

## Koruyucu Madde Paraben'in *Allium cepa* L.'daki Fizyolojik, Anatomik ve Sitogenetik Etkilerinin Araştırılması

Deniz KURT<sup>1</sup>, Kültiğin ÇAVUŞOĞLU<sup>2</sup>, Emine YALÇIN<sup>2</sup>

**ÖZET:** Bu çalışmada, günlük yaşamımızda sıkça kullandığımız kozmetik ve temizlik ürünleri başta olmak üzere, pek çok ürünün bileşiminde yer alan Metil Paraben'in *Allium cepa* L. test materyalinde teşvik ettiği toksisite fizyolojik, sitogenetik ve anatomik parametreler kullanılarak araştırılmıştır. Fizyolojik parametreler; çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık artışının ölçülmesiyle, sitogenetik parametreler; mikronukleus sıklığı, kromozomal anormallikler ve mitotik indeks değerlerinin tespitiyle, anatomik parametreler ise kök uçlarından alınan kesitlerin mikroskopta incelenmesiyle araştırılmıştır. *A. cepa* L. tohumları bir (1) kontrol ve üç (3) uygulama olmak üzere toplam dört (4) gruba ayrılmış, 72 saat süresince, kontrol grubundaki tohumlar çeşme suyu, uygulama grubundaki tohumlar ise Metil Parabenin 100, 250 ve 500 mM dozları ile muamele edilmişlerdir. Süre sonunda kök uçları rutin preparasyon işlemlerine tabi tutulmuş, boyanmış ve mikroskopik incelemeler için hazır hale getirilmiştir. Sonuçta, paraben uygulamasının doza bağlı olarak çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık artışı ve mitotik indeks değerlerinde istatistiksel olarak önemli ( $p < 0.05$ ) bir azalmaya, mikronukleus ve kromozomal anormallik sayılarında ise önemli ( $p < 0.05$ ) bir artışa neden olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, paraben uygulaması kök ucu hücrelerinde yassılaştırmış hücre çekirdeği, nekroz, korteks hücre çeperlerinde kalınlaşma, belirgin olmayan iletim doku, hücre deformasyonu ve korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi şeklinde anatomik değişimlere neden olmuştur. Sonuç olarak, paraben'in belirli bir doz seviyesinde toksik etki gösterdiği, *A. cepa* L. test materyalinin ise söz konusu etkinin belirlenmesinde oldukça kullanışlı bir biyolojik indikatör olduğu gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Allium cepa* L., anatomi, fizyoloji, genotoksisite, metil paraben

## The Investigation of Physiological, Anatomical and Cytogenetic Effects of Protective Substance Paraben in *Allium cepa* L.

**ABSTRACT:** In this study, toxicity induced by *Allium cepa* L. test material of Methyl Paraben which is included in many products, especially cosmetic and cleaning products which we use frequently in our daily life, was investigated by using physiological, cytogenetic and anatomical parameters. Physiological parameters; germination percentage, root length and weight gain, cytogenetic parameters; by determining the micronucleus frequency, chromosomal abnormalities and mitotic index, anatomical parameters were investigated by microscopic examination of the sections taken from the root tips. *A. cepa* L. seeds were divided into four (4) groups, one (1) control and three (3) applications, for 72 hours, the seeds in the control group were treated with tap water and the seeds in the treatment group were treated with doses of 100, 250 and 500 mM of Methyl Paraben. At the end of the period, root tips were subjected to routine preparations, stained and made ready for microscopic examinations. Eventually, there was a statistically significant decrease ( $p < 0.05$ ) in the germination percentage, root length, weight gain and mitotic index values of the Paraben application, although there was a statistically significant an increase ( $p < 0.05$ ) in the micronucleus and chromosomal abnormality numbers. In addition, Paraben administration has resulted in anatomical changes in the root cells of the flattened cell nucleus, necrosis, thickening of the cell walls of the cortex, nonspecific vascular tissue, cell deformation, and accumulation of certain substances in the cortex cells. As a result, it has been shown that Paraben shows toxic effect at a certain dose level and *A. cepa* L. test material is a useful biological indicator in determining its effect.

