

***Drosophila melanogaster*'de LARVAL VE ERGİN DÖNEM
BESİN KISITLAMASININ ÖMÜR UZUNLUĞU ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**THE EFFECT OF DIETARY RESTRICTION AT LARVAL
AND ADULT STAGE ON LIFE SPAN IN
*Drosophila melanogaster***

PINAR GÜLER

Doç. Dr. ERGİ DENİZ ÖZSOY

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2014

Pınar Güler'in hazırladığı “*Drosophila melanogaster*'de Larval ve Ergin Dönem Besin Kısıtlamasının Ömür Uzunluğu Üzerine Etkisinin Araştırılması” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Üye

(Prof. Dr. Hacer Ünlü)

.....

Danışman

(Doç. Dr. Ergi Deniz Özsoy)

.....

Üye

(Prof. Dr. Selim Sualp Çağlar)

.....

Üye

(Prof. Dr. İrfan Kandemir)

.....

Üye

(Doç. Dr. Utku Perктаş)

.....

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Mücadele edenlere...

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
 - atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
 - kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
 - ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı
- beyan ederim.

13 / 01 / 2014

Pınar GÜLER

ÖZET

***Drosophila melanogaster*'de LARVAL VE ERGİN DÖNEM BESİN KISITLAMASININ ÖMÜR UZUNLUĞU ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

PINAR GÜLER

Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ergi Deniz ÖZSOY

Ocak 2014, 85 sayfa

Yaşlanma sürecini tanımlamak için en temel yaşam öyküsü karakteri ömür uzunluğudur. Ömür uzunluğu, yaşayabilirliği düşüren tüm faktörlerden etkilenmektedir. Bu nedenle değişen çevre koşullarında organizmanın genotipi ve çevresel değişkenlerin etkisi ile ömür uzunluğunda varyasyon görülmektedir.

Bu tez çalışması, çevresel bir değişken olan besin kısıtlamasının ömür uzunluğuna etkisini ortaya koymaktadır. Açlık direnci özelliğine göre seçilen dört izosoy ile gerçekleştirilen çalışmada, larval ve ergin dönemde uygulanan besin kısıtlamasının ömür uzunluğu üzerine etkisi araştırılmıştır.

Elde edilen verilere göre ergin dönem beslenmesi ömür uzunluğu üzerine doğrudan etkilidir. Larval dönem beslenmesinin ömür uzunluğu üzerinde tek başına anlamlı bir etkisi bulunmamıştır. Larval donemdeki beslenme süreci ergin donemdeki beslenmeyle birlikte birikimsel bir etki oluşturmaktadır. Bunun yanında optimum olarak kullanılan maya miktarı (100 g/l) üzerinden yapılan besin kısıtlamasının ömür uzunluğunda düşüşe, 20 g/l ve daha az maya miktarının ise çevresel stres sonucu ölüm hızında artışa neden olmuştur.

Ayrıca, açlık direnci özelliğine göre seçilen izosoyların bu özellikten bağımsız olarak kendi genetik altyapıları ön plana çıkmış ve açlık direnci ile ömür uzunluğu arasında bir ilişki görülmemiştir. Soyların kendilemiş olmaları nedeniyle genetik alt yapılarının farklı genomik

profiller için homojen hale gelmesi, yaşlanma sürecini etkileyen bir diğer etmen olabilir. Bu nedenle besin kısıtlamasına bağlı çevresel stres ve kendileşme gibi yaşa bağlı olmayan ölüm oranını arttıran faktörlerin etkisi, yaşa bağlı olmayan yüksek ölüm oranı ile doğrulanmıştır.

Anahtar kelimeler: Ergin dönem besin kısıtlaması, larval dönem besin kısıtlaması, ömür uzunluğu, açlık direnci, çevresel stres, yaşa bağlı ölüm oranı.

ABSTRACT

THE EFFECT OF DIETARY RESTRICTION AT LARVAL AND ADULT STAGE ON LIFE SPAN IN

Drosophila melanogaster

PINAR GÜLER

Master of Science, Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ergi Deniz ÖZSOY

January 2014, 85 pages

Life span is the main life history trait to describe aging. Life span is affected by many factors that can reduce the viability. In general, life span varies with genotype and environmental factors related.

In this study, the effect of dietary restriction, which is strong environmental variable for life span was investigated. In particular, life spans of the different starvation resistance lines which were food restricted at larval and adult stages were analysed. We study the effect of dietary restriction on larval and adult stage of life span with four isofemale line selected by starvation resistance.

