

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Usnea longissima Ach. LİKENİNİN *Drosophila melanogaster*' in
ÇEŞİTLİ GELİŞİM PARAMETRELERİ ve ÖMÜR UZUNLUĞU
ÜZERİNE ETKİLERİ

DENİZ ALTUN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ERZURUM

2007

Her hakkı saklıdır.

Yrd. Doç. Dr. Handan UYSAL danışmanlığında, **Deniz ALTUN** tarafından hazırlanan bu çalışma, 14/08/2007 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **Biyoloji** Anabilim Dalı'nda **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : **Prof. Dr. Ö. Faruk ALGUR** *İmza* :.....

Üye : **Yrd. Doç. Dr. Handan UYSAL** *İmza* :.....

Üye : **Yrd. Doç. Dr. Ali ASLAN** *İmza* :.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

(imza)

.....

Prof. Dr. Mehmet ERTUĞRUL

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

***Usnea longissima* Ach. LİKENİNİN *Drosophila melanogaster*' in ÇEŞİTLİ GELİŞİM PARAMETRELERİ ve ÖMÜR UZUNLUĞU ÜZERİNE ETKİLERİ**

Deniz ALTUN

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Handan UYSAL

Bu çalışmada, ilaç sektöründen gıdaya, tekstilden kozmetiğe kadar yaşantımızın hemen her alanında kullanılan likenlerden biri olan *Usnea longissima* Ach. likeninin su ekstresinin (Ule) *Drosophila melanogaster*'in gelişimi üzerine etkileri incelenmiştir. Bu amaçla farklı konsantrasyonlardaki Ule (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 ve 2,5 ml/100 ml besiyeri), ergin bireylerin besin ortamlarına ilave edilmiştir. Kronik olarak Ule uygulamasına maruz bırakılan ebeveynlerin yavrularına ait gelişim evrelerinin ilk üç konsantrasyonda (0,5- 1,5) kontrol grubuyla eş zamanlı tamamlandığı, yüksek konsantrasyonlarda (2,0- 2,5) ise kontrol grubuna göre geciktiği; toplam yavru birey sayısının ilk üç konsantrasyonda artarken son iki konsantrasyonda azaldığı ve yavru bireylerde çeşitli fenotipik anormalliklerin meydana geldiği gözlenmiştir. Ule'nin her bir konsantrasyonuna ait F₁ bireyleri, yalnızca Standart *Drosophila* Besiyeri (SDB) ve SDB+Ule içeren besin ortamlarında başlangıç konsantrasyonlarına göre ayrı ayrı kendileştirilmiş ve Ule'ye bağlı olarak F₁ neslinde gözlenen değişimlerin F₂ neslinde de sürüp sürmediğine bakılmıştır. F₂ nesline ait yalnızca SDB içeren tüm uygulama gruplarında ve SDB+ Ule içeren ilk üç uygulama grubunda (0,5- 1,5) gelişim kontrol grubuyla aynı zamanda tamamlanırken, toplam yavru birey sayısı da artmıştır. F₂ nesline ait SDB+Ule içeren son iki grupta (2,0- 2,5) ise kontrol grubuna göre gelişim sürecinde gecikme meydana gelmiş, yavru birey sayısı kontrole göre azalmış ve anormal birey sayısında da artış tespit edilmiştir. Ayrıca F₁'de meydana gelen olumsuz etkilerin, F₂'de tümüyle ortadan kalkmadığı da gözlenmiştir.

Çalışmamızın ikinci bölümünde ise, canlı organizmalar üzerinde çeşitli toksik etkilerinin yanı sıra içerdikleri liken maddeleri sayesinde günümüzde alternatif tıpta hastalıkların sağaltımında tercih edilen *U. longissima* likeninin su ekstresinin (Ule) *D. melanogaster*'in dişi ve erkek popülasyonlarına ait ömür uzunluğu üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, uygulamadan önce 2 saat aç bırakılan ergin bireylerin besin ortamlarına farklı konsantrasyonlarda Ule ilave edilmiş, gözlem ve uygulamalara son birey ölünceye kadar devam edilmiştir. *D. melanogaster*'e ait dişi ve erkek bireylerin hayat tablosu verileri değerlendirilerek her iki popülasyona ait ilk üç uygulama grubunda (0,5- 1,5) kontrole göre ömür uzunluğunda artış gözlenirken, son iki grupta (2,0- 2,5) ömür uzunluğunun kontrol grubuna göre daha kısa olduğu belirlenmiştir.

2007, 71 sayfa

Anahtar Kelimeler: *D. melanogaster*, *U. longissima*, Gelişim Evreleri, Ömür Uzunluğu, Teratojenik Etki

ABSTRACT

Master Thesis

THE EFFECTS of *Usnea longissima* Ach. on SOME DEVELOPMENT PARAMETERS and LONGEVITY of *Drosophila melanogaster*

Deniz ALTUN

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

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Handan UYSAL

In this study, the effects of water extract obtained from *Usnea longissima* Ach., a lichen species, used from food to medicine industry and from cosmetics to apparel-industry, on *Drosophila melanogaster* was investigated. For this purpose, different concentrations of Ule (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 and 2,5 ml/100 ml medium) were added to growth medium of adult individuals. It was observed that the development stages of offsprings of the initial three treatment groups (0,5-1,5) of adults exposed chronic Ule application were completed synchronic with control group and delayed with high concentrations (2,0- 2,5), while the number of total offsprings was increasing with initial three concentrations, it decreased last two concentrations and various phenotypic abnormalities occurred in last two offsprings. F₁ individuals belonging to each concentrations of Ule were matched within themselves in Standart *Drosophila* Medium (SDM) and SDM+Ule as one by one and it was researched that if the developmental abnormalities of F₁ generation were observed in F₂ generation. In addition, while the development stages of all treatment groups (only including SDM) belonging to F₂ generation and including SDM+Ule initial three group (0,5- 1,5) were completed at the same time together with control group, the number of total offsprings increased. It was observed that in last two groups with SDM+Ule (2,0- 2,5), belonging to F₂ generation, occurred a prolonging at the development process, the number of offsprings decreased according to the control group and also the numbers of abnormal individuals increased. In addition, it was observed that negative effects occurring F₁ individuals were not disappeared completely in F₂ generation.

In the second part of our study, the water extract of *U. longissima* (Ule) which is recently preferred on the treatment of various diseases in folk medicine for the lichen they contain compounds together with the toxic effects on several organisms, were investigated the longevity of male and female populations of *D. melanogaster*. For this purpose, different concentrations of Ule were added to growth medium of adult individuals (starved during 2 hours) before treatment, observations and applications were maintained till last individual died. Life span data of male and female populations of *D. melanogaster* were evaluated. In initial three treatment groups (0,5- 1,0- 1,5) of each populations' longevity increased, however it was determined that the longevity of last two groups (2,0- 2,5) were shorter than the control group.

2007, 71 pages

Keywords: *D. melanogaster*, *U. longissima*, Development Stages, Longevity, Teratogenic Effect

TEŞEKKÜR

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

ÇalıŐmalarımnda her türlü desteği sağlayan çok değerli hocam, tez danıŐmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Handan UYSAL'a (Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakóltesi Biyoloji Bölümü) en içten teŐekkürlerimi sunarım.

Ayrıca Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ö. Faruk ALGUR'a (Atatürk Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakóltesi Biyoloji Bölümü), çalıŐmalarım sırasında her konuda tecrübe ve önerilerinden faydalandığım Biyoloji Bölümü'nün tüm öğretim elemanlarına ve çalışmalarımızda kullanmış olduğumuz *Usnea longissima* Ach. likeninin temininde yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Ali ASLAN'a (Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakóltesi Biyoloji Eđitimi Bölümü) Őukranlarımı sunarım.

ÇalıŐmalarım sırasında destek ve teŐviklerini esirgemeyen aileme de teŐekkürü borç bilirim.

Deniz ALTUN

Haziran 2007

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	13
3. MATERYAL ve YÖNTEM	20
3.1. Kullanılan Organizma.....	20
3.1.1. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in yaşam döngüsü.....	22
3.2. Deney Koşulları.....	26
3.2.1. Çevre koşulları.....	26
3.2.2. Besin ortamının hazırlanması.....	27
3.2.3. Bayıltma yöntemi.....	27
3.3. Liken Ekstraksiyonu ve Ekstrenin Besiyerlerine Eklenmesi.....	28
3.3.1. Liken ekstraksiyonu.....	28
3.4. Deneylelerin Yapılışı.....	28
3.4.1. Ergin bireylere liken ekstresinin uygulanması.....	28
3.4.2. Ömür uzunluğu deneyleri.....	29
3.5. Mikrofotografi.....	30
3.6. İstatistiksel Yöntemler.....	30
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	31
4.1. <i>Usnea longissima</i> Ekstresinin (Ule) Gelişim Biyolojisi Üzerine Etkileri.....	31
4.1.1. Ule'nin gelişim evreleri üzerine etkileri.....	31
4.1.2. Ule'nin toplam yavru birey sayısı üzerine etkileri.....	34
4.1.3. Ule'nin bazı morfolojik özellikler üzerine olan etkileri.....	38
4.2. Ule'nin Ömür Uzunluğu Üzerine Etkileri.....	42

5. TARTIŞMA ve SONUÇ	50
KAYNAKLAR.....	64
ÖZGEÇMİŞ	72

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°	Derece
C	Santigrat
dk	Dakika
cm	Santimetre
cc	Santimetreküp (= mililitre)
g	Gram
kg	Kilogram
mg	Miligram
ml	Mililitre
µg	Mikrogram
µM	Mikromolar
Cu	Bakır
Zn	Çinko
%	Yüzde değer
♀♀	Dişi
♂♂	Erkek
Σ	Toplam
ED ₅₀	Canlının %50'sini Etkileyen Doz
LD ₅₀	Canlının %50'sini Öldüren Doz
IC ₅₀	Canlının %50'sini İnhibe Eden Konsantrasyon

Kısaltmalar

Ule	<i>Usnea longissima</i> likeninin su ektresi
SDB	Standart Drosophila Besiyeri
Ach.	Acharius
spp.	Subspecies (= Alt tür)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. <i>Drosophila</i> 'nın gelişim evreleri	23
Şekil 3.2. <i>Drosophila</i> 'nın segmentli vücut yapısını oluşturan genlerin hiyerarşisi	24
Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlarda Ule içeren F ₁ nesline ait yavru birey sayılarının karşılaştırılması.....	34
Şekil 4.2. F ₁ nesline ait Σ yavru birey sayısının standart hata grafiği	36
Şekil 4.3. Ule içeren ve içermeyen SDB'de kendileşme (F ₁ X F ₁) ile elde edilen F ₂ nesline ait yavru birey sayılarının karşılaştırılması	37
Şekil 4.4. F ₂ nesline ait Σ yavru birey sayısının standart hata grafiği	38
Şekil 4.5. Kronik olarak Ule uygulanan F ₁ bireylerinde görülen fenotipik anormallikler.....	40
Şekil 4.6. Kronik olarak Ule uygulanan F ₂ bireylerinde görülen fenotipik anormallikler.....	41
Şekil 4.7. <i>D. melanogaster</i> 'in ♀♀ populasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Ule uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri (gün olarak).....	45
Şekil 4.8. <i>D. melanogaster</i> 'in ♂♂ populasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Ule uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri (gün olarak).....	46
Şekil 4.9. ♀♀ bireylere ait %95 güven aralıkları	48
Şekil 4.10. ♂♂ bireylere ait %95 güven aralıkları	49

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Ule ile kronik olarak beslenen ebeveynlere ait F ₁ ve F ₂ bireylerinin gelişim evreleri	32
Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyonlarda <i>Usnea longissima</i> 'nın <i>D. melanogaster</i> 'in yavru birey sayısı ve morfolojisi üzerine etkileri	35
Çizelge 4.3. <i>D. melanogaster</i> 'in ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunlukları (gün olarak) ve gruplar arası önem kontrolleri	43
Çizelge 4.4. <i>D. melanogaster</i> 'de ♀♀ ve ♂♂ bireylerin ortalama ömür uzunluğu bakımından bağımsız gruplar için t- testi ile karşılaştırılması sonucu elde edilen veriler	47

1. GİRİŞ

Populasyonların ömür uzunluklarının çevresel stres faktörlerinden etkilendiği (Parson 1973) ve stres faktörlerine karşı dirençliliğin artmasının populasyonun yaşlanma sürecini uzattığı bilinmektedir (Lithgow vd 1995; Lin vd 1998; Harshman vd 1999; Tatar vd 1999; Arking vd 2000; Bourg vd 2001).

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

Yaşlanma olayının kesin bir tanımı henüz yoktur. Ancak yaşlanma biyolojisi ile uğraşanlar (gerontologlar), yaşlanma olayını değişik açılardan ele alarak çeşitli tanımlar yapmışlardır. Bu tanımlardan 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 sağlanmaktadır; fakat genom ile çevrenin etkileşimi de bu süreçte önemli bir rol oynamaktadır (Demirsoy ve Bozcuk 1997).

Yaşlanmayı gösterebilmek için bir canlının içinde bulunduğu bir populasyonla hayat tablosu yapılmaktadır. Eğer hayat tablosuna göre çizilen hayatta kalış eğrisi dikdörtgensel ise yani “ölüm oranı” (rate of mortality) denilen “belirli bir süre içinde ölen birey sayısının, o sürenin başlangıcındaki birey sayısına oranı”, kronolojik zamana bağlı olarak artıyorsa o populasyon yaşlanmaktadır (Pearl ve Miner 1927; Maynard Smith 1958). Hayat tablosu, canlıda yer alan tüm yaşlanma olay ve süreçlerinin kaba bir ölçüsü ve yansımasıdır. Hayat tablosunun şekli, verilen bir populasyonda hayatta kalış

süresinin, yani ömür uzunluğunu etkileyen genetik yapı ve çevrenin ortak bir ifadesidir (Maynard Smith 1958).

Yaşlanma biyolojisi çok yönlü ve karmaşık olaylar serisidir. Bu nedenle bilimsel olarak yaşlanmayı açıklayabilmek için birçok teori ileri sürülmüştür. Yaşlanma olayının her ne kadar genetik programa dayanmakta olduğu kabul edilse de, çevresindeki diğer olaylardan bağımsız olduğu düşünülemez.

Yaşlanmayla ilgili ileri sürülen tüm görüşler deneysel olarak test edilip yanlışlık ve doğrulukları belirli ölçülerde kanıtlanmış ve zamanla bir kısmı ayıklanmıştır. Bugün bilim çevrelerinde benimsenen teoriler somatik mutasyon teorisi (Curtis 1966), serbest radikal teorisi (Harman 1956), antagonistik pleiotropi teorisi (Williams 1957) ve mutasyon birikimi teorisi (Medawar 1952).

Drosophila genetiğinin yaşlanma genetiği açısından en çok ilgilendiği alan populasyon ya da evrimsel genetik. Bu alandaki çalışmalarda özellikle yaşlanmanın biyolojisi üzerine öne sürülen üç teori dikkati çekmektedir. Birincisi, artan yaşla birlikte doğal seleksiyon baskısının azalmasının bir sonucu olarak yaşlanmanın meydana geldiğini öne süren teoridir (Hamilton 1966; Charlesworth 1994). İkincisi, 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). Üçüncü teori ise mutasyon birikimi teorisi. Bu teoriye göre de genç yaşlardaki zayıf doğal seleksiyonlar tekrarlanan zararlı mutasyonların etkisiyle hayatta kalış ve üremeyi olumsuz yönde etkilemektedir (Medawar 1952; Charlesworth 1994).

Burada 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).

Bir başka görüŖe göre de yaŖla birlikte devamlı artan genetik varyansın en büyük nedeni mutasyon birikimi olabilir (Tatar vd 1996). Bu birikim artan yaŖla birlikte doğal seleksiyon baskısını azaltırken, zararlı mutasyonların elimine edilme ya da frekanslarını düşürme olasılığını azaltmakta ya da yok etmektedir (Rose 1999). Böylece oluŖan mutasyon birikimi genetik varyansı arttırmaktadır. Bu yüzden yaŖlanma ile genetik varyansının artması üzerinde mutasyon birikiminin önemli bir etkisi olduğu düşünölmektedir (Tatar vd 1996). Aynı Ŗekilde *Drosophila*'da mortalite de genetik varyansın sürekliliği ile ilişkilendirilmektedir ve bu da yaŖlanma mekanizması için geçerli olan mutasyon birikimi teorisi ile desteklenmektedir (Hughes ve Charlesworth 1994; Tatar vd 1996; Pletcher vd 1998). Partridge (2001)'e göre antagonistik pleiotropinin yaŖlanma üzerine etkisi mutasyon birikiminden daha fazladır.

İleri sürölen bir diğer teori de serbest radikal teorisidir (Harman 1956). İlerleyen yaŖla birlikte biriken serbest radikallerin, yaŖlanma süreci üzerine büyük bir etkisi olduğu birçok çalıŖma ile desteklenmiŖtir (Setsini vd 1991; Orr ve Sohal 1992; FıŖkın vd 1994; Jordens vd 1999; Zou vd 2000). Ancak yaŖlanmada serbest radikallerin etkisinin yaŖlanma için tek faktör olmadığı da bilinmektedir. Bu teori, yaŖlanmaya serbest radikallerin sebep olduğunu savunmaktadır.

Serbest radikaller, en dıŖ elektron zarfında bir elektron kaybetmiŖ ve dolayısıyla bu elektron açılığını kapatabilmek için başka atomların elektronlarını paylaşmaya çalıŖan atomlardır. Serbest radikaller, aerobik solunum yapan tüm canlılarda metabolizmanın doğal bir sonucu olarak üretilmektedir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijen, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiŖ metallerinin iyonları ve hidrosil radikalleridir. Normal fizyolojik konsantrasyonlarda hücrenel aktivite gösteren reaktif oksijen türevleri yüksek konsantrasyonlarda oksidatif strese yol açarak toksik olabilmektedir. Bunun sonucunda da genetik ve metabolik bozukluklara, nörodejeneratif bozukluklara, kardiyovasköler hastalıklara, otoimmün hastalıklara, enfeksiyöz hastalıklara, alerjik patolojilere ve kansere yol açarak yaŖlanma 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).

Yapılan çalışmalar, yaşlanma sürecinin durdurulamayacağı fakat ertelenebileceği gerçeğini ortaya çıkarmaktadır. Bugün tüm bilim adamlarının üzerinde durduğu konu, uzun yaşamanın değil “sağlıklı ve başarılı yaşlanmanın” önemli olduğudur.

Ömür uzunluğunu etkileyen faktörler Lints (1971) tarafından iç (anasal yaş, eşleşme durumu, yumurta üretimi (=fekundite), eşey ve genetik yapı) ve dış (sıcaklık, beslenme, popülasyon yoğunluğu, ışık, nem ve radyasyon) faktörler olmak üzere iki sınıfa ayrılarak incelenmiştir. Rose (1999) ise popülasyon genetiği, fizyolojik genetik ve moleküler genetik diye üç sınıfa ayırarak yaşlanma mekanizmasını açıklamaya çalışmıştır. Lints (1971) ve Rose (1999) gibi birçok araştırmacı da yaşlanma

mekanizmasını açıklamak için yaşlanmayı etkileyen faktörleri belirli ana başlıklar altında toplamışlardır. Ancak yaşlanma mekanizması birçok etkenle içi içe geçmiş durumdadır. Bu nedenle yaşlanma mekanizmasını etkileyen faktörleri kesin çizgilerle ayırıp açıklamak oldukça zordur.

Drosophila'da erken fekundite ve ömür uzunluğu arasında genetik olarak negatif bir korelasyon vardır. Bu yaşlanma genetiğinin erken üremeye bağlı pleiotropik bir etkisi olduğu anlamına gelir (Rose 1999). Yani erken üremeyi arttıran alleller ömür uzunluğunu kısaltır. *Drosophila*'da kısa ömürlü olduğu bilinen birçok mutant vardır (Bozcuk 1978; Ünlü ve Bozcuk 1979; Bozcuk 1981; Bozcuk 1983; Setsini 1991; Ünlü 1991a). 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 (1927)'a göre, yumurtlama oranı artan dişilerde ömür uzunluğu azalmaktadır. Üreme ve ömür uzunluğu arasındaki bu ilişki antagonistik pleiotropi teorisini de desteklemektedir (Finch 1990).

Drosophila melanogaster'de anasal yaşla yavru dölün viabilitesi ya da gelişim hızı arasında negatif bir korelasyon vardır (Fleuriet ve Vageille 1982; Cadieu 1983; Barnes 1984; Kerver ve Rotman 1987). Ancak karşıt bulgular da mevcuttur (Ünlü 1991b). "Lansing etkisi" olarak adlandırılan anne yaşının ömür uzunluğuna etkisi genetik değildir ama kuşaktan kuşağa yumurtadaki sitoplazmik faktörler ile ya da epigenetik (DNA dizi değişimleri (mutasyon) dışındaki faktörlerle oluşan, gen ifadesindeki tüm değişiklikler) olarak aktarılmaktadır (Lints 1971).

Ömür uzunluğunu etkileyen sıcaklık, ışık, radyasyon, populasyon yoğunluğu ve azalan besin miktarı gibi birçok stres faktörü vardır. 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 1999; Tatar vd 1999; Arking vd 2000; Bourg vd 2001). Bourg ve arkadaşları (2001)'na göre, çeşitli stres faktörlerinin (hipergravite, sıcaklık gibi) kısa süreli uygulanması direnci arttırarak ömrü uzatabilmektedir. Örneğin kısa süreli yüksek sıcaklığa maruz kalan *Drosophila*

melanogaster'in hsp70 ekspresyonunun artmasıyla (Minois vd 1999) termotoleransının arttığı ve bu bağlamda hsp70 ekspresyonunun ömür uzunluğunu arttırdığı da bulunmuştur. Ancak termotoleransın her zaman hsp70'e bağlı olmadığı, bunun genomdaki birçok gene bağlı olduğu da bilinmektedir (Guerra vd 2000). *Drosophila*'da küçük dozlu iyonlaştırıcı radyasyon da ömür uzunluğunu arttırmaktadır. Ömür uzunluğundaki bu artış muhtemelen bazı enfeksiyonların radyasyon etkisiyle azalması ya da sineğin çevresel direncinin artması sonucudur (Ashburner ve Wright 1978). Yüksek dozdaki radyasyon ise somatik mutasyon birikimine neden olarak ömür uzunluğunu kısaltır. Bununla birlikte, ömür uzunluğunun artması için çeşitli streslere karşı dirençlilik gereklidir ama yeterli değildir (Harshman vd 1999).