**Keywords:** *Allium cepa* L., anatomy, genotoxicity, methyl paraben, physiology

<sup>1</sup> Deniz KURT (0000-0001-5901-398X), Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji, Giresun, Türkiye

<sup>2</sup> Kültiğin ÇAVUŞOĞLU (0000-0002-4767-9132), Emine YALÇIN (0000-0002-5280-5375), Giresun Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji, Giresun, Türkiye

Sorumlu yazar/Corresponding Author: Kültiğin ÇAVUŞOĞLU, kultigincavusoglu@mynet.com

\* Bu çalışma 23-27 Haziran 2014 tarihinde Eskişehir-Türkiye'de düzenlenen 22. Ulusal Biyoloji Kongresi'nde sunulmuş ve kongre özet kitabında yayınlanmıştır.

## GİRİŞ

Doğada kendi halinde bulunabildiği gibi sentetik yollarla da üretilebilen yâda herhangi bir işlem sırasında atık olarak ortaya çıkabilen veya kazara oluşabilen element, bileşik ve karışım olarak bulunabilen maddelere kimyasal madde denir (Yücel, 2006). Kimyasal maddelerin hayatın her alanında kullanımı son yıllarda çok hızlı bir şekilde artmış, bu artış beraberinde, güvenlik sorunları ve maruziyetten kaynaklanan sağlık riskleri ile ilgili endişeleri de beraberinde getirmiştir. Yaşamı kolaylaştırmak için üretilen kimyasal maddeler, doğru ve dikkatli kullanılmadıklarında; toprak verimliliğinin azalmasına, çevre kirliliğine, üreme bozuklukları ve genetik hastalıklar ile ölüme neden olabilmektedirler. Herhangi bir kimyasalın canlı organizma üzerindeki toksik etkisi; kimyasalın dozu ve organizmada biriken konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir (Slobodkin, 1967). Bugün soluduğumuz havadan, günlük olarak kullandığımız temizlik ve makyaj malzemelerinden, cilt bakım ürünlerine kadar kimyasallar yaşamımızın her alanına girmiş durumdadır. Günlük yaşamımızda sıkça maruz kaldığımız kimyasallardan biride parabendir.

Para-hidroksibenzoik asidin esterleri olan parabenin, metilparaben, etilparaben, propilparaben ve butilparaben şeklinde farklı formları bulunmaktadır (Andersen, 2008). Parabenler; kişisel bakım, kozmetik, ilaç ve gıda ürünlerinin yapısında kullanılan koruyucu maddelerdir. Paraben içeren başlıca ürünler; el sabunları, vücut losyonları, saç kremleri, yüz losyonları, şampuanlar, yüz temizleyicileri, rujlar, maskara, saç spreyleri, duş jelleri, diş macunları ve güneş kremleri vb. şeklinde sıralanabilir (Johnsson et al., 2011; Witorsch and Thomas, 2010). Ayrıca birçok bilimsel çalışma atık su, nehir, toprak ve ev tozlarında dahi parabenlerin varlığını göstermiştir. Parabenler insan dokuları ve anne sütü, idrar ve seminal sıvı gibi vücut sıvılarında da tespit edilmiş, özellikle Meme Kanseri hastalarının meme dokularında bu kimyasal bileşiklerin keşfi, kullanımları konusunda kamuoyunu oldukça endişelendirmiştir. Özellikle koltuk altı deodorantından kaynaklanan paraben maruziyetinin, Meme Kanseri gelişim insidansını arttırdığı ve ayrıca parabenlerin östrojenik özelliklerinin de Göğüs Kanseri gelişiminde

rol oynadığı düşünülmektedir (Johnsson et al., 2011; Kirchhof and De Gannes, 2013).

Song et al., (1989) tarafından gerçekleştirilen *in vitro* bir çalışmada, 1 mg mL<sup>-1</sup> konsantrasyonunda parabene maruz bırakılan insan sperminin canlılığını yitirdiği tespit edilmiştir. Kang et al., (2002) tarafından gerçekleştirilen benzer bir çalışmada ise paraben maruziyetinin ratlarda sperm sayısı ve aktivitesinde azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada günlük yaşamda sıkça kullanılan pek çok ürünün yapısında bulunan paraben'in muhtemel toksik etkileri fizyolojik, sitogenetik ve anatomik parametreler kullanılarak *A. cepa* L. test materyali ile araştırılmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Kök Uçlarının Hazırlanması

Bu çalışmada, metil paraben'in (*Sigma Aldrich* CAS Number 99-76-3) 100, 250 ve 500 mM'lık dozları kullanılmıştır. Araştırma materyali olarak ortalama aynı büyüklükteki *A. cepa* L. tohumları seçilmiştir. Tohumlar bir (1) kontrol ve üç (3) uygulama olarak toplam dört (4) gruba ayrılmıştır. Kontrol grubundaki tohumlar çeşme suyu, uygulama grubundaki tohumlar ise sırasıyla metil paraben'in 100, 250 ve 500 mM'lık dozlarıyla muamele edilmiştir. Tohumlar 85x100 cm çapında plastik beherlere yerleştirilmiş, 25°C'de 72 saat süresince çimlendirilmiş ve çimlenme süresince kurumamaları için gerekli solüsyon ilaveleri yapılmıştır. Süre sonunda kök uçları distile su ile yıkanmış ve geleneksel ezme preparasyon işlemleri uygulanarak, sitogenetik analizler için hazır hale getirilmiştir (Wei, 2004).