The findings indicate that dietary restrictions at adult stage have higher impact on life span compared larval dietary restriction. However, restricted feeding in both larval and adult stages has a cumulative effect on life span. In general, dietary restriction which was created by reducing yeast levels from the optimum amount (100 g/l) reduces the mean life span. Additionally, stressing flies with 20 g/l and lower yeast levels leads to increase the mortality rate.

Our results also indicate that inbreeding in isofemale lines can lead to dissimilar life spans because of their possibly line specific genetic background. To confirm the environmental

stress we calculated the factor influencing the rate of mortality at all ages and found higher values of reduced yeast levels.

Keywords: Adult diet restriction, larval diet restriction, Life span, starvation resistance, environmental stress, age-specific mortality rate.

TEŞEKKÜR

Tanıdığım ilk günden bu yana hem bilimsel tecrübe ve heyecanımla hem de güven veren yakınlığı ve sevgisiyle hep yanımda olan, beni hayatta her şeyi başarabileceğime inandıran ve üzerimde çok emeği olan sevgili hocam Dr. Banu Şebnem Önder'e sonsuz teşekkür ederim. Bu tez onun katkıları ve bilimsel heyecanımla şekillenmiştir.

Evrimsel Biyoloji'ye olan ilgimi sayesinde keşfettiğim, bilimsel birikiminden son derece etkilendiğim danışmanım Doç. Dr. Ergi Deniz Özsoy'a teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım boyunca güler yüzünü ve desteğini esirgemeyen hocalarım Uzm. Dr. Güzin Emecen ve Prof. Dr. Hacer Ünlü'ye çok teşekkür ederim. Çalışmalarım boyunca bütün imkanlarını benimle sonuna kadar paylaşan Dr. Özge Erişöz Kasap'a çok teşekkür ederim.

Zorluklarla geçen yüksek lisans hayatım boyunca en büyük motivasyonum olan, varlığından her zaman destek aldığım ekip arkadaşım ve dostum Nazlı Ayhan'a çok teşekkür ederim. Nazlı'nın bu çalışmada en az benim kadar emeği bulunmaktadır. Canım arkadaşımaya hayatı boyunca başarılar dilerim.

Tezime sunduğu katkılardan dolayı sayın jüri üyelerim, Prof. Dr. Hacer Ünlü, Prof. Dr. Selim Sualp Çağlar, Prof. Dr. İrfan Kandemir ve Doç. Dr. Utku Perktas'a teşekkür ederim. Aynı laboratuvarı paylaştığım arkadaşlarım Özge Sezer, Bahar Patlar, Hadi Ershraghi ve Alper Orhan'a, ne zaman kapısını çalsam yardımını hiç esirgemeyen ve birlikte çalışmanın ayrı bir zevk olduğu pek değerli arkadaşım Can Koşukcu'ya çok teşekkür ederim.

Geriye dönüp baktığımda her şeyden çok onların olduğunu gördüğüm, isimlerini yazamadığım ancak onların kendilerini çok iyi bildikleri pek sevgili arkadaşlarıma çok teşekkür ederim. Hayatım boyunca yanımda olmanızı dilerim. Benimle her durumda gurur duymasının beni inanılmaz mutlu ettiği, her zaman yanımda olan ve olmasını dilediğim sevgili Bengisu Uluyurt ve ailesine çok teşekkür ederim.

Ailem...Hayatım boyunca ne yapsam arkamda duran ve desteğini arkamda hissettiğim an tüm güçlükleri aşabileceğime inandığım canım babam Kemal Güler'e, "hiç tanımasam da annem olduğunu anlardım" diye düşündüğüm canım annem Afiyet Güler'e ve hayatta en değerli olan kardeşim Çağlar Güler'e sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmamaya destek sağlayan TÜBİTAK Temel Bilimler Araştırma Grubu'na (Proje No:212T170) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜRLER	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİLLER	vii
ÇİZELGELER	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	2
2.1 Yaşlanma.....	2
2.2. Yaşlanma Teorileri.....	4
2.3. Yaşlanmanın genetiği.....	10
2.4. Çevresel Etmelerin Yaşlanma Üzerine Etkisi	15
2.4.1 Besin Kısıtlamasının (BK) Yaşlanma Üzerine Etkisi	16
2.5 Yaşlanmanın Demografik Olarak Ölçümü.....	21
2.6. Yaşlanma Çalışmalarında Kullanılan Model Organizmalar	24
2.6.1 İzosoyların Kullanılması ve Önemi.....	25
3. MATERYAL ve METOD.....	26
3.1. Kullanılan Soylar.....	26
3.1.1 Standart Soy	26
3.1.2 İzosoylar	26
3.2. Deney Koşulları.....	27
3.2.1. Soyların Kültürü ve Laboratuvar Koşullar	27
3.2.2. Soyların Deneye Hazırlanması.....	28
3.2.3 Besin Tipleri ve Hazırlanması.....	29

