

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Yüksek Lisans Tezi

Drosophila melanogaster'in
OREGON R YABANIL ve *Vestigial* MUTANT SOYLARINDA
EKSTREM SICAKLIK ŞARTLARININ ÖMÜR UZUNLUĞU
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ARİF AYAR

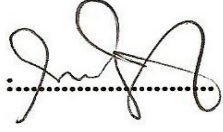
Yrd. Doç. Dr. Handan UYSAL

2008

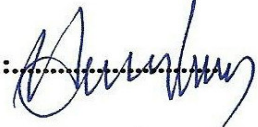
Her hakkı saklıdır.

Yrd. Doç. Dr. Handan UYSAL danışmanlığında, **Arif AYAR** tarafından hazırlanan bu çalışma, **18/ 07/ 2008** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **Biyoloji** Anabilim Dalı'nda **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

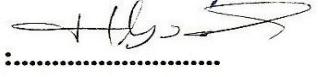
Başkan : Prof. Dr. Rüstem HAYAT

İmza :.....

Üye : Doç. Dr. Yusuf KAYA

İmza :.....

Üye : Yrd. Doç. Dr. Handan UYSAL

İmza :.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

(İmza)

Prof. Dr. Mehmet ERTUĞRUL

Enstitü Müdürü

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Drosophila melanogaster'in OREGON R YABANIL ve *Vestigial*
MUTANT SOYLARINDA EKSTREM SICAKLIK ŞARTLARININ
ÖMÜR UZUNLUĞU ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ARİF AYAR

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ERZURUM
2008

Her hakkı saklıdır.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

***Drosophila melanogaster*'in OREGON R YABANIL ve *Vestigial* MUTANT SOYLARINDA EKSTREM SICAKLIK ŞARTLARININ ÖMÜR UZUNLUĞU ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Arif AYAR

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Handan UYSAL

Bu çalışmada, günümüzün en önemli çevre sorunlarından birisi olan küresel ısınmanın etkilerini belirlemek için, ekstrem sıcaklık şartlarının *Drosophila melanogaster* Oregon R yabanıl ve *Vestigial* mutant soylarının ömür uzunluğu üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla deney gruplarına farklı sürelerde (1, 2 ve 3 saat) 39°C sıcak şoku ve -3°C soğuk şoku uygulanmıştır. Kontrol ve deney gruplarından elde edilen verilere göre, hem Oregon R yabanıl, hem de *Vestigial* mutant soyların dişi ve erkek gruplarında artan uygulama sürelerine paralel olarak ortalama ömür uzunluklarının kısaldığı tespit edilmiştir. Kontrol ve deney grupları arasında ortaya çıkan ömür uzunluğu farklılıkları, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$ veya $p<0,001$).

2008, 73 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Drosophila melanogaster*, Ömür Uzunluğu, Küresel ısınma, Sıcak şoku, Soğuk şoku

ABSTRACT

Master Thesis

INVESTIGATION OF EFFECTS OF EXTREME TEMPERATURE CONDITIONS ON LONGEVITY OF OREGON R WILD and *Vestigial* MUTANT STRAINS OF *Drosophila melanogaster*

Arif AYAR

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Handan UYSAL

In this study, extreme temperature condition on longevity of Oregon R wild and *Vestigial* mutant strains of *Drosophila melanogaster* were investigated to evaluate the effects of global warming which is one of the most important environmental problems in these days. For this purpose, test groups were exposed at 39°C heat shock and -3°C cold shock in different periods (1, 2 and 3 hours). According to the data obtained from control and test groups, it is confirmed that mean life span decreased in parallel with increasing application periods in female and male groups of Oregon R wild and *Vestigial* mutant strains. The longevity differences appeared between control and test groups were found statistically to be significant ($p<0,05$ or $p<0,001$).

2008, 73 pages

Keywords: *Drosophila melanogaster*, Longevity, Global warming, Heat shock, Cold shock

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Genetik Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Öncelikle, bu çalışmanın planlanmasında ve yürütülmesinde büyük emeği geçen, yapıcı eleştirileri ile bana yol gösteren ve yardımlarını hiç esirgemeyen çok değerli hocam, tez danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Handan UYSAL'a en içten şükranlarımı sunarım.

Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ö. Faruk ALGUR'a, çalışmalarım sırasında her konuda tecrübe ve önerilerinden faydalandığım Biyoloji Bölümü'nün tüm öğretim elemanlarına ve gerek çalışmalarım, gerekse tezin yazımında bana yardımcı olan değerli arkadaşlarım Deniz ALTUN ve Mehmet KARADAYI'ya teşekkür ederim.

Ayrıca, çalışmalarım sırasında destek ve teşviklerini hiçbir zaman esirgemeyen eşim Elif AYAR'a ve aileme teşekkürü borç bilirim.

Arif AYAR

Temmuz 2008

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Yaşlanma Teorileri	2
1.1.1. Somatik mutasyon teorisi	2
1.1.2. Serbest radikal teorisi	2
1.1.3. Genetik yaşlanma teorisi	4
1.1.4. Hücre yaşlanma teorisi	4
1.1.5. İmmünolojik teori	4
1.1.6. Endokrin teori	5
1.1.7. Nöroendokrin teori	5
1.1.8. Mutasyon birikimi teorisi	6
1.1.9. Antagonistik pleiotropi teorisi	7
1.2. Ömür Uzunluğunu Etkileyen Faktörler	7
1.2.1. İç Faktörler	7
1.2.1.a. Anasal yaş	7
1.2.1.b. Yumurta üretimi (Fekundite)	8
1.2.1.c. Eşeylik	8
1.2.1.d. Genetik yapı	8
1.2.2. Dış (Çevresel) Faktörler	9
1.2.2.a. Beslenme	9
1.2.2.b. Radyasyon	9
1.2.2.c. Populasyon yoğunluğu	10
1.2.2.d. Işık	10

1.2.2.e. Sıcaklık	10
2. KAYNAK ÖZETLERİ	16
3. MATERYAL ve YÖNTEM	23
3.1. Kullanılan Organizma	23
3.1.1. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in yaşam döngüsü	27
3.2. Deney Koşulları	28
3.2.1. Çevre koşulları	28
3.2.2. Besin ortamının hazırlanması	28
3.2.3. Bayıltma yöntemi	29
3.3. Deneyin Yapılışı	29
3.3.1. Sıcak şoku uygulaması	30
3.3.2. Soğuk şoku uygulaması	30
3.4. İstatistiksel Yöntemler	31
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	32
4.1. Sıcak Şokunun Ömür Uzunluğuna Etkisi	32
4.1.1. Sıcak şokunun Oregon R yabanıl soyu ömür uzunluğu üzerine etkisi	32
4.1.2. Sıcak şokunun <i>Vestigial</i> mutant soyu ömür uzunluğu üzerine etkisi	38
4.2. Soğuk Şokunun Ömür Uzunluğuna Etkisi	44
4.2.1. Soğuk şokunun Oregon R yabanıl soyu ömür uzunluğu üzerine etkisi	44
4.2.2. Soğuk şokunun <i>Vestigial</i> mutant soyu ömür uzunluğu üzerine etkisi	50
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	57
KAYNAKLAR	67
ÖZGEÇMİŞ	74

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

C	Santigrat
cm	Santimetre
cc	Santimetreküp (= mililitre)
Cu	Bakır
dk	Dakika
g	Gram
H	Hidrojen
kD	Kilodalton
mg	Miligram
ml	Mililitre
Zn	Çinko
°	Derece
%	Yüzde değer
♀♀	Dişi
♂♂	Erkek

Kısaltmalar

Hsp	Heat shock protein = Sıcak şoku proteini
LD ₅₀	Canlının %50'sini Öldüren Doz
RCH	Rapid cold hardening = Hızlı, kademeli soğuk dondurma
SDB	Standart <i>Drosophila</i> Besiyeri
S.H.	Standart hata
W.t.	Wild type = Yabanıl tip

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. <i>Drosophila melanogaster</i> Oregon R soyu (yabanıl tip) erkek ve dişi bireyleri	23
Şekil 3.2. <i>Drosophila melanogaster Vestigial</i> mutant soyu erkek ve dişi bireyleri	24
Şekil 3.3. <i>Drosophila melanogaster</i> 'de eşey tırağı (metatarsal tarak)	25
Şekil 3.4. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in gelişim evreleri	27
Şekil 4.1. <i>Drosophila melanogaster</i> Oregon R yabanıl soyu ♀♀ popülasyonlarının farklı sürelerde sıcak şoku uygulanmış ve uygulanmamış (Kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri	34
Şekil 4.2. <i>Drosophila melanogaster</i> Oregon R yabanıl soyu ♂♂ popülasyonlarının farklı sürelerde sıcak şoku uygulanmış ve uygulanmamış (Kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri	35
Şekil 4.3. Sıcak şoku uygulanmış <i>Drosophila melanogaster</i> Oregon R yabanıl soyu ♀♀ bireylerine ait % 95 güven aralıkları	36
Şekil 4.4. Sıcak şoku uygulanmış <i>Drosophila melanogaster</i> Oregon R yabanıl soyu ♂♂ bireylerine ait % 95 güven aralıkları	37
Şekil 4.5. <i>Drosophila melanogaster Vestigial</i> mutant soyu ♀♀ popülasyonlarının farklı sürelerde sıcak şoku uygulanmış ve uygulanmamış (Kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri	40
Şekil 4.6. <i>Drosophila melanogaster Vestigial</i> mutant soyu ♂♂ popülasyonlarının farklı sürelerde sıcak şoku uygulanmış ve uygulanmamış (Kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri	41
Şekil 4.7. Sıcak şoku uygulanmış <i>Drosophila melanogaster Vestigial</i> mutant soyu ♀♀ bireylerine ait % 95 güven aralıkları	42
Şekil 4.8. Sıcak şoku uygulanmış <i>Drosophila melanogaster Vestigial</i> mutant soyu ♂♂ bireylerine ait % 95 güven aralıkları	43
Şekil 4.9. <i>Drosophila melanogaster</i> Oregon R yabanıl soyu ♀♀ popülasyonlarının farklı sürelerde soğuk şoku uygulanmış ve uygulanmamış (Kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri	46

Şekil 4.10. <i>Drosophila melanogaster</i> Oregon R yabanıl soyu ♂♂ popülasyonlarının farklı sürelerde soğuk şoku uygulanmış ve uygulanmamış (Kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri	47
Şekil 4.11. Soğuk şoku uygulanmış <i>Drosophila melanogaster</i> Oregon R yabanıl soyu ♀♀ bireyelerine ait % 95 güven aralıkları	49
Şekil 4.12. Soğuk şoku uygulanmış <i>Drosophila melanogaster</i> Oregon R yabanıl soyu ♂♂ bireyelerine ait % 95 güven aralıkları	49
Şekil 4.13. <i>Drosophila melanogaster Vestigial</i> mutant soyu ♀♀ popülasyonlarının farklı sürelerde soğuk şoku uygulanmış ve uygulanmamış (Kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri	52
Şekil 4.14. <i>Drosophila melanogaster Vestigial</i> mutant soyu ♂♂ popülasyonlarının farklı sürelerde soğuk şoku uygulanmış ve uygulanmamış (Kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri	53
Şekil 4.15. Soğuk şoku uygulanmış <i>Drosophila melanogaster Vestigial</i> mutant soyu ♀♀ bireyelerine ait % 95 güven aralıkları	55
Şekil 4.16. Soğuk şoku uygulanmış <i>Drosophila melanogaster Vestigial</i> mutant soyu ♂♂ bireyelerine ait % 95 güven aralıkları	55

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. <i>Drosophila melanogaster</i> Oregon R yabanıl soyunun farklı sürelerde sıcak şoku uygulanmış ve uygulanmamış ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunlukları ve gruplar arası önem kontrolleri	33
Çizelge 4.2. Sıcak şoku uygulanmış <i>Drosophila melanogaster</i> Oregon R yabanıl soyuna ait ♀♀ ve ♂♂ bireylerin ortalama ömür uzunluğu bakımından bağımsız gruplar için t-testi ile karşılaştırılması	38
Çizelge 4.3. <i>Drosophila melanogaster Vestigial</i> mutant soyunun farklı sürelerde sıcak şoku uygulanmış ve uygulanmamış ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunlukları ve gruplar arası önem kontrolleri	39
Çizelge 4.4. Sıcak şoku uygulanmış <i>Drosophila melanogaster Vestigial</i> mutant soyu ♀♀ ve ♂♂ bireylerin ortalama ömür uzunluğu bakımından bağımsız gruplar için t-testi ile karşılaştırılması	44
Çizelge 4.5. <i>Drosophila melanogaster</i> Oregon R yabanıl soyunun farklı sürelerde soğuk şoku uygulanmış ve uygulanmamış ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunlukları ve gruplar arası önem kontrolleri	45
Çizelge 4.6. Soğuk şoku uygulanmış <i>Drosophila melanogaster</i> Oregon R yabanıl soyu ♀♀ ve ♂♂ bireylerin ortalama ömür uzunluğu bakımından bağımsız gruplar için t-testi ile karşılaştırılması	50
Çizelge 4.7. <i>Drosophila melanogaster Vestigial</i> mutant soyunun farklı sürelerde soğuk şoku uygulanmış ve uygulanmamış ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunlukları ve gruplar arası önem kontrolleri	51
Çizelge 4.8. Soğuk şoku uygulanmış <i>Drosophila melanogaster Vestigial</i> mutant soyu ♀♀ ve ♂♂ bireylerin ortalama ömür uzunluğu bakımından bağımsız gruplar için t-testi ile karşılaştırılması	56

1. GİRİŞ

Yaşlanma, insanlar için en güncel konulardan birisi olmasına rağmen, bu olayın mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Yaşlanma ve ömür uzunluğunun saptanmasında, hangi temel yasa ve mekanizmaların işlediğinin anlaşılması, yaşlılıkla ilgili problemlerin çözümüne yardımcı olabilecektir.

Yaşlanma olayının kesin bir tanımı henüz yoktur. Ancak, yaşlanma biyolojisi ile uğraşanlar (gerontologlar), yaşlanma olayını değişik açılardan ele alarak çeşitli tanımlar yapmışlardır. Bunlardan birisi, yaşlanma sürecini “genetik bir program ile düzenlenen, organizmayı yapısal ve işlevsel değişikliklerle ölüme götüren olaylar toplamıdır” şeklinde tanımlamaktadır (Bozcuk 1981). Yaşlanma, aslında döllenme ile başlayan, zaman akışı içinde normal olarak ortaya çıkan tüm değişimlerin toplamı olarak da tanımlanmaktadır. Ömür, esas olarak kalıtsal denetim mekanizması ile sağlansa da genom ile çevrenin etkileşimi de bu süreçte önemli bir rol oynamaktadır (Demirsoy ve Bozcuk 1997).

Gerontologlar, yaşlanmanın bir bireyde olup olmadığını deneysel olarak göstermek amacıyla bir ilke benimsemişlerdir (Bozcuk 1976). Buna göre, yaşlanmayı gösterebilmek için bir canlının içinde bulunduğu popülasyonla hayat tablosu yapılmaktadır. Eğer hayat tablosuna göre çizilen hayatta kalış eğrisi dikdörtgensel ise, yani “ölüm oranı” denilen “belirli bir süre içinde ölen birey sayısının, o sürenin başlangıcındaki birey sayısına oranı”, kronolojik zamana bağlı olarak artıyorsa o popülasyon yaşlanmaktadır (Pearl vd 1927; Maynard-Smith 1958). Hayat tablosu, canlıda yer alan tüm yaşlanma olay ve süreçlerinin kaba bir ölçüsü ve yansımasıdır. Hayat tablosunun şekli, verilen bir popülasyonda hayatta kalış süresinin, yani ömür uzunluğunu etkileyen genetik yapı ve çevrenin ortak bir ifadesidir (Maynard-Smith 1966).

Yaşlanmayla ilgili ileri sürülen tüm görüşler deneysel olarak test edilip yanlışlık ve doğrulukları belirli ölçülerde kanıtlanmış ve zamanla bir kısmı ayıklanmıştır. Çağdaş tıp, insanı daha uzun süre ve daha sağlıklı yaşatmanın yanıtını ararken yaşlanmayla ilgili teoriler üretmekte, koruyucu ve sağlığı geliştirici hizmetlere önem vermektedir. Yaşlanmaya özgü değişikliklerle ilgili moleküler düzeyden organ sistemleri fonksiyonlarına kadar birçok teori üretilmiştir. Bugün bilim çevrelerinde benimsenen başlıca teorilere somatik mutasyon teorisi, serbest radikal teorisi, genetik yaşlanma teorisi, hücresel yaşlanma teorisi, immünolojik teori, endokrin teori, nöroendokrin teori, antagonistik pleiotropi teorisi ve mutasyon birikimi teorisi örnek verilmektedir.

1.1. Yaşlanma Teorileri

1.1.1. Somatik mutasyon teorisi: Bu teoriye göre somatik hücrelerde yaşam boyu biriken mutasyonlar birçok hastalığa neden olmaktadır. Örneğin, yaş ilerledikçe onkojenik mutasyonların somatik hücrelerde yaşam boyu birikmesi sonucu kanser görülme sıklığı artmaktadır (Curtis 1966).

1.1.2. Serbest radikal teorisi: Yaşlanma teorileri içerisinde en çok kabul gören ve incelenen teori serbest radikal teorisidir (Harman 1956). Serbest radikaller, en dış elektron zarfında bir elektron kaybetmiş ve dolayısıyla bu elektron açığını kapatabilmek için başka atomların elektronlarını paylaşmaya çalışan atomlardır. Bu kimyasallar, aerobik solunum yapan tüm canlılarda metabolizmanın doğal bir sonucu olarak üretilmektedirler. Vücut hücreleri içinde oluşarak hücre zarını, hayati proteinleri, yağları ve genetik yapıyı (DNA) hasara uğratırlar.

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijen, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalleridir. Normal fizyolojik konsantrasyonlarda hücresel aktivite gösteren reaktif oksijen türevleri yüksek konsantrasyonlarda oksidatif strese yol açarak toksik olabilmektedir. Bunun sonucunda da genetik ve metabolik bozukluklara, nörodejeneratif bozukluklara,

kardiyovasküler hastalıklara, otoimmün hastalıklara, enfeksiyöz hastalıklara, alerjik patolojilere ve kansere yol açarak yaşlanma sürecini hızlandırmaktadır (Harman 1981; Ames vd 1993; Droge 2002).

Serbest radikal yaratan kaynaklar arasında radyasyon, virüsler, güneş ışınlarının bir kısmı olan ultraviyole ışınları, hava kirliliği yaratan fosil kökenli yakıtların yanma sonundaki ürünleri, sigara dumanı, enfeksiyon, stres, yağ metabolizması sonunda ortaya çıkan ürünler gibi hücre metabolizmasının toksik ürünleri, bazı tahrip edici kimyasallar, haşere kontrol ilaçları sayılabilir.

Serbest radikaller ve reaktif karakterli maddeler ile bu maddeleri üreten tüm faktörler “oksidan” veya “prooksidan” olarak tanımlanmaktadır. “Antioksidan savunma sistemleri” veya kısaca “antioksidanlar” ise reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önleyici savunma mekanizmalardır. Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve redükte (= indirgenmiş) glutatyon (GSH) gibi antioksidanların bazıları vücut tarafından üretilmekte, bazıları da (A, C, E vitaminleri gibi) besinlerle dışarıdan alınmaktadır.

Canlıların vücutlarında oksidan-antioksidan oranlarını iyi ayarlanmasının sağlıklı yaşam ve verim fonksiyonları açısından son derece önemli olduğu savunulmaktadır. Bu teoriye göre, yaşam boyu sürekli serbest radikallere maruz kalınması sonucunda hücre hasarı oluşmakta, hücrelerin büyüme, gelişme ve farklılaşma fonksiyonlarında bozulma, kanser veya ölüm meydana gelmektedir (Ames vd 1993).

Bilim adamları, serbest radikalleri tesirsiz hale getiren enzimleri kodlayan genlerin, hücrelere aktarılması gerçekleştirilebilirse, yaşlanmanın olumsuz tesirlerinin en aza indirilebileceğini belirtmektedirler.

İlerleyen yaşla birlikte biriken serbest radikallerin, yaşlanma süreci üzerine büyük bir etkisi olduğu birçok çalışma ile desteklenmiştir (Setsini vd 1991; Orr ve Sohal

1992; Fışkın vd 1994; Jordens vd 1999; Zou vd 2000). Ancak, yaşlanmada serbest radikallerin etkisinin yaşlanma için tek faktör olmadığı da bilinmektedir.

1.1.3. Genetik yaşlanma teorisi: Kişilerin yaşam süresini soy, cins ve ırktan gelen DNA programlarına dayandıran bir teoridir. Örneğin, dünya çapında kadınların erkeklere göre beklenen yaşam süresi daha uzundur. Yaşlanmanın genetik teorisi (yaşlanmanın moleküler saat teorisi) yaşlanma prosesini, gittikçe ilerleyen arterioskleroz (artherosclerosis=damar sertleşmesi) gibi bozukluklara neden olan genetik ön karakter değişimlerine bağlamaktadır. Bu teoriyi savunan bilim adamları, yaşlanmanın nedeninin genetik şifremizde yazılı olduğunu, yani bizim ne zaman yaşlanacağımızın belli olduğunu ileri sürmektedirler. Bu bilim adamlarına göre, erken dönemdeki büyüme ve gelişmenin bir program izlemesi gibi, olgunluk, yaşlanma ve ölüm de bir program izlemektedir (Jazwinski 1996).

1.1.4. Hücre yaşlanması teorisi: Bu teoriye göre, hücre çoğalmasını kontrol eden genler klonal yaşlanmanın sebeplerindendir. Kromozom uçlarında bulunan telomer bölgesinde DNA kayıpları hücre yaşlanmasının bir nedenidir. Son zamanlarda telomerlerin rolü, özellikle klonlamadaki olası genetik yan etkilerin ortaya konması ile genel ilgiyi üzerlerine çekmiştir. Tüm hücresel siklustaki kromozomal telomerlerin kısalması ile yaşlanma arasındaki ilişki ciddi bir şekilde ortaya konmuştur. Yaşla birlikte gelişen telomer kısalma fenomeni, hücrelerin büyüme potansiyelleri için kurulu bir saat gibi çalışmaktadır. Yaşla birlikte telomerlerin boyu, özellikle lenfositlerde kısalırken, kök hücrelerde bir değişiklik olmamaktadır (Hemann vd 2001).

1.1.5. İmmünolojik teori: Bu teoriye göre, yaşlanmanın nedeni, yaş ile birlikte bazı hormonların düzeyindeki azalma ya da bağışıklık sistemindeki zayıflamadır. Bu teorinin esası, T- lenfositlerin kalite ve miktarda zayıflamasına dayanmaktadır. Bu azalma timüs bezinin işlevlerindeki azalmayla (bozulmayla) ilgilidir. Hücresel bağışıklık için çok önemli bir görevi olan timüs bezinin ergenlikten sonra fonksiyonlarında önemli oranda azalma olması, yaşlanmada timüs bezinin önemli bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Yaşlanma ile birlikte, vücudumuzun hastalıklarla savaşan bağışıklık sisteminin

fonksiyonları azalmakta, virüs, bakteri ya da diğer hastalık yapıcı etkenlere giriş yolu açılmaktadır. Ayrıca, vücudun yaşlanma ile beraber yabancı ile kendi vücut elemanlarını tanıma (yabancıyı ayırma) yeteneği azalmaktadır. Yani, immün sistemin yaşlanmasıyla, vücut kendi dokuları ile yabancı maddeler arasındaki farkı tanıma yeteneğini kaybetmeye başlar. Bu nedenle, immün sistem, eskiden istila eden organizma ile savaşırken, yaşlanmayla birlikte kendi vücuduna saldırıp hastalık oluşturmaktadır (Walford 1974).

1.1.6. Endokrin teori: Bu teoriye göre, endokrin bezlerin hormon salgılamalarındaki düzensizlik veya yetersizlik yaşlanmayı başlatmaktadır. Pineal bezden salgılanan, uyku-uyanıklık döneminin düzenlenmesinde önemli rolü olan “melatonin” hormonunun yaşlanmanın nedeni olduğunu söyleyenlerin (Reiter 1994) yanı sıra, böbrek üstü bezinden salgılanan “dehidroepiandrosteron”(DHEA)’un azalmasının yaşlanma nedeni olduğunu söyleyenler de (Barrou vd 1997) bulunmaktadır. Bu nedenle, DHEA preparatları ve melatonin hapları, yaşlanmayı geciktirici kimyevî maddeler olarak pazarlanmakta ve tamamlayıcı tıpta kullanılan maddeler arasında yerini almış bulunmaktadır. Bununla birlikte, over foliküllerinin ve oositlerin kısıtlı depolarının bitmesi ile meydana gelen menopoza olayı da endokrin teoriye örnek olarak verilmektedir.

1.1.7. Nöroendokrin teori: Bu teoriye göre yaşlanma, vücudun kimyasalları engelleme ve dışarı atma (negative feedback mechanism) mekanizmasının hassasiyetinin azalması neticesinde oluşmaktadır. Bu sistem sayesinde, hayat boyu hormonal denge sistemimiz hipotalamus tarafından yönetilmektedir. Bu teorinin en önemli dayanağı, hipotalamo-hipofizer aksın büyümenin düzenlenmesinde ve yaşlanmanın temel mekanizmalarında yer alıyor olmasıdır. Özellikle kadınlarda üretkenlik sona erince bu aksın fonksiyonlarında da hızlı bir azalma olmaktadır. Bu teori hipofizektomi (hipofiz bezinin çıkartılması) yapılmış farelerde de test edilmiş ve doğrulanmıştır (Mobbs 1996).

Drosophila genetiğinin yaşlanma genetiği açısından en çok ilgilendiği alan popülasyon ya da evrimsel genetik. Bu alandaki çalışmalarda, özellikle yaşlanmanın biyolojisi üzerine öne sürülen iki teori dikkat çekmektedir. Bunlardan birincisi, mutasyon birikimi teorisi (Medawar 1952), ikincisi ise antagonistik pleiotropi teorisidir (Williams 1957). Yaşlanmanın genetiği üzerine ileri sürülen hem antagonistik pleiotropi, hem de mutasyon birikimi teorileri artan yaşla doğal seleksiyon baskısının azaldığı gerçeğine dayanmaktadır (Fisher 1930; Haldane 1941; Medawar 1952).

1.1.8. Mutasyon birikimi teorisi: Bu teoriye göre, genç yaşlardaki zayıf doğal seleksiyonlar, tekrarlanan zararlı mutasyonların etkisiyle hayatta kalış ve üremeyi olumsuz yönde etkilemektedir (Medawar 1952; Charlesworth 1994).