Drosophila'da sıcaklık, açlık, hipergravite (= yüksek yerçekimi) ya da oksidatif bozulma gibi streslere karşı yüksek tolerans göstererek yaşlanması geciken soylar, 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 içerir (Lin vd 1998; Aigaki vd 2002). *Drosophila*'da P-elementi insersiyonları (ilaveleri) ile bazı genlerin fonksiyonları azalarak ömür uzunluğunun arttığı bilinmektedir (Lin vd 1998; Harshman vd 1999; Rose 1999; Aigaki vd 2002).

Yapılan birçok çalışmada ışık, sıcaklık, beslenme, populasyon yoğunluğu gibi çevresel faktörlerin ömür uzunluğu üzerinde etkili olduğu bulunmuştur. Sürekli karanlık ortamda yaşatılan *Drosophila melanogaster* ömür uzunluğunun, sürekli aydınlıkta bulunanlara göre anlamlı derecede uzadığı bulunmuştur (Allemand vd 1973; Bağcı ve Bozcuk 1991). *Drosophila*'da ergin dönemdeki sıcaklık değişimlerinin de ömür uzunluğunu etkilediği ve yüksek sıcaklıklarda daha kısa ömür uzunluğuna sahip oldukları bilinmektedir (Economus 1986; Bağcı vd 1990; Minois vd 1999; Norry ve Loescheke 2002). Sıcaklık, poiklotermal olan böceklerin de metabolik hızını etkilemektedir. Setsini (1991)'e göre, yüksek sıcaklık metabolik aktiviteyi ve bu bağlamda solunum hızını ve serbest radikal oluşumunu arttırarak hücrel hasara ve ömür uzunluğunda azalmaya neden olmaktadır. Düşük sıcaklıklarda ise, azalan metabolizma hızı ömür uzunluğunda artışa neden olabilir. Örneğin metabolik hızı oldukça yavaş olan bir tür köstebek (*Heterocephalus*

glaber) 20- 26 yılı bulan oldukça uzun bir ömür uzunluğuna sahiptir (Sherman ve Jarvis 2002).

Ömür uzunluğunu etkileyen bir diğer çevresel faktör de beslenmedir. Örneğin, besin ortamına şeker kaynağı olarak sukroz yerine galaktoz konulan *Drosophila*'ların ömür uzunluklarının istatistiksel olarak anlamlı derecede kısaldığı bulunmuştur (Jordens vd 1999). Açlık stresine dirençli mutantların başka streslere karşı da direnç gösterdiği rapor edilmiştir (Harshman vd 1999).

2375 MHz (megahertz)'lik mikrodalga uygulamasının *D. melanogaster*'de erkeklerin ömür uzunluğunu kısalttığını, alçak frekanslı elektromanyetik (EM) alan uygulamasının da *D. melanogaster* yumurtalarında embriyonik yaşayabilirliği kontrole göre düşürdüğünü gösteren çalışmalar vardır (Marec vd 1985; Ma ve Chu 1993). Liddle (1994)'nin yaptığı bir araştırmada ise uygulanan mikrodalğanın güç yoğunluğunun da ömür uzunluğunu etkilediği rapor edilmiştir.

Bazı kimyasal maddelerin de *D. melanogaster*'in ömür uzunluğu üzerine etkili olduğu gösterilmiştir. Kobalt klorür ve potasyum dikromatın *D. melanogaster*'de erkek bireylerin ömür uzunluğunu kontrol grubuna göre kısalttığı bulunmuştur (Demir vd 2006). Aynı şekilde sodyum nitrit, sodyum nitrat, potasyum nitrit ve potasyum nitrat içeren çeşitli katkı maddeleri de *D. melanogaster*'in ömür uzunluğunu kısaltmaktadır (Sarıkaya vd 2006). Etil metan sülfonat (EMS) gibi mutajenik maddelerin çok düşük dozlarda bile gelişim süresini geciktirerek viabilite ve fekunditeyi düşürüp, ömür uzunluğunu kısalttığı bilinmektedir (Yang vd 2001). *Drosophila*'da ömür uzunluğunu etkileyen ve son yıllarda yoğun olarak çalışılan 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).

Bilim adamları insanların yaşam dönemini daha sağlıklı, uzun ve başarılı kılabilmek

için araştırmalarını alternatif tıp üzerinde yoğunlaştırmışlardır. Günümüzde yaşam süresini uzatmak için, antioksidan maddeleri dışarıdan yeterli miktarda almanın faydalı olabileceği düşünölmektedir. Bugün için bu düşünceyi kesin olarak kanıtlayacak insanlar üzerinde yapılmış çalışmalar yeterli değildir. Fakat hayvansal organizmalarla yapılan deneyler, diyete antioksidan maddelerin eklenmesinin faydalı olduğunu göstermiştir. Bu maddeler farklı besinler ile dengeli olarak alındığı zaman vücudun ihtiyacını karşılayabilir. Vücudumuzda oksidanlar ve antioksidanlar arasında bir denge söz konusudur, yaşla birlikte bu denge hasar yapıcıların lehine değişmekte ve vücut sistemlerimiz hasara uğramaktadır. Antioksidan aktivite yaşam için önemli olan temel bir özelliktir. Antimutajenite, antikarsinojenite, antiaging gibi biyolojik fonksiyonların birçoğu bu özellikten kaynaklanmaktadır (Huang vd 1992; Cook ve Samman 1996).

Antioksidanların yaşlanmayı geciktirici etkisi nedeniyle son yıllarda likenleri de içine alan birçok bitki incelenmiş ve onların antioksidan özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir (Hidalgo vd 1994; Pietta vd 1998). Çeşitli liken türlerinden izole edilen bazı depsid ve depsidonların (likenlere ait sekonder metabolit sınıfları) antioksidan aktiviteleri gösterilmiş olmasına rağmen bunlar hakkında henüz çok az şey bilinmektedir (Jayaprakasha ve Jaganmohan 2000; Gulcin vd 2002; Suleyman vd 2003).

Bilimsel anlamda likenlerle ilgili bilgiler ilk kez 15. yüzyılda verilmeye başlanmıştır. Bu yüzyılda insan kafatası iskeleti üzerinde büyüyen bir çeşit liken, epilepsi tedavisinde kullanılmış ve kişide iyileşme özelliği baş gösterdiğinden çok değerli kabul edilmiştir. Likenlerin Avrupa ölkelerinde de 16. yüzyıldan itibaren çeşitli hastalıkların tedavisinde dekoksasyon (demleme) veya infüzyon şeklinde kullanıldığına dair birçok kanıt bulunmaktadır (Schindler 1988).

Likenler (Lichenes), mikobiyont (fungal partner) ve fotobiyont (fotosentetik partner) olarak tanımlanan mantar ve fotosentetik yeşil alglerin (bazen siyanobakterlerin) simbiyotik birlikteliği ile oluşan kompleks bitkilerdir (Ahmadjian 1993). Kızgın

ölllerden kutup bölgelerine, yüksek dağlardan deniz suyuyla ıslanan kayalıklara kadar dünyanın hemen her yerinde diğler bitkilerin yaşayamadığı taşlar, verimsiz topraklar, kuru ağaç kabukları ve kiremitler üzerinde bile yetişebilen yaklaşık 20 000 liken türü bulunmaktadır ve farklı lokalizasyonlarda yetişen çeşitli likenlerin yeryüzünün %8'ini kapladığı tahmin edilmektedir (Kence 1987; Zeybek ve John 1992; Söchting 1999; Cocchietto 2002).

Liken maddeleri primer metabolitler (intraselüler) ve sekonder metabolitler (ekstraselüler) olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Likenler tarafından oluşturulan primer metabolitler, hücre duvarı ve protoplastlara bağlı suda çözünen ve su ile ekstrakte edilebilen proteinleri, amino asitleri, polikaretenoidleri, polisakkaritleri ve vitaminleri içermektedir. Bu metabolitlerin bazıları mantarlar, bazıları da algler tarafından sentezlenmektedir. Likenlerden izole edilen intraselüler ürünlerin çoğu spesifik değildir ve serbest yaşayan fungus, alg ve yüksek yapılı bitkiler tarafından da üretilmektedir (Hale 1974).

Likenlerde bulunan organik bileşenlerin büyük bir miktarı, fungal bileşenlere ait olan sekonder metabolitlerdir. Böyle ürünler genellikle suda çözünmezler ancak organik çözücülerle ekstrakte edilebilirler. Likenlerde bulunan sekonder metabolitlerin çoğu asetilpolimalonil, bir kısmı da şikimik ve mevalonik asit biyosentetik yoluyla sentezlenmektedir (Nash 1996). Likenler, amino asit türevleri, şeker alkolleri, alifatik asitler, makrolitik laktonlar, monosiklik aromatik bileşikler, kinin, dibenzofuran, depsid, depsidon, terpenoid, steroid, karatenoid ve difenil eterleri içine alan pek çok sınıfa ait 800'ün üzerinde sekonder metabolit üretmektedir (Fiedler vd 1986; Huneck ve Yoshimura 1996). Kemotaksonomik çalışmalar ile en değerli liken metabolitlerinin depsid, depsidon ve dibenzofuran kimyasal sınıflarına ait olduğu gösterilmiştir (Ingolfsdottir 1985).

Likenler çok eskiden beri pek çok ülkede tıbbi amaçlarla geleneksel ilaçlar olarak kullanılmaktadır ve bunların önemli bir kısmını *Usnea* türleri oluşturmaktadır. Hipokrat, *Usnea* likenini üreme organlarıyla ilgili rahatsızlıkları önlemek üzere tavsiye etmiştir

(Ingølfsdottir 2002). Eskiden çobanların bu likeni, ayaklarının su toplanmasını engellemek için, ayakkabılarının içine koyduklarına ilişkin kayıtlar bulunmaktadır. Günümüzde de *Usnea* likeninin pek çok türü değişik alanlarda kullanılmaktadır. Örneğin, boğaz ağrıları için pastil ve hap üretiminde, soğuk algınlığı ve nekahette güçlenmek için, yanık tedavisinde, yaralarda, deri bozukluklarında, spor sakatlanmalarında, diyare gibi bağırsak bozukluklarında, akciğer sorunları ve astım hastalığında tedavi edici olarak likenlerden yararlanılmaktadır. Viral hastalıkları önlemede de rolünün olduğu bilinmektedir (Shibata vd 1968; Houghton ve Manby 1985). Likenler yapılarında bulunan çeşitli asitlerden dolayı pek çok hastalık üzerinde iyileştirici etkiye sahip olmalarının yanı sıra, antibiyotik, antimikrobiyal, antiviral, antiprotozoal, antioksidan, antiinflamatuvar, analjezik, antipüretik, antiproliferatif, ve sitotoksik aktiviteye de sahiptirler (Vartia 1973; Yamamoto vd 1995; Huneck 1999; Muller 2001; Ingølfsdottir 2002; Behera vd 2005).

Usnea dışında diğer likenlere ait birçok tür de tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Örneğin, *Cetraria islandica* likeninden hazırlanmış olan cetrarin (Merck) adlı preparat, antibiyotikler yaygın şekilde kullanılıncaya kadar tüberküloz, kronik bronşit, dizanteri tedavisinde uzun yıllar önemini korumuştur (Dulger vd 1998). *Peltigera canina* likeni Hindistan'da karaciğer hastalıklarına çare olarak yenilmektedir. *Lobaria pulmonaria* (ciğer likeni) egzama, solunum hastalıkları, akciğer hastalıkları, artrit gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Ozturk 1995).

Ancak likenlere ait sekonder metabolitlerin iyileştirici etkilerinin yanı sıra bitkisel ve hayvansal organizmalar üzerine inhibitör ve alerjik etkilerinin olduğu da bilinmektedir. Şöyle ki; liken maddelerinin bir kısmının bazı böcek, salyangoz ve nematodlar için zehirli olduğu, *Evernia prunastri* (meşe likeni) likeninden elde edilen bazı liken asitlerinin de *Toxocara canis* (köpek kurdu) larvaları üzerinde nematosidik etki gösterdiği şeklinde bilgiler bulunmaktadır (Ahad vd 1991; Purvis 2000). Yine *Usnea* likeninin farklı türlerinin içerdiği metabolitler ile zararlı bir çay termiti olan *Glyptotermes dilatatus*'a karşı düşük dozlarda önemli seviyede antitermit etki gösterdiği; pulvinik, salazinik, vulpinik ve usnik asitlerin *Spodoptera littoralis*'in

(yaprak kurdu) larva gelişimini azalttığı (Emmerich vd 1993; Giez vd 1994; Kathirgamanathar vd 2005) gösterilmiştir. Gardner ve Mueller (1981) 'e göre, usnik, lekanorik, evernik, vulpinik asit gibi liken asitlerinin toksisitesi pH değeri ile korelasyon göstermekte ve farklı pH aralıklarında spor büyümesini inhibe ederek germinasyon yüzdesini azaltmaktadır. Vulpinik, fisodik, salazinik ve usnik asitlerin otlarda tohum çimlenmesini ve kök büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Örneğin, *Peltigera canina* likeniyle aynı habitatı paylaşan ot kolonilerinde kök sistemleri çok az gelişmektedir. Bu asitleri içeren *Cladonia* cinsine ait likenlerin de konifer ormanlarında ağaç fidelerinin ve karayosunu sporlarının çimlenmesini inhibe ettiği bilinmektedir (Halıcı ve Aksoy 2004). Aynı şekilde barbatik, difraktaik, lekanorik gibi liken asitlerinin marul ve salatalık filizlenmesini inhibe ettiği yönünde de bilgiler bulunmaktadır (Nishitoba vd 1987). Ayrıca evernik asit (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *B. megaterium*) ve usnik asit türevleri (*S. aureus*, *B. subtilis*) gibi sayısız liken asitinin bakteri ve mantarların gelişim ve büyümesini inhibe ettiği de gösterilmiştir (Lawrey 1989; Conover vd 1992; Proksa vd 1996; Fournet vd 1997).

Likenlerin insanlardaki toksisitesiyle ilgili çok az sayıda veri bulunmakla birlikte, kaydedilmiş yan etkiler lokal tahrişler ve bazen konjunktivit ile beraber meydana gelen alerjik deri iltihabı ile sınırlıdır. Likenlerin sebep olduğu alerjik kontakt dermatitis çok uzun zamandan beri bilinmekte ve bunun yaygın olmamakla birlikte liken bileşenlerine karşı duyarlılık potansiyelleriyle ilgili olduğu düşünülmektedir (Ingólfssdóttir 2002). Duyarlı kişilerde alerjiye neden olan liken asitleri arasında barbatik, lobarik, salazinik, sitistik, difraktaik ve usnik asit gibi birçok asit bulunmaktadır (Evans ve Schmidt 1980; Thune ve Solberg 1980; Brasch ve Jacobsen 1991).

Literatürde, bazı hayvanlarda beslenmeye bağlı olarak *U. longissima*'nın içerdiği usnik asitin yüksek dozlarda toksik etkiye sebep olduğu hakkında bilgiler bulunmaktadır. Koyunlarda ve sığırlarda ekstremiteletin paralizine (felç) yol açan ataksinin (denge bozukluğuyla ve hareketler arasındaki uyumun bozulmasıyla sonuçlanan bir sinir sistemi hastalığı) gerçekleşmesi *Parmelia molliuscula* likeninin devamlı alınması nedeniyle usnik asite atfedilmektedir (Kingsbury 1964).

Kedilere 10 mg/kg dozunda sodyum usneat uygulandığı zaman, hipertansiyon, O₂ tüketiminde artış ve vücut sıcaklığının yükselmesi gibi belirtilerle metabolizma artışı gözlenmiştir (Söderberg 1953; Ingólfssdóttir 2002). Daha önceki toksikolojik verilere göre, LD₅₀ dozu farelerde 25 mg/kg, ratlar ve tavşanlarda 30 mg/kg ve köpeklerde de 40 mg/kg olarak belirlenmiştir (Virtanen ve Kärki 1956).

Çalışmamızda kullandığımız ve halk arasında sakal likeni (Old men's beard) olarak bilinen *Usnea longissima* Ach. (Ascomycota, Parmeliaceae), ağaçlar üzerinde yaşayan (epifitik) ve sarkık tallusa sahip olan bir liken türüdür. *U. longissima*'nın sahip olduğu en yaygın metabolitler, usnik asit, difraktaik asit, evernik asit, salazinik asit, barbatik asit, 4-O-dimetilbarbatik asit (±), squamatik asit (±), fumarprotocetrarik asit, atranorin (±) ve yağ asitleridir (Asahina 1967; Thøgersen ve Høiland 1976). *U. longissima*, içerdiği bu fenolik bileşenler sayesinde geniş çaplı bir ekspektoran (solunum yollarında oluşan salgıların atılımını kolaylaştıran madde) olarak kullanılmaktadır. Ayrıca burun kanamasını durdurmada, ülser ve cilt tahrişlerinin, bacak ve bel incinmelerinin, kemik kırıklarının tedavisinde de kullanılmaktadır (Blackwell 1990; Lal ve Upreti 1995).

Yaşlanma, sürekli devam eden biyolojik bir süreçtir. Fizyolojik kapasitede azalma ve çevresel stresler, aerobik canlı metabolizmasının doğal sonucu olarak oluşan serbest radikallerin artışına neden olmaktadır. Bütün bu etkenler yaşla birlikte canlıda ölüm riskinin artışına yol açmaktadır. Özellikle alternatif tıp alanında yapılan çalışmalara göre, likenlerin de arasında bulunduğu birçok bitkinin antioksidan özelliği ve yerel olarak hastalıkların sağaltımında kullanılması, canlı için olumlu sonuçlar doğurabilmektedir. Diyetle yeterli miktarda alınan likenlerin, organizmada serbest radikallerin neden olduğu oksidasyon sonucu oluşan doku hasarlarını önlemede etkili olacağı ve dolayısıyla yaşam süresini uzatabileceği de düşünölmektedir. Bu noktadan hareketle, bu çalışmada larval ve ergin döneme ait gelişim biyolojisi ve yaşlanma çalışmaları için örnek bir model olan *Drosophila melanogaster* kullanılarak, farklı konsantrasyonlarda *Usnea longissima* likeninin su ekstresinin (Ule) bazı gelişim parametreleri ve ömür uzunluğu (= yaşlanma süreci) üzerine etkileri araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Canlı organizmalar üzerinde çeşitli toksik etkilerinin yanı sıra iyileştirici özelliklerinden dolayı hastalıkların sağaltımında (= iyileştirme) kullanılan liken maddeleriyle ilgili 15. yüzyıldan itibaren oldukça fazla araştırma yapılmıştır. Deneysel olarak gösterilmesi oldukça zor olan likenlere ait sekonder metabolitlerin biyolojik aktiviteleri ve yaşlanma biyolojisi ile ilgili olarak yapılan araştırmalardan bazılarının özetleri aşağıda kronolojik sıraya göre verilmiştir:

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.

Mutasyon birikimi teorisine göre, genç yaşlardaki zayıf doğal seleksiyonlar tekrarlanan zararlı mutasyonların etkisiyle hayatta kalış ve üremeyi olumsuz yönde etkilemektedir (Medawar 1952).

Söderberg (1953) tarafından, kedilere 10 mg/kg dozunda sodyum usneat uygulandığı zaman, hipertansiyon, O₂ tüketiminde artış ve vücut sıcaklığının yükselmesi gibi metabolizma artışı ve kontrol grubuna göre ömür uzunluğunda kısalma gözlenmiştir. Toksikolojik verilere göre sodyum usneatın LD₅₀ dozu farelerde 25 mg/kg, rat ve tavşanlarda 30 mg/kg ve köpeklerde 40 mg/kg olarak tanımlanmıştır (Virtanen ve Kärki 1956).

Harman (1956), moleküler oksijenin (O₂) kullanıldığı metabolik faaliyetlerin azaltılarak ömür uzunluğunun arttırılabileceğini ifade etmektedir.

Yaşlanmayla ilgili olan antagonistik pleiotropi teorisine göre, viabilite ve fekunditeyi düzenleyen alleller ilerleyen yaşlarda ömür uzunluğu üzerinde negatif bir etkiye sahiptir

(Williams 1957).

Maynard Smith (1958), hayat tablosuna göre çizilen hayatta kalış eğrisinin dikdörtgensel olması halinde, yani ölüm oranının “belirli bir süre içinde ölen birey sayısının, o sürenin başlangıcındaki birey sayısına oranı” kronolojik zamana bağlı olarak artması durumunda o populasyonun yaşlandığını ifade etmektedir.

Koyunlarda ve sığırlarda ekstremitelerin paralizine (felç) yol açan ataksi (denge bozukluğuyla ve hareketler arasındaki uyumun bozulmasıyla sonuçlanan bir sinir sistemi hastalığı), besin ortamında bulunan *Parmelia molliuscula* likeninin devamlı kullanılması nedeniyle usnik asite atfedilmektedir (Kingsbury 1964).

Lints (1971), ömür uzunluğunu etkileyen faktörleri iç (anasal yaş, eşleşme durumu, yumurta üretimi (=fekundite), eşey ve genetik yapı) ve dış (sıcaklık, beslenme, populasyon yoğunluğu, ışık, nem ve radyasyon) faktörler olmak üzere iki sınıfa ayırarak incelemiştir.

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

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

Parmelia spp., *Hypogymnia spp.*, *Pseudovernia spp.*, *Cladonia spp.*, *Platismatia spp.*, *Physcia spp.*, *Umbilicaria spp.* ve *Cetraria spp.* likenlerinden elde edilen atranorin, difraktaik, evernik, fumarprotosetrarik, lobarik, fisodik, fisodalik, salazirik, stistik ve usnik asit gibi çeşitli liken asitlerinin immünolojik aktiviteye sahip oldukları

ve bu sebeple hastaların derilerinde alerjiye neden oldukları gösterilmiştir (Thune ve Solberg 1980).

Houghton ve Manby (1985) tarafından, *Usnea florida* likeninin alternatif tıpta diyare ve kelliğin tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir.

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

Avrupa ülkelerinde likenlerin 16. yüzyıldan beri çeşitli hastalıkların tedavisinde dekoksion (demleme) veya infüzyon şeklinde kullanıldığına dair birçok kanıt bulunmaktadır (Schindler 1988).

Blackwell (1990), *Usnea longissima* likeninin geniş çaplı bir ekspektoran olarak kullanıldığını ifade etmektedir.

Ahad vd (1991) tarafından, *Evernia prunastri* (meşe likeni) likeninden elde edilen methyl β -orsinolkarboksilat, etil hematomat ve 5-klorohematomat gibi liken maddelerinin *Toxocara canis* (köpek kurdu) larvaları üzerinde nematosidik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

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

Altı farklı memeli türünde karşılaştırmalı olarak yapılan bir çalışmada katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon aktivitesindeki azalışın yani, antioksidan savunma mekanizmasındaki indirgenmenin maksimum ömür uzunluğu potansiyeli ile belirgin bir

ilişkinin olmadığı, buna karşılık memelilerde ve böceklerde mitokondriyel hidrojen peroksit ve süperoksit anyonlarının oksidatif stres ve yaşlanma sonucu arttığı bildirilmiştir. Ayrıca türler arasında oksidan üretiminin farklı oluşunun, türlerin yaşlanma süreçlerinin de farklılaşmasına neden olduğunu ve yaşlanma-oksidan üretimi arasındaki ilişkinin, yaşlanma antioksidan savunma mekanizmasının indirgenmesi arasındaki ilişkiden daha önemli olduğu da ileri sürülmüştür (Sohal ve Orr 1992).