3.3 DeneYlerin Yapılışı	29
3.3.1 Açlık Direncinin Ölçülmesi	29
3.3.2 Ömür Uzunluğu Deneyi	31
3.3 Yaşı Bağlı Ölüm Oranlarının Hesaplanması	35
3.4 Hayatta Kalma Eğrilerinin Oluşturulması.....	36
3.5 Verilerin Analizi.....	36
4. BULGULAR	38
4.1 Açlık Direncinin Belirlenmesi	38
4.2 Ömür Uzunluğu.....	39
4.2.1 Larval Dönem Besin Kısıtlamasının Ömür Uzunluğuna Etkisi (1. Deney Seti).....	40
4.2.2 Ergin Dönem Besin Kısıtlamasının Ömür Uzunluğuna Etkisi (2. Deney Seti)	42
4.2.3 Larval ve Ergin Dönem Besin Kısıtlamasının Ömür Uzunluğuna Etkisi (3. Deney Seti).....	43
4.2.4 Tüm Soy Hatları, Eşey ve Besin Gruplarının Genel Örüntülerinin Analizi.....	45
4.2.5 Yaşı Bağlı Olan ve Olmayan Ölüm Oranlarının Ölçülmesi (Gompertz Modeli).....	49
4.2.6 Soy Hatlarının Ömür Uzunluğu ve Hayatta Kalış Eğrileri Varyasyonları.....	51
5. SONUÇ VE TARTIŞMA.....	66
6. KAYNAKLAR.....	71
EKLER	81
Ek 1: Soy hatlarının dişi ve erkeklerine ait ortalama açlık direnci süreleri.....	81
Ek 2: Ömür uzunluğu deneyinde kullanılan soylara ait a ve b değerleri.....	82
ÖZGEÇMİŞ	85

ŞEKİLLER

Sayfa

- Şekil 2.1** Doğal populasyonlarda artan yaşla doğal seçim etkisi ve mortalite değişimi. (A) Artan yaş ile azalan seçim baskısı (B) Artan yaş ile artan mortalite ve doğal seçilimin değişen etkisi [21] 6
- Şekil 2.2** Disposable soma teorisinin şematize edilmiş hali [26]..... 7
- Şekil 2.3** Farklı yüksekliklerde yetişen *Achillea* türlerinin bitki boyu varyasyonun gösteren reaksiyon normları [61] 14
- Şekil 2.4** Genotip – Fenotip ilişkisi [62]. 14
- Şekil 2.5** Besin bileşenlerinden sadece maya, sadece şeker ve her ikisinin de kısıtlanmasına bağlı olarak ömür uzunluğunda gözlenen artışı gösteren yaşayabilirlik grafiği [99]. 18
- Şekil 2.6** İçi boş noktalar yumurta üretimini, içi dolu olan noktalar ömür uzunluğunu ifade etmektedir. Besin konsantrasyonu artarken yumurta üretimi ve ömür uzunluğu ters orantılı olarak değişim göstermektedir [98] 19
- Şekil 2.7** a) *Vanellus vanellus*'un doğada hayatta kalma eğrisi erken yaşta ciddi bir düşüş göstermektedir b) Standart laboratuvar koşullarında yaşlandırılan *D. subobscura*'ların ölüm oranları ilerleyen yaşta düşüş göstermektedir [125]..... 22
- Şekil 2.8** Farklı populasyonlarda gözlenebilen hayatta kalış eğrisi tipleri. (A) İdeal , (B) Tipik, (C) Doğrusal, (D) Üstsel, (E) L tipi hayatta kalış eğrisi [127] 23
- Şekil 2.9** Holometabol bir organizma olan *D. melanogaster*'de gelişim dönemlerinin gösterimi. 25
- Şekil 3.1** *D. melanogaster* dişi ve erkeklerinde gözlenen eşeysel dimorfizm. 27
- Şekil 3.2** *D. melanogaster* ile yapılan ömür uzunluğu deneyinde larval ve ergin dönemini standart ve / veya kısıtlı besiyerlerinde geçirmesini temel alan 3 deney setinin şematik gösterimi..... 33
- Şekil 3.3** Ömür uzunluğu deneyi 1. deney setinin şematik gösterimi..... 34
- Şekil 3.4** Ömür uzunluğu deneyi 2. deney setinin şematik gösterimi..... 34
- Şekil 3.5** Ömür uzunluğu deneyi 3. deney setinin şematik gösterimi..... 35
- Şekil 4.1** Ömür uzunluğu deneyi için kullanılan dört izosoy hattının ortalama açlık direnci (saat) ve %95 güven aralıklarını gösteren bar grafik (* p< 0,05; *** p< 0,001).39