Yaşlanmanın evrimsel teorileri için anahtar nokta, doğal seçim gücünün artan yaşla birlikte azaldığıdır. Genç organizmada ifade edilen negatif etkili bir mutasyon, tüm üreme periyodunu etkileyecektir, dolayısıyla mutasyonun etkisine karşı seleksiyon güçlü olacaktır. Yalnızca ileri yaşlarda ifade edilen negatif etkili bir mutasyon erken üreme periyodunu etkilemeyecektir, dolayısıyla geç ortaya çıkan bir mutasyon üzerine seleksiyonun etkisi daha zayıf olacaktır (Partridge ve Fowler 1992; Partridge ve Barton 1993; Tower 1996; Zwaan 1999; Kirkwood 2002).

Yaşla birlikte devamlı artan genetik varyansın en büyük nedeni, mutasyon birikimi olabilir (Tatar vd 1996). Bu birikim, artan yaşla birlikte doğal seleksiyon baskısını azaltırken, zararlı mutasyonların elemine edilme ya da frekanslarını düşürme olasılığını azaltmakta ya da yok etmektedir (Rose 1999). Böylece oluşan mutasyon birikimi genetik varyansı arttırmaktadır. Bu yüzden, yaşlanma ile genetik varyansının artması üzerinde mutasyon birikiminin önemli bir etkisi olduğu düşünülmektedir (Tatar vd 1996). Aynı şekilde, *Drosophila*'da mortalite de genetik varyansın sürekliliği ile ilişkilendirilmekte ve bu da yaşlanma mekanizması için geçerli olan mutasyon birikimi teorisi ile desteklenmektedir (Hughes ve Charlesworth 1994; Tatar vd 1996; Pletcher vd 1998).

1.1.9. Antagonistik pleiotropi teorisi: Bu teori, viabilite (= yaşayabilirlik, canlılık) ve fekunditeyi (= yumurta üretimi) düzenleyen allellerin ilerleyen yaşlarda ömür uzunluğu üzerinde negatif bir etkiye sahip olduklarını ileri sürmektedir (Williams 1957; Rose 1985). Diğer bir ifadeyle, ömür uzunluğunun gen allellerinin genç ve ileri yaşlardaki pleiotropik etkisi dolayısıyla ortaya çıkabileceği, erken yaşlarda yararlı etkisi olan genlerin sonraki dönemlerde zararlı etkilerinin görülebileceği ileri sürülmektedir. Partridge (2001)'e göre, antagonistik pleiotropinin yaşlanma üzerine etkisi mutasyon birikiminden daha fazladır.

Yukarıda açıklanan teorilerin hiç birisi, tek başına yaşlanmayı açıklamak için yeterli değildir. Tüm bu teorilerin yanında, yaşlanmayı ve ömür uzunluğunu etkileyecek başka faktörler de mevcuttur.

Ömür uzunluğunu etkileyen faktörler Lints (1971) tarafından iç (anasal yaş, yumurta üretimi, eşey ve genetik yapı) ve dış (sıcaklık, beslenme, popülasyon yoğunluğu, ışık, nem ve radyasyon) faktörler olmak üzere, iki sınıfa ayrılarak incelenmiştir.

1.2. Ömür Uzunluğunu Etkileyen Faktörler

1.2.1. İç Faktörler:

1.2.1.a. Anasal yaş: Anasal yaşın yavru dölün ömür uzunluğunda önemli bir etken olduğu ilk kez rotiferlerden *Philodina citrina* türü ile yapılan deneyle belirlenmiştir (Lansing 1952). Deneyde kullanılan yaşlı bireyin bıraktığı yumurtalardan gelişen nesiller, birkaç nesil için yinelenmiştir. Sonuçta, yaşlı bireylerin yumurtasından gelişen bireylerin ömür uzunluklarının gittikçe azaldığı görülmüştür. Daha sonra, bilim dünyasında "Lansing etkisi" veya "Anasal etki" olarak adlandırılan bu hipoteze göre, anne yaşının ömür uzunluğuna etkisi genetik değildir ama kuşaktan kuşağa yumurtadaki sitoplazmik faktörler ile ya da epigenetik (DNA dizi değişimleri dışındaki faktörlerle oluşan, gen ifadesindeki tüm değişiklikler) olarak aktarılmaktadır.

1.2.1.b. Yumurta üretimi (Fekundite): *Drosophila*'da kısa ömürlü olduğu bilinen *vestigial*, *vermillion* ve *wmf* gibi birçok mutant tür vardır (Bozcuk 1978; Ünlü ve Bozcuk 1979; Bozcuk 1981; Bozcuk 1983; Setsini vd 1991; Ünlü 1991). Bazı mutasyonlar ise ömür uzunluğunu artırmaktadır. Örneğin, Maynard-Smith (1958), ovaryumları indirgenmiş mutant dişilerin üreme yapılarının eksikliğine bağlı olarak ömür uzunluğunun arttığını bulmuştur. Aksine, Pearl vd (1927)'ne göre, yumurtlama oranı artan dişilerde ömür uzunluğu azalmaktadır. Üreme ve ömür uzunluğu arasındaki bu ilişki, antagonistik pleiotropi teorisini de desteklemektedir (Finch 1990).Yapılan diğer deneylerde, yüksek yumurta üretimi olan çiftleşmiş dişilerin, yumurta üretimi düşük bakire (virjin) dişilerden daha kısa ömürlü oldukları görülmüştür (Gowen ve Johanson 1946).

1.2.1.c. Eşeylik: *Drosophila*'da erkek ve dişi bireyler farklı ömür uzunluklarına sahiptirler. Yapılan çalışmalarda, çoğunlukla dişilerin erkeklerden daha uzun ömürlü oldukları gözlenmiştir. Dişilerin metabolizması erkeklerin metabolizmasından çok farklı olabilir. Örneğin, *Drosophila melanogaster* erkek ve dişilerinde DNA, RNA ve protein seviyeleri tayin edildiğinde, dişilerde bu moleküllerin erkeklere oranla çok daha fazla oldukları gözlenmiştir (Samis vd 1971).

1.2.1.d. Genetik yapı: Bir organizmanın ergin ömür uzunluğu, onun sahip olduğu genetik etmenler ve organizmayı çeviren çevresel etkenlerin etkileşimiyle belirlenmektedir. Çevre şartları kontrol edildiği zaman, yaşayabilme için gerekli optimum koşullar organizmanın hayatı boyunca sürdürülür. Bu durumda, organizmanın değişik soylarında görülen ergin ömür uzunluğundaki çok belirgin farklar genetik etkenlere bağlanabilir (Bozcuk 1978). *Drosophila melanogaster*'de ömür uzunluğuna gen kombinasyonlarının ve spesifik mutant genlerin etkisinin olduğunu ilk olarak Gonzales (1923) ortaya koymuştur. Bu çalışmada, beş mutant genin bir arada bulunduğu bireylerin, bu genlerin ayrı ayrı bulunduğu bireylerden daha kısa ömür uzunluğuna sahip oldukları gözlenmiştir. Öte yandan, melez genotipin ömür uzunluğunun denetiminde çok etkili olduğu ve melezlerin arı döl ebeveynlerden daha uzun yaşadıkları belirlenmiştir (Pearl vd 1923). Diğer bir araştırma sonucunda, *Drosophila*

melanogaster'in birinci ve ikinci kuşak dölllerinde, melezlerin kendileşmiş arı döl bireylerden daha uzun yaşadıkları ve aynı zamanda ekstrem sıcaklık koşullarına daha dayanıklı oldukları ortaya konulmuştur (Woodhams ve Hollingsworth 1971).

1.2.2. Dış (Çevresel) Faktörler

1.1.2.a. Beslenme: Böceklerde besin çeşidi ömür uzunluğu üzerine oldukça etkilidir. Örneğin, besin ortamına şeker kaynağı olarak sukroz yerine galaktoz konulan *Drosophila*'ların ömür uzunluklarının istatistiksel olarak anlamlı derecede kısaldığı bulunmuştur (Jordens vd 1999). Başka bir çalışmada, pantotenik asit'in *Drosophila*'ların ömür uzunluğunu arttırdığı gözlemlenmiştir (Strehler 1962). Sadece sukroz+agar'la beslenen *D. subobscura* popülasyonunun standart ortamda beslenenlerden yaklaşık %50 daha kısa ortalama ömür uzunluğuna sahip oldukları bulunmuştur (Bozcuk 1970). Bir liken türü olan *Usnea longissima* likeninin su ekstrelerinin (Ule) *D. melanogaster* popülasyonlarına ait ömür uzunluğu üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışma sonucunda, düşük konsantrasyonda Ule ile beslenen bireylerin ömür uzunluğunda artış, yüksek konsantrasyonda Ule ile beslenen bireylerin ömür uzunluğunda ise azalma gözlenmiştir (Altun 2007). Başka bir liken türü ile yapılan çalışmada ise *Lobaria pulmonaria* likeninin metanol, kloroform ve su ekstrelerinin *D. melanogaster*'in ömür uzunluğu üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda, tüm ekstrelerin konsantrasyon artışına paralel olarak ömür uzunluğunu artırdığı, ancak metanol ekstrelerinin diğerlerine göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Uysal vd 2008).

1.2.2.b. Radyasyon: Böcekler radyasyona oldukça dayanıklı canlılardır. Örneğin, ergin *Drosophila*'nın iyonize radyasyona duyarlılığı oldukça azdır (Bozcuk 1972). Fakat yapılan bazı çalışmalarda, yüksek dozdaki radyasyonun somatik mutasyon birikimine neden olarak ömür uzunluğunu kısalttığı, düşük dozdaki radyasyonun ise ömrü uzatıcı etkisinin olduğu gözlemlenmiştir. Ömür uzunluğundaki bu artış, muhtemelen bazı enfeksiyonların radyasyon etkisiyle azalması ya da sineğin çevresel direncinin artması sonucudur (Ashburner ve Wright 1978). Diğer bir çalışmada ise mikrodalga

frekansındaki elektromanyetik radyasyonun *D. melanogaster*' in bazı mutant soylarında ömür uzunluğuna etkisi araştırılmış ve sonuçta özellikle üçlü mutantların dişilerinde ömür uzunluğunda azalma, erkeklerinde ise ömür uzunluğunda artış tespit edilmiştir (Dalgıç vd 2002).

1.2.2.c. Popülasyon yoğunluğu: Popülasyon yoğunluğunun etkileri ergin bireylerden daha çok larval dönemdeki bireyler üzerinedir. Popülasyon yoğunluğundaki fazlalığın etkilerinden biri olan larva büyümesini geciktirmenin ergin ömür uzunluğunu artırıcı bir etkiye sahip olduğu gözlenmiştir (Miller ve Thomas 1958). Örneğin standart bir üreme tüpündeki yumurta sayısı 7'den 480'e yükseltildiğinde ortalama ergin ömrünün %60 oranında arttığı kaydedilmiş, preimaginal evredeki yoğunluğun, erginlerin geç ve küçük çıkmasına yol açtığı ve bu küçük bireylerin normallerine göre daha uzun yaşadıkları gözlenmiştir (Lints 1963).

1.2.2.d. Işık: Fotoperiyodun *D. melanogaster*'in yumurta ve pupadan çıkış süresinde (Qiu ve Hardin 1996), metabolik hızında (Lanciani vd 1991) ve ömür uzunluğunda (Sheeba vd 2000) etkili olduğu tespit edilmiştir. *D. melanogaster* ile yapılan çalışmalarda, belirli sıcaklıkta, aynı besin tipiyle beslenen, fakat farklı fotoperiyot şartlarına maruz kalan bireylerde, metabolik hızın farklı olduğu, genel olarak kısa gün şartlarına maruz kalanlarda metabolik hızın, uzun gün şartlarına maruz kalanlardan daha yüksek olduğu, dolayısıyla kısa gün şartlarında gelişmenin daha hızlı gerçekleştiği ifade edilmiştir (Lanciani vd 1991). Farklı *Drosophila* türleri ile yapılan çalışmalarda, sürekli ışıklı ortamın ergin ömür uzunluğunu kısalttığı (Allemand vd 1973; Klarsfeld ve Rouyer 1998), buna karşın sürekli karanlık ortamda yaşatılan *D. melanogaster* erkeklerinde %20, dişilerinde ise %43'e varan ömür uzunluğu artışının olduğu gözlenmiştir (Allemand vd 1973; Bağcı ve Bozcuk 1991).

1.2.2.e. Sıcaklık: Böcekler soğukkanlı (Poikilothermal) canlılar olduklarından, çevresel sıcaklıktaki yükselme, onların metabolik aktivitesini, solunum hızını ve serbest radikal oluşumunu artırarak hücresel hasara ve ömür uzunluğunda azalmaya neden olmaktadır. Yani, yaşamaya izin veren sıcaklık sınırları içerisinde sıcaklık arttıkça ısı üretimi ve

oksijen harcanması artmakta, buna karşılık ömür uzunluğu kısalmaktadır (Setsini vd 1991).

Drosophila melanogaster'in ömür uzunluğu ile sıcaklık arasındaki ilişki, ilk kez Loeb ve Northrop (1916) tarafından araştırılmıştır. Araştırmaların sonucunda, yaşam süresi için belirli bir sıcaklık katsayısının olduğu ve ömür uzunluğu ile sıcaklık arasında ters bir orantının bulunduğu ortaya konulmuştur.

Strehler (1961) yaşlanmanın sıcaklığa bağlı olduğunu ileri sürmüş ve yaşlanma ile sıcaklık arasındaki muhtemel genel mekanizmaları üçe ayırarak açıklamaya çalışmıştır:

- 1- Hücreler, proteinler ve nükleoproteinler gibi sıcaklığa duyarlı yapı ve fonksiyonel elementlerin yüksek sıcaklıkta dejenerasyon hızının artması,
- 2- Kofaktör ve katalizör gibi bazı metabolitlerin yüksek sıcaklıkta yıkım ve kullanım hızının artması,
- 3- Çeşitli toksik maddelerin yüksek sıcaklıkta birikim hızının artması veya vücuttan atılamaması.

Daha önce yapılan çalışmalarda, *Drosophila*'nın ömür uzunluğu üzerine hem ergin dönemdeki hem de gelişim evrelerindeki sıcaklığın etkili olduğu belirlenmiştir. Burcombe ve Hollingsworth (1970), sıcaklığın gelişim evrelerindeki etkilerini dört gruba ayırarak açıklamışlardır:

- 1- Sıcaklığın gelişim periyodu üzerine etkisi: Sıcaklık artışı, gelişmenin tamamlanması için gerekli süreyi kısaltır. Yüksek sıcaklığın gelişmeyi hızlandırıcı etkisi, farklı sıcaklıklarda, moleküllerin çalışma kapasitelerindeki artışın bir neticesidir. Özellikle, büyüme ve gelişme olaylarını kontrol eden hormonların sekresyon hızında değişiklik olabileceği belirtilmiştir.
- 2- Gelişim evrelerinde uygulanan sıcaklığın ergin büyüklüğü üzerine etkisi: Genel olarak düşük sıcaklıkta yetiştirilen bireylerin büyük olmasının beslenme periyodundaki uzunluğa bağlı olduğu gözlemlenmiştir.
- 3- Gelişim evrelerinde uygulanan sıcaklığın ergin bireylerin letal sıcaklık dozlarına karşı dirençlilikleri üzerine etkisi: Yüksek sıcaklıkta yetiştirilen *Drosophila*'lar düşük

sıcaklıkta yetiştirilenlere göre letal sıcaklıklara (39°C, 40°C gibi) daha uzun süre direnç göstermişlerdir (Maynard-Smith 1957).

4- Gelişim evrelerinde uygulanan sıcaklığın ergin bireylerin ömür uzunluğu üzerine etkisi: Yüksek sıcaklıklarda yetiştirilen sinekler, düşük sıcaklıklarda yetiştirilen sineklere göre, daha kısa yaşamışlardır (Alpatov ve Pearl 1929).

Lints ve Lints (1971), *Drosophila*'da büyüme ve yaşlanma arasındaki ilişkileri araştırmış ve premegeinal sıcaklığın azalmasıyla gelişme süresinin uzadığını, ergin büyüklüğünün ve ömür uzunluğunun arttığını ifade etmişlerdir. Bu durumun nedenini ise mitotik bölünme hızıyla ilişkilendirmişlerdir. Aynı araştırmacılara göre, gelişme hızlanır veya yavaşlarsa mitotik bölünme hızı da aynı şekilde hareket eder. Mitotik bölünme hızının yavaş olması, kalıtım materyalinin replikasyon hata miktarını azaltır. Bunun sonucunda da ileride organizmayı ölüme götürebilecek sentez hatalarının miktarı azalmış olur.

Sıcaklık, normal gelişme sınırları dâhilinde gelişme hızını etkiler, fakat ekstrem sıcaklıklar gelişimsel değişikliklere neden olur. *D. melanogaster*'in *Vestigial* ve bar (çubuk gözlü) mutant soyları sıcaklığa aşırı derecede duyarlıdır. Yapılan sıcak şoku deneyleri sonucunda, hem sıcaklığa duyarlı mutant soyların hem de yabancı bireylerin "sıcak şoku cevabı" olarak isimlendirilen spesifik genetiksel cevap meydana getirdikleri bildirilmiştir (Lindsley ve Poodry 1977). Diğer bir sıcak şoku çalışmasında ise özellikle larval evrede gözlenen politen kromozomlarda çeşitli pufların oluştuğu ve bu pufların da sıcak şoku proteinleri (heat-shock proteins=hsp) oluşturan aktif gen bölgelerinde bulunduğu belirlenmiştir (Lengyel vd 1980).

D. melanogaster ile yapılan diğer bir çalışmada, farklı sıcaklık derecelerinin, değişik bant bölgelerinin puflaşmasına neden olup olmadığı araştırılmıştır. Bu çalışmada, larvalara ayrı ayrı 37°C ve 39°C'de sıcak şoku ile +4°C'de soğuk şoku uygulanmıştır. Sonuç olarak kontrol grubundan farklı olarak, 37°C'de sıcak şoku uygulanan larvaların tükrük bezi politen kromozomlarının 2R kolunda 48E, 48F bandının, 3L kolunda 63BC ve 67 B bantlarının ve 3R kolunda 87A, 87C ile 93D bantlarının puflaştığı görülmüştür.

39°C’de ise tüm bu bantlara ilaveten 3R kromozom kolunda 95D bandının da puflaştığı gösterilmiştir. +4°C’de yapılan soğuk şoku sonucunda ise kontrol grubundan farklı olarak 2R kromozom kolunda 56DE, 3R kromozom kolunda 84BC, 84EF ve 98DEF bantlarının puflaştığı gözlemlenmiştir (Uysal 1990).

D. melanogaster’de sıcak şoku uygulaması ile ömür uzunluğu arasındaki etkileşimi belirlemek için yapılan bir diğer çalışmada, 40°C’de 40 dakika tutulan erkek bireylerin ömür uzunluğunda önemli derecede kısalma olduğu gözlenmiştir (Bağcı 1983).

Ömür uzunluğunun stres dirençliliğine bağlı olduğu ve strese cevap veren genlerin yaşlanma hızına büyük bir etkisinin olduğu bilinmektedir (Lithgow vd 1995; Lin vd 1998; Harshman vd 1999; Tatar 1999; Arking vd 2000; Le Bourg vd 2001).

Zararlı olduğu bilinen bazı stres faktörlerinin çok kısa sürelerde uygulanmasıyla olumlu reaksiyon gösterecek şekilde bir organizmayı uyarması olayına hormesis denilmektedir (Verbeke vd 2002). *D. melanogaster* ile yapılan çalışmalarda, iyonize radyasyon, hipergravite (= yüksek yerçekimi) ve sıcaklık gibi çeşitli stres faktörlerinin kısa süreli uygulandıkları zaman ömür uzunluğunu artırıcı etkiler gösterdikleri tespit edilmiştir (Le Bourg vd 2001).

Kısa süreli yüksek sıcaklığa maruz kalan *D. melanogaster*’de hsp70 ekspresyonunun artmasıyla (Minois vd 1999) termotoleransının arttığı ve bu bağlamda hsp70 ekspresyonunun ömür uzunluğunu artırdığı bulunmuştur. Ancak, termotoleransın her zaman hsp70’e bağlı olmadığı, bunun genomdaki birçok gene ve bu genlerin ürünlerine bağlı olduğu da belirlenmiştir (Guerra vd 2000).

Böceklerde düşük sıcaklık uygulamasının, böcek beyнинin allatotropik ve prothorasikotropik aktivitesini etkilediği ve buna bağlı olarak, normalden daha fazla deri değiştirme, larvaların kokon oluşturmada pupa olması, çok küçük larvaların

oluşması ve ergin böceklerin kanatlarının normal olmayışı gibi anormalliklerin ortaya çıktığı belirtilmiştir (Garcia vd 2001).

D. melanogaster ergin bireylerinin -6°C veya -8°C’de 1 saat sonunda ölmelerine rağmen, hemolimflerinin -20°C’nin altındaki sıcaklıklarda bile donarak canlı kalabildikleri belirtilmiştir (Czajka ve Lee 1990). Yapılan bir diğer çalışmada ise bireylere soğuk şoku uygulamadan önce, düşük sıcaklıklarda bekletmenin soğuk şokuna karşı dirençliliği artırdığı tespit edilmiştir (Chen vd 1987).

Direkt soğuk şoku uygulaması ile hızlı kademeli dondurma (RCH=Rapid Cold Hardening) uygulaması arasında oldukça fark olduğu ve RCH’in çoğu gelişim evresine pozitif katkı sağladığı belirtilmiştir (Czajka ve Lee 1990). Kolesterolce zenginleştirilmiş besinlerle beslenmiş *D. melanogaster* bireyleri soğuk şokuna ve hızlı kademeli dondurma (RCH)’ya tabi tutulmuş ve sonuçta direkt soğuk şokuna %70, RCH’a ise %100 oranında dirençliliğin arttığı gözlenmiştir (Shreve vd 2007).

Norry ve Loeschcke (2002), *Drosophila*’nın hem erkek hem de dişi bireylerinde soğuk ve sıcağa karşı dirençliliğin yaşla birlikte azaldığını belirtmiştir. Buna karşın, Malmendal vd (2006), dirençlilikteki yaşa bağlı bu azalmanın sadece erkek bireylerde olduğunu, dişi bireylerde böyle bir durumun söz konusu olmadığını gözlemişlerdir.

Yapılan bir diğer çalışmada, *D. melanogaster*’de soğuk şokunun gelişim evrelerine etkilerinin spesifik olduğu ve soğuk şokuna en çok yumurtaların, en az ise larvaların dirençlilik gösterdikleri gözlenmiştir (Jensen vd 2007).

Yaşlanma, sürekli devam eden biyolojik bir süreçtir. Yaşlanma ve ömür uzunluğunun saptanmasında, hangi temel yasa ve mekanizmaların işlediğinin anlaşılması, yaşlılıkla ilgili problemlerin çözümüne yardımcı olabilir. Bu nedenle, yaşlanma ve ömür uzunluğunu etkileyen stres faktörlerini araştırmak, bu noktada oldukça önem kazanmaktadır. Bu stres faktörlerinden birisi olan sıcaklık, günümüzde etkileri giderek

daha iyi anlaşılan küresel ısınma ile daha fazla önem kazanmıştır. Tüm dünyada çeşitli biyotoplarda yaşayan canlıları etkisi altına alan bu küresel tehdidin doğurabileceği sonuçlarla ilgili birçok araştırma yapılmaktadır. Çeşitli kaynaklarda sıcaklık ve ömür uzunluğu ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Ancak, özellikle ekstrem sıcak ve soğuk şoku ile buna maruz kalan mutant bireyler üzerinde bu şokun etkileri ile ilgili çalışmalar oldukça azdır. Bu noktadan hareketle, bu çalışmada yaşlanma ve ömür uzunluğu çalışmaları için örnek bir model olan *D. melanogaster*'in Oregon R yabanıl tipi ile *Vestigial* mutant soyları kullanılarak, ekstrem sıcaklık şartlarının ömür uzunluğu üzerine etkileri araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Çeşitli stres faktörlerinin ömür uzunluğu üzerine etkisi ile ilgili olarak yapılan araştırmalardan bazılarının özetleri aşağıda kronolojik sıraya göre verilmiştir:

Drosophila melanogaster'in ömür uzunluğu ile sıcaklık arasındaki ilişkiyi ilk kez Loeb ve Northrop (1916) araştırmış ve sıcaklığın ömür uzunluğunu etkileyen önemli stres faktörlerinden biri olduğunu belirtmişlerdir.

D. melanogaster'de ömür uzunluğuna gen kombinasyonlarının ve spesifik mutant genlerin etkisini ilk olarak Gonzales (1923) ortaya koymuştur.

D. melanogaster'de melez genotipin ömür uzunluğunun denetiminde çok etkili olduğu ve melezlerin arı döl ebeveynlerden daha uzun yaşadıkları gözlenmiştir (Pearl vd 1923).

Pearl (1928), düşük metabolik aktiviteye sahip hayvanların, daha az O₂ kullanarak yüksek metabolik aktiviteye sahip hayvanlardan daha uzun yaşadıklarını göstererek metabolik aktivite ile ömür uzunluğu arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir.

D. melanogaster'de yüksek yumurta üretimi olan çiftleşmiş dişilerin, bakire (virjin) dişilerden daha kısa ömürlü oldukları gözlemlenmiştir (Gowen ve Johanson 1946).

Anasal yaştan yavru dölün ömür uzunluğunda önemli bir etken olduğu ilk kez rotiferlerden *Philodina citrina* türü ile yapılan deneyle belirlenmiştir (Lansing 1952).

Gelişimlerini yüksek sıcaklıklarda tamamlayan *Drosophila*'ların düşük sıcaklıkta gelişenlere göre, letal sıcaklıklara daha fazla dirençlilik gösterdikleri belirtilmiştir (Maynard-Smith 1957).

Maynard-Smith (1958) ovaryumları indirgenmiş mutant *D. melanogaster* dişilerinin üreme yapılarının eksikliğine bağlı olarak, ömür uzunluğunun arttığını bulmuştur.

Miller ve Thomas (1958)'a göre, larva büyümesinin geciktirilmesiyle ergin ömür uzunluğu artırılabilir.

D. melanogaster'de preimeginal evredeki yoğunluğun, erginlerin geç ve küçük çıkmasına yol açtığı ve bu küçük bireylerin normallerine göre daha uzun yaşadıkları gözlenmiştir (Lints 1963).

Sadece sukroz+agar'la beslenen *D. subobscura* popülasyonunun standart ortamda beslenenlerden yaklaşık %50 daha kısa ömür uzunluğuna sahip olduğu bulunmuştur (Bozcuk 1970).

D. melanogaster erkek ve dişilerinde DNA, RNA ve protein seviyeleri tayin edildiğinde, dişilerde bu moleküllerin erkeklere oranla çok daha fazla oldukları gözlenmiştir (Samis vd 1971).

D. melanogaster'in birinci ve ikinci kuşak döllerinde, melezlerin kendileşmiş arı döl bireylerden daha uzun yaşadıkları ve aynı zamanda ekstrem sıcaklık şartlarına daha dayanıklı oldukları ortaya konulmuştur (Woodhams ve Hollingsworth 1971).