Ames vd (1993), canlıların vücutlarında oksidan-antioksidan oranlarını iyi ayarlanmasının sağlıklı yaşam ve verim fonksiyonları açısından son derece önemli olduğunu savunmaktadır. 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.

Polifaj (birçok ve değişik besinle beslenen canlılar) bir böcek olan *Spodoptera littoralis*'in (yaprak kurdu) büyümesi ve gelişimi üzerine atranorin, pulvinik asit, dilakton, kalisin, parietin, evernik, psoromik, fisodik, 3-hidroksifisodik, fumarprotosetrarik, stistik, norstistik, salazinik, vulpinik, rizokarpik ve usnik asitlerin etkisi incelenmiş ve bu maddelerin çoğunun larval periyotta uzamaya ve ergin birey oluşumunun daha geç sürede gerçekleşmesine neden oldukları gösterilmiştir (Giez vd 1994).

U. longissima likeni, insanlarda bacak ve bel incinmeleri, kemik kırıkları ve cilt tahrişlerinin tedavisinde kullanılmaktadır (Lal ve Upreti 1995).

Lithgow vd (1995) tarafından, ömür uzunluğunun stres dirençliliğine bağlı olduğu ve strese cevap veren genlerin yaşlanma hızına büyük bir etkisinin olduğu bildirilmektedir.

Usnea longissima likeninden izole edilen usnik asit, kuvvetli bir tümör ajanı olan teleocidine B- 4 ile muamele edilmiş ve Epstein-Barr virüsüne karşı kuvvetli inhibitör etkili (ED₅₀: 10 mg/ml) olduğu gösterilmiştir (Yamamoto vd 1995).

Cook ve Samman (1996), antioksidan aktivitenin yaşam için çok önemli olduğunu ve antimutajenite, antikarsinojenite, antiaging gibi biyolojik fonksiyonların birçoğunun bu özellikten kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Tatar vd (1996), mutasyon birikiminin genetik varyansı artırmasından dolayı yaşlanma ile genetik varyansının artması arasında mutasyon birikiminin önemli bir etkisinin olduğunu düşünmektedirler.

Usnik asitin, mezofil yaprak hücresi protoplastları, kültüre edilmiş *Nicotiana tabaccum* (tütün) hücreleri ve insan tümör hücrelerine karşı sitotoksik ve antimitotik bir ajan gibi rol oynadığı gösterilmiştir. Usnik asitin antimitotik kapasitesiyle ilgili olarak ilginç analogiler gözlenmiştir. Şöyle ki; en az 46 saat usnik asite maruz kalınması koşuluyla hem bitki hem de hayvan hücrelerinde proliferasyon (yeni hücre oluşumu), 5- 50 µg/ml arasındaki konsantrasyonlarda inhibe edilmektedir (Carderelli vd 1997).

Dulger vd (1997) tarafından, usnik asitin sıçanlarda Lewis-Akciğer karsinom testinde ket vurucu etkisi de saptanmıştır.

Likenler yapılarında bulunan çeşitli asitlerden dolayı pek çok hastalık üzerinde iyileştirici etkiye sahip olmalarının yanı sıra, antibiyotik, antimikrobiyal, antiviral, antiprotozoal, antioksidan, antienflamatuar, analjezik, antipüretik, antiproliferatif ve sitotoksik aktiviteye de sahiptir (Yamamoto vd 1995).

Xanthoparmelia scabrosa likeninden elde edilen birçok scabrosin esterlerinin, sıçan P815 mastositoma hücre hattı (IC₅₀: 0,5 µM) ve insan meme MCF7 karsinoma hücre hattına (IC₅₀: 1µ M) karşı sitotoksik etki gösterdiği bulunmuştur (Ernst-Russell vd 1999).

Atranorin, difraktaik asit ve protolikesterinik asit gibi liken asitlerinin polimorfonükleer

lökositlerde leukotriene B₄ biyosentezini inhibe ettiği gösterilmiştir (Kumar ve Müller 1999a).

Usnik, giroforik ve difraktaik asitlerin antiproliferatif ajan özelliğine sahip olduğu ve insan keratinosit hücrelerini (line HaCaTa) sırasıyla 2,1; 1,7 ve 2,6 µM'luk IC₅₀ değerleriyle inhibe ettiği gözlenmiştir (Kumar ve Müller 1999b).

Drosophila 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).

Liken maddeleri böcek, salyangoz ve nematodlar için zehirli olup, bu maddelerin aşırı dozda alınması halinde bu hayvanlar için toksik etkiler gözlenmiştir (Purvis 2000).

Likenlerle beslenen bir çeşit sümüklüböcek *Pallifera varia*'nın genellikle sekonder metabolitleri az miktarda üreten likenleri tercih ettiği, fisodik asit gibi diğer bileşenlerin larvalarda canlılık üzerinde bir etkisi olmamakla birlikte malformasyonlara neden olduğu ve bazı durumlarda böceklerin, özellikle likenlerin sekonder metabolit üreten bölgelerini yemekten kaçındıkları belirlenmiştir (Dayan ve Romagni 2001).

U. longissima'nın sahip olduğu polisakkaritlerin serbest radikalleri temizlediği ve farelerin hepatosit homojenatının lipid peroksidasyonunu az da olsa inhibe ettiği gözlenmiştir (Bian vd 2002).

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.

Metabolik hızı oldukça yavaş olan bir tür köstebeğin (*Heterocephalus glaber*) 20- 26 yılı bulan oldukça uzun bir ömür uzunluğuna sahip olduğu ifade edilmiştir (Sherman ve Jarvis 2002).

Acacia decurans yüzeyinden toplanan *Usnea* spp. likeninin hekzan ekstraktıyla yapılan bir çalışmada, usnik asitin zararlı bir çay termiti olan *Glyptotermes dilatatus*'a karşı düşük dozlarda önemli seviyede (10 mg'da %80 mortalite) antitermit etki gösterdiği bildirilmiştir (Kathirgamanathar vd 2005).

Usnea longissima likeninin 50, 100 ve 150 mg/kg dozlarındaki su ekstratlarının antioksidan enzimler olan süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon S-transferazın (GST) aktivitesini arttırdığı ve bu antioksidan özelliğinin ratlarda gastrik zararın önlenmesinde önemli bir rol oynayabileceği belirtilmektedir (Halici vd 2005).

%1'lik karboksimetilselüloz (CMC)-su solüsyonu ile süspanse edilerek 25, 50, 100 ve 200 mg/kg'lık dozlarda hazırlanan difraktaik asit (DA) ve ranitidine (RAN, 50 mg/kg) oral olarak ratlara verilerek DA'nın tüm dozlarının ve RAN'ın ratlarda indomethacinden etkilenmiş gastrik lezyonlar üzerinde gastroprotektif bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur. DA'nın bu etkisinin ratların mide dokularında nötrofil infiltrasyonu üzerindeki inhibitör etkinin ve oksidatif hasarın toksisitesinin azaltılmasına katkı sağlayabileceği gösterilmiştir (Bayır vd 2006).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Organizma

Deneylerimizin tümünde kullanılan *Drosophila melanogaster Oregon R* soyu (Diptera: Drosophilidae) normal, yuvarlak-kırmızı gözlü ve herhangi bir mutant karakter taşımayan yabanıl tip (w.t.= wild type) soydur. Bu soy, Atatürk Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Genetik Araştırma Laboratuvarı'nda 1988 yılından bu yana kendileştirilmiş ve genetik olarak ileri derecede homojen bir laboratuvar stoğudur. ABD'nin *Oregon* eyaletinden köken alarak, ilk kez 1910 yılında Thomas Hunt Morgan tarafından genetik araştırmalarda kullanılmaya başlanmıştır. Halk arasında sirke sineği veya meyve sineği olarak tanınan bu tür, genetik çalışmalarda en çok kullanılan yabanıl soylardan biridir.

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 dl elde edilir. Bir nesilde elde edilen birey sayısının fazla olması, onun genetiksel özellikleri ile ilgili bilginin doğru tespit edilmesi ve sonuçların güvenilirliği açısından önemlidir.

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

5) Kontrollü aprazlama (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 bayıldığklarından üzerlerinde çeşitli incelemeler yapılabilir.

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

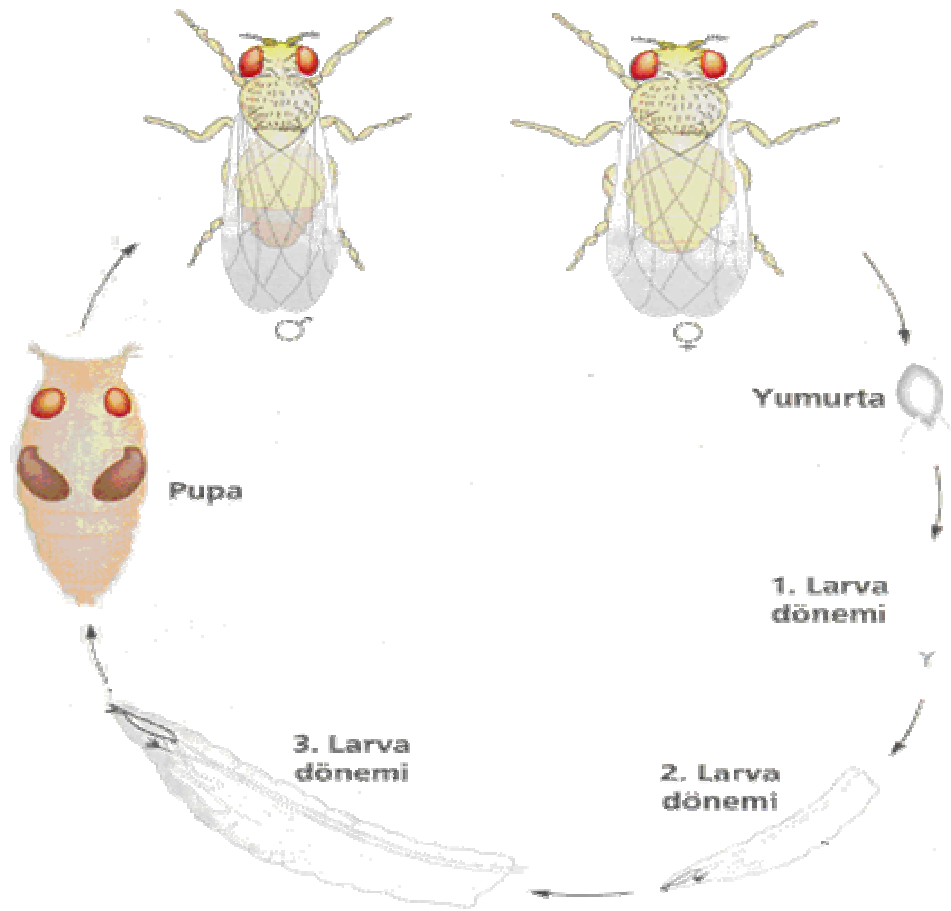
3.1.1. *Drosophila melanogaster*'in yaşam döngüsü

Drosophila'da tam başkalaşım (holometabol) görülmektedir ve gelişim evreleri Şekil 3.1' de gösterilmiştir.

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.

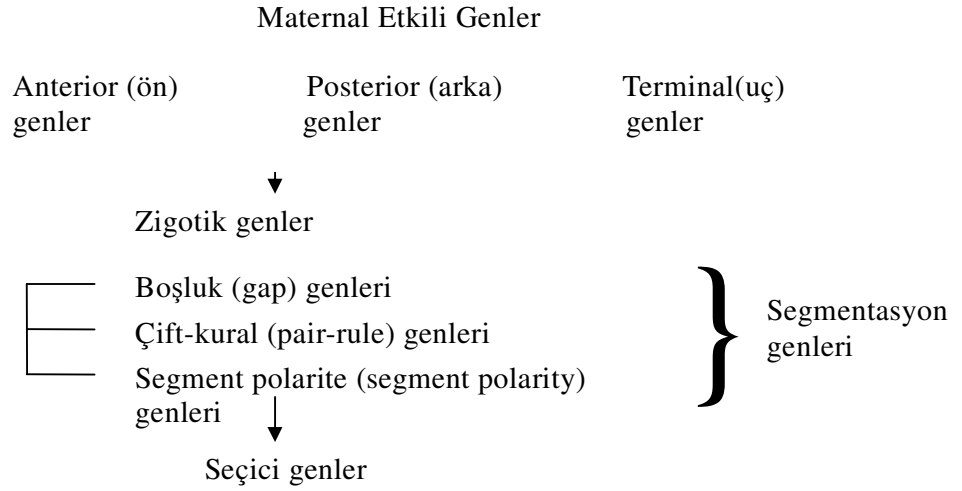
Yumurtanın içerisinde sitoplazma, anneden gelen bir dizi moleküler gradiyent şeklinde düzenlenmiştir. Bu moleküler yapılar, gelişim sırasında çekirdeğin embriyonun özgül bölgelerine doğru gitmesinde anahtar rol oynar. Döllenmeden sonra, zigot çekirdeği bir seri bölünme yapar. Dokuz bölünme döngüsünden sonra, yaklaşık 512 çekirdeğin çoğu yumurtanın dış yüzeyine (korteks) doğru hareket eder ve yaklaşık dört bölünmede hücre yüzeyinde gerçekleşir. Bu embriyonik gelişimin sinsitiyal blastoderm evresidir.

Sinsityum birden fazla çekirdeği olan herhangi bir hücredir. Her bir çekirdek anneden gelen transkriptleri ve proteinleri içeren sitoplazma ile çevrilir. Bu sitoplazmik bileşenlerin etkisi altında çekirdekte bir gen ifadesi başlatılır ve çeşitli gelişim dönemlerinin başlaması sağlanır.



Şekil 3.1. *Drosophila*'nın gelişim evreleri

Drosophila'da embriyo gelişimini kontrol eden genler ya maternal etkili genler (anneden gelen etkili genler) ya da zigotik genlerdir. Maternal etkili genler, ürünleri (mRNA ve proteinler) oogenez sırasında gelişmekte olan yumurta içinde depolanan genlerdir. Zigotik genler ise, zigotun kendi gelişimini sağlayan genlerdir. Embriyoyu birçok segmente bölen, her segmentin polaritesini, büyüklüğünü ve sayısını tayin eden genlere de segmentasyon genleri denir. Bu genler segmentlerin ve parasegmentlerin orjinini ve son durumunu belirlerler (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. *Drosophila*'nın segmentli vücut yapısını oluşturan genlerin hiyerarşisi

1- Maternal Etkili Genler:

Embriyonun ön (anterior), arka (posterior) ve uç (terminal) kısmını oluşturan genlerdir. Anterior genlerden en önemlisi bicoid genidir. Bu gendeki bir mutasyon için homozigot olan anneden gelişen embriyoda baş, göğüs bulunmaz ve karın bölgesinin ilk dört segmentinde anormallikler görülür. Embriyonun posterior kısmını oluşturan posterior genler ise 8 tanedir. Bu genler bakımından mutant olan embriyoda da benzeri fenotipik anormallikler meydana gelir. Gövdenin posterior kısmı kısadır ve karın segmentleri oluşmaz. Terminal genler de embriyonun anterior-posterior ekseninin oluşmasını kontrol ederler.

2- Zigotik Genler:

Bunlar boşluk (gap), çift-kural (pair-rule) ve segment polarite genleridir.

a) Boşluk (gap) genlerinin transkripsiyonu ile embriyo, baş, göğüs ve karın olmak üzere

geniş bölgelere ayrılır. Bu genlerde mutasyon meydana gelirse embriyonun segmentasyon profilinde büyük boşluklar görülür.

b) Çift-kural (pair-rule) genleri, boşluk genlerinin oluşturduğu geniş bölgeleri yaklaşık bir segment büyüklüğünde parçalara böler. Çift-kural genlerindeki mutasyonlar, iki segmentten birinde, segment büyüklüğünce bölgelerin yapıdan çıkmasına neden olur.

c) Segment polarite genlerinden sentezlenen ürünler, segment içindeki hücrel kimliği kontrol eder ve her bir segmentin sınırları oluşturulur.

3- Seçici (selektor) Genler:

Segmentlerin sınırları, segmentasyon genlerinin (boşluk genleri, çift-kural genleri ve segment polarite genleri) etkisiyle oluşturulurken seçici genler aktive olur. Bu genlerin aktiviteleri ile anten, ağız kısmı, bacak, kanat, göğüs ve karın gibi her bir vücut segmentinin son durumu belirlenir. Bu genlerin mutantları ise homeotik genler olarak tanımlanmıştır. Sonuçta segmentlerden birinin özelliği diğeri ile aynı olacak şekilde değişime uğrar. Örneğin, *Antennapedia* (Antp) mutantında normal olarak gözün hemen altına bağlanan antenlerin yerinde ayak oluşumu gibi (homeotik ayak).

Meyve sineğinin döllenmiş yumurta hücresinden segmentli ergin birey meydana gelir. Erginin baş kısmı üç (C1- 3), toraksı üç (T1- 3) ve abdomeni de sekiz segmentlidir (A1- 8). Meyve sineği her biri bir segmentin yarısı ile sonraki segmentin ilk yarısına karşılık gelen, toplam 14 para segmente (P1- 14) sahiptir (Lawrence ve Hartl 1992).

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 taşır. 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. Yabancıl tipler ve birçok mutant bireylerde abdomen segmentlerinde bulunan koyu renkli çizgiler, erkek ve dişilerin ayırımında 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.

3.2. Deney Koşulları

3.2.1. Çevre koşulları

Drosophila stok kültürleri, %40- 60 bağıl nem, $25 \pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklık ile sürekli karanlık koşullarını taşıyan ısıtmalı-soğutmali 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

Laboratuar stok kültürleri Standart *Drosophila* Besiyerinde (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 katılaşursa 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 kağıtlarıyla kapatılarak bir gün oda sıcaklığında soğumaları için bekletilir. Besiyerleri soğuyup, katılaştığında şişelerin ağızları hidrofob pamuk ve gazlı bezden yapılmış tıkaçlarla kapatılır.

3.2.3. Bayıltma yöntemi

Drosophila'lar, negatif olarak geotropik (yerçekiminin tersine) ve pozitif olarak 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, uygulama gruplarını oluşturmak için erginlerin toplanması, F₁ ve F₂ nesillerine ait bireylerin sayımlarının yapılması için kullanılmıştır. Ömür uzunluğu deneylerindeki transfer işlemleri sırasında eterizasyon yapılmamıştır.

3.3. Liken Ekstraksiyonu ve Ekstrenin Besiyelerine İlave Edilmesi

3.3.1. Liken ekstraksiyonu

Deneylerimizde, Giresun bölgesinden toplanarak Dr. Ali Aslan tarafından teşhis edilen ve Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi herbaryumunda saklanan *Usnea longissima* Ach. (KKEF- 374) likeni kullanılmıştır. Toz haline getirildikten sonra hassas terazide 6,25 g tartılan *U. longissima* distile su ile 250 ml'ye tamamlanarak Soxhlet cihazında (= çalkalayıcı) 25°C 'de 2 gün ekstrakte edilmiştir. Elde edilen bu ekstraktan (Ule) stok çözelti (2,5) hazırlanmış ve farklı konsantrasyonlarda (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 ve 2,5 ml/100 ml besiyeri) uygulama gruplarına ilave edilmiştir. Stok çözelti +4°C'de buzdolabında saklanmıştır.

3.4. Deneyleerin Yapılışı

3.4.1. Ergin bireylere liken ekstresinin uygulanması

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 ortamdaki uzaklaştırılmıştır. 9. ve 10. günde pupadan çıkan aynı yaşlı ♀♀ ve ♂♂ sinekler toplanmıştır. Yalnızca SDB içeren kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 ve 2,5) Ule içeren uygulama grupları için 5 ♀♀ X 5 ♂♂ çaprazlaması yapılmıştır. Tüm kültür şişeleri 3.2.1.'de anlatılan şartlara uygun sıcaklık kabinlerinde tutulmuştur. Çaprazlamaların yapıldığı tarihten itibaren gelişim evreleri (yumurtadan- ergine) günlük olarak izlenmiş

ve pupa oluştuğu gün ebeveynler ortamdan uzaklaştırılmıştır. Pupadan çıkan ergin bireyler 3.2.3.'de anlatıldığı gibi eterize edilerek günlük olarak sayılmıştır. Sayılan F_1 bireyleri, SDB+Ule başlangıç konsantrasyonlarına göre (0,5- 2,5) $F_1 \times F_1$ çaprazlamasına alınmış ve bu amaçla yalnızca SDB ve SDB+Ule içeren besiyerleri hazırlanmıştır. F_1 nesline ait bireylerden 5 ♀♀ X 5 ♂♂ çaprazlamaları yapılmış ve sonuçlar F_1 neslinde olduğu gibi gelişim evreleri ve F_2 nesline ait yavru bireylerin özellikleri yönünden incelemeye tabi tutulmuştur.

3.4.2. Ömür uzunluğu deneyleri

Usnea longissima'nın ömür uzunluğu üzerine etkisi dişi ve erkek popülasyonlarında ayrı ayrı çalışılmıştır. Bu amaçla 3.4.1.'de anlatıldığı gibi ön stoklar oluşturulmuştur. Çaprazlamanın yapıldığı tarihten itibaren pupanın görüldüğü gün ebeveynler ortamdan uzaklaştırılmıştır. Pupadan çıkan aynı yaşlı (1- 3 günlük) çiftleşmemiş ♀♀ ve ♂♂ sineklerden her bir deney grubu için ortalama 100 birey toplanmıştır. Toplanan bireyler 250 ml'lik boş kültür şişelerine konularak uygulamadan önce 2 saat aç bırakılmıştır. Uygulama grupları için, her bir kültür şişesine 2 kat kurutma kağıdı konulmuş ve farklı konsantrasyonlarda Ule bu kağıtlara emdirilmiştir. Uygulama şişelerine alınan bireyler 2 saat bu ortamda bırakılmıştır. Uygulamalar için tek şişede toplanan 100 birey uygulama sonrasında (♀♀ 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 haftada iki kez tazelenmiştir (Pazartesi- Perşembe günleri). 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.

3.5. Mikrofotografi

Çalışmalarımızda, gelişim evrelerinin ve ergin bireylerin fenotiplerinin incelenmesi için Zeiss marka binoküler mikroskop kullanılmıştır. Anormal fenotiplerin fotoğrafları Nikon marka Coolpix 5400 dijital kamera kullanılarak çekilmiştir.