Şekil 4.2 Tüm soy hatları ve eşeyleri için larval dönem besin kısıtlamasının ömür uzunluğu üzerine etkisini gösteren grafik.....	41
Şekil 4.3 Tüm soy hatları ve eşeylerine ait ergin dönem besin kısıtlamasının ömür uzunluğu üzerine etkisini gösteren grafik.....	43
Şekil 4.4 Her soy hattı ve eşeyleri için ergin ve larval dönemde besin kısıtlamasının ömür uzunluğuna etkisini gösteren grafik.....	45
Şekil 4.5 Tüm soy hatları ve eşey karışık ortalama ömür uzunluklarının beslenme gruplarına göre oluşturdukları alt grupların <i>Student-Newman-Keuls</i> testi ile gösterimi.....	47
Şekil 4.6 Tüm soy hatlarına ait dişi ve erkeklerin 10 farklı beslenme grubunda ortalama ömür uzunluklarının %95 güven aralıklarıyla gösterimi.	48
Şekil 4.7 Tüm soy hatları ve eşeyleri için a (yaşa bağlı olmayan ölüm oranı) değerleri. ...	50
Şekil 4.8 Tüm soy hatları dişi ve erkekleri için b (yaşa bağlı ölüm oranı) değerleri.	51
Şekil 4.9 <i>Cs-B</i> soy hattına ait ömür uzunluğu ortalamaları.....	52
Şekil 4.10 <i>m1</i> soy hattına ait ömür uzunluğu ortalamaları.....	54
Şekil 4.11 <i>m2</i> soy hattına ait ömür uzunluğu ortalamaları.....	56
Şekil 4.12 <i>m3</i> soy hattına ait ömür uzunluğu ortalamaları.....	58
Şekil 4.13 <i>Cs-B</i> soy hattına ait dişi bireylerin her besin grubu için % hayatta kalabilirlik eğrileri.....	61
Şekil 4.14 <i>Cs-B</i> soy hattına ait erkek bireylerin her besin grubu için % hayatta kalabilirlik eğrileri.....	61
Şekil 4.15 <i>m1</i> soy hattına ait dişi bireylerin her besin grubu için % hayatta kalabilirlik eğrileri.....	62
Şekil 4.16 <i>m1</i> soy hattına ait erkek bireylerin her besin grubu için % hayatta kalabilirlik eğrileri.....	62
Şekil 4.17 <i>m2</i> soy hattına ait dişi bireylerin her besin grubu için % hayatta kalabilirlik eğrileri.....	64
Şekil 4.18 <i>m2</i> soy hattına ait erkek bireylerin her besin grubu için % hayatta kalabilirlik eğrileri.....	64
Şekil 4.19 <i>m3</i> soy hattına ait dişi bireylerin her besin grubu için % hayatta kalabilirlik eğrileri.....	65
Şekil 4.20 <i>m3</i> soy hattına ait erkek bireylerin her besin grubu için % hayatta kalabilirlik eğrileri.....	65