Lints ve Lints (1971), *Drosophila*'da büyüme ve yaşlanma arasındaki ilişkileri araştırmış ve preimeginal sıcaklığın azalmasıyla ergin büyüklüğünün arttığını, gelişme süresinin uzadığını ve neticede ömür uzunluğunun arttığını ifade etmişlerdir.

Ömür uzunluğunu etkileyen faktörler, Lints (1971) tarafından iç (anasal yaş, yumurta üretimi, eşey ve genetik yapı) ve dış (sıcaklık, beslenme, popülasyon yoğunluğu, ışık, nem ve radyasyon) faktörler olmak üzere, iki sınıfa ayrılarak incelenmiştir.

Sürekli karanlık ortamda yaşatılan *D. melanogaster* erkeklerinde %20, dişilerinde ise %43'e varan ömür uzunluğu artışı gözlenmiştir (Allemand vd 1973).

Sıcaklığa duyarlı mutantların genellikle protein fonksiyonu ve protein sentez düzeyinde sıcaklığa duyarlı olan değişik gen ürünlerini oluşturdukları belirtilmiştir (Lindsley ve Poodry 1977).

Ünlü ve Bozcuk (1979), *Drosophila*'da ömür uzunluğunun, farklı türlerde, aynı türün eşeylerinde ve mutantlar arasında farklılık göstereceği gibi, aynı genotipe sahip popülasyonların farklı çevresel koşullarda farklı ömür uzunluklarına sahip olabileceğini ifade etmişlerdir.

D. melanogaster'de sıcak şoku uygulaması ile ömür uzunluğu arasındaki etkileşimi belirlemek için yapılan bir diğer çalışmada, 40°C'de 40 dakika tutulan erkek bireylerin ömür uzunluğunda önemli derecede kısalma olduğu gözlenmiştir (Bağcı 1983).

D. melanogaster popülasyonları için mümkün olan gelişimsel sıcaklığın 12°C ile 32,5°C arasında olduğu belirtilmiştir (Economus ve Lints 1986).

Drosophila'da ergin dönemdeki sıcaklık değişimlerinin ömür uzunluğunu etkilediği ve yüksek sıcaklıklarda daha kısa ömür uzunluğuna sahip oldukları belirlenmiştir (Economus ve Lints 1986).

D. melanogaster ile yapılan çalışmada, larva, pupa ve ergin dönemlerindeki bireylere direkt soğuk şoku ve azaltarak soğuk şoku uygulaması yapılmış ve hayatta kalma oranlarına bakılmıştır. Sonuçta, -5°C'de direkt soğuk şoku uygulaması ile canlı birey kalmazken, bireyler önce +5°C'de 2 saat bekletilip -5°C'de soğuk şoku uygulandığında larvaların %63'ü, pupaların %83'ü ve erginlerin yaklaşık %70'i hayatta kalmıştır (Czajka ve Lee 1990).

D. melanogaster ile yapılan bir diğ er çalışmada, farklı derecelerde uygulanan sıcak ve soğuk şoklarının, politen kromozomlarda değışik bant bölgelerinin puflaşmasına neden olduğu gözlemlenmiştir (Uysal 1990).

D. melanogaster ile yapılan çalışmalarda, belirli sıcaklıkta, aynı besin tipiyle beslenen, fakat farklı fotoperiyot şartlarına maruz kalan bireylerde, metabolik hızın farklı olduğu, genel olarak kısa gün şartlarına maruz kalanlarda metabolik hızın, uzun gün şartlarına maruz kalanlardan daha yüksek olduğu, dolayısıyla kısa gün şartlarında gelişmenin daha hızlı gerçekleştiğı ifade edilmiştir (Lanciani vd 1991).

Setsini vd (1991), yüksek sıcaklığın metabolik aktiviteyi ve bu bağlamda solunum hızını ve serbest radikal oluşumunu arttırarak hücresel hasara ve ömür uzunluğunda azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir.

Sürekli karanlık ortamda yaşatılan *D. melanogaster* erkeklerinde %20, dişilerinde ise %43'e varan ömür uzunluğu artışı gözlenmiştir (Allemand vd 1973; Bağıcı ve Bozcuk 1991).

D. melanogaster popülasyonlarının soğuk şoku ve dondurucu soğuğa karşı diren çleri üzerine yapılan çalışmada, LD₅₀ (popülasyonun %50'sinin ölüm oranı) değışeri araştırılmıştır. Sonuçta, soğuk şoku için LD₅₀ değışeri -7°C'de 1,5 saat, dondurucu soğuk için ise 4°C'de 6,3 gün, 0°C'de 37,9 saat olarak bulunmuştur (Chen ve Walker 1993).

Lithgow vd (1995) tarafından, ömür uzunluğunun stres diren çliliğine bağılı olduğu ve strese cevap veren genlerin yaşlanma hızına büyük bir etkisinin bulunduğu bildirilmektedir.

D. melanogaster ve diğ er *Drosophila* türleri ile yapılan çalışmalarda fotoperiyodun ergin ömür uzunluğunda önemli bir faktör olduğu, devamlı aydınlığın ergin ömür uzunluğunu kısalttığı tespit edilmiştir (Allemand vd 1973; Klarsfeld ve Rouyer 1998).

Besin ortamına şeker kaynağı olarak sukroz yerine galaktoz konulan *Drosophila*'ların ömür uzunluklarının istatistiksel olarak anlamlı derecede kısaldığı bulunmuştur (Jordens vd 1999).

D. melanogaster'in normalden daha uzun yaşayan soylarında ömür uzunluğundaki artışın antioksidan sisteme ait genlerin ekspresyonu, Cu/Zn-SOD protein üretimi ve ADS (antioksidan savunma sistemi) enzim aktivitelerinde meydana gelen artıştan kaynaklandığı ve bu sebeple oksidatif strese karşı direnç gösterdikleri belirtilmiştir (Arking vd 2000).

D. melanogaster'de 37°C'de günlük ve haftalık değişik periyotlarda sıcak şoku uygulaması ile ömür uzunluğu arasındaki ilişki araştırılmıştır. Sonuçta, en kısa ömür uzunluğu, en fazla sıcak şokuna maruz bırakılan grupta tespit edilmiştir (Le Bourg vd 2001).

Etil metan sülfonat (EMS) gibi mutajenik maddelerin çok düşük dozlarda bile gelişim süresini geciktirerek viabilite ve fekunditeyi düşürüp, ömür uzunluğunu kısalttığını gözlemlenmiştir (Yang vd 2001).

Kısa süreli yüksek sıcaklığa maruz kalan *D. melanogaster*'in hsp70 ekspresyonunun artmasıyla termotoleransının arttığı ve bu bağlamda hsp70 ekspresyonunun ömür uzunluğunu arttırdığı bulunmuştur (Le Bourg vd 2001).

Ömür uzunluğunun stres dirençliliğine bağlı olduğu ve strese cevap veren genlerin yaşlanma hızına büyük bir etkisinin olduğu belirtilmiştir (Lithgow vd 1995; Lin vd 1998; Harshman vd 1999; Tatar 1999; Arking vd 2000; Le Bourg vd 2001).

Droge (2002) tarafından, oksidatif stresin genetik ve metabolik bozukluklara, nörodejeneratif bozukluklara, kardiyovasküler hastalıklara, otoimmün hastalıklara,

enfeksiyöz hastalıklara, alerjik patolojilere ve kansere yol açarak yaşlanma sürecini hızlandırdığı savunulmaktadır.

Değişik yaş gruplarında (0-8 günlük), *D. melanogaster* popülasyonlarının hsp70 üretimi ve hayatta kalma (survival) üzerine sıcaklık şokunun etkileri araştırılmıştır. Sonuç olarak, yaş grupları ile hsp70 üretimi ve hayatta kalma arasında ters bir orantının olduğu gözlemlenmiştir (Sorensen ve Loeschcke 2002).

Son yıllarda yoğun olarak çalışılan ve *Drosophila*'da ömür uzunluğunu etkileyen çevresel faktörlerden biri ise *Drosophila* ile mutualistik simbiyoz bir ilişkisi olan *Wolbachia* bakterisidir. *Wolbachia* bakterisinin *Drosophila*'da uyum özelliklerini düzenleyerek bazı genotiplerde ömür uzunluğunu arttırdığı bulunmuştur (Fry ve Rand 2002).

Drosophila'da P-elementi insersiyonları (ilaveleri) ile bazı genlerin fonksiyonlarının azalarak ömür uzunluğunun arttığı gözlemlenmiştir (Lin vd 1998; Harshman vd 1999; Rose 1999; Aigaki vd 2002).

Drosophila'da sıcaklık, açlık, hipergravite ya da oksidatif bozulma gibi streslere karşı yüksek tolerans göstererek yaşlanması geciken soyların, ya bir gende (Cu/Zn- SOD, katalaz, hsp70 genleri gibi) overekspresiyon ya da bir gen fonksiyonunda (*mtH*, *Indy*, *Chico*, *InR* genleri gibi) azalma gösteren mutasyonları içerdiği belirtilmiştir (Lin vd 1998; Aigaki vd 2002).

Isı şoku proteinlerinden hsp26'nın tek başına aşırı ifadesi *D. melanogaster*'in ömür uzunluğunda %15'lik bir artışa yol açmaktadır (Morrow ve Tanguay, 2003).

D. melanogaster popülasyonlarında yapılan çalışmada, hsp22 (Mitochondrial small heat shock protein)'nin üretimi durdurulmuş ve ömür uzunluğuna etkisi araştırılmıştır.

Sonuçta, hsp22 yokluğunda sıcak şoku uygulaması ile kontrol grubuna oranla ömür uzunluğunda %40'lık bir düşüş gözlemlenmiştir (Morrow vd 2004).

Sodyum nitrit, sodyum nitrat, potasyum nitrit ve potasyum nitrat içeren çeşitli katkı maddelerinin de *D. melanogaster*'in ömür uzunluğunu kısalttığı belirtilmiştir (Sarıkaya vd 2006).

Dumlupınar vd (2008) tarafından yüksek sıcaklığa maruz bırakılan *D. melanogaster*'in ergin bireylerinde, Si, Cu, Al, Ca gibi çeşitli elementlerin miktarları ölçülmüş ve uygulama süresine bağlı olarak bu elementlerin miktarlarında değişmeler olduğu belirlenmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Organizma

Bu çalışmada, *Drosophila melanogaster* türünün (Diptera: Drosophilidae) Oregon R yabanıl tipi ile *Vestigial* mutant soyları kullanılmıştır. Bu soylar, Atatürk Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Genetik Araştırma Laboratuvarı'nda 1988 yılından bu yana kendileştirilerek yaşatılmaktadırlar. *D. melanogaster* Oregon R soyu normal, yuvarlak-kırmızı gözlü ve herhangi bir mutant karakter taşımayan yabanıl tip (w.t.= wild type) soydur (Şekil 3.1.). *Vestigial* mutantı ise yuvarlak-kırmızı gözlü, ancak kanatları ve denge organları körelmiş mutant soydur (Şekil 3.2.). Halk arasında sirke sineği veya meyve sineği olarak tanınan *D. melanogaster* türü, genetik çalışmalarda en çok kullanılan organizmalardan birisidir.



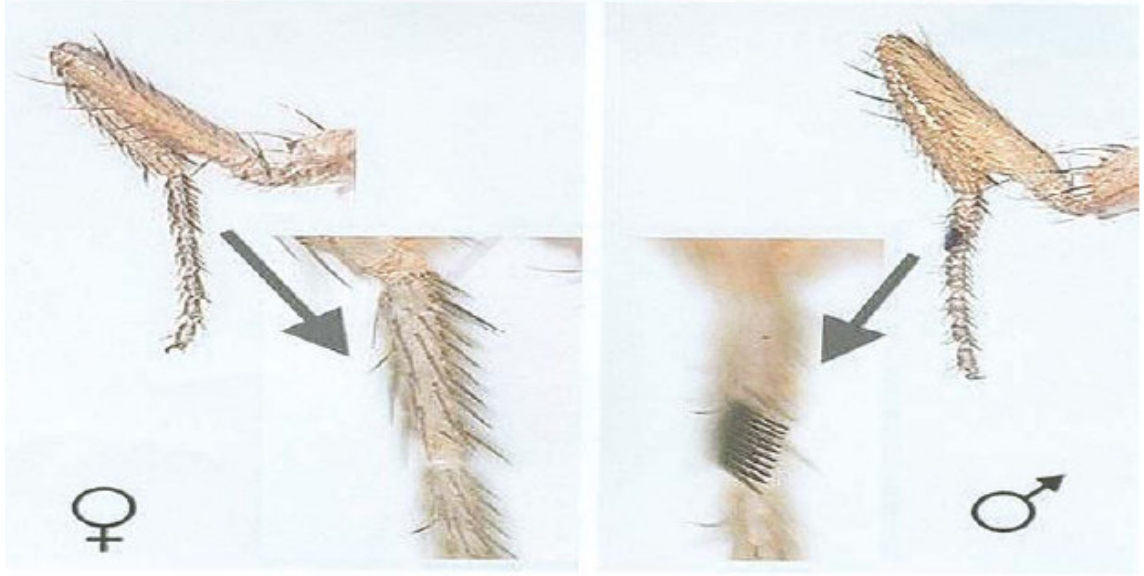
Şekil 3.1. *Drosophila melanogaster* Oregon R soyu (yabanıl tip) erkek ve dişi bireyleri
D: Denge Organı



Şekil 3.2. *Drosophila melanogaster Vestigial* mutant soyu erkek ve dişi bireyleri

Drosophila'da bütün böceklerde olduğu gibi, vücut kaput (baş), toraks (göğüs) ve abdomen (karın) olmak üzere, üç kısma ayrılır. Baş ve toraks büyük sert kıllar (makroseta) ve ufak yumuşak kıllar (mikroseta) ile örtülüdür. Bunların her iki türü de duyu organı olarak görev yaparlar. Sayı ve şekilleri kalıtsal olarak değişir. Başın iki yanında birer bileşik (petek) göz, tepe kısmında üç basit göz bulunur. Baş bölgesinde ağız parçaları ve 1 çift anten de bulunmaktadır. Toraksın her segmentinden bir çift bacak çıkar. İkinci toraks segmentinde bir çift kanat ve 3. toraks segmentinde bir çift halter organı taşırlar. Abdomen erkek ve dişi bireylerde farklılıklar gösterir. Dişi bireylerde abdomenin ucu uzun ve sivri, erkeklerde daha kısa ve yuvarlaktır. Ayrıca, dişilerin yaşlanmasıyla abdomenleri yumurtalarla dolar ve buna bağlı olarak genişler. Yabani tipler ve birçok mutant bireylerde abdomen segmentlerinde bulunan koyu renkli çizgiler, erkek ve dişilerin ayrımında kullanılan önemli bir kriterdir. Erkek bireylerde abdomenin arka segmentleri siyahtır. Dişide ise bu açık ve koyu çizgiler, abdomenin uç kısmına kadar devam eder. Dişinin abdomeninde 7, erkeğin abdomeninde ise 5 tane görülebilir segment mevcuttur. Mikroskopik incelemelerde dış genital yapıda da farklılıklar gözlenir. Erkeklerde, birinci çift bacağın birinci tarsus segmenti üzerinde

siyah ve kalın bir kıl demetinden oluşan eşey tarağı (metatarsal tarak) bulunur. Dişilerde bu oluşuma rastlanmaz (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. *Drosophila melanogaster*'de eşey tarağı (metatarsal tarak)

Çeşitli kalıtım mekanizmalarının çalışılmasında ve anlaşılmasında, meyve sineklerinin kullanılmasının nedenlerini ve *Drosophila*'yı diğer organizmalara göre üstün kılan özellikleri şöyle sıralayabiliriz:

- 1) Genetik denemelerde kullanılan organizmalarda, belirgin bazı farklılıklar (varyasyonlar) görülmelidir. *Drosophila* çok çeşitli doğal ya da yapay varyasyonların gözlenebildiği bir organizmadır. Bu varyasyonları taşıyan mutant bireylerde göz rengi, göz şekli, kıl tipi, vücut rengi, kanat şekli açısından farklı fenotipik özellikleri görebilmek mümkündür. Bu tip zıt karakterleri çıplak gözle ya da binoküler mikroskop altında incelemek oldukça kolaydır.
- 2) *Drosophila*'nın hayat devri çok kısadır. Yumurtadan çıktıktan sonra yaklaşık 9-10 günde erginleşir ve yeniden üremeye başlar.

3) *Drosophila*'lar ile yapılan bir çaprazlama sonucunda, bir dişi birey günde 40-50 yumurta bırakır. Bu, 10 günlük bir sayım sonucunda toplam 400-500 birey demektir. Yani, bir defada oldukça fazla sayıda döl elde edilir. Bir nesilde elde edilen birey sayısının fazla olması, onun genetiksel özellikleriyle ilgili bilginin doğru tespit edilmesi ve sonuçların güvenilirliği açısından önemlidir.

4) Bir *Drosophila* popülasyonu laboratuarda kolayca yetiştirilebilir ve besinleri ucuzdur. Kolayca temin edilebilecek malzemeler kullanılarak hazırlanan besin ortamları, araştırmacıya fazla bir maddi külfet getirmez.

5) Kontrollü çaprazlama (araştırmacının kontrolü altında belli özellikleri taşıyan organizmaların çaprazlanması), genetik denemelerde kullanılan çalışma yöntemlerinden biridir. Eğer eşleşmeler kontrol edilebiliyorsa, bir organizmanın genetiğinin incelenebilmesi çok daha kolaydır. Çaprazlamanın özelliğine bağlı olarak özel ata soylar seçilip eşleşmeleri sağlanır ve elde edilen yavru bireylerin kayıtları birkaç nesil dikkatle kaydedilip, çıkan sonuçlara göre ilgilenilen özelliğin kalıtımı hakkında bir sonuca varılabilir. *Drosophila* kontrollü çaprazlama yapılabilen en uygun canlılardan biridir.

6) *Drosophila*'nın diğer bir avantajı, mitotik kromozomlardan kolayca ayırt edilebilen ve özellikle larvaların tükrük bezi hücrelerinde görülebilen dev kromozomları (= politen kromozom) taşımasıdır. Bu kromozomlar, sitogenetik olarak, kromozom haritaları ve kromozom fonksiyon analizlerinin yapılmasını sağlar.

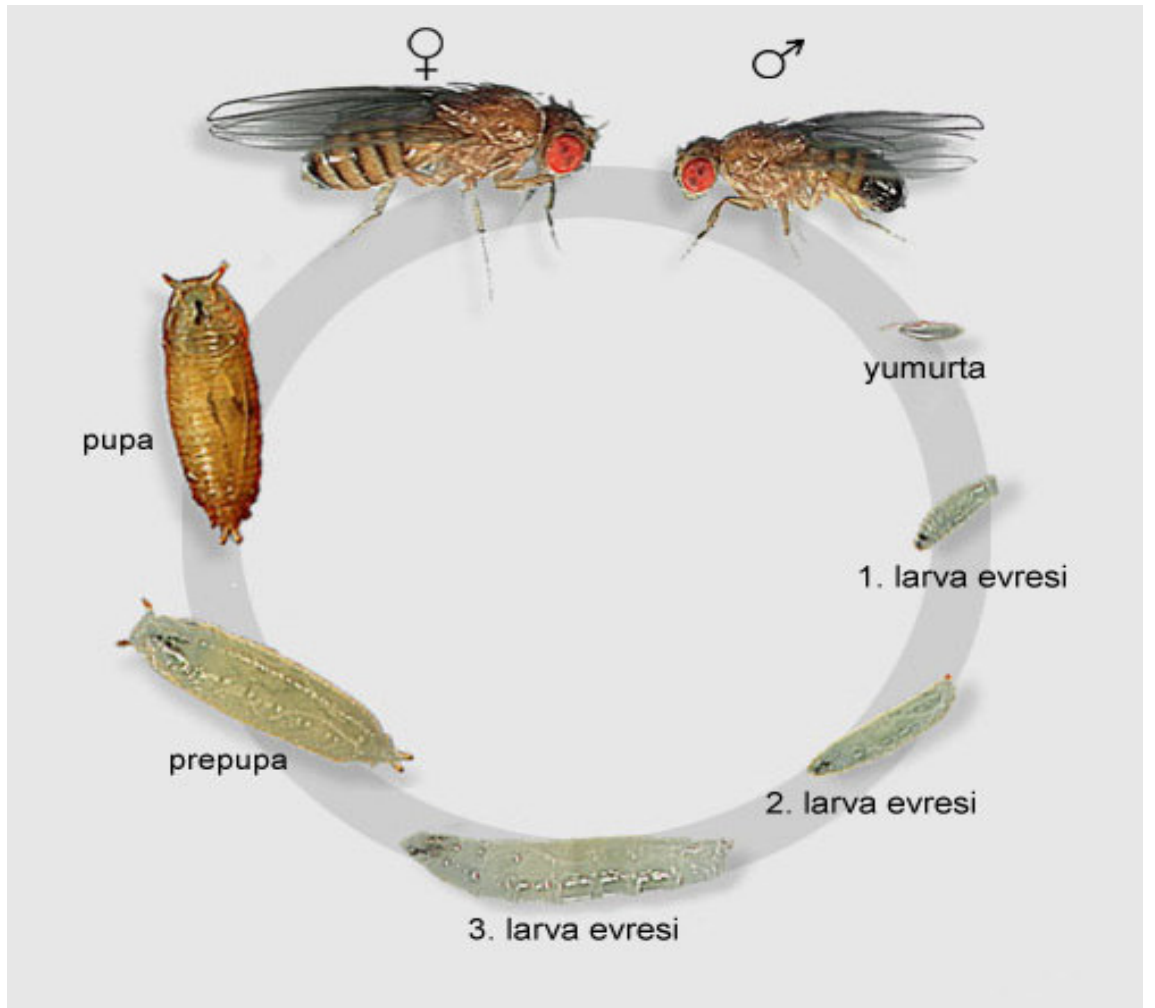
7) *Drosophila*'lar özel düzenekler kullanılarak, eterle kolayca bayıltıldıklarından, üzerlerinde çeşitli incelemeler yapılabilir.

Yukarıda belirtilen özellikler bakımından *Drosophila*, genetik araştırmalar için ideal bir organizmadır.

3.1.1. *Drosophila melanogaster*'in yaşam döngüsü

Drosophila melanogaster tam başkalaşım (holometabol) gösteren bir türdür. Gelişim evreleri yumurta, larva, pupa ve ergin şeklindedir (Şekil 3.4.).

Drosophila ergin olmadan önce, döllenmiş yumurtadan başlayarak embriyo, üç larva evresi ve pupa evrelerini geçirir. Döllenmeden yaklaşık 22-24 saat sonra yumurtadan larva (1. larva evresi) çıkar. İki deri değişiminden sonra (2. ve 3. larva evreleri), önce prepupa (4. larva evresi) ve daha sonra pupa meydana gelir. Yumurtadan ergin bireyin oluşması için geçen süre, yaklaşık 9-10 gündür.



Şekil 3.4. *Drosophila melanogaster*'in gelişim evreleri

3.2. Deney Koşulları

3.2.1. Çevre koşulları

Drosophila stok kültürleri, %40-60 bağıl nem, $25\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ile sürekli karanlık koşullarını taşıyan ısıtmalı-soğutmalı sıcaklık kabinlerinde, Standart *Drosophila* Besiyeri (SDB) içeren şişelerde yaşatılmaktadır. Kültür şişeleri 250 ml'lik süt şişeleri olup dip kısmından 2-3 cm yüksekliğe kadar besin maddesi içermektedir. Stokların yenilenmesi, taze hazırlanmış besin içeren şişelerin her birine 5 ♀♀ X 5 ♂♂ birey çaprazlaması yapılarak sağlanmıştır. Stokların yenilenme işlemi, ortalama her 15 günde bir tekrarlanmıştır. Sinekler sadece taze besin ortamına aktarılmaları sırasında aydınlığa çıkarılmıştır.

3.2.2. Besin ortamının hazırlanması

Laboratuvar stok kültürleri Standart *Drosophila* Besiyeri'nde (SDB) (Bozcuk 1976) tutulmaktadır. SDB hazırlamak için gereken malzemeler; 9 g agar, 60 g toz şeker, 19 g bira mayası, 50 g mısır unu, 565 cc saf su ve 3-3,5 cc propionik asittir. 440 cc saf su temiz bir beherde kaynatılır. Kaynamaya başlayan saf suya önce 9 g agar, daha sonra 60 g şeker ilave edilip bir cam baget yardımıyla iyice karıştırılır. Bir başka beher içinde 125 cc saf suda 50 g mısır unu ve 19 g bira mayası ezilir. Karıştırılarak ezilen bu karışım kaynayan şeker-agar karışımına ilave edilerek karıştırmaya devam edilir. Karışım kaynamaya başladıktan sonra karıştırma işlemine 15 dk daha kısık ateşte devam edilmelidir. Bu safhada karışımın kıvamına dikkat etmek gerekir. Eğer karışım çok sıvı olursa besin ortamı soğuduğu zaman çok katılaşmayacak ve sinekler besin ortamına yapışacaktır. Karışım çok katılaşrsa hem şişelere doldurmak hem de sineklerin beslenmesi güçleşecektir. Bu durumlar göz önüne alınarak hazırlanan besin ortamı ateşten indirilir. Karışım biraz soğuduktan sonra küf indikatörü olarak kullanılan 3-3,5 cc propionik asit (Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo, USA)) ilave edilip hazırlanan besin ortamı henüz sıcakken 250 ml'lik kültür şişelerine dökülür ve üzerleri

temiz kurutma kâğıtlarıyla kapatılarak bir gün oda sıcaklığında soğumaları için bekletilir. Besiyerleri soğuyup katılaştığında şişelerin ağızları sineklerin hava alabilmesi için sünger veya pamuk ve gazlı bezden yapılmış tıkaçlarla kapatılır.

3.2.3. Bayıltma yöntemi

Drosophila'lar, negatif geotropik (yerçekiminin tersine) ve pozitif fototropik (ışığa doğru) yönelim (davranış) gösterdiklerinden eterize edilirler (Doane 1967). Deneylerimizde ekonomik oluşu ve çalışma kolaylığı nedeniyle dietil eter (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo, USA) kullanılmıştır. Bayıltma işlemi için basit bir düzenek hazırlanmıştır. Bir erlenmayere bir miktar eter konularak cam kroze erlenin içine yerleştirilmiş ve krozenin ağzı bir petri kabı ile kapatılmıştır. Krozenin tabanında bulunan torf gözeneklidir ve bu sayede eter krozenin içine buharlaşır. Krozenin gövdesinde bulunan sinekler bu şekilde bayıltılmış olur. Bayıltma (eterizasyon) işlemi, ana-baba stoklarının kurulması ve uygulama gruplarının oluşturulması için kullanılmıştır. Ömür uzunluğu deneylerindeki transfer işlemleri sırasında eterizasyon yapılmamıştır.