### Kök Uzunluğu, Ağırlık Artışı ve Çimlenme Yüzdesinin Tespiti

Çimlenen tohumların kök uzunlukları radikula oluşumu temel alınarak milimetrik cetvel yardımıyla, ağırlık artışları ise hassas terazi yardımıyla ölçülmüştür. Ağırlık artışları uygulama öncesi ve sonrası tohum ağırlık farklarının hesaplanmasıyla tespit edilmiştir. Çimlenme yüzdesi ise "Eşitlik 1" kullanılarak belirlenmiştir (Atik ve ark., 2007).

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

### Kromozomal Anormallik, Mitotik İndeks ve Mikronukleus Testi

Kromozomal anormalliklerin tespiti için kök uçları yaklaşık 1-2 cm uzunluğunda kesilerek, 2 saat süresince "Clarke" fiksatoründe (3:etanol / 1:glasial asetik asit) bekletilmiş, 15 dk %96'lık etanol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O)'de yıkanmış ve +4 °C'de %70'lik etanolde bekletilmiştir. Daimi preparasyon için kök uçları 60 °C'de 17 dk 1N HCl'de hidrolize edilmiş ve 30 dk %45'lik asetik asitte (CH<sub>3</sub>COOH) bekletilmiştir. Son aşamada ise, kök uçları 24 saat Aseto Karmin ile boyanmış, %45'lik asetik asitte ezilmiş ve mikroskopta X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır (Staykova et al., 2005).

Mikronukleus (MN) sıklığını tespit etmek için ise her bir grupta toplam 1.000 hücre sayılmış, MN'li hücrelerin varlığı mikroskopta tespit edilerek X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır. MN'li hücrelerin tespitinde Fenech et al., (2003) tarafından öngörülen kriterler esas alınmıştır. Bu göre; MN'nin çapı, hücre nukleusunun 10/1'i kadar olmalı, MN yuvarlak yâda oval olmalı, MN'nin sınırları hücre nukleusundan net bir biçimde ayırt edilebilmeli yâda nukleus zarına temas olması halinde aradaki sınır açıkça seçilebilmelidir. Mitotik indeksi (MI) hesaplamak için hazırlanan preparatlardan her bir kök ucu için 1.000 hücre sayılmış ve mitozaya giren hücrelerin yüzdesi "Eşitlik 2" kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Mitotik İndeks (MI)} = \frac{\text{Mitoza giren hücre sayısı}}{\text{Toplam hücre sayısı}} \times 100 \quad (2)$$

### Anatomik Gözlemler

Anatomik hasarın belirlenmesi amacıyla, uygulama periyodu sonunda paraben ile muamele edilen tohumların kök uçlarından enine kesitler alınarak, metilen mavisi ile boyanmış, entellen yardımıyla kapatılarak daimi preparat haline getirilmiş ve X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır.

### İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi "IBM SPSS Statistics 22" paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterilmiş, ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "One-way ANOVA ve "Duncan" testi kullanılarak belirlenmiş ve p değeri <0.05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

Paraben uygulamasının fizyolojik parametreler olan çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık artışı üzerine etkileri Şekil 1 ve Çizelge 1'de gösterilmiştir. En fazla çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık artışı kontrol grubunda, en az ise 500 mM dozunda paraben uygulanan Grup IV'de belirlenmiştir. Kontrol grubunda %100 oranında çimlenme yüzdesi, ortalama 6.69 cm kök uzunluğu ve ortalama +7.46 g'lık bir ağırlık artışı tespit edilirken, Grup IV'de % 60 oranında çimlenme yüzdesi, ortalama 0.90 cm kök uzunluğu ve ortalama +1.44 gram ağırlık artışı ölçülmüştür. Kontrol grubuna göre, Paraben uygulanan gruplarda, ölçülen her üç fizyolojik parametrede belirlenen azalmanın da istatistiksel olarak anlamlı olduğu (p<0.05) gözlenmiştir.