ÇİZELGELER

Sayfa

- Çizelge 3.1** Deneyde kullanılan standart (S) ve kısıtlı besin gruplarının (K1, K2, K3) bileşenleri ve miktarları. 30
- Çizelge 3.2** Açlık direnci sonunda seçilen soy hatları ve ömür uzunluğu deneyi için kullanılan kodları. 31
- Çizelge 3.3** Ömür uzunluğu deneyinde kullanılacak ergin bireylerin elde edilmesi için ekilen yumurta sayısı. 32
- Çizelge 4.1** Ömür uzunluğu deneyine alınan soy hatlarının dişi ve erkek bireylerinin saat olarak açlık direnci ortalamaları (\bar{Y}), ortalamaların standart hata (S.H.), varyasyon katsayıları (CV) ve örneklem sayıları (N). 38
- Çizelge 4.2** 1. Deney seti tüm soy hatları için ortalama ömür uzunluklarının çok yönlü varyans analizi. 40
- Çizelge 4.3** 2. Deney seti tüm soy hatları için ortalama ömür uzunluklarının çok yönlü varyans analizi. 42
- Çizelge 4.4** 3. Deney seti tüm soy hatları için ortalama ömür uzunluklarının çok yönlü varyans analizi. 44
- Çizelge 4.5** Tüm soy hatları için ortalama ömür uzunluklarının çok yönlü varyans analizi. 46
- Çizelge 4.6** Ömür uzunluğu deneyine alınan *Cs-B* soy hattı dişi ve erkeklerinin her deney setine ait ömür uzunluğu ortalamaları (gün olarak) (\bar{Y}), ortalamaların standart hata (S.H.), varyasyon katsayısı (CV) değerleri ve örneklem sayıları (N). 53
- Çizelge 4.7** Ömür uzunluğu deneyine alınan *m1* soy hattı dişi ve erkeklerinin her deney setine ait ömür uzunluğu ortalamaları (gün olarak) (\bar{Y}), ortalamaların standart hata (S.H.), varyasyon katsayısı (CV) değerleri ve örneklem sayıları (N). 55
- Çizelge 4.8** Ömür uzunluğu deneyine alınan *m2* soy hattı dişi ve erkeklerinin her deney setine ait ömür uzunluğu ortalamaları (gün olarak) (\bar{Y}), ortalamaların standart hata (S.H.), varyasyon katsayısı (CV) değerleri ve örneklem sayıları (N). 57
- Çizelge 4.9** Ömür uzunluğu deneyine alınan *m3* soy hattı dişi ve erkeklerinin her deney setine ait ömür uzunluğu ortalamaları (gün olarak) (\bar{Y}), ortalamaların standart hata (S.H.), varyasyon katsayısı (CV) değerleri ve örneklem sayıları (N). 59

SİMGELER VE KISALTMALAR

BK	Besin Kısıtlaması
S	Standart Besin
K1	Kısıtlı Besin (50 g/l)
K2	Kısıtlı Besin (20 g/l)
K3	Kısıtlı Besin (10 g/l)
<i>Cs-B</i>	Canton-S B soyu
<i>m1</i>	Deneye alınan izosoy hattı (1)
<i>m2</i>	Deneye alınan izosoy hattı (2)
<i>m3</i>	Deneye alınan izosoy hattı (3)
N	Örneklem sayısı
\bar{Y}	Örneklem Ortalaması
S.H	Ortalamaların standart hatası
CV	Ortalamalara ait varyasyon katsayısı
<i>P</i>	İstatistiksel anlamlılık değeri
ANOVA	Varyans analizi
a	Yaşa bağlı olmayan ölüm oranı
b	Yaşa bağlı ölüm oranı

1. GİRİŞ

Yaşlanma canlının yaşayabilirliğine karşı işleyen yapısal ve fonksiyonel bozuklukların birikiminden kaynaklanan bütün içsel değişimlerin toplamıdır. Bütün çok hücreli canlılarda gözlenen bu değişimler, yaşlanmanın evrimsel süreçte korunmuş ortak mekanizmalara sahip olduğunu düşündürmektedir. Evrimsel olarak uyum bileşenlerinin gücünün azalması olarak tanımlanan yaşlanma, organizmanın hayatta kalma ve üreme başarısındaki düşüşün en temel nedenlerindedir.

Ömür uzunluğu en önemli yaşam öyküsü karakterlerinden biridir. Yaşam öyküsü karakterleri teorisine göre; uyum bileşenleri ve birbirleriyle olan uzlaşmaları, doğal seçim etkisiyle canlının uyum süreci boyunca farklı dengeler içindedirler. Bu dengeler, canlının genotipi ve çevresel etkilere olan yanıtlarıyla şekillenmektedir.