3.6. İstatistiksel Yöntemler

Gelişim parametreleri ve ömür uzunluğu deneylerinden elde edilen verilerle ilgili istatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 12.0 programı ile yapılmıştır.

Kontrol ve uygulama gruplarında, toplam F_1 ve F_2 birey sayıları arasında farklılık olup olmadığını ve deney gruplarına ait malformlu birey sayısının kontrol grubu ile karşılaştırılması için tek değişkenli varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır.

Ömür uzunluğu deneylerinde kontrol ve uygulama gruplarının ömür uzunluğu ortalamaları istatistiksel olarak %5 ve %1 düzeyinde Games- Howell testiyle karşılaştırılmıştır (Sokal ve Rohlf 1995). Dişi ve erkek bireylerin ortalama ömür uzunluğu bakımından karşılaştırılması için bağımsız gruplar için istatistiksel olarak %5 düzeyinde t-testi uygulanmıştır.

Hayatta kalış eğrileri ile F_1 ve F_2 nesillerine ait birey sayılarını gösteren grafikler de Microsoft Windows Office-Excel programı kullanılarak çizilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada, iki ayrı parametre göz önüne alınmıştır. İlk çalışmamızda, farklı konsantrasyonlarda *Usnea longissima* ekstresi (Ule) içeren besin ortamlarında yetiştirilen *Drosophila melanogaster*'in gelişim biyolojisi incelenmiştir. İkinci çalışmamızda ise yine farklı konsantrasyonlarda Ule içeren besin ortamlarında yetiştirilen *D. melanogaster*'in, ömür uzunluğundaki değişiklikler belirlenmiştir.

4.1. *Usnea longissima* Ekstresinin (Ule) Gelişim Biyolojisi Üzerine Etkileri

Çalışmamızda, Ule'nin *Drosophila melanogaster*'in gelişim biyolojisi üzerine etkileri de üç grupta ele alınmıştır. Bunlar “gelişim evreleri üzerine etkileri”, “toplam yavru birey sayısı üzerine etkileri” ve “morfolojik özellikler üzerine etkileri” dir.

4.1.1. Ule'nin gelişim evreleri üzerine etkileri

Deneylerimiz için farklı konsantrasyonlarda Ule, Standart *Drosophila* Besiyerine (SDB) ilave edilmiştir. Bu besiyerlerinde yetiştirilen *D. melanogaster*'in gelişim evreleri, F₁ ve F₂ nesilleri için karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Ule'nin kontrol ve deney gruplarında, gelişim evreleri üzerine olan etkilerini araştırmak için 5 ♀♀ X 5 ♂♂ çaprazlaması yapılmıştır. Her biri farklı konsantrasyonlarda (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 ve 2,5) Ule içeren 5 deney grubu ile kontrol grubu, çaprazlamanın yapıldığı günden itibaren her gün incelenmiş ve yumurta bırakımı, 1., 2., 3. larva evreleri, prepupa (4. evre larva), pupa ve ergin bireylerin ilk çıktıkları günler kaydedilmiştir.

Çizelge 4.1. Ule ile kronik olarak beslenen ebeveynlere ait F₁ ve F₂ bireylerinin gelişim evreleri

Gelişim evreleri (gün)	Kontrol	F ₁ için uygulama grupları (ml/100 ml besiyeri)				
		0,5	1,0	1,5	2,0	2,5
Çaprazlama (1.)	+	+	+	+	+	+
Yumurtlama (2.)	+	+	+	+	+	+
1. evre larva (3.)	+	+	+	+	4	4
2. evre larva (4.)	+	+	+	+	5	6
3. evre larva (5.)	+	+	+	+	6	7
Prepupa (6.)	+	+	+	+	7	8
Pupa (7.)	+	+	+	+	8	9
Ergin (9.)	+	+	+	+	11	12

SDB+Ule ve yalnızca SDB içeren besiyerlerinde F₁ X F₁ çaprazlaması ile yetiştirilen F₂ bireylerinin gelişim evreleri

Gelişim evreleri (gün)	Kontrol	F ₂ için uygulama grupları (ml/100 ml besiyeri)				
		0,5	1,0	1,5	2,0	2,5
(SDB—SDB+Ule)						
Çaprazlama (1.)	+	+	+	+	+	+
Yumurtlama (2.)	+	+	+	+	+	+
1. evre larva (3.)	+	+	+	+	(+ 4)	(+ 5)
2. evre larva (4.)	+	+	+	+	(+ 6)	(+ 7)
3. evre larva (5.)	+	+	+	+	(+ 7)	(+ 8)
Prepupa (6.)	+	+	+	+	(+ 9)	(+ 10)
Pupa (7.)	+	+	+	+	(+ 10)	(+ 11)
Ergin (9.)	+	+	+	+	(+ 12)	(+ 13)

Aynı günlerde meydana gelen gelişim evreleri için her iki uygulama grubunda tek + kullanılmıştır. Parantez içindeki + SDB, rakamlar ise SDB+Ule uygulamasına ait değerlerdir.

Çizelge 4.1.'de görüldüğü gibi, F₁ nesline ait kontrol ve deney gruplarının gelişim evreleri karşılaştırıldığı zaman, ilk üç konsantrasyona (0,5- 1,5) ait deney gruplarında yumurtadan- ergine gelişim evrelerinin kontrol ile aynı zamanda tamamlandığı gözlenmiştir. Bu gruplara ait ebeveynler, çaprazlamadan sonraki ilk gün yumurta bırakmış ve yumurtalar toplu iğne başı büyüklüğünde ve beyaz renkli olup besin ortamında çıplak gözle belirlenmiştir. Yumurtadan sonraki tüm gelişim evreleri (1., 2. ve 3. larva evresi, prepupa, pupa ve ergin yavru birey oluşumu) kontrol ile aynı günlerde gerçekleşmiş ve F₁ nesline ait yavru bireyler ilk kez 9. günde görülmüştür. Ancak diğer deney gruplarında (2,0- 2,5) gelişim evrelerinin 1. larva evresine kadar kontrol grubu ile eş zamanlı, 1. larva evresinden sonraki

evrelerin ise artan Ule konsantrasyonuna bağlı olarak kontrol grubuna göre daha uzun sürede tamamlandığı görülmüştür. F₁ nesline ait 2,0 uygulama grubunda 1. evre larva 4., 2. evre larva 5., 3. evre larva 6., prepupa 7., pupa 8 ve ilk ergin yavru birey 11. günde oluşurken; 2,5 uygulama grubunda 1. evre larva 4., 2. evre larva 6., 3. evre larva 7., prepupa 8., pupa 9. ve ilk ergin yavru birey 12. günde oluşmuştur.

Kontrol grubu ile deney grupları karşılaştırıldığı zaman ilk erginin son iki deney grubunda (2,0- 2,5) 11. ve 12. günlerde meydana geldiği ve tüm gelişim safhalarının daha geç tamamlandığı görülmektedir.

Bu gecikmenin F₂ neslinde de devam edip etmediğini belirlemek için, her bir deney grubundan elde edilen F₁ nesline ait bireyler, yalnızca SDB ve SDB+Ule içeren besin ortamlarında ayrı ayrı kendileştirilerek F₂ neslinin gelişim evreleri incelenmiştir.

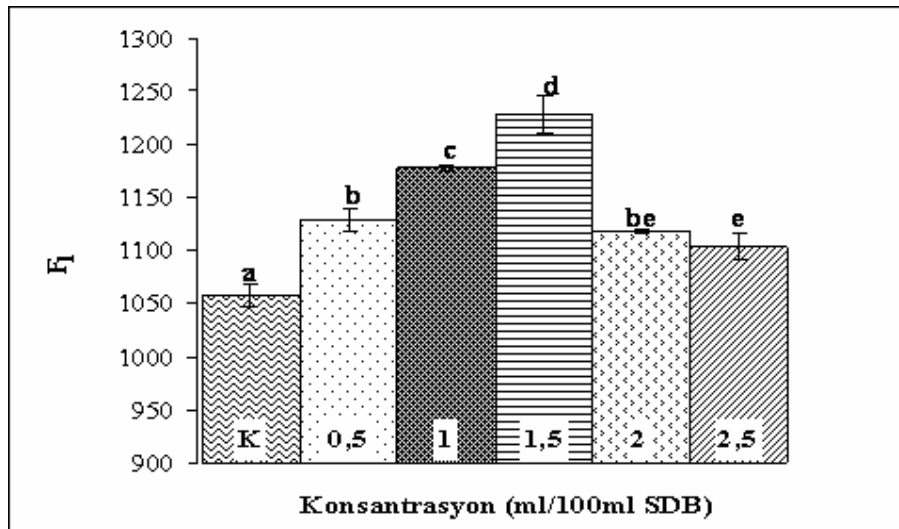
F₂ neslinde de hem deney hem de kontrol gruplarına ait ebeveynler, çaprazlamadan sonraki ilk gün yumurta bırakmışlardır. Kontrol grubu, yalnızca SDB içeren uygulama grupları ve SDB+Ule içeren ilk uç uygulama grubunda (0,5- 1,5), gelişim evrelerinin aynı günde tamamlandığı görülmüştür. Özellikle F₁ neslinde meydana gelen gelişim süresi değişikliği, F₂ neslinin yetiştirildiği besin ortamında ortadan kalkmıştır. F₂ nesline ait SDB+Ule içeren son iki uygulama grubunda (2,0- 2,5) gelişim evrelerinin 1. larva evresine kadar kontrol grubu ile eş zamanlı, 1. larva evresinden sonraki evrelerin ise artan Ule konsantrasyonuna bağlı olarak kontrol grubuna göre daha uzun sürede tamamlandığı görülmüştür. F₂ nesline ait SDB+Ule içeren 2,0 uygulama grubunda 1. evre larva 4., 2. evre larva 6., 3. evre larva 7., prepupa 9., pupa 10 ve ilk ergin yavru birey 12. günde oluşurken; 2,5 uygulama grubunda 1. evre larva 5., 2. evre larva 7., 3. evre larva 8., prepupa 10., pupa 11 ve ilk ergin yavru birey 13. günde oluşmuştur.

F₂ nesline ait SDB+Ule içeren 2,0 ve 2,5 uygulama gruplarında gelişim evrelerinin hem kontrol grubuna göre daha uzun sürede tamamlandığı hem de F₁ nesline göre bu sürenin daha uzun olduğu gözlenmiştir. Bu uygulama gruplarına ait F₁ ve F₂

nesillerinde ilk ergin 11.- 12. (2,0) ve 12.- 13. (2,5) günlerde görülmüştür (Çizelge 4.1).

4.1.2. Ule'nin toplam yavru birey sayısı üzerine etkileri

Yalnızca SDB içeren kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 ve 2,5) Ule içeren uygulama grupları için 5 ♀♀ X 5 ♂♂ çaprazlaması yapılmıştır. Böylece ebeveynler besin ortamında bulunan Ule'nin etkisine kronik olarak maruz bırakılmıştır. Çaprazlamanın yapıldığı tarihten itibaren gelişim evreleri (yumurtadan- ergine) günlük olarak izlenmiş ve pupa olduğu gün ebeveynler ortamdaki uzaklaştırılmıştır. Pupadan çıkan ergin bireyler 3.2.3.'de anlatıldığı gibi eterize edilerek günlük olarak sayılmış ve toplam yavru birey sayısı eşey ayrımı yapılmaksızın 8 gün boyunca kaydedilmiştir (Şekil 4.1. ve Çizelge 4.2.).



Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlarda Ule içeren F₁ nesline ait yavru birey sayılarının karşılaştırılması

Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi, ilk üç uygulama grubundan (0,5- 1,5) elde edilen F₁ bireylerinin toplam sayısı kontrole göre artarken, son iki grupta (2,0- 2,5) yavru birey sayısı önemli ölçüde azalmıştır. F₁ nesline ait kontrol grubunda 1058 birey

sayılmıştır. İlk üç uygulama grubunda bu sayı 1058'den 1228'e (1128- 1228) kadar çıkarken, son iki grupta bu sayı 1228'den 1103'e (1118- 1103) düşmüştür. Birey sayısındaki bu farklılık, hem kontrol grubu ile deney grupları karşılaştırıldığı zaman hem de deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldığı zaman istatistiksel olarak önemli ($p < 0,05$) bulunmuştur (Şekil 4.1.). Farklı konsantrasyonlarda Ule içeren F₁ nesline ait yavru birey sayılarına ait standart hata grafiği de Şekil 4.2.'de görülmektedir.

Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyonlarda *Usnea longissima*'nın *D. melanogaster*'in yavru birey sayısı ve morfolojisi üzerine etkileri

F ₁ nesli için		
Uygulama (100 ml/100 ml SDB)	Σ F ₁	Σ Malf. (%)
Kontrol	1058 ^a	11 ^c (1,03)
0,5	1128 ^b	2 ^b (0,17)
1,0	1177 ^c	- ^a (-)
1,5	1228 ^d	- ^a (-)
2,0	1118 ^{bc}	33 ^d (2,95)
2,5	1103 ^c	62 ^e (5,62)

Usnea longissima ekstraktı içeren ve içermeyen Standart Drosophila Besiyerinde kendileşme (F₁ X F₁) ile elde edilen F₂ nesline ait yavru birey sayıları

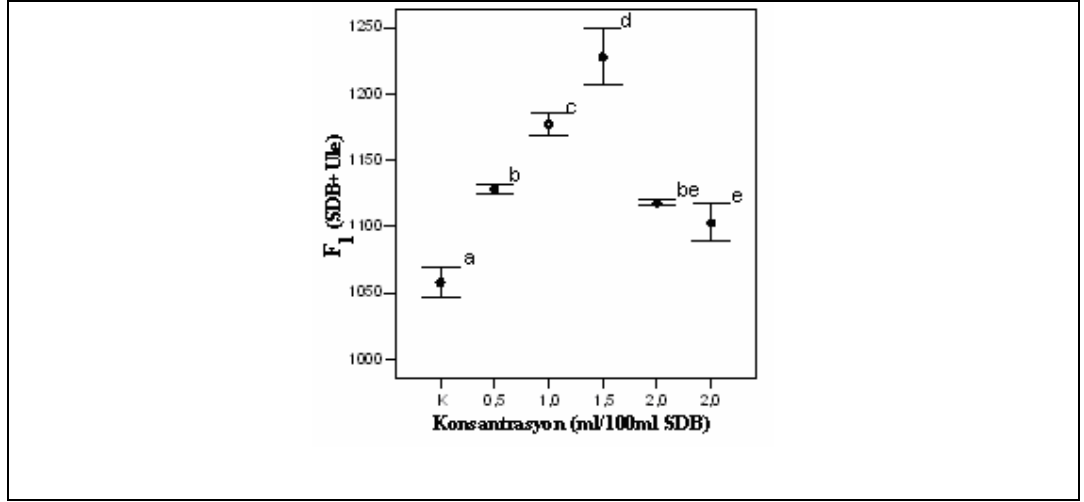
F ₂ nesli için					
Uygulama (SDB+Ule)	Σ F ₂	Σ Malf. (%)	Uygulama (Yalnızca SDB)	Σ F ₂	Σ Malf. (%)
Kontrol	1056 ^a	6 ^b (0,56)	Kontrol	1056 ^a	6 ^b (0,56)
0,5	1106 ^b	- ^a (-)	0,5	1093 ^b	8 ^{cd} (0,75)
1,0	1167 ^c	- ^a (-)	1,0	1128 ^d	9 ^d (0,77)
1,5	1174 ^c	- ^a (-)	1,5	1145 ^d	11 ^e (0,93)
2,0	1065 ^f	41 ^f (3,97)	2,0	1031 ^a	7 ^{bc} (0,65)
2,5	1023 ^g	55 ^g (5,86)	2,5	938 ^f	12 ^e (1,17)

Farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark ($p < 0,05$) önemlidir.

Malf. : Malformasyonlu bireyler

SDB : *Usnea longissima* ekstraktı içermeyen Standart Drosophila Besiyeri

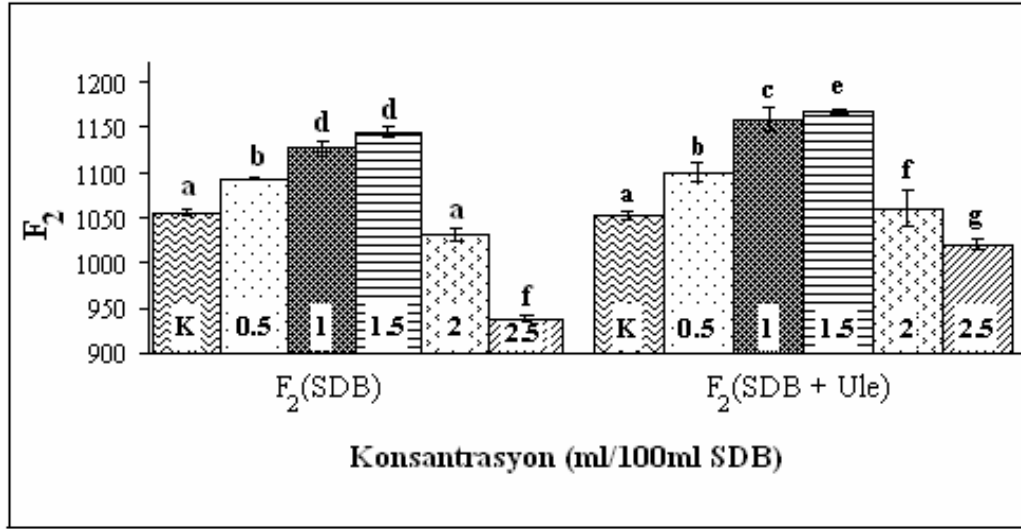
SDB+Ule : *Usnea longissima* ekstraktı içeren Standart Drosophila Besiyeri



Şekil 4.2. F₁ nesline ait Σ yavru birey sayısının standart hata grafiği

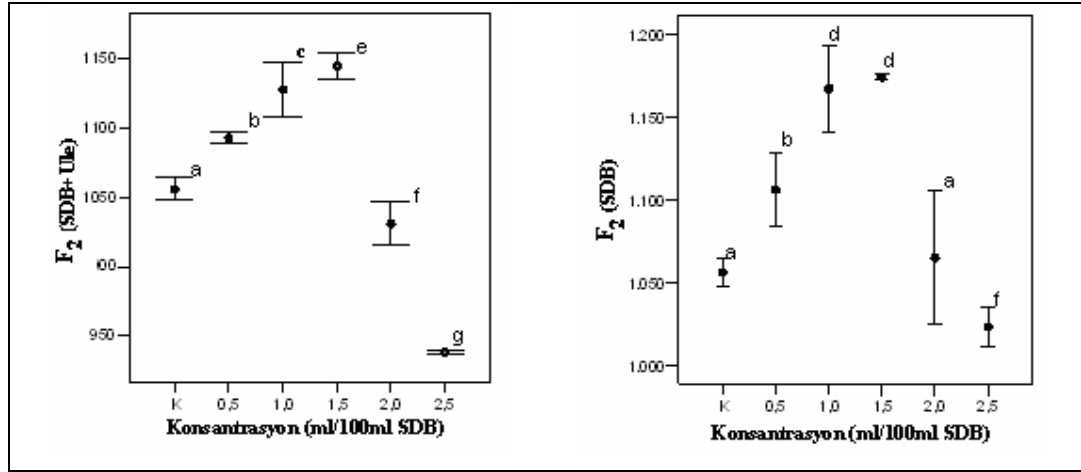
Ule'nin birey sayısı üzerindeki etkilerinin F₂ neslinde de devam edip etmediğini belirlemek için, F₁ bireyleri, SDB+Ule başlangıç konsantrasyonlarına göre (0,5- 2,5) F₁ X F₁ çaprazlamasına alınmıştır. Bu amaçla yalnızca SDB içeren ve SDB+Ule içeren iki ayrı deney seti hazırlanmıştır. F₁ nesline ait bireylerden her bir deney setine ait olmak üzere tüm uygulama grupları için, 5 ♀♀ X 5 ♂♂ çaprazlamaları yapılmıştır. Böylece Ule'nin gelişim biyolojisi üzerine etkileri F₂ neslinde de incelenmiştir.

SDB+Ule içeren besin ortamında yetiştirilen ebeveynlere ait F₂ bireylerinin toplam sayısı, ilk üç uygulama grubunda (0,5- 1,5) kontrole göre artarken, son iki grupta (2,0- 2,5) önemli ölçüde azalmıştır (Şekil 4.3.). Çizelge 4.2.'de görüldüğü gibi F₂ nesline ait kontrol grubunda 1056 birey sayılmıştır. İlk üç uygulama grubunda bu sayı 1056'dan 1174'e (0,5 uygulama grubunda 1106, 1,0 uygulama grubunda 1167 ve 1,5 uygulama grubunda 1174 birey sayılmıştır) çıkarken, son iki uygulama grubunda bu sayı 1174'den 1023'e (2,0 uygulama grubunda 1065 ve 2,5 uygulama grubunda 1023 birey sayılmıştır) kadar düşmüştür. Farklı konsantrasyonlarda SDB+Ule içeren ortamda yetiştirilen F₂ nesline ait sonuçlar, kontrol grubu ve kendi aralarında karşılaştırıldığı zaman p < 0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur.



Şekil 4.3. Ule içeren ve içermeyen SDB’de kendileşme ($F_1 \times F_1$) ile elde edilen F_2 nesline ait yavru birey sayılarının karşılaştırılması

Yalnızca SDB içeren ortamda yetiştirilen F_2 bireyleri de her bir uygulama grubu için her gün sayılmıştır. F_1 neslinde ve F_2 neslinin SDB+Ule uygulamasında olduğu gibi yavru birey sayısı ilk üç uygulama grubunda (0,5- 1,5) kontrole göre (1056 birey) artmıştır. Bu uygulama gruplarında sırasıyla 1093, 1128 ve 1145 birey sayılmıştır. 2,0 ve 2,5’luk uygulama gruplarında ise yavru birey sayısı 1031 ve 938 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar hem kontrol grubu ile deney grupları karşılaştırıldığı zaman hem de deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldığı zaman önemli ($p < 0,05$) bulunmuştur. Ule içeren ve içermeyen SDB ortamında kendileşme ($F_1 \times F_1$) ile elde edilen F_2 nesline ait yavru birey sayılarının karşılaştırılması Şekil 4.3.’de, bu sonuçlara ait standart hata grafikleri de Şekil 4.4.’de verilmiştir.