3.3. Deneyin Yapılışı

Drosophila melanogaster'in Oregon R yabanıl ve *Vestigial* mutant soylarında ekstrem sıcaklık şartlarının ömür uzunluğu üzerine etkileri dişi ve erkek popülasyonlarında ayrı ayrı çalışılmıştır. Bu amaçla aynı yaşlı bireyleri elde etmek için, taze besin ortamı içeren kültür şişelerinde çaprazlamalar yapılarak ön stoklar oluşturulmuştur. Çaprazlamaların yapıldığı tarihten itibaren pupanın görüldüğü gün ebeveynler ortamdan uzaklaştırılmıştır. 9. ve 10. günde pupadan çıkan bireyler, 6 saat sonra çiftleşme yeteneği kazandıklarından, ♀♀ ve ♂♂'ler ayrı ayrı, her 5 saatlik periyotlarda toplanmışlardır. Bu şekilde aynı yaşlı ve çiftleşmemiş ♀♀ ve ♂♂ sineklerden her bir deney grubu için ortalama 100 birey toplanmıştır. Toplanan bireyler, içerisinde taze besiyeri bulunan 250 ml'lik kültür şişelerine aktarılmışlardır. Tüm sıcak ve soğuk şoku

uygulamaları hiç çiftleşmemiş 3 günlük ergin bireyler üzerinde yapılmıştır. Değişik sürelerde (1, 2 ve 3 saat) sıcak ve soğuk şoku uygulamalarından sonra, bireyler 25'erli gruplar halinde içinde SDB bulunan kültür şişelerine aktarılarak 3.2.1.'de anlatılan şartlara uygun sıcaklık kabinlerine konulmuştur. Kontrol ve deney grupları için çalışmalar eş zamanlı başlatılmıştır. Deney süresince besinler 3 günde bir tazelenmiştir. Bu tazeleme işlemlerinde bireyler bayıltılmadan direkt olarak aktarılmışlardır. Birey sayıları her uygulama günü başlangıcında ve sonunda kontrol edilmiş ve ölen bireyler kaydedilerek ortamdan uzaklaştırılmıştır. Her bir deney ve kontrol grubunda en son birey ölene kadar uygulamaya devam edilmiştir.

3.3.1. Sıcak şoku uygulaması

Bölüm 3.3.'de anlatılan şekilde toplanan 100'er adet 3 günlük ergin ♀♀ ve ♂♂ bireyler, sıcak şoku uygulamaları için öncelikle 250 ml'lik boş kültür şişelerine aktarılmışlardır. Sıcak uygulamaları 39°C'ye ayarlanmış etüvlerde gerçekleştirilmiştir. Bireylerin aşırı sıcaktan dolayı ölmelerini önlemek için nemli tıkaçlar kullanılmıştır. Sıcak şoku 1, 2 ve 3 saat'lik periyotlar halinde Oregon R yabanıl ve *Vestigial* mutant soylarının dişi ve erkek bireylerine ayrı ayrı uygulanmıştır. Sıcak şoku uygulamalarının ardından 100 birey, 25 bireylik gruplara ayrılarak taze besiyerlerine aktarılmış ve 25°C'deki sıcaklık kabinlerine konulmuşlardır. Kontrol gruplarına ise herhangi bir uygulama yapılmamıştır.

3.3.2. Soğuk şoku uygulaması

Bölüm 3.3.'de anlatılan şekilde toplanan 100'er adet 3 günlük ergin ♀♀ ve ♂♂ bireyler, soğuk şoku uygulamaları için öncelikle boş deney tüplerine aktarılmışlardır. Soğuk uygulamaları -3°C'ye ayarlanmış ve içi %95'lik alkol ile doldurulmuş su banyosunda gerçekleştirilmiştir. Soğuk şoku 1, 2 ve 3 saat'lik periyotlar halinde Oregon R yabanıl ve *Vestigial* mutant soylarının dişi ve erkek bireylerine ayrı ayrı uygulanmıştır. Soğuk şoku uygulamalarının ardından 100 birey, 25 bireylik gruplara

ayrılarak taze besiyerlerine aktarılmış ve 25°C'deki sıcaklık kabinlerine konulmuşlardır. Soğuk şoku uygulanmayan bireyler ise kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

3.4. İstatistiksel Yöntemler

Deneylerden elde edilen verilerle ilgili istatistiksel analizler SPSS 13.0 programı ile yapılmıştır. Kontrol ve uygulama gruplarının ömür uzunluğu ortalamalarını elde edilmesi ve grupların birlikte karşılaştırılması için varyans analizi yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla, istatistiksel olarak %5 ve %1 düzeylerinde tek yönlü varyans analizi (One Way Anova) uygulanmıştır. Varyansların homojen olduğu gruplarda Duncan, homojen olmadığı gruplarda ise Games- Howell testi kullanılmıştır (Sokal ve Rohlf 1995).

Dişi ve erkek bireylerin ortalama ömür uzunluğu bakımından karşılaştırılması için bağımsız gruplar için istatistiksel olarak %5 düzeyinde t-testi kullanılmıştır.

Hayatta kalış eğrilerini gösteren grafikler Microsoft Windows Office-Excel programı kullanılarak çizilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada, ekstrem sıcaklık şartlarının *Drosophila melanogaster*'in Oregon R yabanıl ve *Vestigial* mutant soylarının ömür uzunlukları üzerine etkisi araştırılmıştır. Deney gruplarına farklı sürelerde (1, 2 ve 3 saat) $39\pm0,1^{\circ}\text{C}$ 'de sıcak şoku ve $-3\pm0,1^{\circ}\text{C}$ 'de soğuk şoku uygulamaları yapılmış ve meydana gelen ömür uzunluğu değişimleri kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır.

4.1. Sıcak Şokunun Ömür Uzunluğuna Etkisi

4.1.1. Sıcak şokunun Oregon R yabanıl soyu ömür uzunluğu üzerine etkisi

Bölüm 3.3.1.'de anlatıldığı gibi yapılan sıcak şoku uygulamasının ardından, toplam 100 ergin birey (♀♀ ve ♂♂ için ayrı ayrı olmak üzere) içinde SDB bulunan kültür şişelerine 25'er tane konularak ayrılmıştır. Kontrol ve deney grupları için çalışmalar eş zamanlı başlatılmıştır. Tüm kültür şişeleri 3.2.1.'de anlatılan şartlara uygun sıcaklık kabinlerinde tutulmuştur. Deney süresince besinler üç günde bir tazelenmiş ve birey sayıları her uygulama günü başlangıcında ve sonunda kontrol edilerek ölen bireyler kaydedilmiştir. Bu uygulamaya kontrol ve deney gruplarında en son birey ölene kadar devam edilmiştir. Elde edilen verilere dayanılarak dişi ve erkeklerin kontrol ve deney grupları için ortalama ve maksimum ömür uzunlukları ayrı ayrı hesaplanmıştır.

Çizelge 4.1.'de maksimum ömür uzunlukları incelendiğinde, kontrol grubuna (Grup K) ait dişilerin maksimum 76, erkeklerin ise maksimum 73 gün yaşadıkları görülmektedir. 1 saat sıcak şoku uygulanmış (Grup no 1), 2 saat sıcak şoku uygulanmış (Grup no 2) ve 3 saat sıcak şoku uygulanmış (Grup no 3) deney gruplarında ise maksimum ömür uzunlukları sırasıyla, dişilerde 73, 70 ve 67 gün (Şekil 4.1.), erkeklerde ise 70, 61 ve 58 gün (Şekil 4.2.) olarak bulunmuştur. Bu sonuçlardan da anlaşılabacağı üzere, sıcak şoku uygulamasının süresi arttıkça maksimum ömür uzunluğu kısalmaktadır.

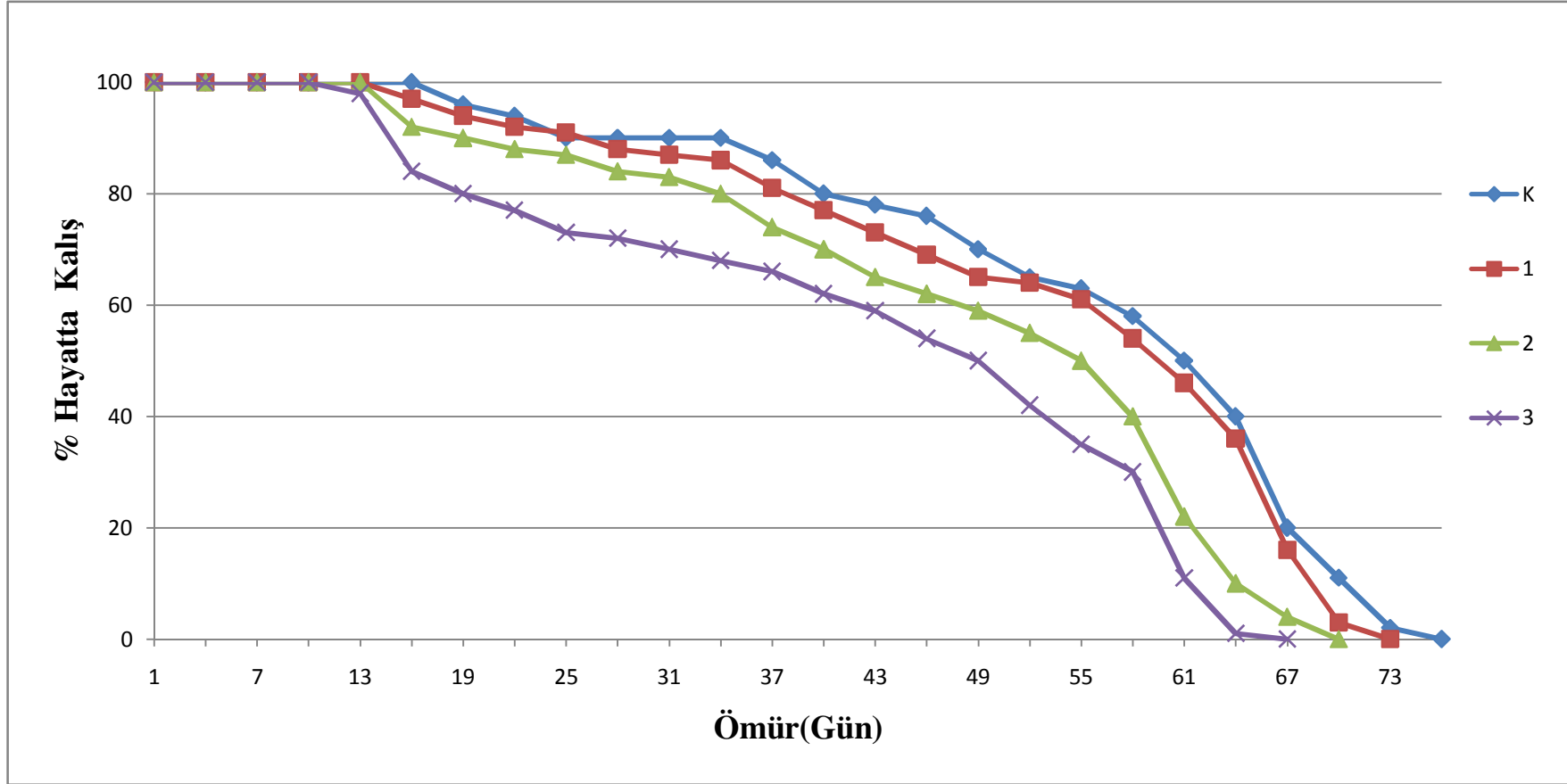
Çizelge 4.1. *Drosophila melanogaster* Oregon R yabanıl soyunun farklı sürelerde sıcak şoku uygulanmış ve uygulanmamış ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunlukları ve gruplar arası önem kontrolleri

DENEY GRUPLARI	GRUP NO	EŞEY	BİREY SAYISI	MAX. ÖMÜR (Gün)	ORTALAMA ÖMÜR UZUNLUĞU (Gün)±S.H.	STANDART SAPMA	GRUPLAR ARASI ÖNEM KONTROLÜ	
Kontrol	(K)	♂	100	73	51,22±1,3	13,035	♂ K-1* K-2** K-3** 1-2* 1-3** 2-3*	♀ K-2* K-3** 1-2* 1-3** 2-3*
		♀	100	76	56,47±1,5	15,553		
1 saat sıcak şoku uygulaması	(1)	♂	100	70	47,02±1,3	13,349		
		♀	100	73	54,40±1,6	16,270		
2 saat sıcak şoku uygulaması	(2)	♂	100	61	41,74±1,5	15,160		
		♀	100	70	49,36±1,6	16,249		
3 saat sıcak şoku uygulaması	(3)	♂	100	58	37,39±1,5	15,419		
		♀	100	67	43,39±1,8	18,856		

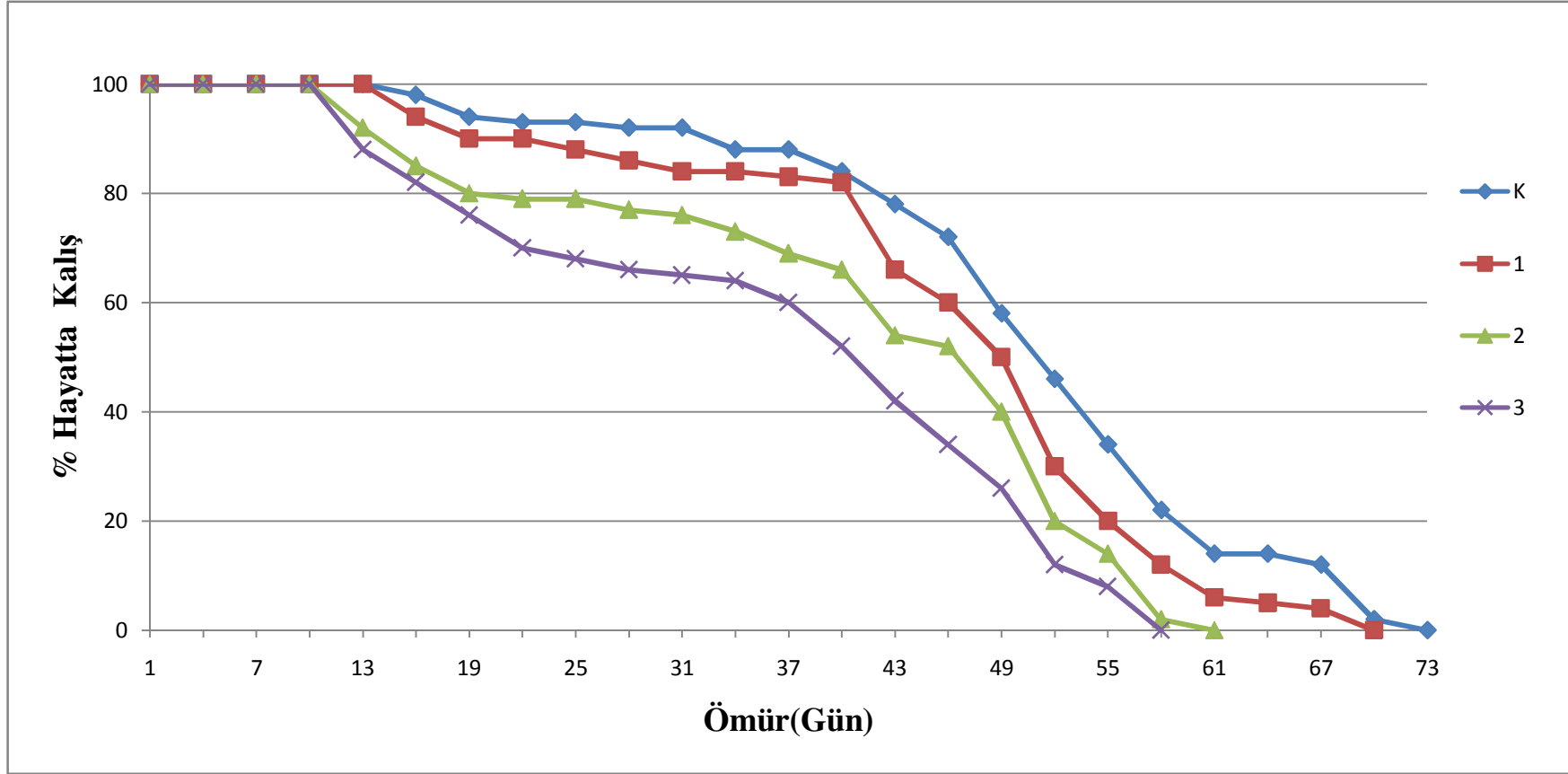
Max.: Maksimum, S.H.: Standart hata, *: Gruplar arasındaki fark $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

**: Gruplar arasındaki fark hem $p < 0,05$, hem de $p < 0,001$ düzeyinde önemlidir.

Dişi ve erkek bireylere ait ortalama ömür uzunluğu sonuçları, kontrol grubuyla ve kendi aralarında karşılaştırıldığı zaman, en uzun ortalama ömrün kontrol grubunun ♀♀ bireylerinde $56,47 \pm 1,5$, ♂♂ bireylerinde ise $51,22 \pm 1,3$ gün olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.1.). Sıcak şoku uygulanan 1, 2 ve 3 nolu deney gruplarında ise uygulama sürelerine bağlı olarak ortalama ömür uzunlukları kısalmıştır. En kısa ortalama ömür, ♀♀ bireylerde $43,39 \pm 1,8$, ♂♂ bireylerde ise $37,39 \pm 1,5$ gün olmak üzere 3 saat sıcak şoku uygulanmış (Grup no 3) deney gruplarında tespit edilmiştir (Çizelge 4.1.).



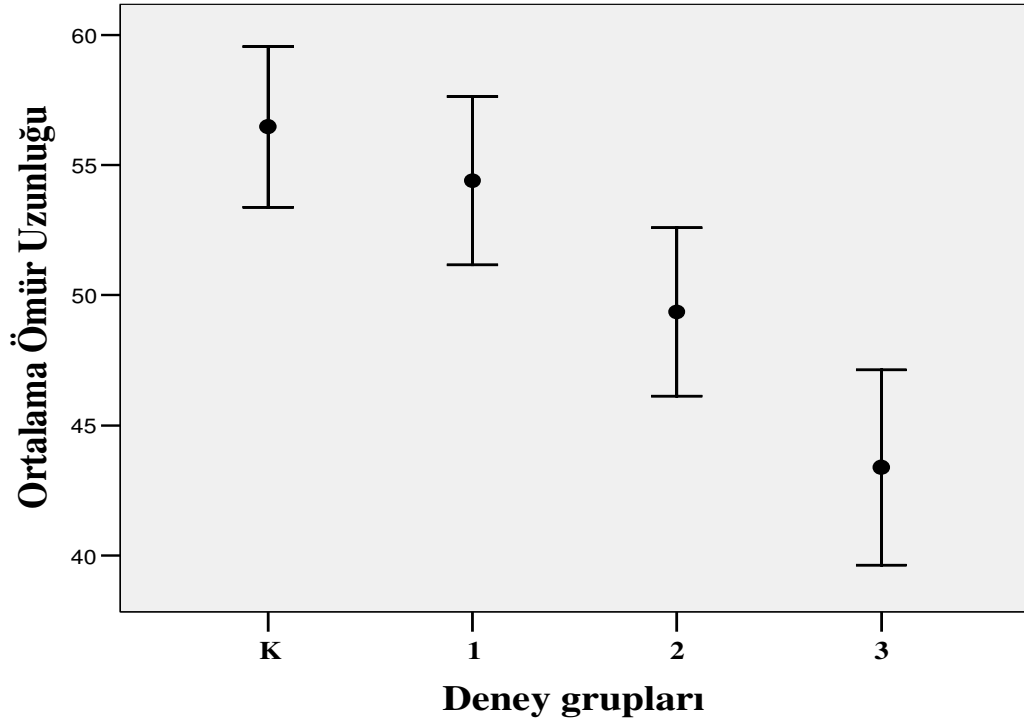
Şekil 4.1. *Drosophila melanogaster* Oregon R yabanıl soyu ♀♀ popülasyonlarının farklı sürelerde sıcak şoku uygulanmış ve uygulanmamış (Kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri



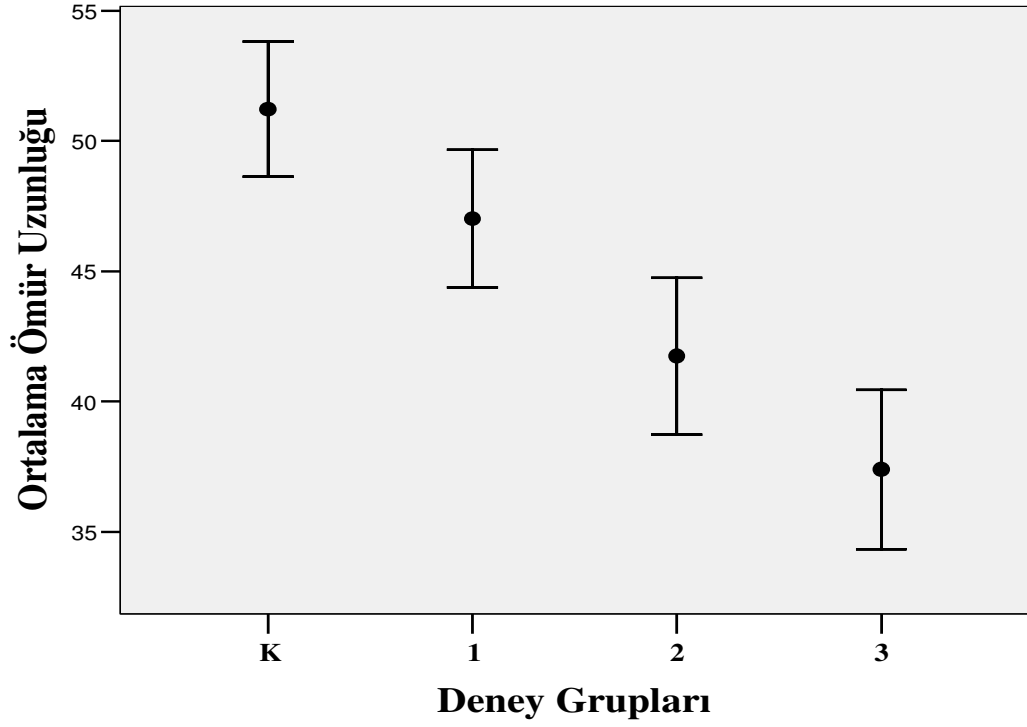
Şekil 4.2. *Drosophila melanogaster* Oregon R yabanıl soyu ♂♂ popülasyonlarının farklı sürelerde sıcak şoku uygulanmış ve uygulanmamış (Kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri

Gruplar arası önem kontrolleri dişi ve erkek bireyler için ayrı ayrı incelenmiştir. Bu sonuçlara göre, ♀♀ bireylerin kontrol ve deney grupları arasında ortalama ömür uzunluğu bakımından ortaya çıkan farklılıklar kontrol ve 1 nolu gruplar arasında hem $p>0,05$, hem de $p>0,001$ düzeyinde istatistiksel olarak önemsiz, diğer gruplar arasında ise çeşitli düzeylerde ($p<0,05$ veya $p<0,001$) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. ♂♂ gruplarının arasındaki ortalama ömür uzunluğu farklılıkları ise K-1, 1-2 ve 2-3 nolu gruplar arasında $p<0,05$ düzeyinde, K-2, K-3 ve 1-3 nolu gruplar arasında ise $p<0,001$ düzeyinde olmak üzere tüm gruplar arasında istatistiksel olarak önemlidir (Çizelge 4.1.).

Sıcak şoku uygulanmış *D. melanogaster*'in Oregon R yabanıl soyunun ♀♀ bireylerine ait ömür uzunluklarının %95 güven aralıkları Şekil 4.3.'de, ♂♂ bireylerine ait ömür uzunluklarının %95 güven aralıkları ise Şekil 4.4.'de verilmiştir. Şekil 4.3. ve Şekil 4.4. incelendiğinde, hem ♀♀, hem de ♂♂ bireylerde ortalama ömür uzunluğunun artan uygulama süresine bağlı olarak kısaldığı görülmektedir.



Şekil 4.3. Sıcak şoku uygulanmış *Drosophila melanogaster* Oregon R yabanıl soyu ♀♀ bireylerine ait %95 güven aralıkları



Şekil 4.4. Sıcak şoku uygulanmış *Drosophila melanogaster* Oregon R yabanıl soyu ♂♂ bireylerine ait %95 güven aralıkları

Sıcak şoku uygulanmış *D. melanogaster* Oregon R yabanıl soyunun erkek ve dişi bireylerine ait ortalama ömür uzunlukları birbirleriyle karşılaştırıldığında, kontrol ve tüm deney gruplarında dişi bireylerin erkek bireylerden daha uzun ömürlü olduğu görülmüştür (Çizelge 4.2.). İki eşey arasında ortalama ömür uzunluğu bakımından gözlenen bu fark, kontrol ve tüm deney gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

Çizelge 4.2. Sıcak şoku uygulanmış *Drosophila melanogaster* Oregon R yabanıl soyuna ait ♀♀ ve ♂♂ bireylerin ortalama ömür uzunluğu bakımından bağımsız gruplar için t-testi ile karşılaştırılması

Deney Grup No	Eşey	Birey Sayısı	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)	t	p
K	♀	100	56,47	2,587	0,010*
	♂	100	51,22		
1	♀	100	54,40	3,507	0,001*
	♂	100	47,02		
2	♀	100	49,36	3,429	0,001*
	♂	100	41,74		
3	♀	100	43,39	2,463	0,015*
	♂	100	37,39		

*: ♀♀ ve ♂♂ bireylerin ortalama ömür uzunluğu farkı $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

4.1.2. Sıcak şokunun *Vestigial* mutant soyu ömür uzunluğu üzerine etkisi

Bölüm 3.3.1’de anlatılan şekilde sıcak şoku uygulamaları yapıldıktan sonra, *Vestigial* mutant soyu için saptanan ömür uzunlukları ve ortalamalar arası farkların önem kontrol değerleri Çizelge 4.3.’de, hayat tablosu verilerinden yararlanılarak çizilen hayatta kalış eğrileri ise Şekil 4.5. ve Şekil 4.6.’da verilmiştir.

Çizelge 4.3.’de verilen maksimum ömür uzunluklarına bakıldığında, kontrol grubuna ait erkeklerin maksimum 70, dişilerin ise maksimum 64 gün yaşadıkları görülmektedir. 1, 2 ve 3 nolu deney gruplarında ise maksimum ömür uzunlukları sırasıyla, dişilerde 61, 52 ve 49 gün (Şekil 4.5.) erkeklerde ise 64, 55 ve 52 gün (Şekil 4.6.) olarak bulunmuştur. Bu sonuçlardan da anlaşılacağı üzere, *D. melanogaster*’in yabanıl soyunda olduğu gibi, *Vestigial* mutant soyuna ait bireylerde de sıcak şoku uygulamasının süresi arttıkça maksimum ömür uzunluğu kısalmıştır.