Yaşlanma sürecini tanımlamak için farklı model organizmalar ve onların yaşam öyküsü karakterleri kullanılmaktadır. Bu çalışma; kültürünün kolay ve ucuz olması, bir seferde çok sayıda yavru vermesi, yaşam döngüsünün ve ömür uzunluğunun kısa olması nedeniyle yaygın olarak kullanılan bir model organizma olan *D. melanogaster* ile yapılmıştır.

Bu çalışmada, çevresel değişken olarak besin kısıtlaması kullanılmıştır. Bir kontrol soyu (*Cs-B*) ve açlık direnci özelliğine göre seçilen üç izosoy (genetik olarak homojen soylar) ile gerçekleştirilen çalışmada, besin kısıtlamasının ömür uzunluğuna etkisi incelenmektedir. Tezin temel hedefi, farklı iki gelişimsel dönem olan larval ve ergin dönem beslenmesinin bir yaşam öyküsü karakteri olan ömür uzunluğu üzerine etkisini ortaya koymaktır. Besin kısıtlaması, standart besiyeri içinde bulunan 100 g/l maya miktarının 50 g/l, 20 g/l ve 10 g/l olarak kısıtlamasıyla gerçekleştirilmiştir. Bu deney tasarımı ile sorulan temel soru artan besin kısıtlamasına bağlı olarak yaşlanma profilinin nasıl değiştiğidir. Bu çerçevede soyların genetik altyapıları ve değişen çevreye bağlı yaşlanma profillerinin belirlenmesi tezin diğer bir amacıdır.

2. GENEL BİLGİ

2.1 Yaşlanma

Ne gördün bütün kapıların birer birer kapandığı bu dünyada? Hangi kusurunu düzeltmene fırsat verdiler? Son durağa gelmeden yolculuğun bitmek üzere olduğunu haber verdiler mi sana? Birdenbire: "Buraya kadar!" dediler. Oysa, bilseydin nasıl dikkatle bakardın istasyonlara; pencereden görünen hiçbir ağacı, hiçbir gökyüzü parçasını kaçırmazdın. Bütün sulara gölgeni seyrederdin. Üstelik, "daha önce haber vermiştik" derler. "Her şeyin bir sonu olduğunu genel olarak belirtmiştik. Yaşarken eskidiğini ve eskittiğini söylemiştik."

Oğuz Atay, *Tutunamayanlar*(Sf.321)

Yaşlanma, biz insanlarda beyazlamış saçlar, kırışık deri ve alzheimer gibi gerontolojik hastalıkların fenotipik olarak gözlenebildiği bir süreçtir. İnsanoğlu için hakimi olduğu dünyadan koparıldığı trajik sonun habercisi olan yaşlanma, aslında doğal bir olgudur. Bu süreç boyunca insan dâhil birçok organizmada özellikle uyum karakterlerinin gücünün azalması ile sonuçlanan fizyolojik bozunmalar meydana gelmektedir [1].

Gündelik hayatımızda hayli kaygı verici bir olgu olan yaşlanma, bilimsel olarak oldukça merak uyandırıcı ve heyecan verici bir çalışma alanıdır. Yaşlanma, karmaşık birçok nedene bağlı olarak işleyen bir doğa gerçeğidir [2] ve aslında birikimsel (kümülatif) bir olgudur. Canlının yaşayabilirliğine karşı işleyen yapısal ve fonksiyonel bozuklukların birikiminden kaynaklanan bütün içsel değişimlerin toplamıdır [3].

Bütünsel anlamda hala birçok cevapsız soruya sahip olan bu alan, farklı mekanizmalar ve sonuçlarını kapsamaktadır. Bu nedenle birçok farklı bilim dalı, yaşlanma ile ilgili bilinmeyenleri cevaplamaya çalışır. Genetik bilimine göre yaşlanma, genetik programlarla düzenlenen ve organizmayı yapısal ve fonksiyonel değişikliklerle ölüme götüren olaylar bütünüdür [4]. İstatistiksel olarak yaşlanma, artan yaşla birlikte ölüm oranındaki artış olarak tanımlanırken evrimsel olarak uyum bileşenlerindeki düşüş olarak ifade edilmektedir [5]. Evrimsel biyologlara göre yaşlanma, yaşayabilirlik ve üreme başarısında düşüş olarak tanımlanır [6].