Şekil 4.4. F₂ nesline ait Σ yavru birey sayısının standart hata grafiği

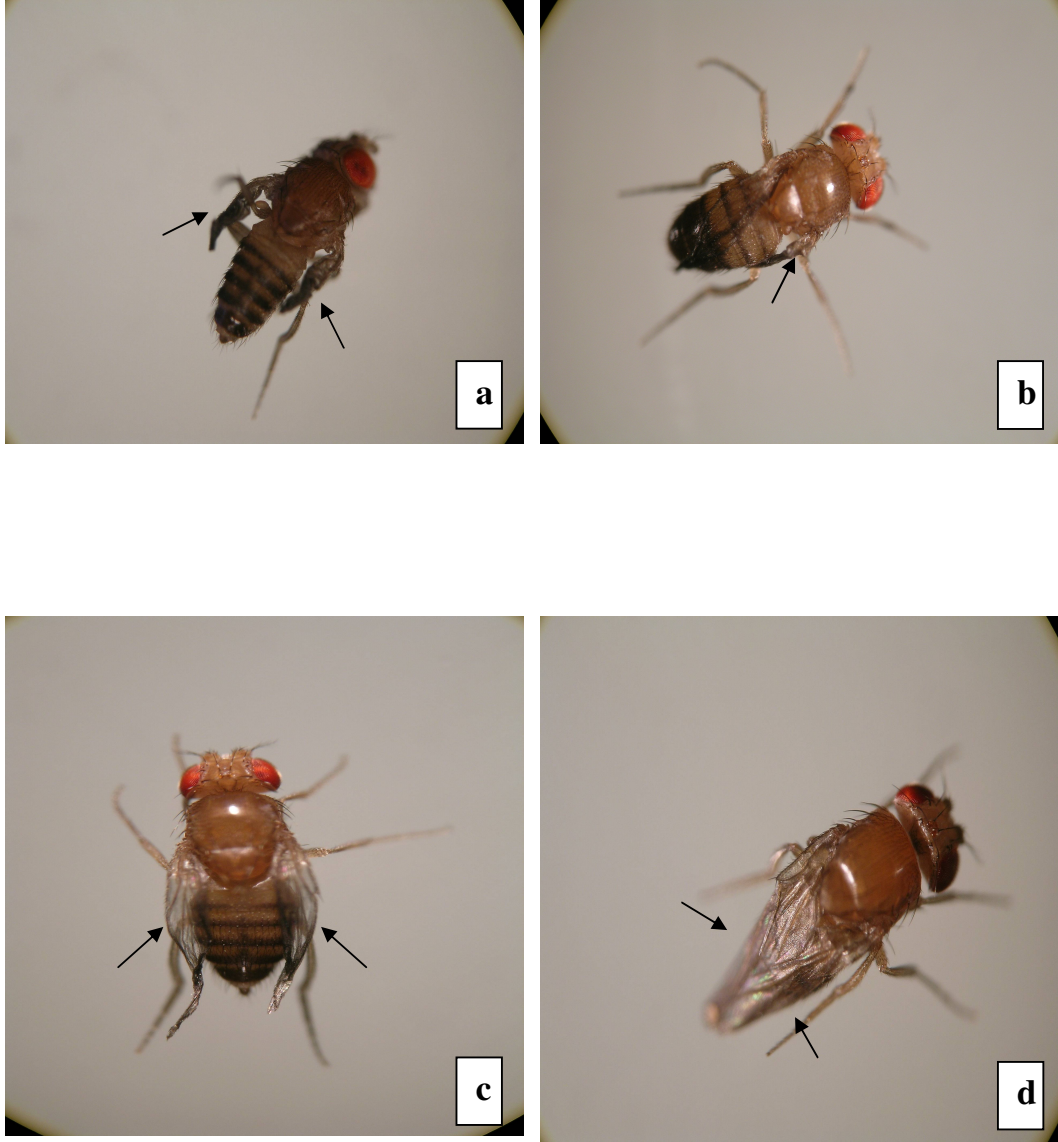
4.1.3. Ule'nin bazı morfolojik özellikler üzerine olan etkileri

Ule'nin ergin birey çıkışı üzerine olan etkilerini ortaya koymak amacıyla, günlük sayımlar yapılırken, aynı zamanda bu bireylerin morfolojik özellikleri de incelenmiştir. Bu incelemeler sırasında, kontrol ve deney gruplarına ait bireylerden bazılarında çeşitli vücut bölgelerinde ve üyelerinde özellikle kanat ve toraks şekillerinde önemli fenotipik anormalliklerin (= malformasyon) meydana geldiği görülmüştür. Bunlar “kanatlardan birinin veya ikisinin oluşmaması”, “kanatların birinin ya da ikisinin ok şeklinde deforme olması” (Şekil 4.5.a., Şekil 4.5.b. ve Şekil 4.5.c.), “kanatların hiç açılmayıp vücuda yapışık ve buruşuk şekilde oluşması” (Şekil 4.5.d.), “bir ya da iki kanadın tam olarak açılmaması” (Şekil 4.6.a. ve Şekil 4.6.b.), “normalden daha küçük kanat oluşumu” (Şekil 4.6.c.) ve “erginleşen bireylerin pupa kılıfından çıkamaması” (Şekil 4.6.d.) şeklinde sıralanabilir.

F₁ ve F₂ nesillerinde oluşan anormal birey sayıları Çizelge 4.2’de verilmiştir. F₁ nesli için, kontrol grubunda 11 tane (%1,03) çeşitli malformasyonlar gösteren birey sayılırken 0,5 SDB+Ule içeren uygulama grubunda malformlu birey sadece 2 (%0,17) tanedir. 1,0 ve 1,5 SDB+Ule içeren uygulama gruplarında ise hiç malformlu birey gözlenmemiştir. Ancak artan Ule konsantrasyonuna bağlı olarak

malformlu birey sayısının arttığı Çizelge 4.2'de görülmektedir. Kontrole göre 2,0 uygulama grubunda 33 (%2,95) ve 2,5 uygulama grubunda 62 (%5,62) birey Ule'den etkilenmiştir. Uygulama gruplarına ait malformlu birey sayısındaki artış kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

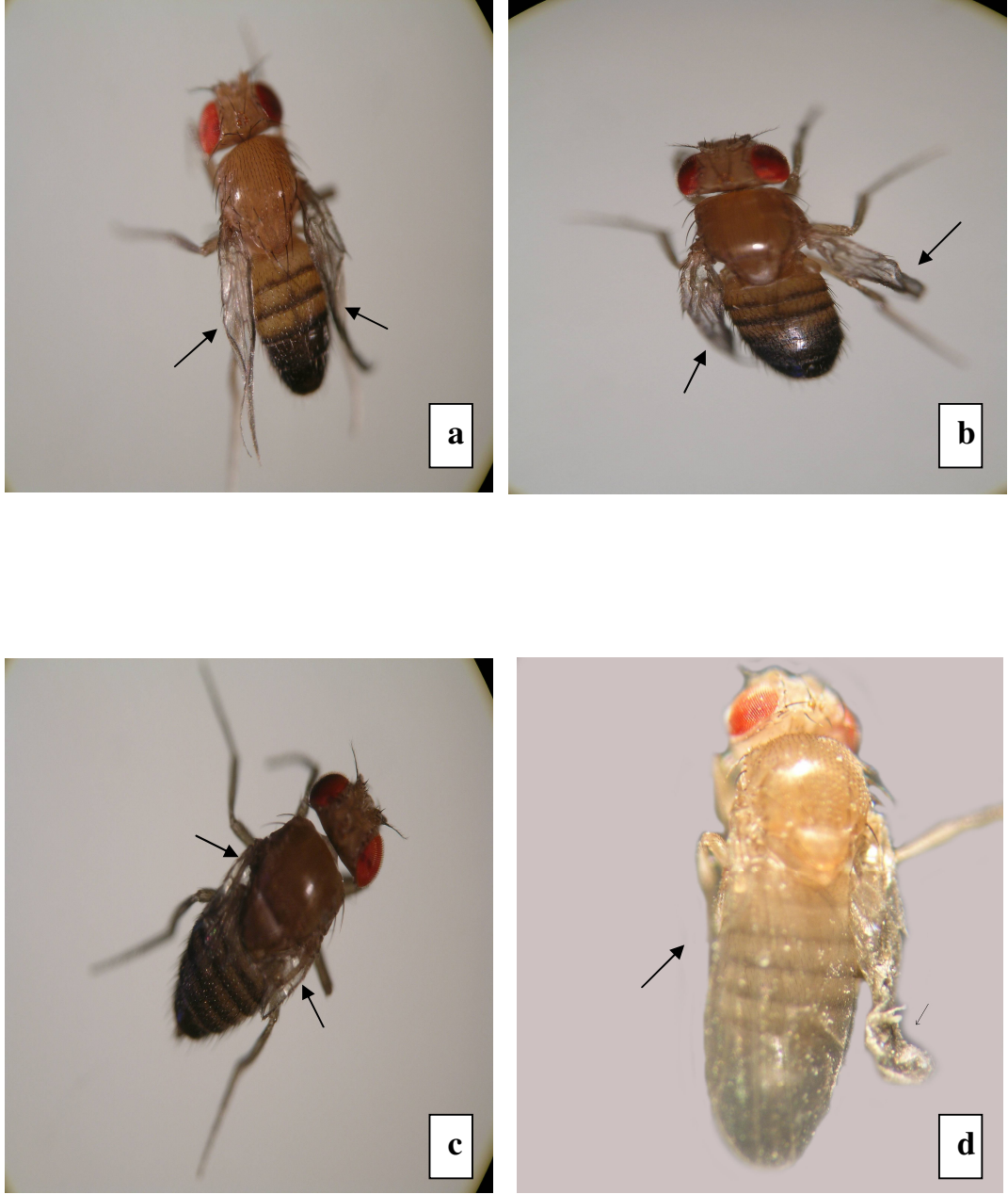
F₂ neslinde ise yalnızca SDB içeren uygulama gruplarına ait olmak üzere %0,75- %1,17 oranında değişen oranlarda malformlu birey elde edilmiştir. Ancak SDB+Ule içeren uygulama gruplarının yine ilk üç grubunda, F₁ neslinde olduğu gibi, anormal bireyler gözlenmezken, 2,0 ve 2,5'luk uygulama gruplarında %3,97- %5,86 oranlarında çeşitli anormallikleri taşıyan bireyler görülmüştür. Bu sonuçlar istatistiksel olarak önemli ($p < 0,05$) bulunmuştur.



Şekil 4.5. Kronik olarak Ule uygulanan F₁ bireylerinde görülen fenotipik anormallikler

a-b-c) Sağ ve sol kanatların ok şeklinde deforme olması

d) Sağ ve sol kanatların hiç açılmayıp vücuda yapışık ve buruşuk olması



Şekil 4.6. Kronik olarak Ule uygulanan F_2 bireylerinde görülen fenotipik anormallikler

- a- b) Bir ya da iki kanadın tam olarak açılmaması
- c) Normalden daha küçük kanat oluşumu
- d) Pupa kılıfından çıkamayan ergin birey X 31.25

4.2. Ule'nin Ömür Uzunluğu Üzerine Etkileri

Usnea longissima'nın ömür uzunluğu üzerine etkisi dişi ve erkek popülasyonlarında ayrı ayrı çalışılmıştır. Bu amaçla 3.4.2.'de anlatıldığı gibi pupadan çıkan aynı yaşlı (1-3 günlük) çiftleşmemiş ♀♀ ve ♂♂ sineklerden her bir deney grubu için toplanan ortalama 100 birey, Ule uygulaması sonrasında (♀♀ 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 haftada iki kez 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 uygulama grupları için ortalama ömür uzunlukları ayrı ayrı hesaplanmış ve her iki eşey için ayrı ayrı hayat tabloları hazırlanmıştır. Çizelge 4.3.'de ortalama ömür uzunlukları bakımından dişi ve erkeklerde yine ayrı ayrı olmak üzere uygulama gruplarının kontrol grubu ile ve kendi aralarında ikili karşılaştırmaları sonucu elde edilen ortalamalar arası farkların (sadece anlamlı farkların) önem kontrolleri verilmiştir.

Bu sonuçlara göre, Çizelge 4.3.'de görüldüğü gibi kontrol grubuna ait dişilerde maksimum ömür uzunluğu 57 gün olarak bulunmuştur. Ancak kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman artan Ule konsantrasyonuna bağlı olarak ilk üç uygulama grubunda (0,5- 1,5) ömür 57 günden 74 güne uzamıştır. Bu süre 0,5 uygulama grubunda 60, 1,0 uygulama grubunda 67 ve 1,5 uygulama grubunda da 74 gün olarak bulunmuştur. 2,0 ve 2,5 uygulama grubunda ise ömür uzunluğu sırasıyla 53 ve 46 gün olarak tespit edilmiştir. Bu son iki uygulama gruplarına ait maksimum ömür uzunluğu, hem kontrol grubundan hem de ilk üç uygulama grubundan daha kısadır. Dişiler için tüm gruplara ait hayat tablosu verilerinden yararlanılarak çizilen hayatta kalış eğrileri Şekil 4.7.'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. *D. melanogaster*'in ♀♀ ve ♂♂ populasyonlarına ait ortalama ömür uzunlukları (gün olarak) ve gruplar arası önem kontrolleri

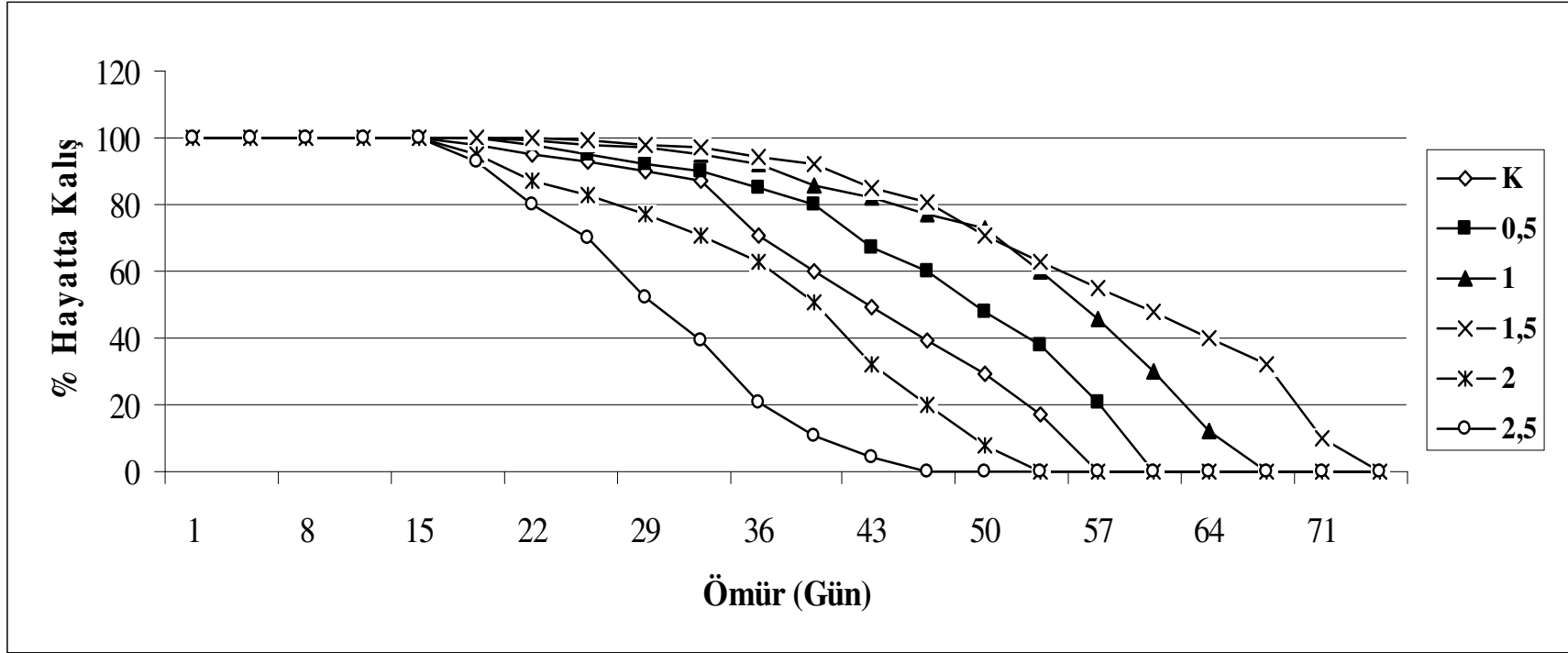
Grup İsmi (ml/100ml besiyeri) ve Grup No	Dişi Populasyon					Erkek Populasyon				
	Birey Sayısı	Max. Ömür	Standart Sapma	Ortalama Ömür Uzunluğu (gün) ± SH	Gruplar arası önem kontrolü (sadece anlamlı farklar)	Birey Sayısı	Max. Ömür	Standart Sapma	Ortalama Ömür Uzunluğu (gün) ± SH	Gruplar arası önem kontrolü (sadece anlamlı farklar)
Kontrol (1)	100	57	10,142	43,78±1,01	1-2* 2-5** 1-3** 2-6** 1-4** 3-5** 1-5* 3-6** 1-6** 4-5** 2-3** 4-6** 2-4** 5-6**	100	53	9,358	42,26±0,93	1-3** 2-6** 1-4** 3-4* 1-5** 3-5** 1-6** 3-6** 2-3** 4-5** 2-4** 4-6** 2-5** 5-6**
0,5 (2)	100	60	10,366	48,85±1,03		100	57	10,033	45,96±1,00	
1,0 (3)	100	67	10,596	54,87±1,06		100	64	11,277	52,73±1,12	
1,5 (4)	100	74	12,271	59,07±1,22		100	71	11,907	57,91±1,19	
2,0 (5)	100	53	10,138	38,81±1,01		100	50	9,010	36,85±0,90	
2,5 (6)	100	46	7,570	31,23±0,75		100	43	7,389	30,46±0,73	

Max.: Maksimum, S.H.: Standart hata, **: Gruplar arasındaki fark p<0,001 düzeyinde önemlidir. *:Gruplar arasındaki fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

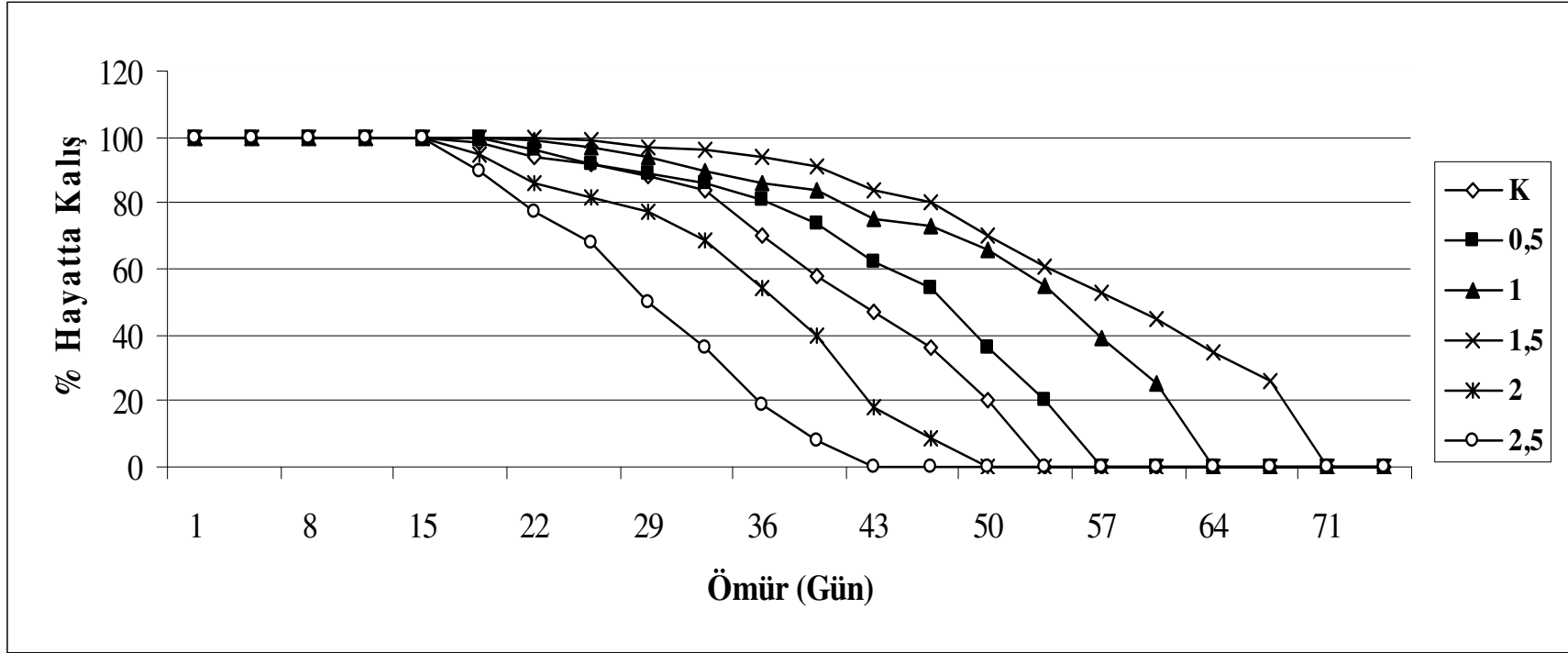
Dişi bireylere ait ömür uzunluğu sonuçları birbirleriyle ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman, en uzun ortalama ömür 1,5 uygulama grubunda $59,07 \pm 1,22$, en kısa ortalama ömür ise 2,5 uygulama grubunda $31,23 \pm 0,75$ gün olarak belirlenmiştir. Kontrol ve uygulama grupları arasında ömür uzunluğu bakımından ortaya çıkan farklılıklar, sadece 1,0 ve 1,5 uygulama grupları arasında $p > 0,001$ düzeyinde önemsiz, diğer gruplar arasında ise çeşitli düzeylerde ($p < 0,001$, $p < 0,05$) önemli bulunmuştur (Çizelge 4.3).

Farklı konsantrasyonlarda Ule'nin *D. melanogaster*'in ♂♂ populasyonlarına ait ömür uzunlukları üzerine etkisi de belirlenmiştir. Yapılan çalışmaların sonuçlarına göre kontrol grubuna ait erkeklerde maksimum ömür uzunluğu 53 gün olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3.). Tıpkı dişilerde olduğu gibi 0,5, 1,0 ve 1,5 uygulama gruplarında kontrole göre ömür uzunluğu artış göstermiş ve sırasıyla bu süre 57, 64 ve 71 gün olarak belirlenmiştir. Son iki uygulama grubu olan 2,0 ve 2,5 uygulama gruplarında da ömür uzunluğu kontrol ve ilk üç uygulama gruplarına göre gerilemiş ve bu süre 50 ve 43 gün olarak tespit edilmiştir. Erkekler için hayatta kalış eğrileri Şekil 4.8.'de görülmektedir. Erkek bireylere ait en uzun ortalama ömür 1,5 uygulama grubunda $57,91 \pm 1,19$ ve en kısa ortalama ömür 2,5 uygulama grubunda $30,46 \pm 0,73$ gün olarak saptanmıştır (Çizelge 4.3.). Uygulama grupları kendi aralarında ve kontrol grubu ile ayrı ayrı karşılaştırıldığı zaman yalnızca 0,5 uygulama grubu ile kontrol grubu arasındaki fark $p > 0,001$ düzeyinde önemsiz bulunurken, diğer gruplar arasındaki fark hem $p < 0,001$ hem de $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

Şekil 4.7. ve Şekil 4.8.'de verilen hayatta kalış eğrileri ayrı ayrı incelendiğinde, ömür eğrilerinin dikdörtgensel olduğu görülmektedir ve bu da grupların sahip oldukları genetik ömrün yaşandığını göstermektedir.