Dişi ve erkek bireylere ait ortalama ömür uzunluğu sonuçları, kontrol gruplarıyla ve kendi aralarında karşılaştırıldığı zaman, en uzun ortalama ömrün kontrol grubunun ♂♂ bireylerinde $48,01 \pm 1,3$, ♀♀ bireylerinde ise $46,09 \pm 0,9$ gün olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.3.).

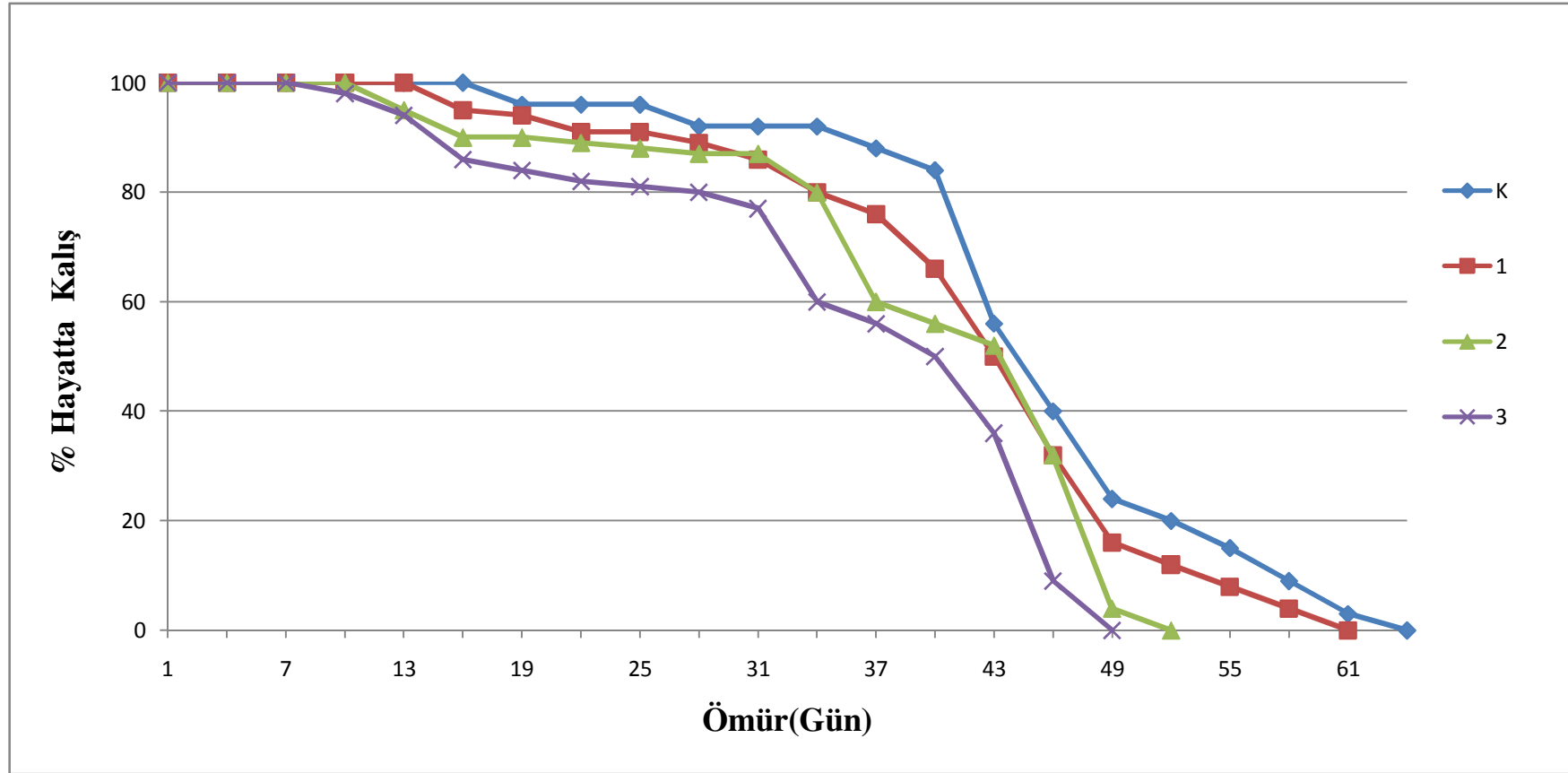
Ayrıca, Çizelge 4.3.'de deney gruplarına ait hem erkek, hem de dişi popülasyonlarda ortalama ömür uzunluğunun uygulama süresi arttıkça kısaldığı da görülmektedir. En kısa ortalama ömür ♂♂ bireylerde $34,51 \pm 1,5$, ♀♀ bireylerde ise $36,79 \pm 1,1$ gün olmak üzere 3 saat sıcak şoku uygulanmış deney gruplarında tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3. *Drosophila melanogaster Vestigial* mutant soyunun farklı sürelerde sıcak şoku uygulanmış ve uygulanmamış ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunlukları ve gruplar arası önem kontrolleri

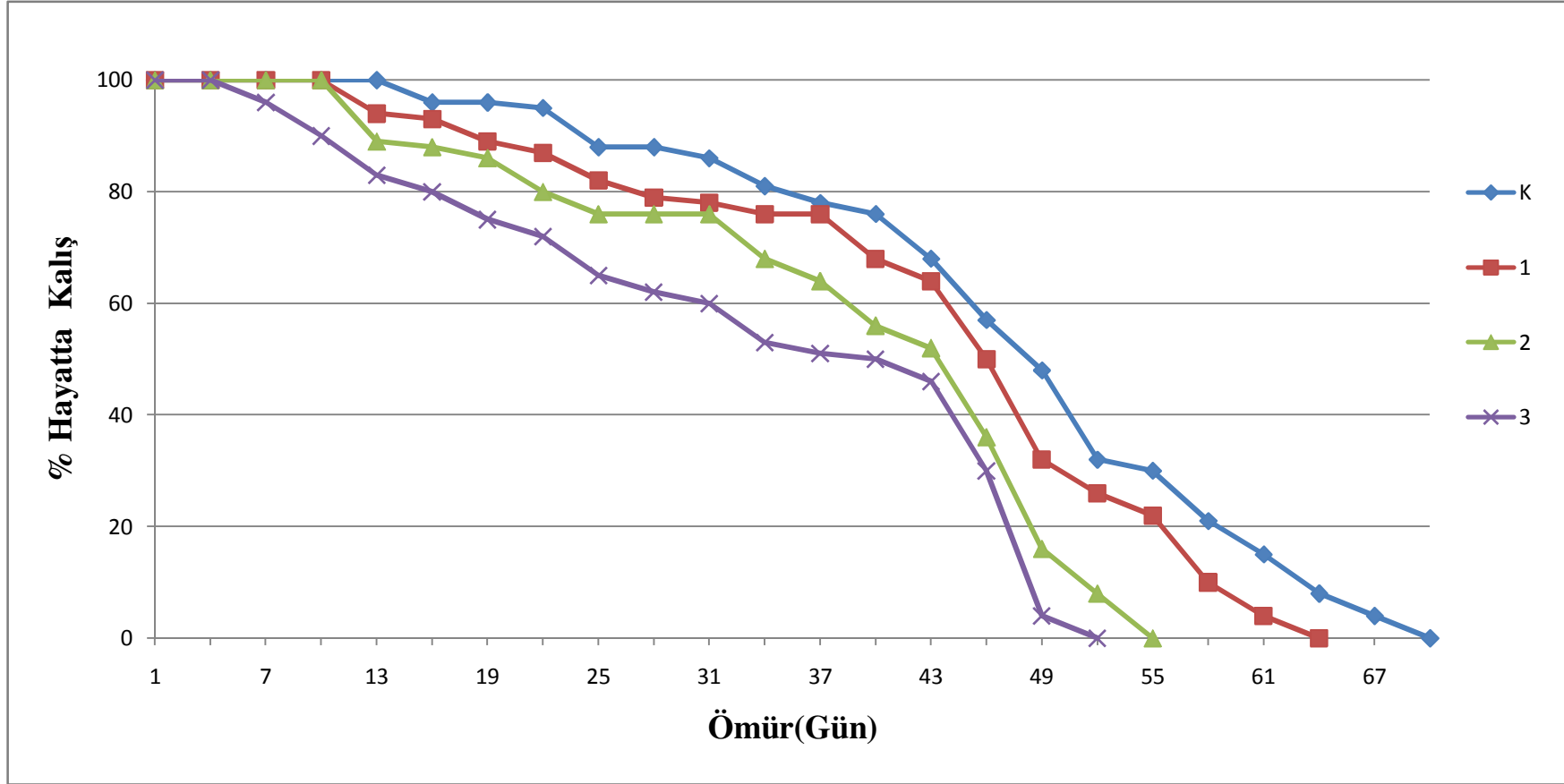
DENEY GRUPLARI	GRUP NO	EŞEY	BİREY SAYISI	MAX. ÖMÜR (Gün)	ORTALAMA ÖMÜR UZUNLUĞU (Gün)±S.H.	STANDART SAPMA	GRUPLAR ARASI ÖNEM KONTROLÜ	
Kontrol	(K)	♂	100	70	$48,01 \pm 1,3$	13,565	♂ K-1* K-2** K-3** 1-2* 1-3** 2-3*	♀ K-1* K-2** K-3** 1-3** 2-3*
		♀	100	64	$46,09 \pm 0,9$	9,433		
1 saat sıcak şoku uygulaması	(1)	♂	100	64	$43,90 \pm 1,4$	14,266		
		♀	100	61	$42,70 \pm 1,4$	10,527		
2 saat sıcak şoku uygulaması	(2)	♂	100	55	$39,13 \pm 1,3$	13,391		
		♀	100	52	$40,36 \pm 1,2$	10,602		
3 saat sıcak şoku uygulaması	(3)	♂	100	52	$34,51 \pm 1,5$	15,069		
		♀	100	49	$36,79 \pm 1,1$	11,419		

Max.: Maksimum, S.H.: Standart hata, *: Gruplar arasındaki fark $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

**: Gruplar arasındaki fark hem $p < 0,05$, hem de $p < 0,001$ düzeyinde önemlidir.



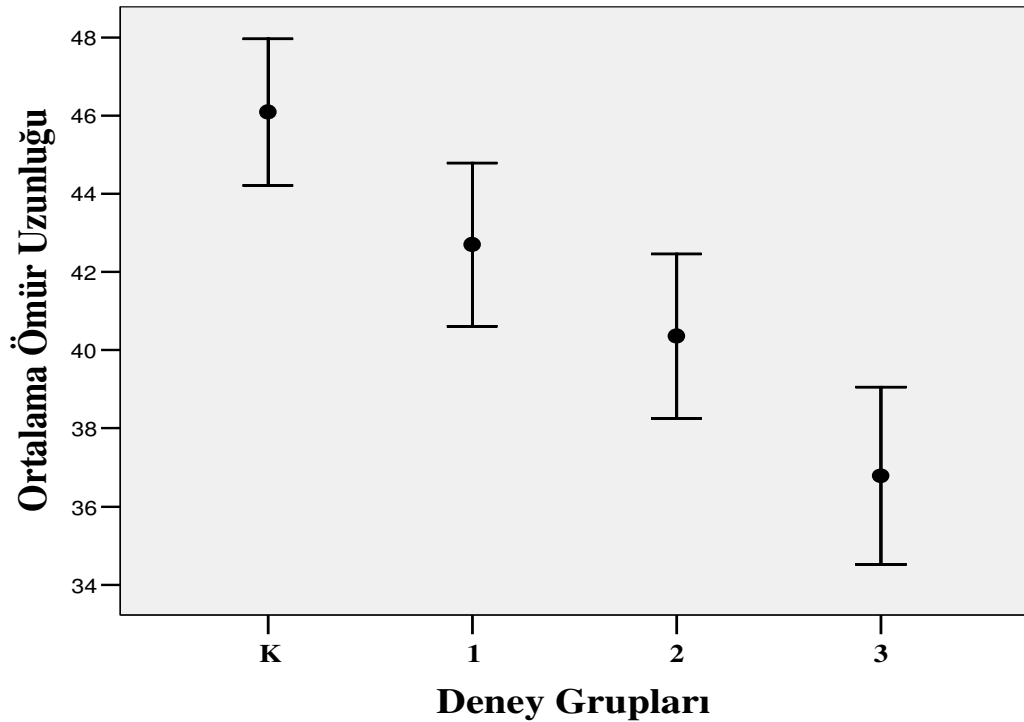
Şekil 4.5. *Drosophila melanogaster Vestigial* mutant soyu ♀♀ popülasyonlarının farklı sürelerde sıcak şoku uygulanmış ve uygulanmamış (Kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri



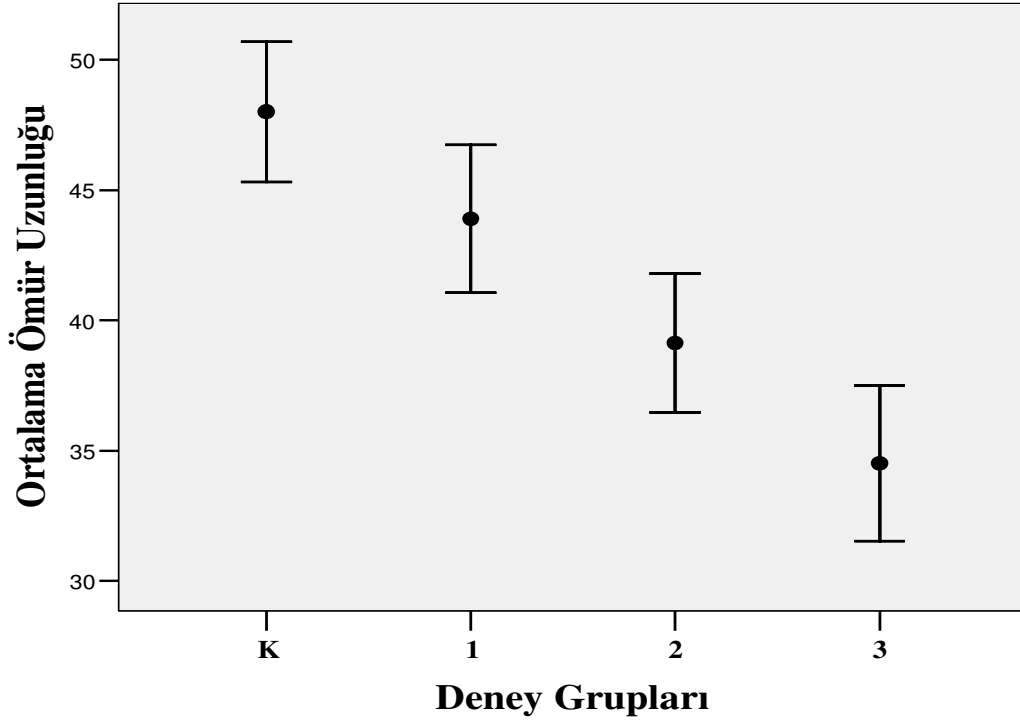
Şekil 4.6. *Drosophila melanogaster Vestigial* mutant soyu ♂♂ popülasyonlarının farklı sürelerde sıcak şoku uygulanmış ve uygulanmamış (Kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri

Gruplar arası önem kontrolleri dişi ve erkek bireyler arasında ayrı ayrı incelenmiştir. Bu sonuçlara göre, ♀♀ bireylerin kontrol ve deney grupları arasında ortalama ömür uzunluğu bakımından meydana çıkan farklılıklar 1 ve 2 nolu gruplar arasında hem $p>0,05$, hem de $p>0,001$ düzeyinde istatistiksel olarak önemsiz, diğer gruplar arasında ise çeşitli düzeylerde ($p<0,05$ veya $p<0,001$) önemli bulunmuştur. ♂♂ gruplarının arasındaki ortalama ömür uzunluğu farklılıklarının da K-1, 1-2 ve 2-3 nolu gruplar arasında $p<0,05$ düzeyinde, K-2, K-3 ve 1-3 nolu gruplar arasında ise $p<0,001$ düzeyinde olmak üzere, tüm gruplar arasında istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.3.).

Sıcak şoku uygulanmış *D. melanogaster*'in *Vestigial* mutant soyunun ♀♀ bireylerine ait ömür uzunluklarının %95 güven aralıkları Şekil 4.7.'de, ♂♂ bireylerine ait ömür uzunluklarının %95 güven aralıkları ise Şekil 4.8.'de verilmiştir. Şekil 4.7. ve Şekil 4.8.'de hem ♀♀, hem de ♂♂ bireylerde ortalama ömür uzunluğunun artan uygulama süresine bağlı olarak kısaldığı görülmektedir.



Şekil 4.7. Sıcak şoku uygulanmış *Drosophila melanogaster* *Vestigial* mutant soyu ♀♀ bireylerine ait %95 güven aralıkları



Şekil 4.8. Sıcak şoku uygulanmış *Drosophila melanogaster Vestigial* mutant soyu ♂♂ bireylerine ait %95 güven aralıkları

Çizelge 4.3. incelendiği zaman, *D. melanogaster Vestigial* mutant soyunda, Oregon R yabanıl soyunun tam tersine, tüm deney gruplarının erkek bireylerinde maksimum ömür uzunluğunun dişilere oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Buna karşın erkek ve dişi bireylere ait ortalama ömür uzunlukları birbirleriyle karşılaştırıldığında, kontrol (Grup K) ve 1 saat sıcak şoku uygulanmış (Grup no 1) deney gruplarında erkek bireylerin, 2 saat sıcak şoku uygulanmış (Grup no 2) ve 3 saat sıcak şoku uygulanmış (Grup no 3) deney gruplarında ise dişi bireylerin ortalama ömür uzunluklarının daha fazla olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.4.). İki eşey arasında ortalama ömür uzunluğu bakımından gözlenen bu fark, sadece 3 nolu deney grubunda $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı, kontrol ve diğer uygulama gruplarında ise $p > 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. Sıcak şoku uygulanmış *Drosophila melanogaster Vestigial* mutant soyu ♀♀ ve ♂♂ bireylerin ortalama ömür uzunluğu bakımından bağımsız gruplar için t-testi ile karşılaştırılması

Deney Grup No	Eşey	Birey Sayısı	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)	t	p
K	♀	100	46,09	1,162	0,247
	♂	100	48,01		
1	♀	100	42,70	0,677	0,499
	♂	100	43,90		
2	♀	100	40,36	0,720	0,472
	♂	100	39,13		
3	♀	100	36,79	1,206	0,029*
	♂	100	34,51		

*: ♀♀ ve ♂♂ bireylerin ortalama ömür uzunluğu farkı $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

4.2. Soğuk Şokunun Ömür Uzunluğuna Etkisi

4.2.1. Soğuk şokunun Oregon R yabanıl soyu ömür uzunluğu üzerine etkisi

Bölüm 3.3.2.'de anlatılan şekilde yapılan soğuk şoku uygulamasının ardından, toplam 100 ergin birey (♀♀ ve ♂♂ için ayrı ayrı olmak üzere) içinde SDB bulunan kültür şişelerine 25'er tane konularak ayrılmıştır. Kontrol ve deney grupları için çalışmalar eş zamanlı başlatılmıştır. Tüm kültür şişeleri 3.2.1.'de anlatılan şartlara uygun sıcaklık kabinlerinde tutulmuştur. Deney süresince besinler üç günde bir tazelenmiş ve birey sayıları her uygulama günü başlangıcında ve sonunda kontrol edilerek ölen bireyler kaydedilmiştir. Bu uygulamaya kontrol ve deney gruplarında en son birey ölene kadar devam edilmiştir. Oregon R yabanıl soyu için saptanan ömür uzunlukları ve ortalamalar arası farkların önem kontrol değerleri Çizelge 4.5.'de, hayat tablosu verilerinden yararlanılarak çizilen hayatta kalış eğrileri ise Şekil 4.9. ve Şekil 4.10.'da verilmiştir.

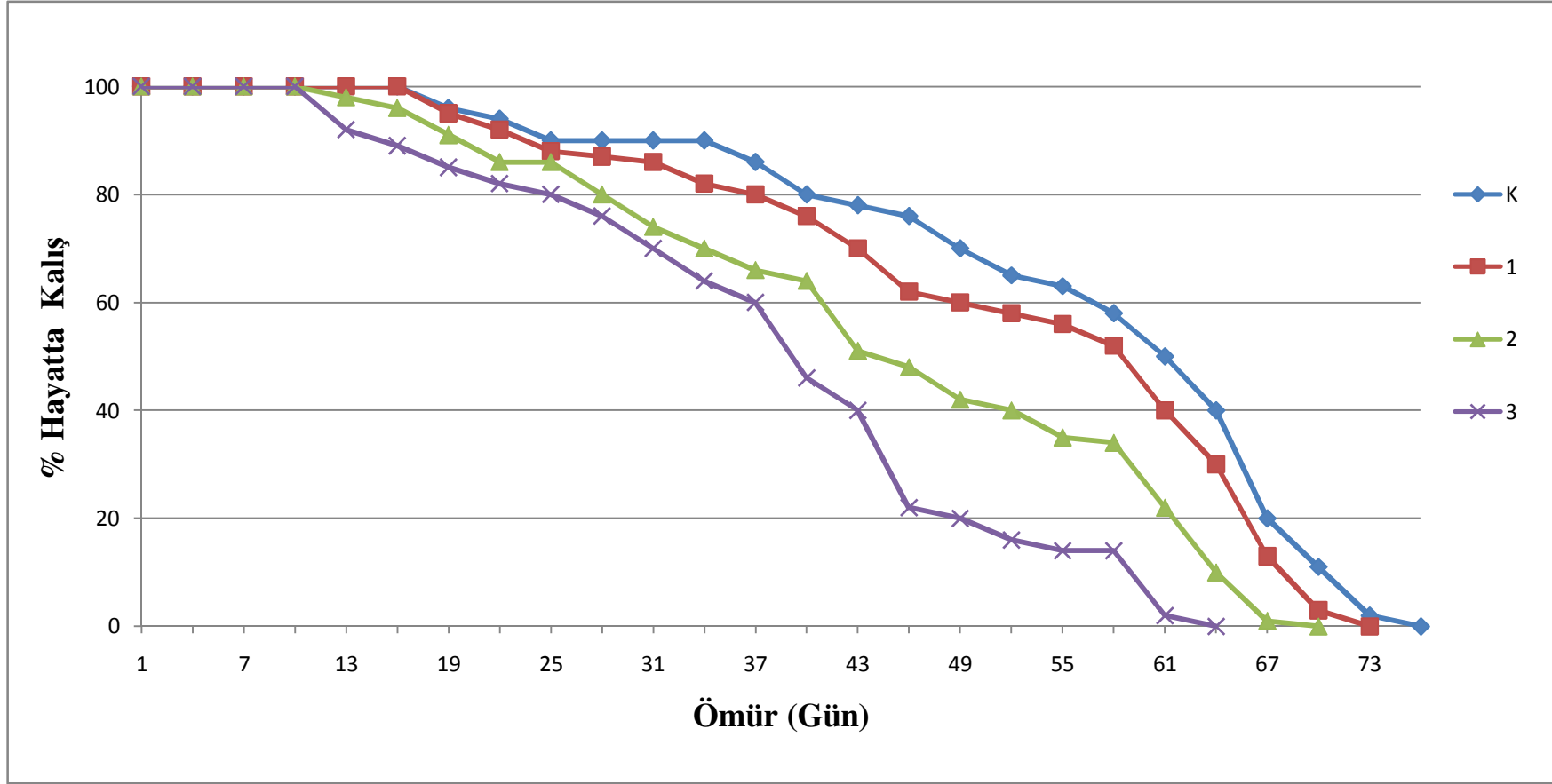
Çizelge 4.5. *Drosophila melanogaster* Oregon R yabanıl soyunun farklı sürelerde soğuk şoku uygulanmış ve uygulanmamış ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunlukları ve gruplar arası önem kontrolleri

DENEY GRUPLARI	GRUP NO	EŞEY	BİREY SAYISI	MAX. ÖMÜR (Gün)	ORTALAMA ÖMÜR UZUNLUĞU (Gün)±S.H.	STANDART SAPMA	GRUPLAR ARASI ÖNEM KONTROLÜ	
Kontrol	(K)	♂	100	73	51,22±1,3	13,03	♂ K-2* K-3** 1-3** 2-3*	♀ K-2** K-3** 1-2* 1-3** 2-3*
		♀	100	76	56,47±1,5	15,55		
1 saat soğuk şoku uygulaması	(1)	♂	100	70	48,97±1,3	13,04		
		♀	100	73	52,90±1,6	16,22		
2 saat soğuk şoku uygulaması	(2)	♂	100	67	44,56±1,2	12,93		
		♀	100	70	45,04±1,5	15,52		
3 saat soğuk şoku uygulaması	(3)	♂	100	61	39,73±1,2	12,67		
		♀	100	64	39,16±1,4	14,32		

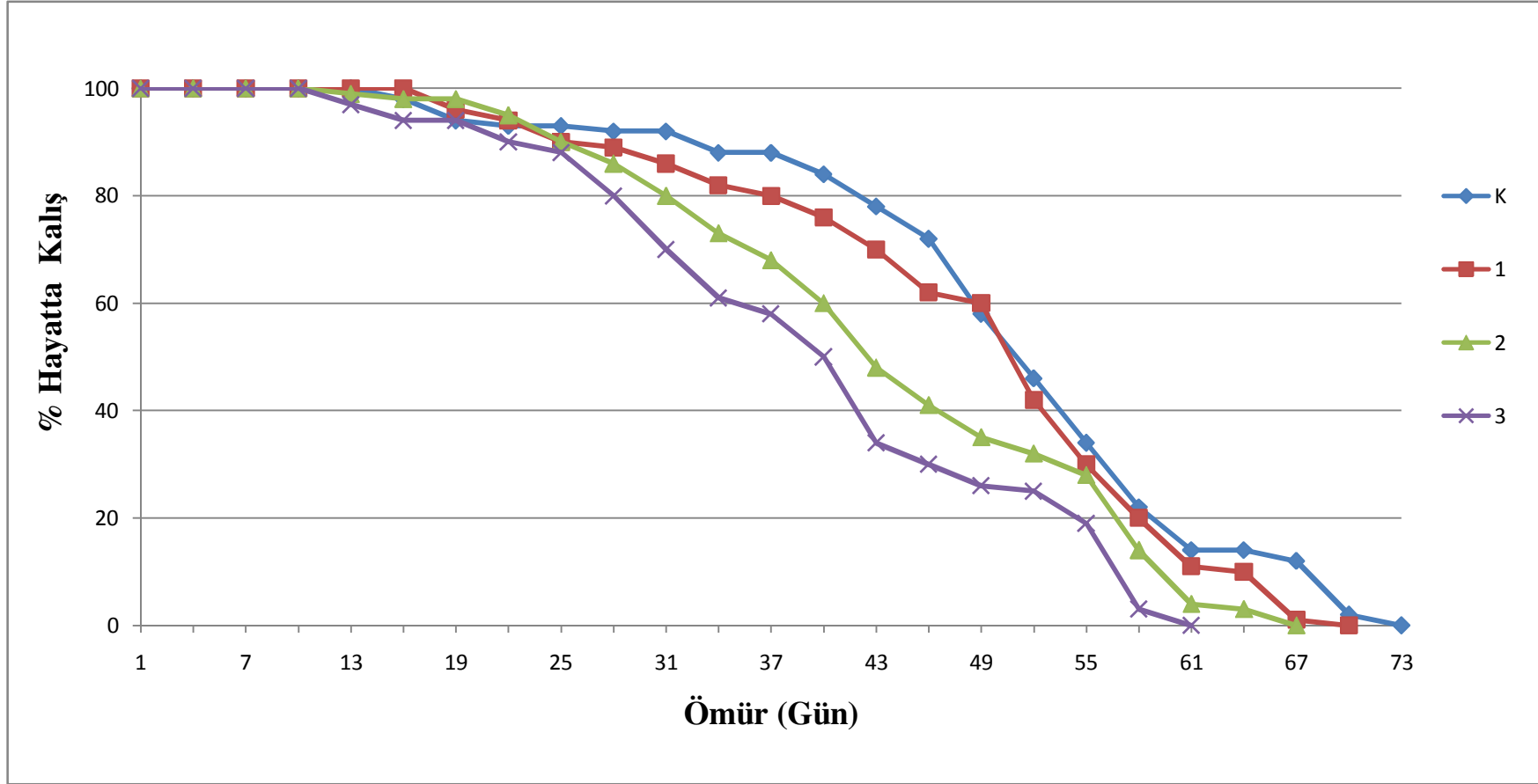
Max.: Maksimum, S.H.: Standart hata, *: Gruplar arasındaki fark $p<0,05$ düzeyinde önemlidir.

