabisulfite, a food preservative in root tip cells of *Allium cepa* L. *Turk J Biol*. 2001; 25(4): 361-70.
- [37] Çavuşoğlu K, Yalçın E, Türkmen Z, Yapar K, Çavuşoğlu K, Çiçek F. Investigation of toxic effects of the glyphosate on *Allium cepa*. *J Ag Sci*. 2011; 17: 131-42.
- [38] Demirtas G, Çavusoglu K, Yalçın E. Anatomic, physiologic and cytogenetic changes in *Allium cepa* L. induced by diniconazole. *Cytologia*. 2015; 80(1): 51-7.