Şekil 4.7. *D. melanogaster*'in ♀♀ populasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Ule uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri (gün olarak)



Şekil 4.8. *D. melanogaster*'in ♂♂ populasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Ule uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) gruplarına ait hayatta kalış eğrileri (gün olarak)

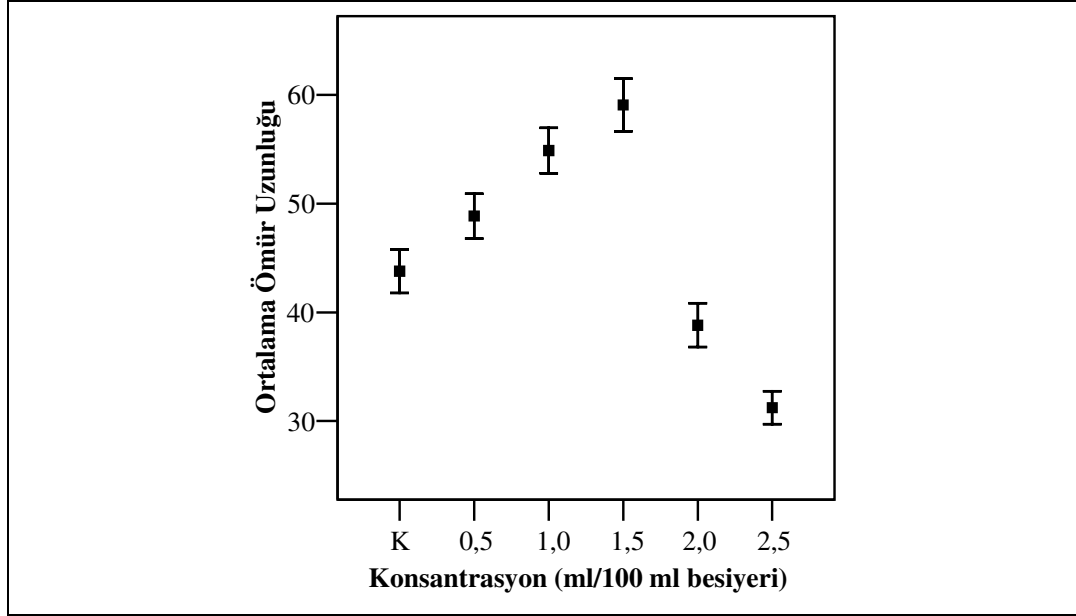
Ancak *D. melanogaster*'in erkek ve dişi bireyelerine ait ortalama ömür uzunluğu birbiriyle karşılaştırıldığı zaman (Çizelge 4.4.), kontrol ve tüm deney gruplarında dişi bireyelerin erkek bireyelerden daha uzun ömürlü olduğu görülmüştür. Çizelge 4.4.'de görüldüğü gibi iki eşey arasında ortalama ömür uzunluğu bakımından gözlenen bu fark, yalnızca 0,5 uygulama grubunda istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. Bu uygulama grubunun dışındaki diğer gruplarda erkek ve dişi arasında ömür uzunluğu bakımından gözlenen fark, istatistiksel olarak önemli değildir ($p > 0,05$).

Çizelge 4.4. *D. melanogaster*'de ♀♀ ve ♂♂ bireyelerin ortalama ömür uzunluğu bakımından bağımsız gruplar için t-testi ile karşılaştırılması sonucu elde edilen veriler

Grup İsmi (ml/100ml besiyeri)		Birey Sayısı	Ortalama Ömür Uzunluğu (gün)	t	p
Kontrol	Dişi	100	43,78	1,101	0,272
	Erkek	100	42,26		
0,5	Dişi	100	48,85	2,003	0,047*
	Erkek	100	45,96		
1,0	Dişi	100	54,87	1,383	0,168
	Erkek	100	52,73		
1,5	Dişi	100	59,07	0,678	0,498
	Erkek	100	57,91		
2,0	Dişi	100	38,81	1,445	0,150
	Erkek	100	36,85		
2,5	Dişi	100	31,23	0,728	0,468
	Erkek	100	30,46		

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

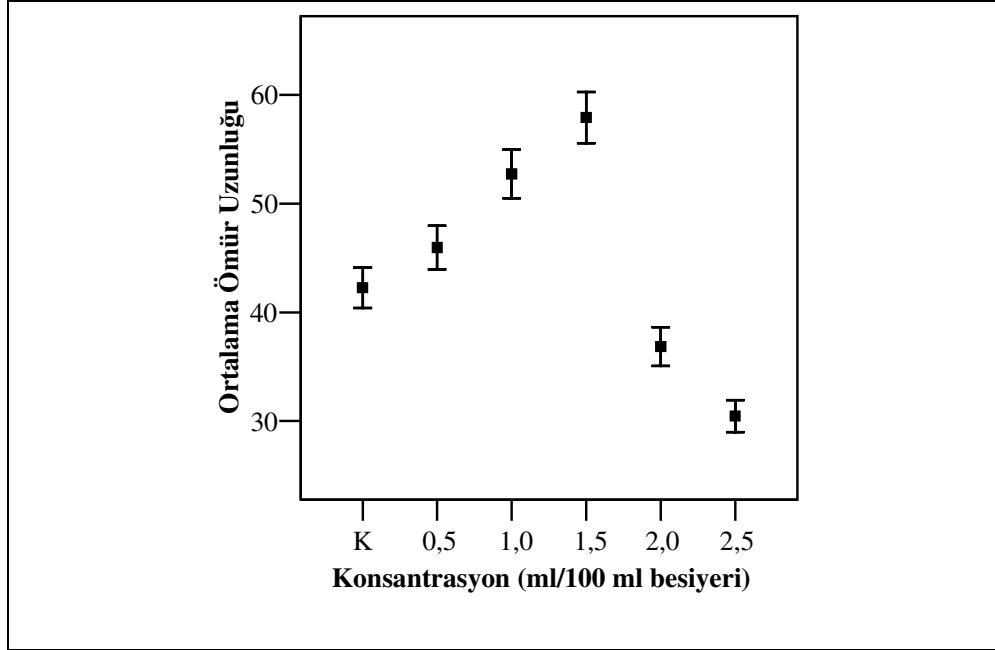
D. melanogaster'in ♀♀ bireyelerine ait ömür uzunluklarının %95 güven aralıkları Şekil 4.9.'da, ♂♂ bireyelerine ait ömür uzunluklarının %95 güven aralıkları da Şekil 4.10.'da verilmiştir. Şekil 4.9 ve Şekil 4.10.'da hem dişi hem de erkek bireyelerde ortalama ömür uzunluğunun ilk üç uygulama grubunda (0,5- 1,5) kontrole göre arttığı, son iki grupta (2,0- 2,5) ise azaldığı görülmektedir.



Şekil 4.9. ♀♀ bireylere ait %95 güven aralıkları K: Kontrol

Yalnızca dişiler için, kontrol ile 0,5 uygulama grubuna (Grup no 1- 2) ve kontrol ile 2,0 uygulama grubuna (Grup no 1- 5) ait ortalama ömür uzunluğu arasındaki farklar istatistiksel olarak $p > 0,001$ düzeyinde; 1,0 ile 1,5 uygulama grubuna (Grup no 3- 4) ait ortalama ömür uzunluğundaki artışın da istatistiksel olarak hem $p > 0,001$ düzeyinde hem de $p > 0,05$ düzeyinde önemsiz bulunduğu görülmektedir. Bu yüzden Grup no 3- 4 önem kontrolü sütununda yer almamıştır (Çizelge 4.3.).

Aynı şekilde erkek bireylerin, 1,0 ile 1,5 uygulama grubuna (Grup no 3- 4) ait ortalama ömür uzunluğundaki artışın istatistiksel olarak $p > 0,001$ düzeyinde; kontrol ile 0,5 uygulama grubuna (Grup no 1- 2) ait ortalama ömür uzunluğu arasındaki farkın ise istatistiksel olarak hem $p > 0,001$ düzeyinde hem de $p > 0,05$ düzeyinde önemsiz olduğu bulunmuştur. Bu yüzden Grup no 1- 2 de önem kontrolü sütununda yer almamıştır (Çizelge 4.3.).



Şekil 4.10. ♂♂ bireylere ait %95 güven aralıkları K: Kontrol

Yapılan istatistiksel testler ışığında, daha önce belirtilen gruplar dışında kalan diğer tüm gruplara ait ortalama ömür uzunlukları arasındaki farklar istatistiksel olarak hem $p < 0,001$ hem de $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.3.).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, iki ayrı parametre göz önüne alınmıştır. İlk çalışmamızda, farklı konsantrasyonlarda *Usnea longissima* ekstresinin (Ule) *Drosophila melanogaster*'in gelişim biyolojisi üzerine etkileri incelenmiştir. İkinci çalışmamızda ise yine farklı konsantrasyonlarda Ule içeren besin ortamlarında yetiştirilen *D. melanogaster*'in, ömür uzunluğundaki değişiklikler belirlenmiştir.

Çalışmamızın ilk aşamasında, farklı konsantrasyonlarda Ule içeren besin ortamlarında yetiştirilen ebeveynlerin F₁ ve F₂ nesline ait yavru bireylerinin gelişim evreleri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. F₁ nesline ait kontrol ve deney grupları karşılaştırıldığı zaman, ilk üç konsantrasyona (0,5- 1,5) ait uygulama gruplarında gelişim evrelerinin kontrol grubuyla eş zamanlı tamamlandığı, son iki uygulama grubunda (2,0- 2,5) ise kontrol grubuna göre daha uzun sürede tamamlandığı tespit edilmiştir. Kontrol grubunda yumurtadan ergin birey çıkışına kadar geçen süre 9 gün iken son iki uygulama grubunda (2,0- 2,5) artan Ule konsantrasyonuna bağlı olarak bu süre 1. larva evresinden itibaren uzamış ve ilk ergin birey 11. ve 12. günlerde gözlenebilmiştir (Çizelge 4.1.).

Yalnızca SDB içeren besin ortamında yetiştirilen ve F₁ X F₁ çaprazlaması ile elde edilen F₂ bireylerine ait gelişim evreleri ise kontrol grubuyla aynı zamanda tamamlanmıştır. SDB+Ule içeren besin ortamında yetiştirilen diğer uygulama gruplarına ait F₂ bireylerinin gelişim evreleri ilk üç uygulama grubunda (0,5- 1,5) kontrol grubu ve F₁ ile aynı zamanda tamamlanırken, son iki grupta (2,0- 2,5) uzama göstermiştir. Bu uzama, tüm larval evreleri ve ilk ergin birey çıkışına kadar geçen süreyi (gün olarak) kapsamaktadır. Örneğin F₁'de en yüksek uygulama grubunda (2,5) 1. larva evresinden itibaren gelişim süresi 4- 12 gün arasında değişirken, F₂ neslinde (SDB+Ule uygulaması için) bu süre 5- 13 gün olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.1.).

Ancak yaptığımız literatür taramalarında, Ule'nin *D. melanogaster*'in gelişim biyolojisi üzerine olan etkisiyle ilgili direkt sonuçlara rastlanılmamıştır. Bu nedenle bulgularımız, farklı organizmalardan elde edilen çalışma sonuçları ışığında değerlendirilmiştir.

Çeşitli kaynaklarda, likenlerde bulunan bazı liken maddelerinin (vulpinik, pinastrik, usnik ve stistik asit gibi) böcek, solucan ve nematodlar için zehirli olduğu yönünde bilgiler mevcuttur (Larwey 1986, 1989; Ahad vd 1991). Whiton ve Larwey (1982, 1984)'e göre, vulpinik asit, evernik asit ve atranorin gibi liken maddeleri liken komunitelerinde allelopatik ajan gibi davranmaktadır. Şöyle ki; pH 4- 7 aralığında *Cladonia cristatella*, *Graphis scripta* ve *Caloplaca citrina* likenlerinin spor germinasyonu bu liken maddeleri tarafından önlenmektedir. Yine bir çeşit liken maddesi olan usnik asit 1 µg/ml gibi çok düşük konsantrasyonlarda bile *Fusarium moliniforme* mantarının gelişiminde %9 oranında inhibisyona neden olmaktadır.

Başka bir çalışmada ise otçul bir böcek olan *Spodoptera littoralis*'e (yaprak kurdu) uygulanan kronik beslenme deneylerinde, (-) ve (+)- usnik asit, vulpinik asit ve evernik asit gibi liken asitleri kullanılmış ve usnik asitin önemli ölçüde larval periyotta uzamaya, hatta düşük konsantrasyonlarda bile erken larval dönemde mortaliteye ve larval büyümede inhibisyona neden olduğu tespit edilmiştir (Giez vd 1994). Bu deneylerde (-)- usnik asit LD₅₀ değerinin, (+)- usnik asit LD₅₀ değerinden yaklaşık 10 kat daha düşük olduğu da belirtilmiştir (Emmerich vd 1993). Benzer şekilde vulpinik asit ve fisodik asitin bir çeşit sümüklüböcek olan *Pallifera varia* larvalarında malformasyonlara neden olduğu görülmüştür (Dayan ve Romagni 2001). *Evernia prunastri* (meşe likeni) likeninden elde edilen methyl β-orsinolkarboksilat, etil hematomat ve 5-klorohematomat gibi liken maddeleri de *Toxocara canis* (köpek kurdu) larvaları üzerinde nematosidik etki göstermektedir (Ahad vd 1991).

Bizim elde ettiğimiz bulgular, çeşitli araştırmacılar tarafından farklı organizmalar üzerinde yapılan çalışmaların sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Bridges (2000)'e göre, amfibiler bozulan fizyolojik dengelerini sağlamak ve kimyasalların

toksik etkilerini azaltmak için ekstra enerji harcarlar. Bu sebeple gelişme süreçleri normal gelişim sürecine göre daha uzun sürede tamamlanır. Muhtemelen yüksek konsantrasyonlarda uygulanan Ule, *Drosophila melanogaster*'de de böyle bir mekanizma ile gelişim döneminin uzamasına sebep olmaktadır.

Yine bu çalışmamızda Ule uygulanan ebeveynlere ait F₁ neslinde ilk üç uygulama grubundan (0,5- 1,5) elde edilen toplam yavru birey sayısının kontrole göre arttığı, son iki grupta (2,0- 2,5) bu sayının önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. Şöyle ki; F₁ neslinde kontrol grubunda sayılan 1058 bireye karşılık, ilk üç uygulama grubunda (0,5- 1,5) yavru birey sayısı 1128'den 1228'e yükselmiş ancak son iki grupta (2,0- 2,5) bu sayı 1228'den 1103'e (1118- 1103) kadar düşmüştür. Bu sonuçlar bakımından kontrol ve deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldığı zaman, yavru birey sayısında gözlenen hem artış hem de azalışların istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde önemli olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.2.).

Ule'nin birey sayısı üzerindeki etkilerinin F₂ neslinde de devam edip etmediğini belirlemek için, F₁ bireyleri kullanılarak yalnızca SDB içeren ve SDB+Ule içeren iki ayrı deney seti hazırlanmıştır. SDB+Ule içeren besin ortamında yetiştirilen ebeveynlere ait F₂ bireylerinin toplam sayısı göz önüne alındığı zaman sonuçlar F₁ nesli ile benzerlik göstermiştir. F₂ nesline ait ilk üç uygulama grubunda (0,5- 1,5) yavru birey sayısı kontrole göre artarken, son iki grupta (2,0- 2,5) önemli ölçüde azalmıştır. F₂ neslinde kontrol grubunda 1056 birey sayılırken, SDB+Ule içeren ilk üç uygulama grubunda (0,5- 1,5) bu sayı 1106'dan 1174'e çıkarken, son iki grupta (2,0- 2,5) ise bu sayı 1174'den 1023'e (1065- 1023) düşmüştür. Benzer şekilde, yalnızca SDB içeren ortamlarda yetiştirilen ebeveynlere ait F₂ bireylerinin toplam sayısı da, ilk üç uygulama grubunda (0,5- 1,5) kontrole göre artarken, son iki grupta (2,0- 2,5) önemli ölçüde azalma göstermiştir ($p < 0,05$). Ancak toplam birey sayısındaki bu değişimlerin SDB+Ule içeren besin ortamında yetiştirilen ebeveynlere ait toplam F₂ birey sayısındaki değişimlere göre daha az oranda olduğu gözlenmiştir. Şöyle ki; SDB+Ule içeren ve yalnızca SDB içeren aynı konsantrasyonlardaki deney grupları karşılaştırıldığı zaman, yalnızca SDB içeren

uygulama gruplarındaki toplam birey sayısının SDB+Ule içeren uygulama gruplarındaki toplam birey sayısından daha az olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2.). Kontrole göre yavru birey sayısı ilk üç uygulama grubunda (0,5- 1,5) 1056'dan 1145'e çıkarken, son iki grupta (2,0- 2,5) bu sayı 1145'den 938'e (1031- 938) düşmüştür. Sonuçlar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$).

Hem F_1 neslinde hem de F_2 nesline ait yalnızca SDB ve SDB+Ule içeren ilk üç uygulama grubunda gözlenen yavru birey sayısındaki artışın muhtemel sebebi olarak, likenlerin yapısında bulunan liken asitlerinin iyileştirici etkisi gösterilebilir. Şöyle ki; Steinmetz ve Potter (1996)'a göre, fitokimyasal maddelerin koruyucu ve iyileştirici etkileri bir takım mekanizmalar ile gerçekleşmektedir. Bu reaksiyonları şöyle sıralayabiliriz; fitokimyasallar, sahip oldukları antioksidan etkileri sayesinde birçok olumsuz duruma karşı koruyucu ve iyileştirici etkide bulunurlar. Aynı zamanda bu maddeler segmentasyonun son basamağında özellikle sinir sistemi oluşumdaki hücre farklılaşmasını olumlu yönde etkilemeleri ile konjenital malformasyonların meydana gelme yüzdesini önemli derecede azaltmaktadır. Ayrıca fitokimyasallar, karsinogen özelliği gideren enzimlerin aktivitesi arttırarak tümör oluşumu ve kanserleşmede önemli rol oynayan nitrozamin oluşumunu engelleyerek etkilerini gösterirler. Fitokimyasallar barsak florasını, safra asitlerini ve pH'yı düzenledikleri gibi intrasellüler matrikslerin bütünlüğünün korunmasını üstlenerek hücrenin dış etkenlere karşı korunmasını da sağlarlar. DNA'nın tamirinde de önemli işlevlere sahip olan çeşitli fitokimyasallar bu özelliklerinden dolayı DNA'da meydana gelebilecek hasarlara karşı önemli bir rol üstlenirler. Kanser hücrelerinde apoptozisi (programlanmış hücre ölümleri) arttırma özelliklerinin yanı sıra hücre poliferasyonunu (çoğalmasını) önleyerek kanserleşmiş dokulardaki yayılımı da azaltırlar.

Çalışmamızda kullanmış olduğumuz *Usnea longissima* yaygın olarak usnik, evernik, difraktaik, barbatik, salazinik, fumarprotocetrarik, 4-O-dimetilbarbatik asitleri, atranorini, yağ asitlerini, karbonhidrat ve proteinleri içine alan oldukça kompleks bir kimyasal içeriğe sahiptir (Halonen 2000). Liken asitlerinin iyileştirici etkileri (tümör

hücrelerine karşı antibakteriyel, antimikotik, antimitotik ve antioksidan) üzerine çok çalışılmıştır. Ule'nin antioksidan potansiyeli test edilmiş ve düşük bir fenolik içeriğe sahip olmasına rağmen güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve bu yüzden koruyucu bir etki gösterdiği tespit edilmiştir (Halıcı vd 2005). *U. longissima*'nın sahip olduğu polisakkaritlerin serbest radikalleri temizlediği ve farelerin hepatosit homojenatının lipid peroksidasyonunu az da olsa inhibe ettiği gösterilmiştir (Bian vd 2002). *U. longissima*'dan izole edilen difraktaik asit ve usnik asitin, ratların midesinde indomethacin (= steroid olmayan antienflamatuar ilaç) uygulaması sonucu meydana gelen gastrik hasara karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu gastroprotektif etki, kullanılan liken maddelerinin dokularda antioksidan enzimlerden olan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve redükte (= indirgenmiş) glutatyon (GSH) seviyelerini artırıp lipid peroksidasyonunda önemli bir azalma meydana getirmesiyle sağlanmaktadır (Odabasoglu vd 2004; Bayır vd 2006).

Ancak F₁ ve F₂ nesline ait son iki uygulama grubunda, artan Ule konsantrasyonuna bağlı olarak yavru birey sayısının azalmasının da çeşitli liken bileşenlerine atfedildiğine dair farklı organizmalardan elde edilen sonuçlar mevcuttur. Yavru birey sayısındaki düşüşün en önemli sebebi, yüksek konsantrasyonlarda kronik olarak uygulanan Ule tarafından gametogenezin (hem spermatogenez ve hem de oogenezi) inhibe edilmesidir diyebiliriz. Ebeveynler tarafından üretilen sperm ve yumurtanın azalması ya da yumurta açılımının meydana gelmemesi de yavru birey sayısını azaltmaktadır. Bizim bu görüşümüzü, çeşitli organizmalar üzerinde yapılan çalışmalar da destekler niteliktedir. *Nicotiana tabaccum* yaprak hücresi protoplastlarında 2,5 µg/ml usnik asit canlılığı yaklaşık %20 oranında azaltırken, 5- 20 µg/ml usnik asit canlı protoplast miktarını yaklaşık %40'a kadar düşürmekte ve yüksek dozlarda ise (100- 200 µg/ml) hücre bölünmesinde inhibitör etkiye neden olmaktadır (Cardarelli vd 1997). *Evernia prunastri* likeninden izole edilen evernik asit de *Spinacia oleracea* (ıspanak) yapraklarında total klorofil miktarını azaltıp muhtemelen fotosistem I ve fotosistem II aktivitesini etkileyerek bitki büyümesinde inhibisyona ve malformlu yaprak oluşumuna sebep olmaktadır (Rapsch ve Ascaso

1985). Al- Bekairi ve Qureshi (1991)'ye göre, farklı dozlarda (100 ve 200 mg/kg) usnik asit rat karaciğerinde RNA ve protein miktarını azaltarak hem hücre bölünmesini inhibe etmekte hem de çeşitli malformasyonlara sebep olmaktadır. Carderelli ve arkadaşları (1997) tarafından 0- 300 µg/ml usnik asitin uygulanmasıyla *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinin viabilitesi üzerinde toksik etki gözlenmiştir. Ayrıca *Pallifera varia* (Dayan ve Romagni 2001), *Spodeptera ornithogalli* (Slansky 1979), *Spodoptera littoralis* (Emmerich vd 1993) ve *Glyptotermes dilatatus* (Kathirgamanathar vd 2005) gibi çeşitli hayvansal organizmalarda, gelişim süreleri uzayan larvaların hayatta kalışı zorlaşmakta ve toplu ölümler meydana gelmektedir. Yaşayabilen bireyler ise çeşitli malformasyonlar nedeniyle daha kısa ömürlü olmaktadır. Bu da yavru birey sayısını azaltan bir başka etkendir. Tüm bu sonuçlar, bizim bulgularımızı destekler doğrultudadır.