**: Gruplar arasındaki fark hem $p<0,05$, hem de $p<0,001$ düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.5.'de maksimum ömür uzunlukları incelendiği zaman, kontrol grubuna ait dişilerin maksimum 76 gün, erkeklerin ise maksimum 73 gün yaşadıkları görülmektedir. 1 saat soğuk şoku uygulanmış (Grup no 1), 2 saat soğuk şoku uygulanmış (Grup no 2) ve 3 saat soğuk şoku uygulanmış (Grup no 3) deney gruplarında ise maksimum ömür uzunlukları sırasıyla, dişilerde 73, 70 ve 64 gün (Şekil 4.9.), erkeklerde ise 70, 67 ve 61 gün (Şekil 4.10.) olarak bulunmuştur. Bu sonuçlardan da anlaşılacağı üzere, sıcak şoku uygulamasında olduğu gibi, soğuk şoku uygulamasında da şok süresi arttıkça ömür uzunluğu kısalmaktadır.



Şekil 4.9. *Drosophila melanogaster* Oregon R yabanıl soyu ♀♀ popülasyonlarının farklı sürelerde soğuk şoku uygulanmış ve uygulanmamış (Kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri

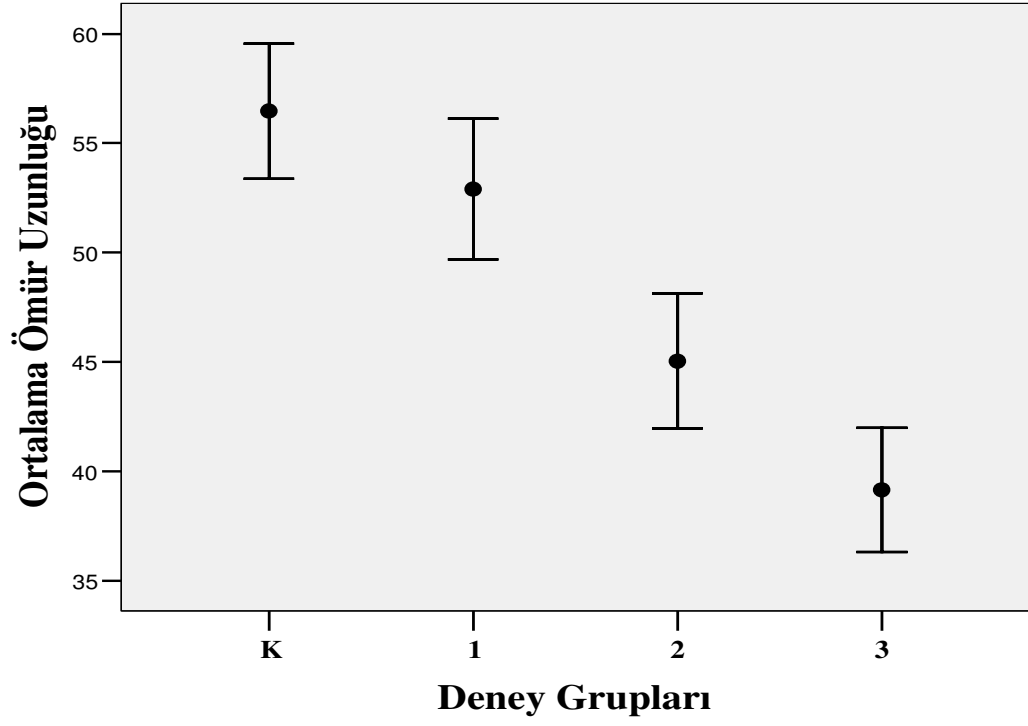


Şekil 4.10. *Drosophila melanogaster* Oregon R yabanıl soyu ♂♂ popülasyonlarının farklı sürelerde soğuk şoku uygulanmış ve uygulanmamış (Kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri

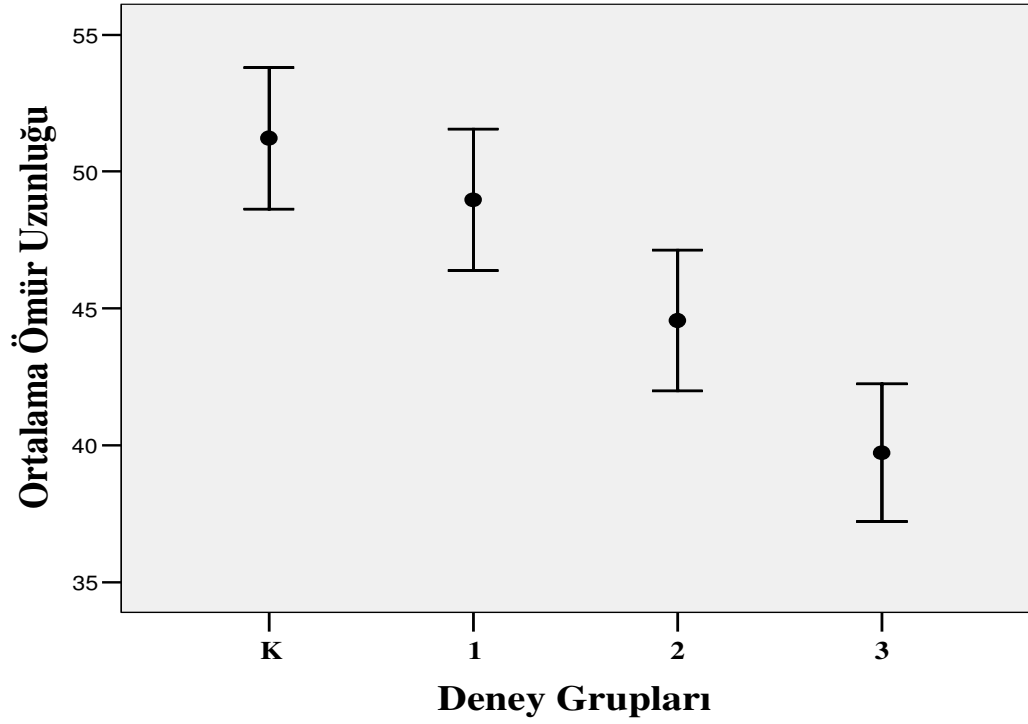
Dişi ve erkek bireylere ait ortalama ömür uzunluğu sonuçları, kontrol grubuyla ve kendi aralarında karşılaştırıldığı zaman, en uzun ortalama ömrün kontrol grubunun ♀♀ bireylerinde $56,47 \pm 1,5$, ♂♂ bireylerinde ise $51,22 \pm 1,3$ gün olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.5.). Soğuk şoku uygulanan 1, 2 ve 3 nolu deney gruplarında uygulama sürelerine bağlı olarak ortalama ömür uzunlukları kısalmıştır. En kısa ortalama ömür ♀♀ bireylerde $39,16 \pm 1,4$, ♂♂ bireylerde $39,73 \pm 1,2$ gün olmak üzere 3 saat soğuk şoku uygulanmış (Grup no 3) deney gruplarında tespit edilmiştir (Çizelge 4.5.).

Gruplar arası önem kontrolleri dişi ve erkek bireyler için ayrı ayrı incelenmiştir. Bu sonuçlara göre, ♀♀ bireylerin kontrol ve deney grupları arasında ortalama ömür uzunluğu bakımından ortaya çıkan farklılıklar kontrol ve 1 nolu gruplar arasında hem $p > 0,05$, hem de $p > 0,001$ düzeyinde istatistiksel olarak önemsiz, diğer gruplar arasında ise çeşitli düzeylerde ($p < 0,05$ veya $p < 0,001$) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. ♂♂ gruplarının arasındaki ortalama ömür uzunluğu farklılıkları K-1 ve 1-2 nolu gruplar arasında hem $p > 0,05$, hem de $p > 0,001$ düzeyinde istatistiksel olarak önemsiz, diğer gruplar arasında ise çeşitli düzeylerde ($p < 0,05$ veya $p < 0,001$) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5.).

Soğuk şoku uygulanmış *D. melanogaster*'in Oregon R yabanıl soyunun ♀♀ bireyelerine ait ömür uzunluklarının %95 güven aralıkları Şekil 4.11.'de, ♂♂ bireyelerine ait ömür uzunluklarının %95 güven aralıkları ise Şekil 4.12.'de verilmiştir. Şekil 4.11. ve Şekil 4.12. incelendiğinde hem ♀♀ hem de ♂♂ bireyelerde ortalama ömür uzunluğunun artan uygulama süresine bağlı olarak kısaldığı görülmektedir.



Şekil 4.11. Soğuk şoku uygulanmış *Drosophila melanogaster* Oregon R yabanıl soyu ♀♀ bireylerine ait %95 güven aralıkları



Şekil 4.12. Soğuk şoku uygulanmış *Drosophila melanogaster* Oregon R yabanıl soyu ♂♂ bireylerine ait %95 güven aralıkları

Soğuk şoku uygulanmış *D. melanogaster* Oregon R yabanıl soyunun erkek ve dişi bireylerine ait ortalama ömür uzunlukları birbirleriyle karşılaştırıldığında, 3 saat soğuk şoku uygulanmış (Grup no 3) deney grubu hariç, kontrol ve diğer deney gruplarında dişi bireylerin erkek bireylerden daha uzun ömürlü olduğu görülmüştür (Çizelge 4.6.). Bununla birlikte, Çizelge 4.6. incelendiğinde, iki eşey arasında ortalama ömür uzunluğu bakımından gözlenen bu farkın, sadece kontrol grubunda $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli, diğer tüm gruplarda ise istatistiksel olarak önemsiz olduğu bulunmuştur ($p > 0,05$).

Çizelge 4.6. Soğuk şoku uygulanmış *Drosophila melanogaster* Oregon R yabanıl soyu ♀♀ ve ♂♂ bireylerin ortalama ömür uzunluğu bakımından bağımsız gruplar için t-testi ile karşılaştırılması

Deney Grup No	Eşey	Birey Sayısı	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)	t	p
K	♀	100	56,47	2,587	0,010*
	♂	100	51,22		
1	♀	100	52,90	1,887	0,067
	♂	100	48,97		
2	♀	100	45,04	0,238	0,813
	♂	100	44,56		
3	♀	100	39,16	0,298	0,766
	♂	100	39,73		

*: ♀♀ ve ♂♂ bireylerin ortalama ömür uzunluğu farkı $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

4.2.2. Soğuk şokunun *Vestigial* mutant soyu ömür uzunluğu üzerine etkisi

Bölüm 3.3.2.'de anlatılan şekilde, soğuk şoku uygulamalarının ardından, *Vestigial* mutant soyu için saptanan ömür uzunlukları ve ortalamalar arası farkların önem kontrol değerleri Çizelge 4.7.'de, hayat tablosu verilerinden yararlanılarak çizilen hayatta kalış eğrileri ise Şekil 4.13. ve Şekil 4.14.'de verilmiştir.

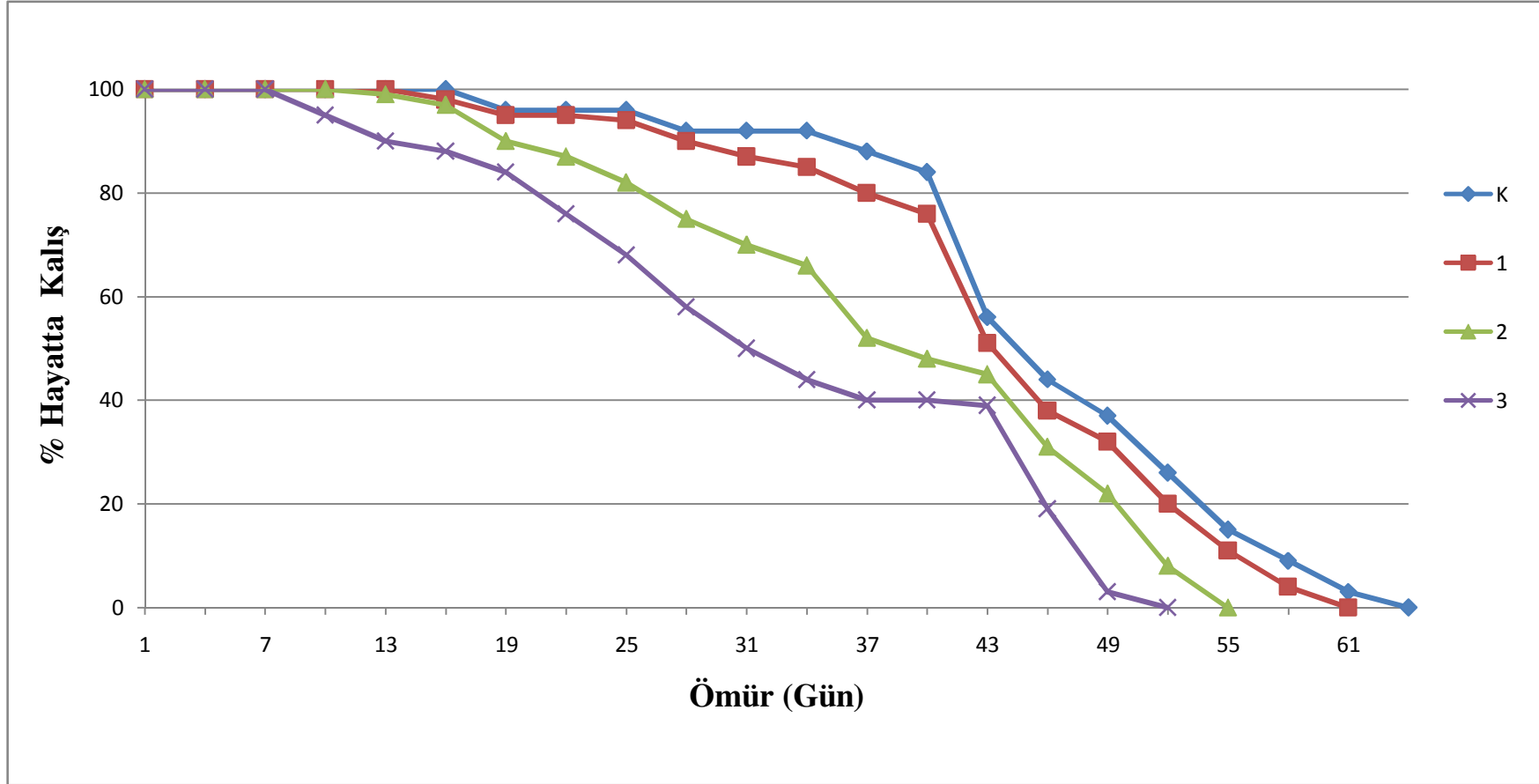
Çizelge 4.7.'de verilen maksimum ömür uzunluklarına bakıldığında, kontrol grubuna ait erkeklerin maksimum 70 gün, dişilerin ise maksimum 64 gün yaşadıkları görülmektedir. 1, 2 ve 3 nolu deney gruplarında ise maksimum ömür uzunlukları sırasıyla, erkeklerde 67, 64 ve 55 gün, dişilerde ise 61, 55 ve 52 gün olarak bulunmuştur. Bu sonuçlardan da anlaşılacağı gibi, *D. melanogaster*'in yabanıl soyunda olduğu gibi *Vestigial* mutant soyuna ait bireylerde de soğuk şoku uygulamasının süresi arttıkça maksimum ömür uzunluğu kısalmıştır.

Çizelge 4.7. *Drosophila melanogaster Vestigial* mutant soyunun farklı sürelerde soğuk şoku uygulanmış ve uygulanmamış ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunlukları ve gruplar arası önem kontrolleri

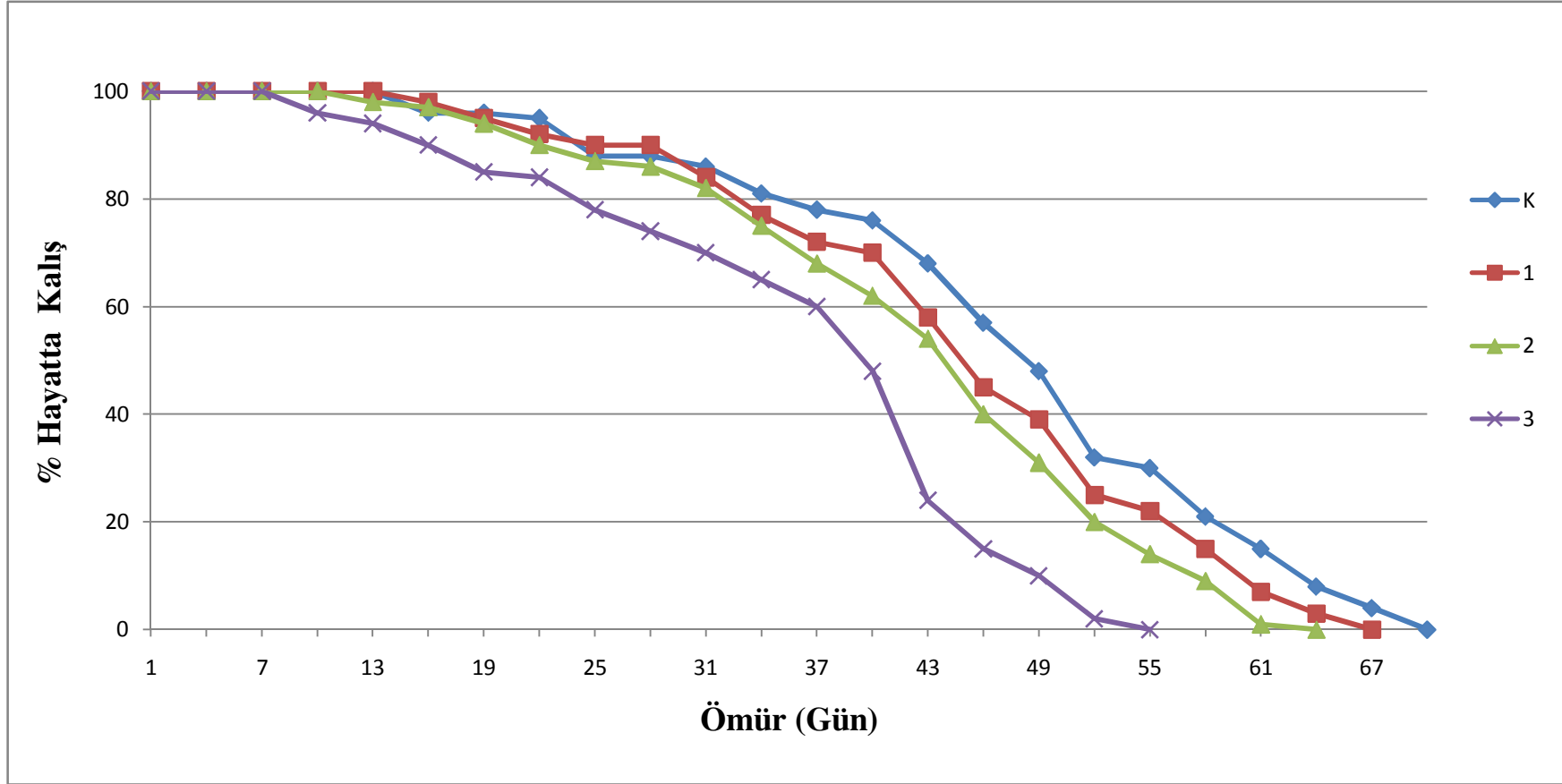
DENEY GRUPLARI	GRUP NO	EŞEY	BİREY SAYISI	MAX. ÖMÜR (Gün)	ORTALAMA ÖMÜR UZUNLUĞU (Gün)±S.H.	STANDART SAPMA	GRUPLAR ARASI ÖNEM KONTROLÜ	
Kontrol	(K)	♂	100	70	48,01±1,3	13,56	♂ K-2* K-3** 1-3** 2-3*	♀ K-2** K-3** 1-2* 1-3** 2-3*
		♀	100	64	46,09±0,9	9,43		
1 saat soğuk şoku uygulaması	(1)	♂	100	67	45,46±1,2	12,60		
		♀	100	61	44,68±1,0	10,25		
2 saat soğuk şoku uygulaması	(2)	♂	100	64	43,24±1,2	12,31		
		♀	100	55	39,16±1,1	11,78		
3 saat soğuk şoku uygulaması	(3)	♂	100	55	36,85±1,1	11,85		
		♀	100	52	33,82±1,2	12,88		

Max.: Maksimum, S.H.: Standart hata, *: Gruplar arasındaki fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

** : Gruplar arasındaki fark hem p<0,05, hem de p<0,001 düzeyinde önemlidir.



Şekil 4.13. *Drosophila melanogaster Vestigial* mutant soyu ♀♀ popülasyonlarının farklı sürelerde soğuk şoku uygulanmış ve uygulanmamış (Kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri

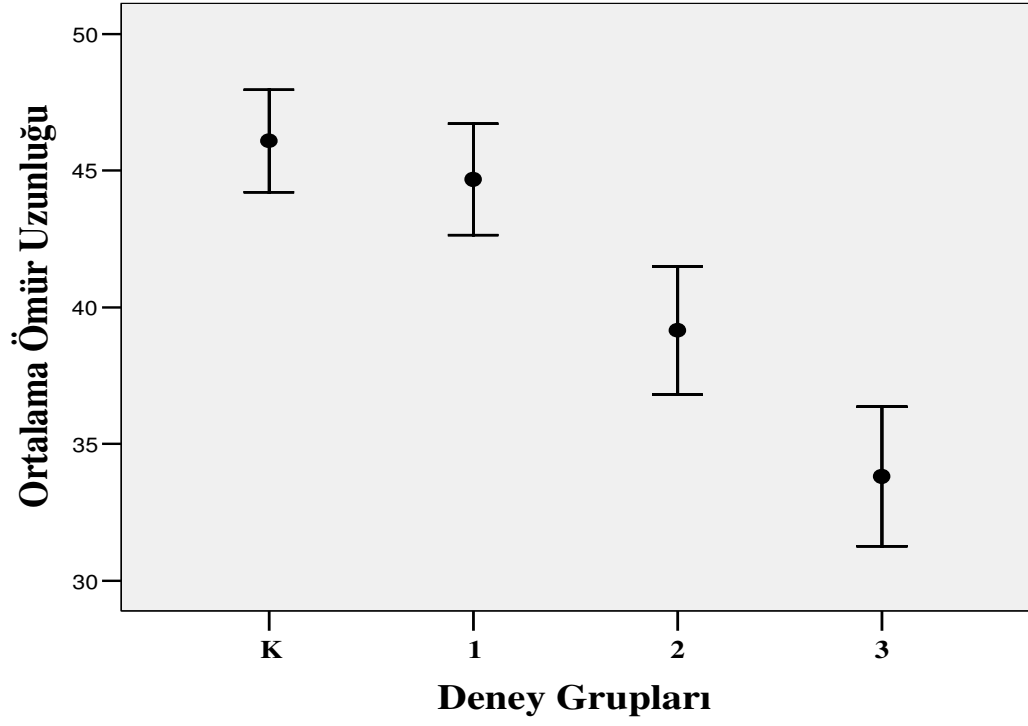


Şekil 4.14. *Drosophila melanogaster Vestigial* mutant soyu ♂♂ popülasyonlarının farklı sürelerde soğuk şoku uygulanmış ve uygulanmamış (Kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri

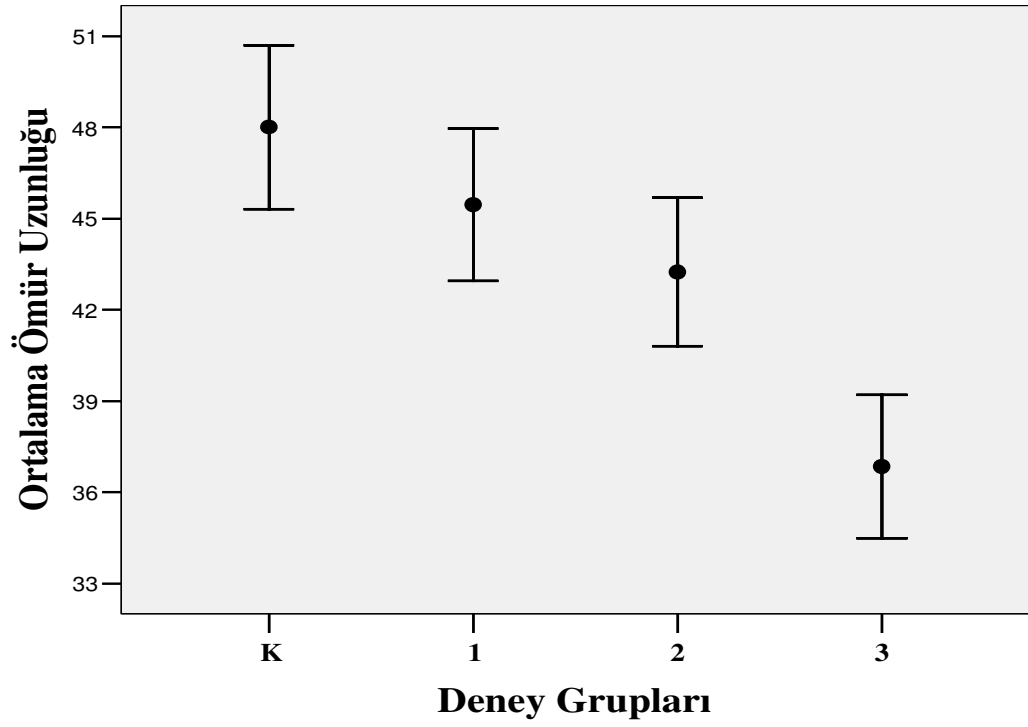
Dişi ve erkek bireylere ait ortalama ömür uzunluğu sonuçları, kontrol gruplarıyla ve kendi aralarında karşılaştırıldığında, en uzun ortalama ömrün kontrol grubunun ♂♂ bireylerinde $48,01 \pm 1,3$, ♀♀ bireylerinde ise $46,09 \pm 0,9$ gün olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.7.). Deney gruplarında ise uygulama süresi arttıkça ortalama ömür uzunluğunda kısalma olmuştur. En kısa ortalama ömür ♀♀ bireylerde $33,82 \pm 1,2$, ♂♂ bireylerde $36,85 \pm 1,1$ gün olmak üzere 3 saat soğuk şoku uygulanmış (Grup no 3) deney gruplarında tespit edilmiştir (Çizelge 4.7.).