Şekil 1. Paraben'in kök uzunluğuna etkisi (a: kontrol, b: 100 mM Paraben, c: 250 mM Paraben, d: 500 mM Paraben)

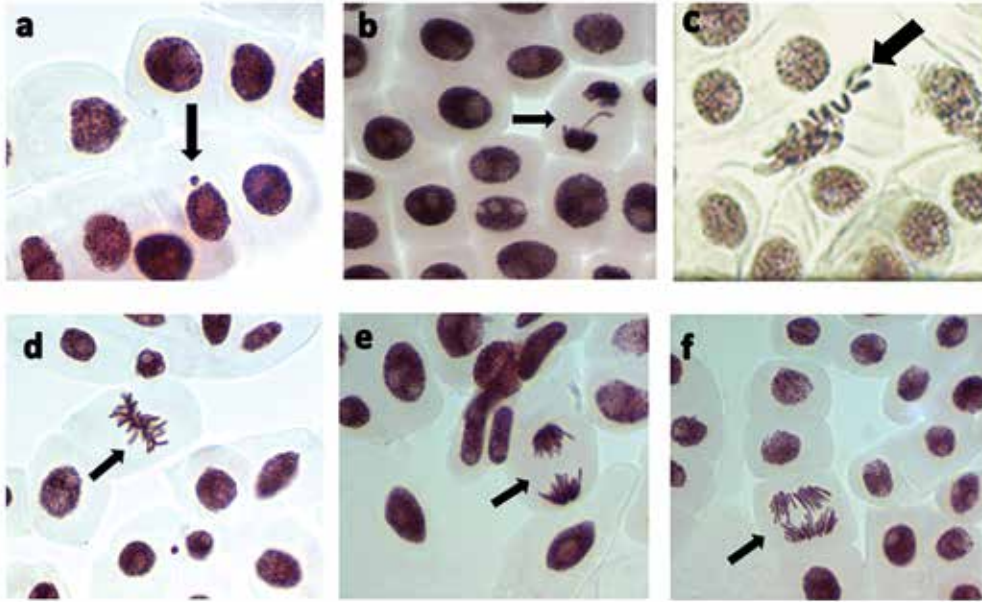
Çizelge 1. Paraben uygulamasının kök uzunluğuna (cm) etkisi

Paraben uygulama dozları	Çimlenme yüzdesi (%)	Ortalama kök uzunluğu (cm)	Ağırlık artışı (g)		
			Başlangıç	Son	Ortalama
Kontrol	100	6.69±0.94 <sup>a</sup>	8.19±1.36 <sup>c</sup>	15.65±2.38 <sup>a</sup>	+7.46
100 mM	77	4.57±0.85 <sup>b</sup>	8.09±1.42 <sup>c</sup>	13.20±2.10 <sup>b</sup>	+5.11
250 mM	70	2.57±0.43 <sup>c</sup>	8.23±1.01 <sup>c</sup>	11.73±2.25 <sup>b</sup>	+3.50
500 mM	60	0.90±0.59 <sup>d</sup>	8.25±1.86 <sup>c</sup>	9.69±2.47 <sup>c</sup>	+1.44

\*Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n=10). Çimlenme yüzdesi için n=30. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "One-way" ANOVA varyans analizi kullanılarak belirlendi. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (p<0.05)

Paraben uygulamasının kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği MN ve kromozomal hasarlar ile MI sayıları Şekil 2 ve Çizelge 2'de gösterilmiştir. Kontrol grubu kök ucu hücrelerinde MN oluşumuna rastlanmazken, paraben uygulanan kök uçlarında ise uygulanan paraben dozuna bağlı olarak, MN sıklığında belirgin bir artış tespit edilmiştir. Parabenin 100 mM, 250 mM ve 500 mM dozlarına maruz kalan gruplarda, sırasıyla ortalama 9.50, 17.40 ve 33.80 oranında MN sayılmıştır. Diğer yandan, mikroskopik incelemelerde,

kontrol grubu tohumların kök ucu hücrelerinde her hangi bir kromozomal hasar gözlenmezken, Paraben uygulanan gruplarda ise sırasıyla *fragment>yapışkan kromozom>kromozom köprüsü>kromatinin eşit olmayan dağılımı>c-mitoz* şeklinde kromozomal hasarlar gözlenmiştir. Bölünen hücrelerin sayısını gösteren MI değeri ise en fazla kontrol grubu tohumların kök ucu hücrelerinde, en az ise paraben'in 500 mM dozuna maruz kalan Grup IV'deki tohumların kök ucu hücrelerinde belirlenmiştir.