Bu çalışmada elde ettiğimiz bulgulardan bir diğeri de gelişim evrelerini tamamlayan yavru bireylerde çeşitli fenotipik anormalliklerin oluşmasıdır. Gelişim evrelerini tamamlayan yavru bireylerde kanatların normal yapısının bozulduğu ve fonksiyonel olmadığı görülmüştür. Uzamış, zar yapısı tam açılmamış, küçülmüş ya da hiç oluşmamış kanat şekillerine sıklıkla rastlanılmıştır. Kanat deformasyonlarının meydana geldiği kısımlarda toraksın tam gelişmediği ve vücut büyüklüğünde küçülmenin meydana geldiği de tespit edilmiştir (Şekil 4.5. a- d). F₁ nesline ait kontrol grubunda 11 (%1,03) ve 0,5 uygulama grubunda yalnızca 2 (%0,17) tane malformlu birey gözlenirken, 1,0 ve 1,5 uygulama gruplarında bu tip bireyler gözlenmemiştir. Son iki uygulama grubunda ise 33 (%2,95) ve 62 (%5,62) tane malformlu birey tespit edilmiştir (Çizelge 4.2.). F₂ nesline ait olmak üzere, yalnızca SDB içeren uygulama gruplarının tümünde F₁ neslindeki Ule etkileşimine bağlı olarak farklı oranlarda (%0,56- %1,17) malformlu bireyler görülmüştür. Yine F₂ nesline ait SDB+Ule içeren ilk üç uygulama grubunda (0,5- 1,5) malformlu bireylere rastlanmazken, son iki uygulama grubunda (2,0- 2,5) hem F₁ neslinde Ule'ye maruz kalınmasına hem de F₂ neslinde Ule konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak anormal birey yüzdesi artmıştır (Çizelge 4.2.). Kontrol grubunda %0,56 olan malformlu birey oranı, bu uygulama gruplarında %3,97 ile %5,86 oranında

değişmiştir. Ayrıca F_2 nesline ait SDB+Ule içeren son iki uygulama grubunda (2,0- 2,5) pupa kılıfının açılmasına rağmen ergin bireylerin bu kılıftan çıkamadığı da gözlenmiştir (Şekil 4.6. d).

Yüksek konsantrasyondaki Ule'nin teratojenik etkileriyle ilgili olarak literatür bilgisine rastlanılmamıştır. Ancak likenlere ait birçok sekonder metabolitin sebep olduğu teratojenik etkilerle ilgili çeşitli organizmalar üzerinde daha önce yapılan araştırmaların sonuçları, bizim sonuçlarımızı destekler doğrultudadır. Şöyle ki; Huovinen ve Lampero (1989) tarafından usnik asitin *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde mitoz bölünmeyi inhibe ettiği gösterilmiştir. *Cycloplaca almomensis* ve *Parmelia andida* likenlerinden izole edilen antibiyotik, fungusitik ve mitotik inhibitör etkilerine sahip lekanorik asitin *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde mitotik anormalliklere yol açtığı görülmüştür (Sucharita vd 1983). Bu anormallikler tripolar ve tetrapolar nükleusların kümelenmesi, interfaz nükleusunda vakuollerin meydana gelmesi, kromozomal matriksin incelmeye, anafaz ve telofaz köprülerinin oluşması ve anafazda geç kalmış kromozom (= anafaz lag) şeklindedir. Leknorik asitin mitotik indeksi azalttığı da belirlenmiştir. Dayan ve Romagni (2001)'e göre, emodin ve analogları bitkilerde çimlenme esnasında sararmaya, rhodokladonik asit ise hem dikotiledon (iki çenekli bitki) hem de monokotiledon (tek çenekli bitki) bitkilerin çimlenmesinde kök malformasyonlarına neden olmaktadır. Bitkilerde görülen çeşitli malformasyonlara *Pallifera varia*, *Spodeptera ornithogalli*, *Spodoptera littoralis* ve *Glyptotermes dilatatus* gibi böceklerin larvalarında da rastlanılmıştır (Slansky 1979; Emmerich vd 1993; Dayan ve Romagni 2001; Kathirgamanathar vd 2005).

Yüksek konsantrasyonda uygulanan Ule'nin teratojenik etkilere sebep oluşunun kromozomal aberasyonlarla (yapısal ve sayısal hasarlar) ilgili olabileceğini de düşünmekteyiz. Çünkü vulpinik, fisodik, salazinik ve usnik asit gibi bazı liken asitlerinin spor ve tohum çimlenmesini ve kök oluşumunu inhibe ettiği ve bu inhibasyon mekanizmalarından birinin de metafaz evresinde meydana gelen kromozomal aberasyonlardaki artıştan kaynaklandığını ifade eden literatür bilgileri bulunmaktadır (Halıcı ve Aksoy 2004). Bu çalışmaların sonuçlarına dayanarak

yüksek konsantrasyonda Ule'nin *D. melanogaster*'de çeşitli kromozomal aberasyonlara neden olabileceğini ve kendi çalışmamızda gözlediğimiz fenotipik anormalliklerin bu hasarlardan kaynaklanabileceğini söyleyebiliriz. Ayrıca Bölüm 4.1.3.'de belirtilen çeşitli fenotipik anormalliklerin erkek ve dişi bireylerde benzerlik göstermiş olması nedeniyle, Ule'nin otozomlar üzerinde etkili olabileceği de kuvvetle muhtemeldir.

Çalışmalarımız sırasında gözlediğimiz fenotipik anormalliklerin epigenetik etkiye bağlı olabileceğini de düşünmekteyiz. Epigenetik etki, çeşitli memeli hücrelerinde DNA metilasyonu ile meydana gelmektedir. DNA metilasyonunda metil grupları, DNA metil transferaz enziminin katalitik etkisiyle DNA dizisindeki guaninin (G) önünde bulunan sitozinin (C) 5. konumundaki karbon atomuna bağlanır. Metil grupları, CpG dinükleotidlerinin (CpG adacıkları olarak bilinir) bir DNA zinciri boyunca görüldüğü bölgelere eklenir. Yüksek oranda metilasyon ise gen aktivitesini inhibe edebileceği gibi herhangi bir genin işlevini de değiştirebilir. Ancak genin işlevi değişse bile kendisi değişmez. Bu etkiye de "epigenetik etki" denir.

Elde ettiğimiz deney sonuçlarına göre, yüksek konsantrasyonda Ule'nin sebep olduğu teratojenik etkiler, Ule'nin ikinci kez (F₂ için) diyetle katılmamasıyla ya da daha düşük konsantrasyonda katılmasıyla en aza indirgenebilmekte ya da giderilebilmektedir. Farklı konsantrasyonlarda Ule uygulanan ebeveynlerden elde edilen F₁ bireyleri kullanılarak oluşturulan F₂ neslinde SDB+Ule içeren uygulama gruplarında Ule etkisinin devam etmesine rağmen, sadece SDB içeren uygulama gruplarında bu etkinin çok düşük seviyede olduğunu ya da tamamen ortadan kalktığını görmekteyiz. Örneğin, F₁ nesline ait 2,0 uygulama grubunda anormal birey sayısı 33 (%2,95) iken, bu sayı F₂ nesline ait SDB+Ule içeren 2,0 uygulama grubunda 41 (%3,97) ve sadece SDB içeren 2,0 uygulama grubunda ise 7 (%0,65)'dir (Çizelge 4.2.). Çizelge 4.2.'de görüldüğü gibi anormallik yüzdesi Ule konsantrasyonunun artışına bağlı olarak artmaktadır.

Sonuç olarak diyebiliriz ki yüksek konsantrasyonda Ule, DNA'yı metilleyerek *D. melanogaster*'de teratojenik etkiye sebep olmaktadır. Ancak Ule etkisinin ortadan kaldırıldığı yalnızca SDB içeren F₂ nesline ait uygulama gruplarında az sayıda anormal bireyin görülmesi gelişimde etkili olan genlerin (= homeotik genlerin) yapısının değil işlevinin değiştiğini göstermektedir.

Çalışmamızın ikinci aşamasında ise yine farklı konsantrasyonlarda Ule içeren besin ortamlarında yetiştirilen *D. melanogaster*'in dişi ve erkek popülasyonlarına ait ömür uzunluğundaki değişiklikler belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre, kontrol grubuna ait dişilerde maksimum ömür uzunluğu 57 gün olarak bulunmuştur. Ancak kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman Ule konsantrasyonuna bağlı olarak ilk üç uygulama grubunda (0,5- 1,5) ömür 57 günden 74 güne uzamıştır. Bu süre 0,5 uygulama grubunda 60, 1,0 uygulama grubunda 67 ve 1,5 uygulama grubunda da 74 gündür. 2,0 ve 2,5 uygulama grubunda ise ömür uzunluğu sırasıyla 53 ve 46 gün olarak tespit edilmiştir. Bu son iki uygulama grubuna ait maksimum ömür uzunluğu, hem kontrol grubundan hem de ilk üç uygulama grubundan daha kısadır (Çizelge 4.3.).

Kontrol grubuna ait erkeklerde maksimum ömür uzunluğu 53 gün olarak bulunmuştur. Tıpkı dişilerde olduğu gibi 0,5, 1,0 ve 1,5 uygulama gruplarında kontrole göre ömür uzunluğu artış göstermiş ve sırasıyla bu süre 57, 64 ve 71 gün olarak belirlenmiştir. Son iki uygulama grubu olan 2,0 ve 2,5 uygulama gruplarında da ömür uzunluğu kontrol ve ilk üç uygulama gruplarına göre gerilemiş ve bu süre 50 ve 43 gün olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.3.).

Dişi bireylere ait en uzun ortalama ömür 1,5 uygulama grubunda $59,07 \pm 1,22$, en kısa ortalama ömür ise 2,5 uygulama grubunda $31,23 \pm 0,75$ gün olarak belirlenmiştir. Kontrol ve uygulama grupları arasında ömür uzunluğu bakımından ortaya çıkan farklılıklar, sadece 1,0 ve 1,5 uygulama grupları arasında $p > 0,001$ düzeyinde önemsiz,

diğer gruplar arasında ise çeşitli düzeylerde ($p < 0,001$, $p < 0,05$) önemli bulunmuştur (Çizelge 4.3).

Erkek bireylere ait en uzun ortalama ömür 1,5 uygulama grubunda $57,91 \pm 1,19$ ve en kısa ortalama ömür 2,5 uygulama grubunda $30,46 \pm 0,73$ gün olarak saptanmıştır. Uygulama grupları kendi aralarında ve kontrol grubu ile ayrı ayrı karşılaştırıldığı zaman yalnızca 0,5 uygulama grubu ile kontrol grubu arasındaki fark $p > 0,001$ düzeyinde önemsiz bulunurken, diğer gruplar arasındaki fark hem $p < 0,001$ hem de $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.3.).

Drosophila'da ömür uzunluğu, farklı türlerde, aynı türün eşeylerinde ve mutantlar arasında farklılık gösterdiği gibi aynı genotipe sahip populasyonlar farklı çevresel koşullarda farklı ömür uzunluklarına sahip olabilirler (Ünlü ve Bozcuk 1979; Yeşilada vd 1994). Grupların ömür uzunluklarını etkileyebilecek çevresel (sıcaklık, ışık, besin ortamı, populasyon yoğunluğu gibi) ya da içsel faktörler (eşey= cinsiyet, yaş gibi) uygulama ortamında minimuma düşürülmüştür. Deneylerimizde kullandığımız tüm sinekler, aynı ebeveynlerin aynı yaşlı (1- 3 günlük) yavru döllerini ile oluşturulmuştur. Dolayısıyla ömür uzunluğunu etkileyebilecek yaş faktörü elimine edilmiştir. Koç (1998)'a göre, *D. melanogaster*'in aynı sıcaklıkta aynı besin tipiyle beslenen fakat farklı fotoperiyot şartlarına maruz kalan bireylerinde metabolik hız farklıdır ve bu da ömür uzunluğunu etkilemektedir. Allemand ve arkadaşları (1973)'nin yaptığı bir çalışmada karanlıkta erkeklerin %20, dişilerin ise %43'e varan ömür uzunluğu artışı gözlenmiştir. Bu 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. Fred ve Timothy (1997), 10 farklı *Drosophila* populasyonu 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 haftada iki kere aynı günlerde değiştirilerek metabolik artıkların ortamdaki uzaklaşması sağlanmıştır.

Böylece sabit sıcaklık, nem, ışık periyodu ve populasyon yoğunluğu gibi eşit koşullarda tutulan aynı genotipteki sineklerin ömür uzunluklarındaki sapmaların sadece Ule etkisi ile oluşan sapmalar olduğu değerlendirilmesi yapılabilir.

Pearl (1927), 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. Harman (1956), moleküler oksijenin kullanıldığı metabolik faaliyetlerin azaltılarak ömür uzunluğunun arttırılabileceğini ifade etmiştir. Oksijenli solunum yapan bir organizma, normal fizyolojik koşullarda oluşan serbest oksijen radikallerinin toksik etkilerine karşı hücreleri koruyabilen, antioksidan enzimlere sahiptir (Pietta vd 1998). Serbest oksijen radikalleri hücrelerde DNA, protein ve lipid ve diğer moleküllere zarar vermektedir ve hasar yaşla birlikte artmaktadır (Stadtman vd 1992). Serbest oksijen radikalleri gen ekspresyonunun düzenlenmesine, hücre çoğalmasına ve apoptotik hücre ölümüne etki etmektedir (Linnane vd 1992; Wallace 1992). Antioksidan enzimleri içeren yiyecek ve ilaçları içine alan antioksidan savunma sistemi birçok hastalığın önlenmesinde önem taşımaktadır (Yen ve Hsieh 1998). *D. melanogaster*'de yaşlanmayla beraber antioksidatif enzimlerin (katalaz, glutatyon redüktaz) aktivitelerinin ve total glutatyon miktarının azaldığı saptanmıştır. Antioksidan kaynağı olan sebze ve meyvelerin diyetle alınması ile endojen kaynaklı antioksidan savunma sistemlerinin yanında organizma için koruyucu etki oluşturabilir (Ames vd 1993). Katalaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimlerin miktarındaki artışın, *mth* (methuselah), *Indy* (I'm not dead yet), *InR* ve *Chico* gibi genlerin sentezlediği proteinlerin (G-proteini, insülin-like reseptörü, insülin-like reseptör substrat proteini ve dikarboksilik asit transport enzimleri gibi) miktarındaki artıştan kaynaklandığı ve bu enzimlerin koruyucu etkileri ile *D. melanogaster*'de ömür uzunluğununun %30 ila %100 arasında değişen oranlarda arttığı belirlenmiştir (Lin vd 1998; Rogina vd 2000; Tatar vd 2001; Clancy vd 2001). *D. melanogaster*'de *InR* ve *Chico* gibi genlerle sağlanan ömür uzunluğundaki artışın, nematodlarda *age- 1*, *daf- 2*, *clk- 1* ve *eat- 2* ve farelerde *Prop- 1*, *Pit- 1*, *Ghr/bp* ve *Ghrhr* gibi genlerle de sağlandığı hakkında bilgiler mevcuttur. (Warner 2005).

Çalışmamızda kullandığımız *U. longissima* likeninin sahip olduğu difraktaik asit ve usnik asitin serbest oksijen radikallerine karşı süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve indirgenmiş glutatyon (GSH) gibi koruyucu antioksidanların dokulardaki oksidatif hasarı önlediği gösterilmiştir (Halici vd 2005; Bayır vd 2006). Oksidatif stres basit bir şekilde, vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir ve bu durum toksisitenin olası bir mekanizması olarak son on yıldır toksikolojik araştırmaların odağı haline gelmiştir (Mercan 2004).

Çalışmamızda Ule uygulanan ilk üç konsantrasyona (0,5- 1,5) ait bireylerde gözlediğimiz ortalama ömür uzunluğundaki bu artışın Ule'nin antioksidan özelliğinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Muhtemelen Ule antioksidan özelliği nedeniyle organizma üzerinde iyileştirici etkiye neden olmakta ve yaşlanmayı geciktirmektedir. Bu etki artan yaşla birlikte artış gösteren serbest oksijen radikallerinin oluşumunu azaltma ve oksidatif hasarın önüne geçme yönünde olabilir. Son iki gruba (2,0- 2,5) ait bireylerin ortalama ömür uzunluğundaki azalma ise artan Ule konsantrasyonuna bağlı olarak toksik etkinin meydana geldiğini düşündürmektedir. Organizmada meydana gelen toksik etki nedeniyle artan metabolizma hızının solunum hızını ve bu bağlamda serbest radikal oluşumunu da arttırarak hücrel hasara ve ömür uzunluğunda azalmaya neden olduğunu düşünmekteyiz. Daha önce de ifade edildiği gibi çeşitli canlılarda artan doz ile birlikte Ule'nin çeşitli kromozomal anormalliklere sebep oluşu erken yaşlanmayı ve toplu ölümleri açıklamaktadır. Tüm bu sonuçlar literatür bilgisiyle aynı doğrultudadır.

Antioksidan uygulamalarına ait çalışmaların tamamında yaşam sürelerinde anlamlı bir uzama saptanamamıştır. Ancak likenler iyileştirici özelliklerinden dolayı birçok hastalığın tedavisinde kullanılmakta ve ömür uzunluğu üzerinde olumlu etki göstermektedir. Yapılan araştırmalarda usnik asitin sıçanlarda Lewis-Akciğer karsinom testinde ket vurucu etkisi saptanmıştır (Dulger vd 1998). Benzer şekilde, usnik asit kuvvetli bir tümör ajanı olan teleocidine B- 4 ile muamele edilmiş ve Epstein-Barr virüsüne karşı kuvvetli inhibitör etkisi (ED₅₀: 10mg/ml) gösterilmiştir (Yamamoto vd 1995). Usnik, giroforik ve difraktaik asitlerin antiproliferatif ajan özelliğine sahip

olduğu ve insan keratinosit hücrelerini (line HaCaTa) sırasıyla 2,1; 1,7 ve 2,6 μM 'luk IC_{50} değerleriyle inhibe ettiği gösterilmiştir (Kumar ve Müller 1999a,b). Yine aynı araştırmacılar tarafından atranorin, difraktaik asit ve protolikesterinik asitin de polimorfonükleer lökositlerdeki leukotriene B₄ biyosentezini inhibe ettiği gösterilmiştir *Xanthoparmelia scabrosa* likeninden elde edilen birçok scabrosin esterlerinin sıçan P815 mastositoma hücre hattı (IC_{50} : 0,5 μM) ve insan meme MCF7 karsinoma hücre hattına (IC_{50} : 1 μM) karşı sitotoksik etki gösterdiği de bulunmuştur (Ernst-Russell vd 1999).

Şekil 4.7. ve Şekil 4.8.'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 bağlı olarak artıyorsa o populasyon yaşlanmaktadır (Pearl ve Miner 1927; Maynard Smith 1958).

Çalışmamızda *D. melanogaster*'in erkek ve dişi bireyelerine ait ortalama ömür uzunluğu birbiriyle karşılaştırıldığı zaman, kontrol ve tüm deney gruplarında dişi bireylerin erkek bireylerden daha uzun ömürlü olduğu görülmüştür. Çizelge 4.4.' de görüldüğü gibi iki eşey arasında ortalama ömür uzunluğu bakımından gözlenen bu fark, yalnızca 0,5 uygulama grubunda istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. Bu uygulama grubunun dışındaki diğer gruplarda erkek ve dişi arasında ömür uzunluğu bakımından gözlenen fark, istatistiksel olarak önemli değildir ($p > 0,05$).

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). *D. melanogaster*'de aynı eşeyin çiftleşmiş bireyelerinin virgin bireyelerine göre daha kısa ömür uzunluğuna sahip olduğu da gösterilmiştir (Davies vd 2005). Bizim çalışmamızda da kontrol ve tüm deney gruplarında erkeklerin dişilere göre daha kısa ömürlü olmasına rağmen ortalama ömür uzunlukları

bakımından 0,5 uygulama grubu dışında dişi ve erkek bireyler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p < 0,05$).

Sonuç olarak, likenlerin *D. melanogaster*'in gelişim parametreleri üzerine etki mekanizmaları konusunda literatür bilgisi çok fazla değildir. Başka bir ifadeyle, objektif ve yinelenen bir neden- sonuç ilişkisi henüz gösterilememiştir. Çalışmanın bir diğer amacı da, buradan elde edilecek bulguların mevcut literatüre açıklık getirmesine katkıda bulunmak üzere konuyu daha ileri ve ayrıntılı düzeyde inceleyebilmek için bir temel oluşturmaktır.