Gruplar arası önem kontrolleri dişi ve erkek bireyler için ayrı ayrı incelenmiştir. Bu sonuçlara göre, ♀♀ bireylerin kontrol ve deney grupları arasında ortalama ömür uzunluğu bakımından ortaya çıkan farklılıklar kontrol ve 1 nolu gruplar arasında hem $p > 0,05$ hem de $p > 0,001$ düzeyinde istatistiksel olarak önemsiz, diğer gruplar arasında ise çeşitli düzeylerde ($p < 0,05$ veya $p < 0,001$) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. ♂♂ gruplarının arasındaki ortalama ömür uzunluğu farklılıkları da K-1 ve 1-2 nolu gruplar arasında hem $p > 0,05$ hem, de $p > 0,001$ düzeyinde istatistiksel olarak önemsiz, diğer gruplar arasında ise çeşitli düzeylerde ($p < 0,05$ veya $p < 0,001$) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.7.).

Soğuk şoku uygulanmış *D. melanogaster*'in *Vestigial* mutant soyunun ♀♀ bireyelerine ait ömür uzunluklarının %95 güven aralıkları Şekil 4.15.'da, ♂♂ bireyelerine ait ömür uzunluklarının %95 güven aralıkları ise Şekil 4.16.'de verilmiştir. Şekil 4.15. ve Şekil 4.16. incelendiğinde, hem ♀♀, hem de ♂♂ bireyelerde ortalama ömür uzunluğunun artan uygulama süresine bağlı olarak kısaldığı görülmektedir.



Şekil 4.15. Soğuk şoku uygulanmış *Drosophila melanogaster Vestigial* mutant soyu ♀♀ bireylerine ait %95 güven aralıkları



Şekil 4.16. Soğuk şoku uygulanmış *Drosophila melanogaster Vestigial* mutant soyu ♂♂ bireylerine ait %95 güven aralıkları

Soğuk şoku uygulanmış ve uygulanmamış *D. melanogaster Vestigial* mutant soyunun erkek ve dişi bireylerine ait ortalama ömür uzunlukları birbirleriyle karşılaştırıldığında, kontrol ve diğer deney gruplarında ♂♂ bireylerin ♀♀ bireylerden daha uzun ömürlü olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, Çizelge 4.8.'de görüldüğü gibi, iki eşey arasında ortalama ömür uzunluğu bakımından gözlenen bu fark, sadece 2 saat soğuk şoku uygulanmış (Grup no 2) deney grubunda $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli, diğer tüm gruplarda ise $p > 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.8. Soğuk şoku uygulanmış *Drosophila melanogaster Vestigial* mutant soyu ♀♀ ve ♂♂ bireylerin ortalama ömür uzunluğu bakımından bağımsız gruplar için t-testi ile karşılaştırılması

Deney Grup No	Eşey	Birey Sayısı	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)	t	p
K	♀	100	46,09	1,162	0,247
	♂	100	48,01		
1	♀	100	44,68	0,480	0,632
	♂	100	45,46		
2	♀	100	39,16	2,393	0,018*
	♂	100	43,24		
3	♀	100	33,82	1,734	0,085
	♂	100	36,85		

*: ♀♀ ve ♂♂ bireylerin ortalama ömür uzunluğu farkı $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Stres faktörleri ile ömür uzunluğu arasında bir ilişkinin olduğu ve farklı stres faktörlerinin yaşlanma ve ömür uzunluğu üzerine farklı etkilerinin bulunduğu bilinmektedir (Le Bourg vd 2001). Bu çalışmamızda, önemli bir stres faktörü olan sıcaklığın *D. melanogaster*'in Oregon R yabanıl ve *Vestigial* mutant bireylerinin ömür uzunluğu üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, dişi ve erkek bireylere sıcak ve soğuk şoku uygulanmış ve ömür uzunluğundaki değişimler kontrol gruplarıyla karşılaştırılmıştır.

Deneylerimizin sonucunda elde ettiğimiz kontrol grubuna ait maksimum ve ortalama ömür uzunlukları, yapılan diğer çalışmalarda gözlemlenen değerlerden farklılıklar göstermektedir. Örneğin, Altun (2007) yaptığı çalışmada, *D. melanogaster*'in kontrol grubuna ait erkek bireylerin maksimum ömür uzunluğunu 53, dişi bireylerin ise 57 gün olarak tespit etmiştir. Yapılan başka bir çalışmada, Oregon R yabanıl soyunun kontrol grubuna ait erkek bireylerin maksimum ömür uzunluğu 85, *Vestigial* mutant soyuna ait erkek bireylerin maksimum ömür uzunluğu 56 gün olarak bulunmuştur (Kandemir 1993). Bizim çalışmamızda ise Oregon R yabanıl soyunun kontrol grubuna ait erkek bireylerin maksimum ömür uzunluğu 73, dişi bireylerin 76, *Vestigial* mutant soyunun kontrol grubuna ait erkek bireylerin maksimum ömür uzunluğu 70, dişi bireylerin ise 64 gün olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1. ve 4.3.). Kontrol grubu açısından gözlenen bu farklılıklar, yaşanan coğrafyaya, mevsimsel değişimlere ya da epigenetik etmenlere dayalı olabilmektedir (Dalgıç vd 2002).

Çalışmamızda, *Vestigial* mutant soyu erkek ve dişi bireylerinin, Oregon R yabanıl soyu erkek ve dişi bireylerine göre daha kısa ömürlü oldukları görülmüştür. Kandemir (1993)'in yaptığı çalışmada da *Vestigial* mutant soyunun Oregon R yabanıl soyuna göre daha kısa ömürlü olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızı destekler doğrultudadır.

Drosophila'da ömür uzunluğu, farklı türlerde, hatta aynı türün eşeyleri ve mutant soyları arasında farklılık gösterdiği gibi, aynı genotipe sahip popülasyonlar farklı çevresel koşullarda yetiştirildiği zaman bile değişebilmektedir (Ünlü ve Bozcuk 1979; Yeşilada vd 1994). Çalışmamızda, grupların ömür uzunluklarını etkileyebilecek dış (çevresel) ya da iç faktörler uygulama ortamında minimum seviyeye düşürülmüştür.

Bu faktörlerden birisi olan fotoperiyodun *D. melanogaster*'in yumurta ve pupadan çıkış süresinde (Qiu ve Hardin 1996), metabolik hızında (Lanciani vd 1991) ve ömür uzunluğunda (Sheeba vd 2000) etkili olduğu tespit edilmiştir. Farklı *Drosophila* türleri ile yapılan çalışmalarda, sürekli ışıklı ortamın ergin ömür uzunluğunu kısalttığı (Allemand vd 1973; Klarsfeld ve Rouyer 1998), buna karşın sürekli karanlık ortamda yaşatılan *D. melanogaster* erkeklerinde %20, dişilerinde ise %43'e varan ömür uzunluğu artışının olduğu gözlenmiştir (Allemand vd 1973; Bağcı ve Bozcuk 1991). Yaptığımız çalışmada, kontrol ve deney gruplarına ait bireyler sadece besin değişimi sırasında şişeden şişeye transfer edilirken, 3.2.1.'de anlatılan şartlara uygun sıcaklık kabinlerinden çıkarılmış ve böylece aydınlanmanın ömür uzunluğu üzerine etkisi de giderilmiştir.

Yapılan çalışmalar, besin çeşidinin *D. melanogaster*'in ömür uzunluğunu önemli ölçüde etkilediğini göstermektedir. *Drosophila*'da çok düşük oranlarda (%1) agar içeren besin ortamlarında gelişimin normal ve ölüm hızının düşük olduğu, ancak erginlerin hemen hemen hiç yumurta bırakmadıkları ve uzun yaşamadıkları bildirilmektedir (David vd 1975). Buna karşın, %8'lik agar içeren besin ortamında erkeklerin en uzun ömre sahip oldukları ve eşeyler arasındaki ömür uzunluğu farklılığının en az oranda olduğu gözlenmiştir (David vd 1975). Çalışmamızda, besin çeşidi ve oranlarından doğabilecek farklılıkları önlemek için deney süresince 3.2.2'de anlatılan şekilde hazırlanan Standart *Drosophila* Besiyeri (SDB) (Bozcuk 1976) kullanılmıştır.

Yapılan deneylerde, yüksek yumurta üretimi olan çiftleşmiş dişilerin, yumurta üretimi düşük bakire (virjin) dişilerden daha kısa ömürlü oldukları görülmüştür (Gowen ve

Johanson 1946). Çalışmamızda, tüm dişi bireylerin virjin olması için, 3.3.'de anlatıldığı gibi, pupadan çıkan bireyler çiftleşme yeteneği kazanmadan dişi ve erkek olmak üzere ayrı şişelerde toplanmışlardır.

Anasal yaştan yavru dölün ömür uzunluğunda önemli bir etken olduğu bilinmektedir (Lansing 1952). Bu nedenle, bu çalışmamızda, daha önce çiftleşmemiş ve aynı yaştaki dişi ve erkek bireylerin eşleştirilmesi sonucu elde edilen bireyler kullanılmıştır.

Fred ve Timothy (1997), on farklı *Drosophila* popülasyonu ile yaptıkları çalışmada, bira mayalı besin ortamında metabolik artıkların olmaması halinde ömür uzunluğunun arttığını tespit etmişlerdir. Dolayısıyla besin ortamının sık sık yenilenmesi ile artık maddelerin ömür uzunluğu üzerindeki negatif etkisi de giderilmiştir. Bu amaçla çalışmalarımızda tüm grupların besin ortamı üç günde bir değiştirilerek metabolik artıkların ortamdaki uzaklaşması sağlanmıştır.

Yapılan bir diğer çalışmada, değişik yaş gruplarında (0-8 günlük), *D. melanogaster* popülasyonlarının hsp70 üretimi ve hayatta kalma (survival) üzerine sıcaklık şokunun etkileri araştırılmıştır. Sonuçta, yaş grupları ile hsp70 üretimi ve hayatta kalma arasında ters bir orantının olduğu gözlemlenmiştir (Sorensen ve Loeschcke 2002). Çalışmamızda, yaş farkından doğabilecek böyle bir etkiyi ortadan kaldırmak için tüm sıcak ve soğuk şoku uygulamalarında aynı yaşlı (3 günlük) bireyler kullanılmıştır.

Çalışmamızda, yukarıda bahsettiğimiz ömür uzunluğunu etkileyebilecek iç ve dış etkenler sabit tutulmuştur. Böylece, eşit koşullarda tutulan aynı genotipteki sineklerin ömür uzunluklarındaki sapmaların sadece sıcak veya soğuk şoku uygulamalarının etkisi ile oluşan sapmalar olduğu değerlendirilmesi yapılabilir.

Çalışmamız, sıcak ve soğuk şoku uygulaması olmak üzere, iki kısımdan oluşmaktadır. Sıcak şoku uygulaması sonucunda, Oregon R yabanıl soyu için ulaştığımız sonuçlar

incelendiğinde, kontrol grubuna (Grup K) ait dişilerin maksimum 76, erkeklerin maksimum 73 gün yaşadıkları görülmektedir. 1 saat sıcak şoku uygulanmış (Grup no 1), 2 saat sıcak şoku uygulanmış (Grup no 2) ve 3 saat sıcak şoku uygulanmış (Grup no 3) deney gruplarında maksimum ömür uzunlukları sırasıyla, dişilerde 73, 70 ve 67 gün (Şekil 4.1.), erkeklerde ise 70, 61 ve 58 gün (Şekil 4.2.) olarak bulunmuştur. Bu sonuçlardan da anlaşılabacağı üzere, sıcak şoku uygulamasının süresi arttıkça maksimum ömür uzunluğu kısalmaktadır. Dişi ve erkek bireylere ait ortalama ömür uzunluğu sonuçları, kontrol grubuyla ve kendi aralarında karşılaştırıldığı zaman, en uzun ortalama ömrün kontrol grubunun ♀♀ bireylerinde $56,47 \pm 1,5$, ♂♂ bireylerinde $51,22 \pm 1,3$ gün olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.1.). Çizelge 4.1.'de de görüldüğü gibi, sıcak şoku uygulanan 1, 2 ve 3 nolu deney gruplarında uygulama sürelerine bağlı olarak ortalama ömür uzunlukları kısalmıştır. En kısa ortalama ömür, ♀♀ bireylerde $43,39 \pm 1,8$ gün ve ♂♂ bireylerde $37,39 \pm 1,5$ gün olmak üzere, 3 saat sıcak şoku uygulanmış (Grup no 3) deney gruplarında tespit edilmiştir. Ortalama ömür uzunlukları bakımından ortaya çıkan bu farklılıklar çeşitli düzeylerde ($p < 0,05$ veya $p < 0,001$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.1.).

Sıcak şoku uygulaması sonucunda *Vestigial* mutant soyu için elde ettiğimiz sonuçlar incelendiğinde, kontrol grubuna ait erkeklerin maksimum 70, dişilerin 64 gün yaşadıkları görülmektedir. 1, 2 ve 3 nolu deney gruplarında ise maksimum ömür uzunlukları sırasıyla, dişilerde 61, 52 ve 49 gün (Şekil 4.5.), erkeklerde ise 64, 55 ve 52 gün (Şekil 4.6.) olarak bulunmuştur. Bu sonuçlardan da anlaşılabacağı üzere, *D. melanogaster*'in yabanıl soyunda olduğu gibi *Vestigial* mutant soyuna ait bireylerde de sıcak şoku uygulamasının süresi arttıkça maksimum ömür uzunluğu kısalmıştır. Dişi ve erkek bireylere ait ortalama ömür uzunluğu sonuçları, kontrol gruplarıyla ve kendi aralarında karşılaştırıldığı zaman, en uzun ortalama ömrün kontrol grubunun ♂♂ bireylerinde $48,01 \pm 1,3$, ♀♀ bireylerinde $46,09 \pm 0,9$ gün olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.3.). Ayrıca, Çizelge 4.3.'de deney gruplarına ait hem erkek, hem de dişi popülasyonlarda ortalama ömür uzunluğunun uygulama süresi arttıkça kısaldığı da görülmektedir. En kısa ortalama ömür ♂♂ bireylerde $34,51 \pm 1,5$, ♀♀ bireylerde $32,79 \pm 1,1$ gün olmak üzere 3 saat sıcak şoku uygulanmış (Grup no 3) deney

gruplarında tespit edilmiştir. Ortalama ömür uzunlukları bakımından ortaya çıkan bu farklılıklar çeşitli düzeylerde ($p<0,05$ veya $p<0,001$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.3.).

Şekil 4.1., Şekil 4.2., Şekil 4.5. ve Şekil 4.6.'da verilen hayatta kalış eğrileri ayrı ayrı incelendiğinde, ömür eğrilerinin dikdörtgensel olduğu görülmektedir ve bu da grupların sahip oldukları genetik ömrün yaşandığını göstermektedir. Hayat tablosu verilerine göre çizilen hayatta kalış eğrisi dikdörtgensel ise yani ölüm oranı, belirli bir süre içinde ölen birey sayısının, o sürenin başlangıcındaki birey sayısına oranı, kronolojik zamana bağlı olarak artıyorsa o popülasyon yaşlanmaktadır (Pearl vd 1927; Maynard-Smith 1958).

Strehler (1961), yaşlanmanın sıcaklığa bağlı olduğunu ileri sürmüş ve yaşlanma ile sıcaklık arasındaki muhtemel genel mekanizmaları üçe ayırarak açıklamaya çalışmıştır:

- 1- Hücreler, proteinler ve nükleoproteinler gibi sıcaklığa duyarlı yapı ve fonksiyonel elementlerin yüksek sıcaklıkta dejenerasyon hızının artması,
- 2- Kofaktör ve katalizör gibi bazı metabolitlerin yüksek sıcaklıkta yıkım ve kullanım hızının artması,
- 3- Çeşitli toksik maddelerin yüksek sıcaklıkta birikim hızının artması veya vücuttan atılamaması.

Drosophila'da, sıcak şokları sırasında protein sentezinin düzenlenişi Lindquist (1980) tarafından araştırılmıştır. Lindquist (1980)'e göre, yüksek sıcaklığın zararlı etkilerine duyarlılık translasyondan ziyade, transkripsiyon düzeyinde olmaktadır. Sıcak şokunun ardından 4 dakika içerisinde oluşan mRNA'ların transkripsiyonları tamamlandıktan sonra oluşan mesajlar 8-12 dakika içerisinde sitoplazmaya taşınır. Daha sonra, gelen bu mesaja göre sitoplazmada özgül protein (sıcak şoku proteini) sentezlenir. İlk olarak *Drosophila*'da keşfedilen sıcak şoku proteinleri, memelilerden bakterilere kadar tüm canlı gruplarında sentezlenmektedir. Bu proteinler, stres koşullarında sentezlenerek hücre için önemli işlevlere sahip diğer proteinlerin etrafını sarar ve onların parçalanmasını veya bozulmasını önlerler.

Bitkilerde, moleküler ağırlıkları 15-28 kD olan küçük birçok sıcak şoku proteini mevcut olup bu moleküller hem sitoplazmada, hem de nükleus, mitokondri, kloroplast ve endoplazmik retikulum gibi organellerde yer almaktadırlar (Gurley 2000). Sıcak şoku proteinlerinin birçok farklı sınıfı protein metabolizmasında moleküler şaperonlar olarak fonksiyon göstermektedirler. Şaperonların etki mekanizması henüz tam aydınlatılmamış olsa da bu moleküller, enzimler gibi katıldıkları reaksiyondan değişmeden çıkarak translasyonun hemen ardından proteinlerin katlanmalarına ve membran transportuna uygun bir yapıya dönüşmelerine yardımcı olmaktadır. Bu fonksiyonlarının dışında, kuraklık, sıcak ve diğer stres faktörlerinin etkisiyle denatüre olmuş proteinlerin kümeleşmesini önlemektedirler (Iba 2002).

Ding vd (2001)'nin sıcak stresinin meyveler üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada, sıcak şoku uygulaması sonucunda oluşan sıcak şoku proteinlerinin hücre duvarı geçirgenliğini azaltarak meyve eti yumuşamalarını engellediği tespit edilmiştir. Aynı araştırmacılar, sıcak şoku uygulaması yapılan meyvelerin hastalık etmenlerine karşı daha dayanıklı bir yapı kazandıklarını da bildirmişlerdir.

Dingley ve Maynard-Smith (1969)'e göre, letal sıcaklıkların en önemli etkisi protein denatürasyonudur. Şok esnasında protein yapısındaki bazı enzimlerin H bağlarının kopmasıyla üç boyutlu yapıları bozulmakta ve entropi artışıyla birlikte enzim katalitik aktivitesini kaybetmektedir. Bu nedenle, yaşam boyu sürececek olan fizyolojik olaylar yanlış cereyan edebilir ve sonucunda da ömür kısalabilir.

Diğer bir görüşe göre, sıcak şoku sonucu meydana gelen ölümlerin nedeni, su kaybı nedeniyle vücutta tuz konsantrasyonunun ve lipid peroksidasyonu sonucu oluşan serbest radikallerin artışına bağlanabilir (Harman 1956). Serbest oksijen radikalleri normal fizyolojik konsantrasyonlarda hücresel aktivite gösterirlerken, yüksek konsantrasyonlarda oksidatif strese yol açarak toksik olabilmektedir. Bunun sonucunda da genetik, metabolik ve nörodejeneratif bozukluklara, kardiyovasküler, otoimmün ve enfeksiyöz hastalıklara, alerjik patolojilere ve hatta kansere yol açarak yaşlanma sürecini hızlandırmaktadır (Harman 1981; Ames vd 1993; Droge 2002).

Parsell vd (1993)'ne göre mikroorganizmaların üreyebilmesi ve hayatta kalabilmesi için gerekli çevresel faktörlerin en önemlilerinden birisi sıcaklıktır. Sıcaklığın optimal seviyeye yaklaştığı durumlarda hücre içindeki kimyasal ve enzimatik reaksiyonlara bağlı olarak daha hızlı oranda büyüme ve gelişme meydana gelir. Sıcaklığın optimal düzeyin üzerine çıkması durumunda ise proteinler, nükleik asitler ve diğer hücresel yapılarda geri dönüşümsüz zararlar oluşabilir (Parsell vd 1993).

Genel olarak *Drosophila*'da cinsiyete bağlı ömür uzunluğu değişim göstermektedir. Literatürde bu durumu gösteren pek çok çalışmaya rastlamak mümkündür (Carey vd 1999; Sarıkaya vd 2006). Çalışmamızda, sıcak şoku uygulanmış *D. melanogaster*'in erkek ve dişi bireylerine ait ortalama ömür uzunlukları birbiriyle karşılaştırıldığı zaman, Oregon R yabanıl soyuna ait kontrol ve tüm deney gruplarında dişi bireylerin erkek bireylerden daha uzun ömürlü olduğu görülmüştür. Çizelge 4.2.'de görüldüğü gibi, iki eşey arasında ortalama ömür uzunluğu bakımından gözlenen bu fark, tüm deney gruplarında istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. Dişilerin yüksek sıcaklık uygulamalarına erkeklerden daha dayanıklı olmalarının nedeni XX eşey kromozomuna sahip olmalarından dolayı letal sıcaklık dozlarının yapacağı hasarı erkeklere göre daha kolay tamir edebilmelerine bağlanabilir (Lindquist 1980). Fakat, bu bulguların tersine *Vestigial* mutant soyu bireylerinde genellikle erkek bireylerin dişi bireylerden daha uzun yaşadıkları tespit edilmiştir (Çizelge 4.4.).

Çalışmamızın ikinci kısmında ise soğuk şokunun *D. melanogaster* Oregon R yabanıl soyu ve *Vestigial* mutant soyu ömür uzunlukları üzerine etkileri araştırılmıştır. Soğuk şoku deneyleri yapılırken sıcak şoku deneylerinde olduğu gibi ömür uzunluğunu etkileyecek tüm iç ve dış etkenler sabit tutulmuştur. Bu nedenle, deney sonucunda ortaya çıkan maksimum ve ortalama ömür uzunluğundaki farklar tamamen soğuk şoku uygulamalarından kaynaklanıyor diyebiliriz.

Soğuk şoku uygulaması sonucu, Oregon R yabanıl soyu için ortaya çıkan sonuçlar incelendiği zaman, kontrol grubuna ait dişilerin maksimum 76, erkeklerin ise maksimum 73 gün yaşadıkları görülmüştür. 1 saat soğuk şoku uygulanmış (Grup no 1),

2 saat soğuk şoku uygulanmış (Grup no 2) ve 3 saat soğuk şoku uygulanmış (Grup no 3) deney gruplarında ise maksimum ömür uzunlukları sırasıyla, dişilerde 73, 70 ve 64 gün (Şekil 4.9.), erkeklerde ise 70, 67 ve 61 gün (Şekil 4.10.) olarak bulunmuştur. Bu sonuçlardan da anlaşılabacağı üzere, sıcak şoku uygulamasında olduğu gibi, soğuk şoku uygulamasında da şok süresi arttıkça ömür uzunluğu kısalmaktadır. Dişi ve erkek bireylere ait ortalama ömür uzunluğu sonuçları, kontrol grubuyla ve kendi aralarında karşılaştırıldığı zaman, en uzun ortalama ömrün kontrol grubunun ♀♀ bireylerinde $56,47 \pm 1,5$, ♂♂ bireylerinde ise $51,22 \pm 1,3$ gün olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.5.). Çizelge 4.5.'de de görüldüğü gibi, soğuk şoku uygulanan 1, 2 ve 3 nolu deney gruplarında uygulama sürelerine bağlı olarak ortalama ömür uzunlukları da kısalmıştır. En kısa ortalama ömür ♀♀ bireylerde $39,16 \pm 1,4$, ♂♂ bireylerde $39,73 \pm 1,2$ gün olmak üzere, 3 saat soğuk şoku uygulanmış (Grup no 3) deney gruplarında tespit edilmiştir. Ortalama ömür uzunlukları bakımından ortaya çıkan bu farklılıklar, çeşitli düzeylerde ($p < 0,05$ veya $p < 0,001$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.5.).

Soğuk şoku uygulaması sonucunda *Vestigial* mutant soyu için ulaştığımız sonuçlar incelendiğinde, kontrol grubuna ait erkeklerin maksimum 70, dişilerin maksimum 64 gün yaşadıkları gözlenmiştir. 1, 2 ve 3 nolu deney gruplarında ise maksimum ömür uzunlukları sırasıyla, erkeklerde 67, 64 ve 55 gün, dişilerde de 61, 55 ve 52 gün olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlardan da anlaşılabacağı gibi, *D. melanogaster*'in yabanıl soyunda olduğu gibi *Vestigial* mutant soyuna ait bireylerde de soğuk şoku uygulamasının süresi arttıkça maksimum ömür uzunluğu kısalmıştır. Dişi ve erkek bireylere ait ortalama ömür uzunluğu sonuçları, kontrol gruplarıyla ve kendi aralarında karşılaştırıldığında, en uzun ortalama ömrün kontrol grubunun ♂♂ bireylerinde $48,01 \pm 1,3$ ve ♀♀ bireylerinde de $46,09 \pm 0,9$ gün olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.7.). Çizelge 4.7.'de görüldüğü gibi, deney gruplarında uygulama süresi arttıkça ortalama ömür uzunluğunda kısalma olmuştur. En kısa ortalama ömür ♀♀ bireylerde $33,82 \pm 1,2$, ♂♂ bireylerde $36,85 \pm 1,1$ gün olmak üzere, 3 saat soğuk şoku uygulanmış (Grup no 3) deney gruplarında tespit edilmiştir. Ortalama ömür

uzunlukları bakımından ortaya çıkan bu farklılıklar, çeşitli düzeylerde ($p < 0,05$ veya $p < 0,001$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.7.).

Soğuk şokunun zararlı etkisinin hücre membranında meydana getirdiği hasarlardan kaynaklandığı sanılmaktadır (Kelty ve Lee 2001). Soğuk şokunun etki mekanizması ile ilgili yapılan bir çalışmada, *D. melanogaster*' in hücre membranındaki kolesterol miktarı artırılmıştır. Sonuçta, hücre membranları kolesterolce zengin olan deney gruplarının kontrol gruplarına göre soğuk şokuna daha dirençli ve ömürlerinin daha uzun olduğu görülmüştür (Shreve vd 2007).