Şekil 2. Paraben tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar (a: MN, b: fragment, c: C-mitoz, d: yapışkan kromozom, e: kromatinin eşit olmayan dağılımı, f: kromozom köprüsü)

Paraben uygulamasının *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği anatomik hasarlar Şekil 3'de gösterilmiştir. Mikroskopik gözlemler sonucunda, paraben uygulanan gruplarda yassılaştırmış hücre

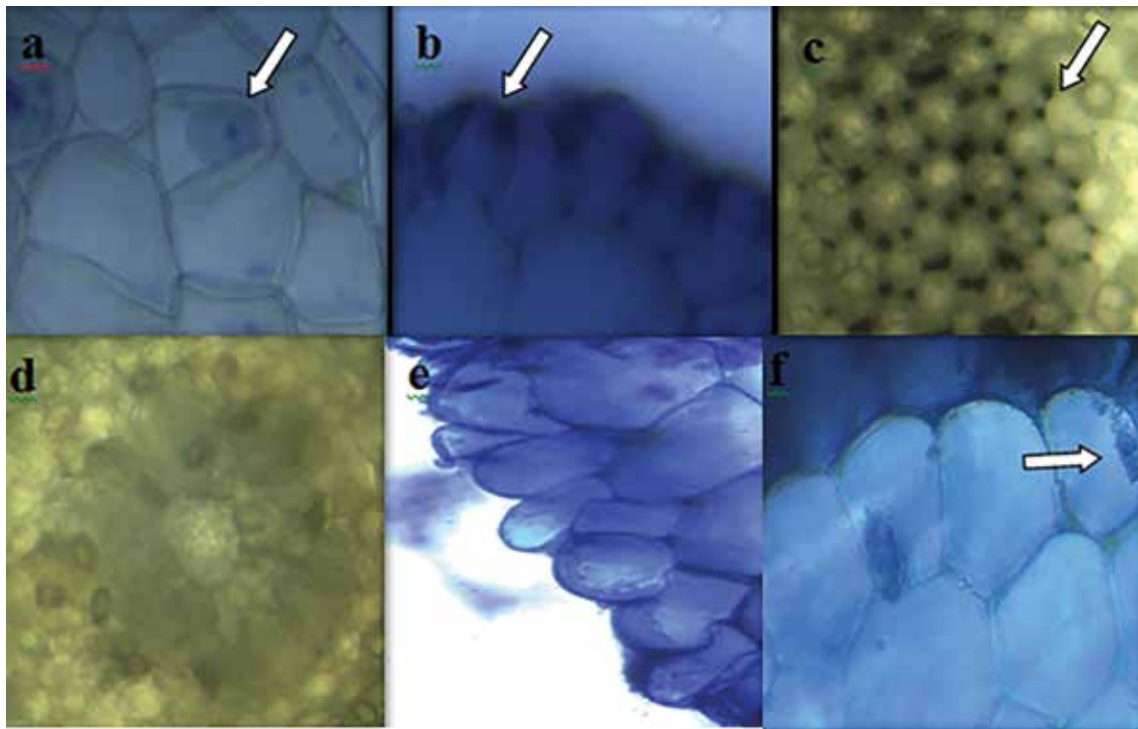
çekirdeği, nekroz, korteks hücre çeperlerinde kalınlaşma, belirgin olmayan iletim doku, hücre deformasyonu ve korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi şeklinde hasarlar gözlenmiştir.



Çizelge 2. Paraben tarafından teşvik edilen mikronukleus (MN) ve kromozomal hasarlar ve MI oranları

Paraben uygulama dozları	MN	MI (%)	FRG	YK	KK	KED	CM
Kontrol	0.00±0.00 <sup>d</sup>	9.18	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>
100 mM	9.50±3.60 <sup>e</sup>	7.84	7.20±2.44 <sup>e</sup>	6.90±1.85 <sup>c</sup>	4.30±1.64 <sup>c</sup>	3.10±1.20 <sup>c</sup>	1.70±1.06 <sup>c</sup>
250 mM	17.40±3.13 <sup>b</sup>	6.56	15.50±2.84 <sup>b</sup>	12.50±3.27 <sup>b</sup>	7.30±1.64 <sup>b</sup>	6.60±2.01 <sup>b</sup>	4.10±1.20 <sup>b</sup>
500 mM	33.80±6.03 <sup>a</sup>	4.76	34.60±6.10 <sup>a</sup>	20.10±4.18 <sup>a</sup>	13.40±2.95 <sup>a</sup>	10.30±2.75 <sup>a</sup>	7.00±1.76 <sup>a</sup>

\* Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 10). MN ve MI her bir kök ucu için 1000 hücre toplamda 10 000 hücre sayılarak, kromozomal hasarlar ise her bir gruptaki, her bir kök ucundan 100 hücre, toplamda ise 1000 hücre analiz edilerek hesaplandı. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "One-way" ANOVA varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (p<0.05). (FRG: fragment, YK: yapışkan kromozom, KK: kromozom köprüsü, KED: kromatinin eşit olmayan dağılımı, CM: c-mitoz)



Şekil 3. Paraben uygulamasının *A. cepa* kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği anatomik hasarlar (a: yassılaştırmış hücre çekirdeği, b: nekroz, c: korteks hücre çeperlerinde kalınlaşma, d: belirgin olmayan iletim doku, e: hücre deformasyonu, f: korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi)

Bu çalışmada, günlük yaşamımızda sıkça kullandığımız temizlik ve kozmetik ürünleri başta olmak üzere pek çok ürünün yapısında yer alan paraben'in *A. cepa* L. test materyalinde teşvik ettiği fizyolojik, sitogenetik ve anatomik değişimler araştırılmıştır. Fizyolojik değişimler; çimlenme yüzdesi, ağırlık artışı ve kök uzunluğu parametrelerinin ölçülmesiyle, sitogenetik değişimler MN, kromozomal anormallik ve MI sayılarının tespitiyle, anatomik değişimler ise kök ucu hücrelerinden alınan kesitlerin mikroskop altında incelenmesiyle belirlenmiştir.

Araştırma sonucunda, paraben'in uygulama dozu ile ters orantılı olarak, fizyolojik parametrelerden çimlenme yüzdesi, ağırlık artışı ve kök uzunluğunu azalttığı tespit edilmiştir. Literatürde paraben'in bitkisel kaynaklı test materyallerinde fizyolojik değişimlere sebep olduğunu gösteren çok fazla çalışma olmamasına rağmen, diğer kimyasal ajanlarla gerçekleştirilen pek çok çalışma bulunmaktadır. Örneğin Herrero et al., (2012) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, Di (2-etilheksil) Ftalat, Triklosan ve Propilparaben'in *A. cepa*'da teşvik ettiği fizyolojik değişimler araştırılmış,

sonuçta Di (2-Etilheksil) Ftalat'ın kök gelişimini inhibe edici belirgin bir etkisinin olmadığı, fakat diğer iki kimyasalın ise *A. cepa* L. kök gelişimini doza bağlı olarak inhibe ettiği rapor edilmiştir. Çavuşoğlu et al., (2012) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise 72 saat süresince Tiametoksam'ın 100, 250 ve 500 mg kg<sup>-1</sup> dozlarına maruz kalan *A. cepa* L. tohumlarının çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık artışındaki değişimler araştırılmış, sonuçta Tiametoksam'ın araştırılan her üç fizyolojik parametrede de, uygulama dozuna bağlı olarak azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir. Gupta et al., (2016) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise Çinko (Zn) (250, 500, 750, 1000 ve 1250 mg kg<sup>-1</sup>) ve Kurşun (Pb)'un (200, 400, 600, 800, 1000 mg kg<sup>-1</sup>) farklı konsantrasyonlarının soya fasulyesinin [*Glycine max* (L.) MERR] büyüme parametreleri üzerine etkileri araştırılmış, sonuçta Pb'nin uygulanan tüm konsantrasyonlarda çimlenme yüzdesi ve kök uzunluğunu kontrol grubuna göre azalttığı, Zn'nin ise düşük konsantrasyonlarda çimlenme yüzdesi ve kök uzunluğundaki artışı teşvik ettiği, yüksek dozlarda (750, 1000 ve 1250 mg kg<sup>-1</sup>) ise inhibe ettiği tespit edilmiştir.