KAYNAKLAR

- Ahad, A. M., Goto, Y., Kiuchi, F., Tsuda, Y., Kondo, K., Sato, T., 1991. Nematocidal principles in "oakmoss absolute" and nematocidal activity of 2,4-dihydroxybenzoates. *Chem. Pharm. Bull.*, 39, 1043.
- Ahmadjian, V., 1993. The lichen symbiosis. Wiley, New York, pp. 1-6.
- Aigaki, T., Seong, K. H., Matsuo, T., 2002. Longevity determination genes in *D. melanogaster*. *Mech. Age. and Develop.*, 123 (12), 1531- 1541.
- Al-Bekairi, A. M. and Qureshi, S., 1991. Mitodepressive, clastogenic and biochemical effects of (-) usnic acid in mice. *J. Ethnopharmacol*, 33, 217– 220.
- 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.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K., Hagen, T. M., 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *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., Vettraino, 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.
- Asahina, Y., 1967. Lichenologische Notizen (§205). *J. Jap. Bot.*, 42, 289– 294.
- Ashburner, M., and Wright, T. R. F., 1978. The genetics and biology of *Drosophila*. volume 2c, Academic Press Ltd, London, 617 p.
- Bağcı, G., Bağcı, H., Bozcuk, A. N., 1990. Minimum sıcaklık dalgalanmalarının ömür uzunluğuna etkisi. *Doğa-Tr. J. of Biology*, 14, 1- 5.
- Bağcı, G., ve Bozcuk, A. N., 1991. Ergin *Drosophila*'nın ömür uzunluğuna sıcaklık ve ışığın etkisi. *Doğa-Tr. J. Of Biology*, 15, 124- 131.
- Barnes, P. T., 1984. A maternal effect influencing larval viability in *Drosophila melanogaster*. *J. Hered.*, 75, 288- 292.
- Bayır, Y., Odabasoglu, F., Cakir, A., Aslan, A., Suleyman, H., Halici, M., Kazaz, C., 2006. The inhibition of gastric mucosal lesion, oxidative stress and neutrophil-infiltration in rats by the lichen constituent diffractaic acid. *Phytomedicine*, 13, 584- 590.
- Behera, B.C., Verma, N., Sonone, A., Makhija, U., 2005. Evaluation of antioxidant potential of the cultured mycobiont of a lichen *Usnea ghattensis*. *Phytother. Res.*, 19, 58–64.
- Bian, X., Jin, J., Ding, D., Zhang, H., 2002. Study on the scavenging action of polysaccharide of *Usnea longissima* to oxygen radical and its anti-lipid peroxidation effects, *Zhong. Yao. Cai.*, 25 (3), 188- 9.
- Blackwell, W. H., 1990. Poisonous and Medicinal Plants. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, p. 103.
- Bourg, E. L., Valenti, P., Lucchetta, P., Payer, F., 2001. Effects of mild heat shocks at young age on aging and longevity in *Drosophila melanogaster*. *Biogerontol.*, 2, 155- 164.
- 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.
- 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.
- Braasch, J., Jacobsen, P., 1991. Flechten und ihre Allergene. *Allergologie*, 14, 99- 103.
- Bridges, C. M., 2000. Long- term effects of pesticide exposure at various life stages of the southern leopard frog (*Rana sphenoccephala*) *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 39, 91– 96.
- Cadiou, N., 1983. Maternal influence and the effect of heterosis on the viability of *Drosophila melanogaster* during different preimaginal stages. *Can. J. Zoo.* 1., 61, 1152- 1155.
- Cardarelli, M., Serino, G., Campenella, L., Ercole, P., De Cicco Nardone, F., Alesiani, O., and Rossiello, F., 1997. Antimitotic effects of usnic acid on different biological systems. *CHEM*, 53, 667- 672.
- 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, B424– B431.
- Charlesworth, B., 1994. *Evolution in age- structured populations*, Cambridge, England: Cambridge Uni. Press.
- Clancy, D. J., Gems, D., Harshman, L. G., Oldham, S., Stocker, H., Hafen, E., Leivers, S. J., Partridge, L., 2001. Extension of life-span by loss of CHICO, a *Drosophila* insulin receptor substrate protein. *Science* 292, 104– 106.
- Cocchietto, M., Skert, N., Nimis, P. L., and Sava, G., 2002. A review on usnic acid, an interesting natural compound. *Naturwissenschaften*, 89, 137- 146.
- Conover, M. A., Mierzawa, R., King, A., Loebenberg, D., Bishop, W. R., Puar, M., Patel, M., Coval, S. J., Hershenhorn, J., Strobel, G. A., 1992. Usnic acid amide, a phytotoxin and antifungal agent from *Cercosporidium henningsii*. *Phytochemistry*, 31, 2999.
- Cook, N. C., Samman, S., 1996. Flavonoids- Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Nutr. Biochem.*, 7, 66- 76.
- Curtis, B. A. 1966. Ca fluxes in single twitch muscle fibers. *J. Gen. Physiol.*, 50, 255.
- Davies, S., Kattel, R., Bhatia, B., Petherwick, A., Chapman, T., 2005. The effect of diet, sex and mating status on longevity in Mediterranean fruit flies (*Ceratitis capitata*), Diptera: Tephritidae. *Exp. Geront.*, 40, 784– 792.
- Dayan, F. E. and Romagni, J. G. 2001. Lichens as a potential source of pesticides. *Pesticide Outlook*, 12, 229- 232.
- Demir, E., Ekinçi, D., Kocaoğlu, S., Kaya, B., 2006. *Drosophila melanogaster*'de kobalt klorür ve potasyum dikromatın ömür uzunluğu üzerine etkisinin araştırılması. XVIII. Ulusal Biyoloji Kongresi Özet Kitabı, Kuşadası/Aydın.
- Demirsoy, A., ve Bozcuk, A. N., 1997. Ölümün evrimsel öyküsü, Editör; Gökçe-Kutsal, Y., Çakmakçı, M., Ünal, S., Geriatri, Hekimler Yayın Birliği, Ankara, 1- 6.
- Doane, W. W., 1967. Quantitation of amylases in *Drosophila* separated by acrylamide

- gel electrophoresis, *J. Exp. Zool.*, 164 (3), 363-377.
- Droge, W., 2002. Free radicals in physiological control of cell functions. *Physiol. Rev.*, 82, 47-95.
- Dulger, B., Guçin, F., Aslan, A., 1998. *Cetraria islandica* (L.) Ach. Likenin antimikrobiyal aktivitesi. *Tr. J. Biol.*, 22, 111-118.
- Economus, A. C. and Lints, F. A., 1986. Developmental temperature and life span in *Drosophila melanogaster*. *Gerontology*, 32 (1), 18- 27.
- Emmerich, R., Giez, I., Lange, O. L., Proksch, P., 1993. Toxicity and antifeedant activity of lichen compounds against the polyphageous herbivorous insect *Spodoptera littoralis*. *Phytochemistry*, 33, 1389.
- Ernst-Russell, M. A., Chai, C. L. L., Hurne, A. M., Waring, P., Hockless, D. C. R., Elix, J. A., 1999. Structure revision and cytotoxic activity of the scabrosin esters, Epidithiopiperazinediones from the lichen *Xanthoparmelia scabrosa*. *Aust. J. Chem.*, 52, 279.
- Evans, F. J., Schmidt, R. J., 1980. Plants and plant products that induce contact dermatitis. *Planta Med*, 38, 289.
- 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.
- Fiedler, E., Gambaro, V., Garbaino, J. A., Quihot, W., 1986. Epiphorcilic acids 1 and 2 diary ethers from the lichen *Camicularia epiphorella*. *Phytochemistry*, 25, 461-465.
- Finch, C. E., 1990. Longevity, senescence and the genome. Univ. Of Chicago Press, Chicago.
- Fisher, R. A., 1930. The genetical theory of selection. Clarendon Pres. Oxford.
- Fleuriet, A., and Vageille, M. C., 1982. On the maintenance of the polymorphism at the ref (2) p locus in population of *Drosophila melanogaster*. *Genetica*, 59, 203- 210.
- Fournet, A., Ferreira, M. E., Rojas de Arias A, Torres de Ortiz, A., Inchausti, A., Yaluff, G., Quihot, W., Fernandez, E., Hidalgo, M. E., 1997. Activity of compounds isolated from Chilean lichens against experimental cutaneous leishmaniasis. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 116, 51.
- 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.
- Fry, A. J., and Rand, D. M., 2002. *Wolbachia* interactions that determine *D. melanogaster* survival. *Evolution*, 56 (10), 1976- 1981.
- Gardner, C. R, and Mueller, D. M. J., 1981. Factors affecting the toxicity of several lichen acids: effect of PH and lichen acid concentration, *Amer. J. Bot.*, 68 (1), 87- 95.
- Giez, I., Lange, O. L., Proksch, P., 1994. Growth retarding activity of lichen substances against the polyphageous herbivorous insect *Spodoptera littoralis*. *Biochem. Systemat. Ecology.*, 22, 113.
- 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.
- Gulcin, I., Oktay, M., Kufreviçlu, O. I., Aslan, A., 2002. Determinations of antioxidant

- activity of lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. J. Ethnopharm., 79, 325–329.
- Haldane, J. B. S., 1941. New Paths in Genetics, Ailen and Unwin, London.
- Hale, M. E., 1974. Biology of lichens, (E. J. W. Barrington and A. J. Willis, eds.), Edward Arnold, London.
- Halici, M. G., Aksoy, A., 2004. Likenlerin ekonomik önemleri ve Yerköy civarında tespit edilen bazı liken türleri. Her Yönüyle Yerköy Sempozyum Kitapçığı, 127- 137.
- Halici, M., Odabasoglu, F., Suleyman, H., Cakir, A., Aslan, A., Bayir, Y., 2005. Effects of water extract of *Usnea longissima* on antioxidant enzyme activity and mucosal damage caused by indomethacin in rats. Phytomedicine, 12, 656– 662.
- Halonen, P., 2000. Studies on the lichen genus *Usnea* in East Fennoscandia and Pacific North America, Oulu University Library.
- Hamilton, W. D., 1966. The moulding of senescence by natural selection. J. Theor. Biol., 12, 12-45.
- Harman, D., 1956. Ageing: a theory based in free radical and radiation chemistry. J. Gerontol., 2, 298- 300.
- Harman, D. 1981. The aging 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 Aging, 20, 521- 529.
- Hidalgo, M. E., Fernandez, E., Quilhot, W., Lissi, E., 1994. Antioxidant activity of depsides and depsidones. Phytochemistry, 37, 1585– 1587.
- Houghton, P. J., Manby, J., 1985. Medicinal plants of the Mapuche. J. Ethnopharmacol, 13, 89– 103.
- Huang, M. T., Ho, C. T., Lee, C. Y., 1992. Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health. II. Antioxidants and Cancer Prevention, ACS Symposium Series 507. American Chemical Society, Washington, DC.
- Hughes, K. A., and Charlesworth, B., 1994. A genetic analysis of senescence in *Drosophila*. Nature, 367, 64- 66.
- Huneck, S., 1999. The significance of lichens and their metabolites. Naturwissenschaften, 86. 559- 570.
- Huneck, S. and Yoshimura, Y., 1996. Identification of lichen substances. Springer. Berlin Heidelberg New York.
- Huovinen, K., Lampero, M., 1989. Usnic acid as a mitotic inhibitor in the *Allium test*. Planta. Med., 55, 98
- Ingólfssdóttir, K., Bloomfield, S. F., Hylands, P. J., 1985. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of lichen metabolites as potential preservatives. Antimicrob. Agents and Chem., 28, 289.
- Ingólfssdóttir, K., 2002. Molecules of interest: usnic acid. Phytochemistry, 64, 729– 736.
- Jayaprakasha, G. K., Jaganmohan, Rao L., 2000. Phenolic constituents from the lichen *Parmotrema stippeum* Hale and their antioxidant activity. Zeitsch. Fur. Naturf. 55, 1018–1022.
- Jordens, R. G., Berry, M. D., Gillott, C., Boulton, A. A., 1999. Prolongation of Life in an Experimental Model of Aging in *Drosophila melanogaster*. Neurochem. Res., 24 (2), 227- 233.
- Kathirgamanathar, S., Williams, D. E., Andersen, R. J., Bombuwela, K., De Silva, D., Karunaratne, V., 2005. Beta- orcinol depsidones from the lichen *Usnea*

- sp.* from Sri Lanka. Nat. Pro. Res., 19 (7), 695–701.
- Kence, A., 1987. Türkiye'nin Biyolojik Zenginlikleri. 316p, TÇSV yayını, Ankara.
- Kerver, W. J. M. and Rotman, G., 1987. Development of ethanol tolerance in relation to the alcohol dehydrogenase locus in *Drosophila melanogaster* II. The influence of phenotypic adaptation and maternal effect on alcohol supplemented media. Heredity, 58, 239- 248.
- Kingsbury, J. M., 1964. Poisonous Plants of the United States and Canada. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- Koç, Y., 1998. Fotoperiyot ve besin çeşidinin *Drosophila melanogaster*'in gelişim süresi, ergin hayat süresi, verim ve eşey oranına etkisi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Samsun.
- Kumar, K. C. S., Müller, K., 1999a. Lichen metabolites 2. Antiproliferative and cytotoxic activity of gyrophoric, usnic and diffractaic acid on human keratinocyte growth. J. Nat. Prod., 62, 821– 823.
- Kumar, S., Muller, K., 1999b. Depsides as non- redox inhibitors of leukotriene B4 Biosynthesis and HaCaTa cell growth; Novel analogues of barbatic and diffractaic acid. Eur. J. Med. Chem., 34, 1035– 1042.
- Lal, B., Upreti, D. K., 1995. Ethnobotanical notes on three Indian lichens. Lichenologist, 27, 77 -79.
- Lawrey, J. D., 1986. Biological role of lichen substances. Bryologist, 89, 111.
- Lawrey, J. D., 1989. Lichen secondary compounds: evidence for a correspondence between antiherbivore and antimicrobial function. Bryologist, 92, 326.
- Lawrence, J. G., and Hartl, D. L., 1992. Inference of horizontal genetic transfer from Molecular data: an approach using the bootstrap. Genetics, 131 (3), 753- 0.
- Liddle, C. G., Putnam, J. P., Huey, O. P., 1994. Alteration of life span of mice chronically exposed to 2,45 GHz CW microwaves. Bioelectromagnetics, 15, 177- 181.
- Lin, Y. J., Seroude, L., Benzer, S., 1998. Extended life- span and stress resistance in the *Drosophila* mutant *methuselah*. Science, 282, 943- 946.
- Linnane, A.W., Zhang, C., Baumer, A., Nagley, P., 1992. Mitochondrial DNA mutation and the ageing process: bioenergy and pharmacological intervention. Mutat. Res, 275, 195- 208.
- Lints, F. A., 1971. Life span in *Drosophila*. Gerontologia, 17, 33- 51.
- 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.
- Ma, T. H., and Chu, K. C., 1993. Effect of the extremely low frequency (ELF) electromagnetic field (EMF) on developing embryos of the fruit fly (*Drosophila melanogaster* L.). Mutat. Res., 303, 35- 39.
- Maynard Smith, J., 1958. The effects of temperature and of egg- laying on the longevity of *Drosophila subobscura*. J. Exp. Biol., 35, 832- 842.
- Medawar, P. B., 1952. An unsolved problem of biology. H. K. Lewis, London, pp. 1- 55.
- Mercan, U., 2004. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. Yüzüncü Yıl Üni. Vet. Fak. Derg., 15, 91- 96.
- Marec, F., Ondracek, J., Brunnhofer, V., 1985. The effect of repeated irradiation on

- the frequency of sex- linked recessive lethal mutations in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, 157, 163- 167.
- 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.
- Muller, K., 2001. Pharmaceutically relevant metabolites from lichens. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 56, 9– 16.
- Nash III, T. H., 1996. *Lichen Biology*. Cambridge University Pres.
- Nishitoba, Y., Nishimura, H., Nishiyawa, T., Mizutani, J., 1987. Lichen acids, plant growth inhibitors from *Usnea longissima*. *Phytochemistry*, 26, 3181- 3185.
- Norry, F. M., and Loeschke, V., 2002. Temperature-induced shifts in associations of longevity with body size in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 56 (2), 299- 306.
- Odabasoglu, F., Aslan, A., Cakir, A., Suleyman, H., Karagoz, Y., Halici, M., Bayir, Y., 2004. Comparison of antioxidant activity and phenolic content of three lichen species. *Phytother. Res.* 18, 938–941.
- 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.
- Ozturk, S., 1995. Yüzyılların Çevrecisi Likenler. *Bilim ve Teknik*, 328, 74–79.
- Parsons, P. A., Roman, H. L., Sandler, L. M., Campell, A., 1973. Annual review of genetics, vol.7, *Ann. Rev. Inc.*, California, 504p.
- Partridge, L., 2001. Evolutionary theories of ageing applied to long-lived organisms. *Exp. Geront.*, 36, 641- 650.
- 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. Nat.*, 61, 289-318.
- Pearl, R. and Miner, J. R., 1935. Experimental studies on the duration of life XIV: The comparative mortality of certain lower organism, *Quart. Rev. Biology*, 10, 60- 79.
- Pietta, P., Simonetti, P., Mauri, P., 1998. Antioxidant activity of selected medicinal plants. *J. Agric. Food. Chem.*, 46, 4487–4490.
- Pletcher, S. D., Houle, D., Curtsinger, J. W., 1998. Age- specific properties of spontaneous mutations affecting mortality in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 148, 287- 303.
- Proksa, B., Sturdíková, M., Prónayová, N., Liptaj, T., 1996. (–) – Usnic acid and its derivatives. Their inhibition of fungal growth and enzyme activity. *Pharmazie*, 51,195.
- Purvis, W., 2000. *Lichens. The Naturel History Museum*, London.
- Rapsch, S. and Ascaso, C., 1985. Effect of Evernic Acid on Structure of Spinach Chloroplasts, *Ann. of Bot.*, 56, 467- 473.
- Rockstein, M., and Miquel, J., 1973. *Aging in insects, The Phy. of Ins.*, Academic Pres, New York, 1, 371- 478.
- Rogina, B., Helfand, S. L., Frankel, S., 2002. Longevity regulation by *Drosophila* Rpd3 deacetylase and caloric restriction. *Science*, 298, 1745.
- 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 aging in *Drosophila*. *Exp. Geront.*, 34, 577- 585.
- Sarıkaya, R., Çakır, Ş., Solak, K., 2006. Gıdalardaki koruyucu maddelerin *Drosophila melanogaster*' de (mwhxflr) ömür uzunluğuna etkisi. *Kastamonu Eğitim Dergisi*, 14 (1), 173- 184.
- Schindler, H., 1988. Zur Geschichte der Anwendung von Flechten (Lichenes) in der Medizin. *Carolinea*, 4631- 46.
- Sestini, 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.
- Sherman, P. W. and Jarvis, J. U. M., 2002. Extraordinary life spans of naked male-Rats (*Heterocephalus glaber*). *J. Zool. Lond.*, 258, 307-311.
- Shibata, S., 1968. Antitumour activities of lichen polysaccharides. *Z. Krebsforsch.*, 71, 102.
- Slansky, F. JR., 1979. Effects of the lichen chemicals atranorin and vulpinic acid upon feeding and growth of larvae of the yellow- striped armyworm, *Spodoptera ornithogallii*. *Environ. Ento.*, 8, 865- 868.
- Sohal, R. S., Orr, W. C., 1992. Relationship Between Antioksidant and the Aging Process. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 663, 74- 78.
- Sokal, R. And Rohlf, F. J., 1995, *Biometry*, 3rd ed., W. H. Freeman and Company, N.Y, 887 p.
- Søchting, U., 1999. Lichens of Bhutan Biodiversity and Use. University of Copenhagen Botanical Institute, Department of Mycology.
- Söderberg, U., 1953. A note on the action of usnic acid on anesthetized cats. *Acta. Physiol. Scand.*, 28, 202– 210.
- Stadtman, E. R., 1992. Protein oxidation and aging. *Science*, 257, 1220- 1224.
- Steinmetz, K. A., and Potter, J. D., 1996. Vegetables, fruit, and cancer prevention: A review. *J. Am. Diet. Assoc.*, 96, 1027-1039.
- Sucharita, B., Malleshwar, D., Manoharachary, C., Mulaikrishna, K., 1983. Extraction of lecanoric acid from *Parmalia andina* Müll. Arg. and its effect on mitosis in *Allium cepa* L. root tips. *Curr. Sci. (India)*, 52, 21.
- Suleyman, H., Odabasoglu, F., Aslan, A., Cakir, A., Karagoz, Y., Gocer, F., Halici, M., Bayir, Y., 2003. Antiinflammatory and antiulcer effects of aqueous extract of *Lobaria pulmonaria*. *Phytomedicine*, 10, 552– 557.
- 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.
- Tatar, M., Kopelman, A., Epstein, D., Tu, M. P., Yin, C. M., Garofalo, R. S., 2001. A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends lifespan and impairs neuroendocrine function. *Science*, 292, 107– 110.
- Thøgersen, P. J. and Høiland, K., 1976. Chemical investigation of *Usnea longissima* in Norway. *Norw. J. Bot.*, 23, 115– 116.
- Thune, P. O., Solberg, Y. J., 1980. Photosensitivity and allergy to aromatic lichen acids, compositae oleoresins and other plant substances. *Contact Dermatitis*, 6, 81.
- 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.
- Ünlü, H., 1991a. *Drosophila melanogaster* ömür uzunluğunda yellow alellerinin

- heterozis etkisinin farklı backgroundlarda incelenmesi. Doğa- Tr. J. of Biology, 15, 98- 109.
- Ünlü, H., 1991b. *Drosophila melanogaster* ömür uzunluğunda yellow allellerinin heterozis etkisi ve heteroziste allel farklılıkları. Doğa- Tr. J. of Biology, 15, 132- 138.
- Vartia, K. O., 1973. Antibiotics in Lichens. Academic Press, 547- 61, New York.
- Virtanen, O. E., Kärki, N., 1956. On the toxicity of an usnic acid preparation with the trade name USNO. Suom. Kemistilehti 29B, 225- 226.
- Wallace, D. C., 1992. Mitochondrial genetics: a paradigm for aging and degenerative diseases? Science, 256, 628- 32.
- Warner, H. R., 2005. Longevity genes; from primitive organisms to humans. Mech. Age. and Dev., 126, 235- 242.
- Whiton, J. C., Lawrey, J. D., 1982. Inhibition of *Cladonia cristatella* and *Sordaria fimicola* ascospore germination by lichen acids. Bryologist, 85, 222- 226.
- Whiton, J. C., Lawrey, J. D., 1984. Inhibition of crustose lichen spore germination by lichen acids. Bryologist, 87, 42- 43.
- Williams, G. C., 1957. Pleiotropy, natural selection and the evolution of senescence. Evolution, 11, 398- 411.
- Yamamoto, Y., Kinoshita, Y., Matsubara, H., Kinoshita, K., Koyama, K., Takahashi, K., Kurokawa, T., Yoshimura, I., 1995. Screening of biological activities and isolation of biological active compounds from lichens. Recent. Res. Dev. Phytochem, 2, 23-34.
- 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.
- Yen, G. C., Hsieh, C. L., 1998. Antioxidant activity of extracts from Du- Zhong (*Eucommia ulmoides*) toward various lipid peroxidation models *in vitro*. J. Agric. Food. Chem., 46, 3952-3957.
- 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, Zooloji Seksiyonu, 4, 25- 33.
- Zeybek, U., John, V., 1992. Likenler (Lichenes) Kimyasal Bileşikleri ve Tıbbi Kullanımları. Pharmacia-JTPA, 31(1), 37- 48.
- Zou, S., Meadows, S., Sharp, L, Jan, L. Y., Jon, Y. N., 2000. Genome-wide study of aging and oxidative stress response in *Drosophila melanogaster*. PNAS, 97 (25), 13726- 13731.

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Erzurum'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Erzurum'da tamamladı. 2000 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nden 2004 yılında mezun oldu. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji Bilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nde, öğrenimine devam etmektedir.