Soğuk stresi ile yapılan çalışmaların çoğu, direkt soğuk şoku ile kademeli hızlı soğutma (RCH=Rapid Cold Hardening) arasındaki farkın anlaşılması üzerine yapılmıştır. Yapılan çalışmaların sonucunda, direkt soğuk şoku uygulamalarının RCH uygulamalarına göre ömür uzunluğunu azaltıcı etkisinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Kelty ve Lee 1999; Sorensen ve Loeschcke 2002; Sinclair ve Roberts 2005).

Düşük sıcaklığın *Galleria mellonella* (Büyük balmumu güvesi) larvaları üzerinde normalden daha fazla deri değiştirme, larvaların kokon oluşturmada pupa olması, çok küçük larvaların oluşması, anormal pupaların oluşması ya da erginlerin kanatlarının normal olmayışı gibi etkilerinin olduğu belirtilmiştir (Cymborowski 1991). Böceklerle soğuk şoku uygulandıktan sonra böceklerin çeşitli gelişim evrelerinde gözlenen anormalliklerin onların yaşamlarını değiştirebileceği vurgulanmıştır (Garcia vd 2001).

Şekil 4.9., Şekil 4.10., Şekil 4.13. ve Şekil 4.14.'de verilen hayatta kalış eğrileri ayrı ayrı incelendiğinde, ömür eğrilerinin dikdörtgensel olduğu görülmektedir ve bu da grupların sahip oldukları genetik ömrün yaşandığını göstermektedir. Hayat tablosu verilerine göre çizilen hayatta kalış eğrisi dikdörtgensel ise yani ölüm oranı, belirli bir süre içinde ölen birey sayısının, o sürenin başlangıcındaki birey sayısına oranı,

kronolojik zamana bağılı olarak artıyorsa o popülasyon yaşlanmaktadır (Pearl vd 1927; Maynard-Smith 1958).

Başta fosil yakıt kullanımı olmak üzere, sanayileşme, enerji üretimi, ormanların yok olması ve diğer insan aktiviteleri sonucunda ortaya çıkan “küresel ısınma ve iklim değişikliği”, dünyayı tehdit eden en önemli çevre sorunlarından birisidir (Bright 1997).

Küresel iklimde meydana gelecek değişimler, muhtemelen böcekler de dâhil pek çok hayvanın davranışını ve yaşam tarzını etkileyecektir. Çoğu böcek için sıcaklık ve nemde meydana gelen artış, gelişme oranının, yer değiştirme hızının ve üreme kapasitesinin artması demektir. Böceklerin, soğukkanlı (vücut sıcaklıkları havanın ve çevrenin sıcaklığına göre değişen) hayvanlar olması, küresel ısınmaya bağılı olarak iklim faktörlerinde oluşacak değişikliklerin, böceklerin fizyolojisinde ve coğrafi yayılışı sınırlarında önemli bazı farklılaşmalara neden olacağını düşündürmektedir. Özellikle sıcaklık ve nemde meydana gelecek değişiklikler böceğin metabolizmasını, üreme kapasitesini, beslenme alışkanlıklarını ve bunlara bağılı olarak da yayılışını etkilemektedir (Akbulut 2000).

Uzun bir süreç içinde meydana gelen iklimsel değişikliklere doğadaki canlıların uyum sağlaması mümkün olsa da hızlı iklim değişikliklerine uyum sağlamak birçok bitki ve hayvan türü için mümkün değildir. Çalışmamız sonucunda, hızlı sıcaklık değişimleri ile sağlanan ekstrem sıcaklık şartlarının *D. melanogaster* Oregon R yabanıl ve *Vestigial* mutant soyu erkek ve dişi bireylerinin ömür uzunluğunda kısaltmaya neden olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Küresel ısınma ve iklim değişikliğinin canlılar üzerine olası diğer etkileri başka çalışmalar ile araştırılmalıdır. Çalışmamızın bir diğer amacı da, ilerde yapılabilecek bu tür araştırmalara elde ettiğimiz verilerle katkıda bulunabilmektir.

KAYNAKLAR

- Aigaki, T., Seong, K. H., Matsuo, T., 2002. Longevity determination genes in *D. melanogaster*. Mech. Age. and Develop., 123 (12), 1531-1541.
- Akbulut, S., 2000. Küresel ısınmanın böcek populasyonları üzerine muhtemel etkileri. Ekoloji Çevre Dergisi, Cilt: 9 (36), 25-27.
- Allemand, R., Cohet, Y., and David, J., 1973. Increase in the longevity of adult *D. melanogaster* kept in permanent darkness. Exp. Geront., 8, 279-283.
- Alpatov, W.W. and Pearl, R., 1929. Experimental studies on the duration of life. XII. Influence of temperature during the larval period and adult life on the duration of life of imago of *Drosophila melanogaster*. Amer. Nat., 63, 37-67.
- Altun, D., 2007. *Usnea longissima* Ach. Likeninin *Drosophila melanogaster*'in çeşitli gelişim parametreleri ve ömür uzunluğu üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K., Hagen, T. M., 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of ageing. Proc. Natl. Acad. Sci., 90, 7915-7922.
- Arking, R., Burde, V., Graves, K., Hari, R., Feldman, E., Zeevi, A., Soliman, S., Saraiya, A., Buck, S., Vetrano, J., Sathrasala, K., Wehr, N., Levine, R.L., 2000. Forward and reverse selection for longevity in *Drosophila* is characterized by alteration of antioxidant gene expression and oxidative damage patterns. Exp. Geront., 35, 167-185.
- Ashburner, M., and Wright, T. R. F., 1978. The genetics and biology of *Drosophila*. Volume 2c, Academic Press Ltd., London, 617 pp.
- Bağcı, G., 1983. *Drosophila*'da ömür uzunluğu-sıcaklık etkileşiminin araştırılması. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Bağcı, G., Bozcuk, A. N., 1991. Ergin *Drosophila*'nın ömür uzunluğuna sıcaklık ve ışığın etkisi. Doğa-Tr. J. of Biology, 15, 124-131.
- Barrou, Z., Charru, P., Lidy, C., 1997. Dehydroepiandrosterone (DHEA) and ageing. Arch. of Geront. and Geriatr., 24, 233-241.
- Bozcuk, A.N., 1970. Molecular turnover and ageing in *Drosophila subobscura*. D. Phil. Thesis, University of Sussex.
- Bozcuk, A. N., 1972. DNA synthesis in the absence of somatic cell division associated with ageing in *Drosophila subobscura*. Exp. Geront., 7, 147-156.
- Bozcuk, A. N., 1976. *Drosophila melanogaster* Meig. (Diptera: Drosophilidae) Yaşlanması ve Orgel hipotezi üzerinde araştırmalar. Doçentlik tezi, Hacettepe Üniv. Fen Fak. Ankara.
- Bozcuk, A. N., 1978. The effects of some genotypes on the longevity of adult *Drosophila*. Exp. Geront., 13, 279-286.
- Bozcuk, A. N., 1981. Genetics of longevity in *Drosophila*. V. The specific and hybridised effects of rolled, sepia, ebony and eyeless autosomal mutants. Exp. Geront., 16, 415-427.
- Bozcuk, A. N., 1983. Ageing and the life span of various *Drosophila* mutants. Hacettepe Bull. of Nat. Sci. and Eng., 12, 1-13.
- Bright, C., 1997. "İklim Değişimi Ekolojisini Araştırmak", çev. Hakan Gülseven, Dünyanın Durumu 1997, TEMA Vakfı Yayını, 122-145.

- Burcombe, J.V. and Hollingsworth, M.J., 1970. The relationship between developmental temperature and longevity in *Drosophila*. *Gerontologia*, 16, 172-181.
- Carey, J. R., Liedo, P., Muller, H. G., Wang, J. L., Chiou, J. M., 1999. Mortality Oscillations induced by periodic starvation alter sex- mortality differentials in mediterranean fruit flies. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.*, 54, 424-431.
- Charlesworth, B., 1994. *Evolution in age-structured populations*, Cambridge Uni. Press, 320 pp, Cambridge, England.
- Chen, C.P., Delinger, D.L., Lee, R.E., 1987. Cold shock injury and rapid cold-hardening in the flesh fly *Sarcophaga crassipalpis*. *Physiol. Zool.*, 60, 297-304.
- Chen, C.P. and Walker, V.K., 1993. Increase in cold shock tolerance by selection of cold resistant lines in *Drosophila melanogaster*. *Ecol. Entom.*, 18, 184-190.
- Curtis, B. A. 1966. Ca fluxes in single twitch muscle fibers. *J. Gen. Physiol.*, 50, 255.
- Cymborowski, B., 1991. Effects of cold stress on endocrine system of *G. mellonella* larvae, In: *Hormones and metabolism in insect stress*. (J. Ivanovic and M. Jankovic, eds.) CRC Press, Inc., Boston.
- Czajka, M.C. and Lee, R.E., 1990. A rapid cold-hardening response protecting against cold shock injury in *Drosophila melanogaster*. *J. of Exp. Biol.*, 148, 245-254.
- Dalgıç, B.Ş., Koçak, B., Özsoy-Emecen, G., Bozcuk, A.N., Ünlü, H., Saka, B., 2002. Elektromanyetik radyasyonun ergin *Drosophila melanogaster* mutantlarında ömür uzunluğuna etkisi. XVI. Ulusal Biyoloji Kongresi, 2002, Özetler, Malatya.
- David, J., Cohet, Y. and Fovillet, P., 1975. The variability between individuals as a measure of senescence: A study of the number of eggs laid and the percentage of hatched eggs in the case of *Drosophila melanogaster*. *Exp. Geront.*, 10, 17-25.
- Demirsoy, A., Bozcuk, A. N., 1997. Ölümün evrimsel öyküsü, Editör; Gökçe-Kutsal, Y., Çakmakçı, M., Ünal, S., Geriatri, Hekimler Yayın Birliği, Ankara, 1-6.
- Ding, C.K., Wang, C.Y., Gross, K.C. and Smith, D.L., 2001. Reduction of chilling injury and transcript accumulation of heat shock proteins in tomato fruit by methyl jasmonate and methyl salicylate. *Pl. Scien.*, 161, 1153-1159.
- Dingley, F. and Maynard-Smith, J., 1969. Absence of life shortening effect of aminoacid analogues on adult *Drosophila*. *Exp. Geront.*, 4, 145-149.
- Droge, W., 2002. Free radicals in physiological control of cell functions. *Physiol. Rev.*, 82, 47-95.
- Doane, W. W., 1967. Quantitation of amylases in *Drosophila* separated by acrylamide gel electrophoresis, *J. Exp. Zool.*, 164 (3), 363-377.
- Dumlupınar, R., Aşkın, H., Uysal, H., Demir, F., 2008. Determination of trace element changes during an estivation of *Drosophila melanogaster* by WDXRF analyses at high temperature. *The Can. J. of Analy. Scien. and Spect.* (In Press).
- Economus, A. C. and Lints, F. A., 1986. Developmental temperature and life span in *Drosophila melanogaster*. *Gerontology*, 32 (1), 18-27.

- Fışkın, K., Kandemir, S., Hamamcı, D., Yeşilada, E., Bozcuk, A. N., 1994. Age-Related changes in catalase, glutathione reductase activities, the amount of glutathione in total body of Oregon and *Vestigial Drosophila melanogaster*. Arch. Gerontol. Geriatr. suppl., 4, 85-90.
- Fisher, R. A., 1930. The genetical theory of natural selection. Clarendon Press., Oxford.
- Fred, H. and Timothy, J. B., 1997. An analysis of resource allocation in response to dietary yeast in *Drosophila melanogaster*. J. Insect. Physiol., 43 (8), 779-788.
- Finch, C. E., 1990. Longevity, senescence and the genome. Univ. of Chicago Pres., Chicago.
- Fry, A. J., and Rand, D. M., 2002. *Wolbachia* interactions that determine *D. melanogaster* survival. Evolution, 56 (10), 1976-1981.
- Garcia, S.M., Garcia, N.L., Rodrigues, V.L., Mello, M.L.S., 2001. Effect of sequential cold shocks on survival and molting incidence in *Panstrongylus megistus* (Hemiptera, Reduviidae). Cryobiology, 42, 74-77.
- Gonzales, B.M., 1923. Experimental studies on the duration of life. VIII. The influence upon duration of life of certain mutant genes of *Drosophila melanogaster*. Am. Natur., 57, 289-325.
- Gowen, J.W. and Johanson, L.E., 1946. On the mechanism of heterosis. I. Metabolic capacity of different races of *Drosophila melanogaster* for egg production. Am. Natur., 80, 149-179.
- Guerra, D., Loeschke, V., and Cavicchi, S., 2000. Chromosomal and cytoplasmic analysis of heat shock resistance in natural populations of *Drosophila melanogaster*. Hereditas, 132, 143-149.
- Gurley, W.B., 2000. A key component for the acquisition of thermotolerance in plants. Plant Cell, 12, 457-460.
- Haldane, J. B. S., 1941. New Paths in Genetics, Allen and Unwin, London.
- Harman, D., 1956. Ageing: a theory based in free radical and radiation chemistry. J. Gerontol., 2, 298-300.
- Harman, D. 1981. The ageing process. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78, 7124-7128.
- Harshman, L.G., Moor, K.M., Sty, M.A., Magwire, M.M., 1999. Stress resistance and longevity in selected lines of *Drosophila melanogaster*. Neurobiol. of Age., 20, 521-529.
- Hemann, M.T., Strong M.A., Hao, L.Y., Greider, C.W., 2001. The shortest telomere, not average telomere length, is critical for cell viability and chromosome stability. Cell, 107, 67-77.
- Hughes, K. A., and Charlesworth, B., 1994. A genetic analysis of senescence in *Drosophila*. Nature, 367, 64- 66.
- Iba, K., 2002. Acclimative responses to temperature stress in higher plants: approaches of gene engineering for temperature tolerance. Annu. Rev. Plant Biol., 53, 225-245.
- Jazwinski, S.M., 1996. Longevity, genes, and aging. Science, 273, 54-59.
- Jensen, D., Overgaard, J., Sorensen, J.G., 2007. The influence of developmental stage on cold shock resistance and ability to cold-harden in *Drosophila melanogaster*. J. of Insect Physiol., 53, 179-186.

- Jordens, R. G., Berry, M. D., Gillott, C., Boulton, A. A., 1999. Prolongation of life in an experimental model of ageing in *Drosophila melanogaster*. *Neurochem. Res.*, 24 (2), 227-233.
- Kandemir, S., 1993. *Drosophila melanogaster* Oregon yabanıl tip ve *Vestigial* mutantında ömür uzunluğu süresince katalaz, glutatyon redüktaz aktiviteleri ve glutatyon miktar tayini. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Kelty, J. D. and Lee, R. E., 1999. Induction of rapid cold hardening by cooling at ecologically relevant rates in *Drosophila melanogaster*. *J. Insect Physiol.*, 45, 719-726.
- Kelty, J. D. and Lee, R. E., 2001. Rapid cold-hardening of *Drosophila melanogaster* during ecologically based thermoperiodic cycles. *J. of Exp. Biol.*, 204, 1659-1666.
- Kirkwood, T.B.L., 2002. Evolution of ageing. *Mech. of Age. and Dev.*, 123, 737-745.
- Klarsfeld, A. and Rouyer, F., 1998. Effects of circadian mutations and LD periodicity on the lifespan in *Drosophila melanogaster*. *J. Biol. Rhythms*, 13, 471-478.
- Lanciani, C.A., Anderson, J.F., Giesel, J.T., 1991. Effect of photoperiod on metabolic rate in a subtropical population of *Drosophila melanogaster*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 2, 347-348.
- Lansing, A.I., 1952. 'Crowdry's problems of ageing' Ed. Williams and Wilking, Baltimore, Maryland.
- Le Bourg, E., Valenti, P., Lucchetta, P. and Payre, F., 2001. Effects of mild heat shock at young age on ageing and longevity in *Drosophila melanogaster*. *Biogerontology*, 2, 155-164.
- Lengyel, J.A., Ransom, L.J., Graham, M.L. and Pardue, M.L., 1980. Transcription and metabolism of RNA from the *Drosophila melanogaster* heat shock puff site 93D. *Chromosoma*, 80, 237-252.
- Lin, Y. J., Seroude, L., Benzer, S., 1998. Extended life-span and stress resistance in the *Drosophila* mutant *methuselah*. *Science*, 282, 943-946.
- Lindquist, S., 1980. Varying patterns of protein synthesis in *Drosophila* during heat shock: Implications for regulation. *Dev. Biol.*, 77, 463-479.
- Lindsley, D.E. and Poodry, C.A., 1977. A reversible temperature-induced developmental arrest in *Drosophila*. *Dev. Bio.*, 56, 213-218.
- Lints, F.A., 1963. Size in relation to development time and egg density in *Drosophila melanogaster*. *Nature*, 197, 1128-1130.
- Lints, F. A., 1971. Life span in *Drosophila*. *Gerontologia*, 17, 33-51.
- Lints, F.A. and Lints, L.V., 1971. Influence of preimaginal environment on fecundity and ageing in *Drosophila melanogaster* hybrids. III. Developmental speed and life span. *Exp. Geront.*, 6, 427-445.
- Lithgow, G. J., White, T. M., Melov, S., Johnsen, T. E., 1995. Thermotolerance and extended life-span conferred by single-gen mutations and induced by thermal stress. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 92, 7540-7544.
- Loeb, J. and Northrop, J.H., 1916. Is there a temperature coefficient for the duration of life? *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 2, 455-459.

- Malmendal, A., Overgaard, J., Bundy, J.G., Sorensen, J.G., Nielsen, N.C., Holmstrup, M., 2006. Metabolomic profiling of heat stress: Hardening and recovery of homeostasis in *Drosophila*. *Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 291, 205-212.
- Maynard-Smith, J., 1957. Temperature tolerance and acclimation in *Drosophila subobscura*. *J. Exp. Biol.*, 34, 85-96.
- Maynard-Smith, J., 1958. The effects of temperature and of egg-laying on the longevity of *Drosophila subobscura*. *J. Exp. Biol.*, 35, 832-842.
- Maynard-Smith, J., 1966. Theories of ageing, In: P.L. Krohn (Ed.), *Topics in the biology of ageing*, New York.
- Medawar, P. B., 1952. An unsolved problem of biology. H. K. Lewis, London, pp. 1-55
- Miller, R.S. and Thomas, J.L., 1958. The effects of larval crowding and body size on the longevity of adult *Drosophila melanogaster*. *Ecology*, 39, 118-125.
- Minois, N., Guinaudy, M. J., Payre, F., Bourg, E. L., 1999. Hsp70 induction may explain the long-lasting resistance to heat of *Drosophila melanogaster* having lived in hypergravity. *Mech. Age. and Dev.*, 109, 65-77.
- Mobbs, C.V., 1996. Neuroendocrinology of ageing. In: Schneider EL, Rowe JW, editors. *Handbook of the biology of aging*. San Diego (CA): Academic Press, 234-82.
- Morrow, G.M. and Tanguay, R.M., 2003. Heat shock proteins and ageing in *Drosophila melanogaster*. *Cell & Dev. Biol.*, 14, 291-299.
- Morrow, G., Battistini, S., Zhang, P., Tanguay, R.M., 2004. Decreased lifespan in the absence of expression of the mitochondrial small heat shock protein hsp22 in *Drosophila*. *J. of Biol. Chem.*, 42, 43382-43385.
- Norry, F.M. and Loeschke, V.R., 2002. Longevity and resistance to cold stress in cold-stress selected lines and their controls in *Drosophila melanogaster*. *J. of Evol. Biol.*, 15, 775-783.
- Orr, W. C. and Sohal, R. S., 1992. Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*. *Science*, 263, 1128-1130.
- Parsell, D.A., Taulien, J. and Lindquist, S., 1993. The role of heat-shock proteins in thermotolerance. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 29, 339 (1289): 279-285.
- Partridge, L., 2001. Evolutionary theories of ageing applied to long-lived organisms. *Exp. Geront.*, 36, 641-650.
- Partridge, L. and Barton, N.H., 1993. Optimally, mutation and the evolution of ageing. *Nature*, 362, 305-311.
- Partridge, L. and Fowler, K., 1992. Direct and correlated responses to selection on age at reproduction in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 46, 76-91.
- Pearl, R., 1928. "The rate of living" Being on account of some experimental studies on the biology of life duration. Alfred, A. Knopf, New York.
- Pearl, R., Minner, J. R., and Parker, S. L., 1927. Experimental studies on the duration of life. XI. Density of population and the life duration in *Drosophila*. *Amer. Natur.*, 61, 289-318.

- Pearl, R., Parker, S.L. and Gonzales, B.M., 1923. Experimental studies on the duration of life. VII. The Mendelian inheritance of duration of life in crosses of wild type and quinuple stocks of *Drosophila melanogaster*. Amer. Natur., 57, 153-192.
- Pletcher, S. D., Houle, D., Curtsinger, J. W., 1998. Age-specific properties of spontaneous mutations affecting mortality in *Drosophila melanogaster*. Genetics, 148, 287-303.
- Qui, J. and Hardin, P.E., 1996. Developmental state and the circadian clock interact to influence the timing of eclosion in *Drosophila melanogaster*. J. Biol. Rhythms, 11, 75-86, 209-214.
- Reiter, R.J., 1994. Pineal function during ageing; attenuation of the melatonin rhythm and its neurobiological consequences. Acta. Neurobiol. Exp., 54, 31-39.
- Rose, M. R., 1985. Ufe-history evolution with antagonistic pleiotropy and overlapping generations. Theror. Pop. Biol., 28, 342-358.
- Rose, M. R., 1999. Genetics of ageing in *Drosophila*. Exp. Geront., 34, 577-585.
- Samis, H.V., Erk, F.C. and Baird, M.B., 1971. Senescence in *Drosophila*. Exp. Geront., 6, 9-18.
- Sarıkaya, R., Çakır, Ş., Solak, K., 2006. Gıdalardaki koruyucu maddelerin *Drosophila melanogaster*' de (mwh/flr) ömür uzunluğuna etkisi. Kastamonu Eğitim Dergisi, 14 (1), 173-184.
- Setsini, E. A., Carlson, J. C., Allsopp, R., 1991. The effects of ambient temperature on life span, lipid peroxidation, superoxide dismutase, and phospholipase A2 activity in *Drosophila melanogaster*. Exp. Geront., 26, 385-395.
- Sheeba, V., Sharma, V. K., Shubha, K., Chandrashekar, M. K., Joshi, A., 2000. The effect of different light regimes on adult life span in *Drosophila melanogaster* is partly mediated through reproductive output. J. Biol. Rhythms., 15, 5, 380-392.
- Shreve, S.M., Yi, S.X. and Lee, R.E., 2007. Increased dietary cholesterol enhances cold tolerance in *Drosophila melanogaster*. Cryoletters, 28, 33-37.
- Sinclair, B.J., Roberts, S.P., 2005. Acclimation, shock and hardening in the cold. J. of Therm. Bio., 30, 557-562.
- Sokal, R. and Rohlf, F. J., 1995, Biometry, 3rd ed., W. H. Freeman and Company, N.Y, 887 pp.
- Sorensen, J.G. and Loeschcke, V., 2002. Decreased heat shock resistance and down-regulation of hsp70 expression with increasing age in adult *Drosophila melanogaster*. Funct. Ecol., 16, 379-384.
- Strehler, B.L., 1961. Studies on the comparative physiology of ageing. II. On the mechanism of temperature life-shortening in *Drosophila melanogaster*. J. Geront., 16, 2-12.
- Strehler, B.L., 1962. Time, Cells and Ageing. Academic Press. New York and London.
- Tatar, M., 1999. Evolution of senescence: Longevity and the expression of heat shock proteins. The Amer. Zool., 39, 920-927.
- Tatar, M., Promislow, D. E. L., Khazaeli, A. A., Curtsinger, J. W., 1996. Age-specific patterns of genetic variance in *Drosophila melanogaster*. II. covariance with age-specific mortality. Genetics, 143, 849-858.

- Tower, J., 1996. Ageing mechanisms in fruit flies. *Bioessays*, 18, 799–807.
- Uysal, H., 1990. *Drosophila melanogaster*'in politen kromozomlarında bazı çevresel faktörlerin gen aktivitesi üzerine etkilerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Uysal, H., Altun, D., Aşkın, H., Aslan, A., 2008. *Drosophila melanogaster*'de *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. likeninin ömür uzunluğu üzerine etkisinin araştırılması. 19. Ulusal Biyoloji Kongresi, 2008, Trabzon.
- Ünlü, H., 1991. *Drosophila melanogaster* ömür uzunluğunda yellow alellerinin heterozis etkisinin farklı backgroundlarda incelenmesi. *Doğa-Tr. J. of Biology*, 15, 98-109.
- Ünlü, H. and Bozcuk, A. N., 1979. Genetics of longevity in *Drosophila* I: The Effects of *w*, *m* and *f* mutant genes in various genotype combinations. *Exp. Geront.*, 14, 117-124.
- Verbeke, P., Deries, M., Clark, B.F.C., Rattan, S.I.S., 2002. Hormetic action of mild heat stress decreases the inducibility of protein oxidation and glycoxidation in human fibroblasts. *Biogerontology*, 3, 117-120.
- Walford, R.L., 1974. Immunologic theory of ageing: current status. *Fed. Proc.* 33, 20-27.
- Williams, G. C., 1957. Pleiotropy, natural selection and the evolution of senescence. *Evolution*, 11, 398-411.
- Woodhams, C.A. and Hollingsworth, M.J., 1971. The longevity of first and second generation *Drosophila* hybrids. *Exp. Geront.*, 6, 43-48.
- Yang, H. P., Tanikawa, A.Y., VanVoorhies, W. A, Silva, C., Kondrashov, A. S., 2001. Whole-genome effects of ethyl-methanesulfonate-induced mutation on nine quantitative traits in outbred *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 157, 1257-1265.
- Yeşilada, E., Bozcuk, A. N., Topçuoğlu, Ş. F., Bozcuk, Ş., 1994. *Drosophila melanogaster*'in gelişim biyolojisi üzerine bitki büyüme maddelerinin etkisi. XII. Ulusal Biyoloji Kongresi, 1994, Zooloji Seksiyonu, 4, 25-33.
- Zou, S., Meadows, S., Sharp, L, Jan, L. Y., Jon, Y. N., 2000. Genome-wide study of ageing and oxidative stress response in *Drosophila melanogaster*. *Proce. of the Nat. Acad. of Scien.*, 97 (25), 13726-13731.
- Zwaan, B.J., 1999. The evolutionary genetics of ageing and longevity. *Heredity*, 82, 589-597.

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Samsun’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Amasya’da tamamladı. 1998 yılında girdiği 19 Mayıs Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Radyoloji Bölümü’nden 2000 yılında mezun oldu. 2000 yılında, Atatürk Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü’ne girerek 2004 yılında mezun oldu. Aynı yıl, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji Bilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen aynı bölümde öğrenimine devam etmektedir.