Paraben uygulamasının bir diğer olumsuz etkisi ise sitogenetik parametreler üzerine olmuştur. Uygulanan Paraben dozuna bağlı olarak MN ve kromozomal hasar sayıları artmış, MI değeri ise önemli oranda azalmıştır. Literatürde bitkisel kaynaklı test materyallerinde paraben tarafından teşvik edilen sitogenetik değişimleri araştıran kapsamlı bir çalışma olmasa da, diğer kimyasalların sebep olduğu sitogenetik değişimleri araştıran pek çok çalışma bulunmaktadır. Örneğin Nefic et al., (2013) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, 24 saat süresince Alprazolam'ın 100, 150, 200, 250 ve 500 µg mL<sup>-1</sup> konsantrasyonlarına maruz kalan *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde nükleer ve morfolojik değişiklikler araştırılmış, sonuçta Alprazolam'ın tüm konsantrasyonlarda nükleer tomurcuklanma, parçalanmış hücre çekirdeği, apoptotik cisimler, çekirdeksiz, binükleer ve mikronukleuslu hücre oluşumu şeklinde morfolojik değişiklikler ile anafaz köprüsü, kırıklar, gecikme ve yapışkanlık, anormal spiralizasyon, çoklu kutuplaşma ve poliploidi şeklinde nükleer değişikliklere sebep olduğu, ayrıca MI azalttığı rapor edilmiştir. De Compos Venture-Camargo et al., (2016) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise Atrazin'in 0.062, 0.031, 0.015 ve 0.125 ppm konsantrasyonlarının *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde sebep olduğu genotoksisite araştırılmış, sonuçta Atrazin'in test edilen tüm konsantrasyonlarda genotoksik olduğu, kök ucu hücrelerinde MI azalttığı, ayrıca multipolar anafaz, köprü, kromozom kırığı, gecikme, c-metafaz, genetik materyalin kaybı ve

mikronukleus şeklinde kromozomal anormalliklere sebep olduğu belirlenmiştir.

Paraben uygulaması *A. cepa* L. kök uçlarında anatomik değişimlere de sebep olmuştur. 72 saat süresince paraben'in üç farklı dozuyla muamele edilen kök uçlarından alınan kesitlerin mikroskop altında incelenmesi sonucunda yassılaştırmış hücre çekirdeği, nekroz, korteks hücre çeperlerinde kalınlaşma, belirgin olmayan iletim doku, hücre deformasyonu ve korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi şeklinde anatomik hasarlar gözlenmiştir. Literatürde kök ucu hücrelerinde doğrudan paraben ile ilgili olmasa da, diğer kimyasal ajanlar tarafından sebep olunan anatomik değişimleri inceleyen bazı çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin Demirtaş et al., (2015) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, Dinikanazol'un 25, 50 ve 100 ppm dozlarının *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği anatomik değişimler araştırılmış, sonuçta Dinikanazol'un kök ucu hücrelerinde hücre deformasyonu, belirgin olmayan iletim doku, yassılaştırmış hücre çekirdeği ve nekroz şeklinde anatomik değişimlere neden olduğu rapor edilmiştir. Çavuşoğlu et al., (2012) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, Tiametoksam'ın üç farklı dozuna (100, 250 ve 500 mg kg<sup>-1</sup>) maruz kalan *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki anatomik değişimler araştırılmış, mikroskopik gözlemler sonucunda kök uçlarında nekrotik hücre ölümü, belirgin olmayan iletim doku ve epidermis tabakası ile hücre deformasyonu ve hücre çekirdeğinin olağan görünümü şeklinde anatomik hasarlar gözlenmiştir. Acar et al., (2015) tarafından gerçekleştirilen benzer tarzdaki bir başka çalışmada ise, Paraquat'ın 10, 50 ve 100 ppm dozlarının *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde meydana getirdiği anatomik değişimler araştırılmış, sonuçta kök ucu hücrelerinde hücre çekirdeğinin olağan dışı şekli, nekroz, belirgin olmayan iletim doku, iletim dokuda bazı maddelerin birikimi ve hücre deformasyonu şeklinde hasarlar tespit edilmiştir.

## SONUÇ

Günlük yaşamımızda sıkça kullandığımız pek çok ürünün yapısında yer alan paraben'in belirli bir doz seviyesinde toksik etki gösterdiği, *A. cepa* L. test materyalinin ise söz konusu toksisitenin belirlenmesinde kullanışlı bir biyolojik indikatör olduğu gösterilmiştir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmamızı FEN-BAP-C-250414-08 nolu proje ile destekleyen, Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler (BAP) Birimi Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

- Acar A, Çavuşoğlu K, Türkmen Z, Çavuşoğlu K, Yalçın E, 2015. The Investigation of Genotoxic, Physiological and Anatomical Effects of Paraquat Herbicide on *Allium cepa* L. *Cytologia* 80 (3): 343–351.
- Andersen FA, 2008. Final Amended Report on the Safety Assessment of Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Isopropylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben, and Benzylparaben As Used In Cosmetic Products. *International Journal of Toxicology*, 18 (2): 5–7.
- Atik M, Karagüzel O, Ersoy S, 2007. Sıcaklığın *Dalbergia sissoo* Tohumlarının Çimlenme Özelliklerine Etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20 (2): 203–210.
- Çavuşoğlu K, Yalçın E, Türkmen Z, Yapar K, Sağır S, 2012. Physiological, Anatomical, Biochemical and Cytogenetic Effects of Thiamethoxam Treatment on *Allium cepa* (Amaryllidaceae) L. *Environmental Toxicology*, 27 (11): 635–643.
- De Campos Ventura-Camargo B, Marin-Morales M.A, Desk S, 2016. Micronuclei and Chromosome Aberrations Derived from the Action of Atrazine Herbicide In *Allium cepa* Meristematic Cells. *SDRP Journal of Earth Sciences & Environmental Studies*, 1 (1): 1–7.
- Demirtaş G, Çavuşoğlu K, Yalçın E, 2015. Anatomic, Physiologic and Cytogenetic Changes in *Allium cepa* L. Induced by Diniconazole. *Cytologia*, 80 (1): 51–57.
- Fenech M, Chang WP, Kirsch-Volders M, Holland N, Bonassi S, Zeiger E, 2003. HUMN Project: Detailed Description of The Scoring Criteria for the Cytokinesis-Block Micronucleus Assay Using Isolated Human Lymphocyte Cultures. *Mutation Research*, 534 (1): 65–75.
- Gupta S, Meena MKR, Datta S, 2016. Effect of Selected Heavy Metals (Lead and Zinc) on Seedling Growth of Soybean *Glycine max* (L.) MERR. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8 (8): 302–330.
- Herrero O, Martín JP, Freire PF, López LC, Peropadre A, Hazen MJ, 2012. Toxicological Evaluation of Three Contaminants of Emerging Concern by Use of the *Allium cepa* Test. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 743 (1): 20–24.
- Johnsson S, Lind ML, Boman A, Liden C, 2011. Preservatives and Fragrances In Selected Consumer-available Cosmetics and Detergents. *Contact Dermatitis*, 64 (5): 265–272.
- Kang KS, Che JH, Ryu DY, Kim TW, Li GX, Lee YS, 2002. Decreased Sperm Number and Motile Activity on the F1 Offspring Maternally Exposed to Butyl P-Hydroxybenzoic Acid (Butyl Paraben). *Journal of Veterinary Medical Science*, 64 (3): 227–235.
- Kirchhof MG, de Gannes GC, 2013. The Health Controversies of Parabens. *Skin Therapy Letter*, 18 (2): 5–7.
- Nefic H, Musanovic J, Metovic A, Kurteshi K, 2013. Chromosomal and Nuclear Alterations In Root Tip Cells of *Allium cepa* L. Induced by Alprazolam. *Medical Archives*, 67 (6): 388.
- Slobodkin LB, 1967. Toward A Predictive Theory of Evolution. In Lewontin, RC. (Ed.) *Population Biology and Evolution*, 187-205 p. Proceedings International Symposium, Syracuse University and NYS Science and Technology Foundation. Syracuse University Press, Syracuse, New York.
- Song BL, Li HY, Peng DR, 1989. In Vitro Spermicidal Activity of Parabens Against Human Spermatozoa. *Contraception*, 39 (3): 331–3355.
- Staykova TA, Ivanova EN, Velcheva IG, 2005. Cytogenetic Effect of Heavy Metal and Cyanide In Contaminated Waters from the Region of Southwest Bulgaria. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 4: 41–46.
- Wei QX, 2004. Mutagenic Effects of Chromium Trioxide on Root Tip Cells of *Vicia faba*. *Journal of Zhejiang University Science*, 5: 1570–1576.
- Witorsch RJ, Thomas JA, 2010. Personal Care Products and Endocrine Disruption: A Critical Review of The Literature. *Critical Reviews in Toxicology*, 40 (3): 1–30.
- Yücel, 2006. *Canlılar ve Çevre*. <http://docplayer.biz.tr/4935493-Canlılar-ve-cevre-unite-amaclar-icindekiler-yazar-doc-dr-ersin-yucel.html>. (Erişim tarihi: 26 Ekim, 2017).