Bu sürecin sadece olumsuz değişimler olarak açıklanması çok doğru değildir. Son zamanlarda yaşlanma, artan yaşla birlikte olumlu, olumsuz ya da bağımsız birikimsel değişimler olarak tanımlanmaktadır [7]. Çünkü evrensel olarak tüm canlı türlerinde yaşlanma kaçınılmaz bir olgu iken birkaç istisna bulunmaktadır. Örneğin *Hydra*'ların yaklaşık dört yıllık yaşam periyotlarında uyum bileşenlerinde herhangi bir düşüş gözlenmemektedir [8]. Ayrıca memeli somatik hücrelerinin zamanla bölünebilme yeteneğinin düşmesine karşın tümör hücrelerinin bölünme potansiyeli yaşa bağlı olarak bir azalma göstermemektedir. Bunlara ek olarak üç mercan türünde negatif yaşlanma tanımlanmış ve artan yaşa bağlı olarak büyüyen kolonilerde yumurta veriminin arttığı bulunmuştur [9].

Yaşlanma sürecini tanımlamak için farklı model organizmalar ve onların yaşam öyküsü karakterleri kullanılmaktadır. Bu karakterler başlıca; vücut büyüklüğü, gelişim süresi, yumurta verimi (fekundite), hayatta kalma başarısı ve ömür uzunluğudur. Canlının uyum bileşenleri olarak da tanımlayabileceğimiz bu özelliklerden ömür uzunluğu, yaşlanmaya nicel bir veri olarak bakabilmemizi sağlamaktadır. Bunun yanında yumurta verimi ve hayatta kalabilirlik, yaşlanma süresi boyunca ve yaşa bağlı olarak değişkenlik gösteren uyum bileşenleridir. Bu süreç boyunca bu özelliklerde gözlenen farklı örüntüler, yaşlanmanın izini sürmek için oldukça kullanışlıdır.

Yaşam öyküsü karakterleri; bireyler, populasyonlar, türler arasında ve farklı çevresel ortamlarda varyasyon gösteren özelliklerdir. Yaşam öyküsü karakterleri teorisine göre; uyum bileşenleri ve birbirleriyle etkileşimleri, doğal seçilim etkisiyle canlının uyum süreci boyunca farklı dengeler içindedirler [10, 11]. Tüm bu bileşenlerin toplamı, yaşlanmaya analitik bir çerçevede bakabilme olanağı sağlamaktadır.

Yaşam öyküsü karakterlerinin varyasyonu, temel uyum bileşenlerine bağlıdır. Özellikler arasındaki değişebilirlik; canlının genetik alt yapısına, gelişimine, fizyolojisine bağlıdır ve organizmanın filogenetik altyapısının sınırları içerisinde belirlenir. Yani özelliklerin varyasyonu, seçilim ile belirlenmiş belli yolların etkisi altındadır. Bir dış güç olarak doğal seçilim, özellikler arasında ödün-bedel/ uzlaş (trade-off) ilişkisi yaratır [11]. Yaşlanma sürecinde ömür uzunluğu artışına karşı yumurta veriminin düşmesi veya tam tersi ilişki en bilinen uzlaş örneğidir.

Yaşam öyküsü karakterlerinden hayatta kalabilirlik de yaşlanmayı gözlemlemek için kullanılan bir karakterdir. Ömür uzunluğu ve hayatta kalabilirliğin de temelde bir ödün-

bedel ilişkisi içinde olduğu düşünülmektedir. Eğer hayat tablolarında artan yaş ile birlikte ölüm oranı da artıyorsa, popülasyonun yaşlanması söz konusudur [12].

2.2. Yaşlanma Teorileri

Yaşlanma, oldukça karmaşık mekanizmaları olan bir süreçtir. Bu karmaşıklığı çözmek için yaşlanma teorileri iki soru üzerinde durur. Yaşlanma süreci neden ve nasıl işler? “Nasıl” sorusu, fizyolojik olarak yaşlanmanın mekanistik temelini öğrenmek için sorulmuştur. “Neden” sorusu ise yaşlanmanın tarihsel bir bakışla incelenmesinin gerekliliği nedeniyle yaşlanmanın evrimsel teorilerini üretir.

“Bir biyolog, "Eskidünya'da neden nektar kuşları yoktur?" ya da "Homo sapiens türü nereden köken almıştır?" gibi önemli sorulara cevap ararken evrensel yasalara bel bağlamaz. Biyolog, bilinen bir sorun hakkında tüm olguları incelemek, yeniden yapılandırılmış etmenler kümesinin her türlü sonucunu düşünmek ve bu özel durumla ilgili gözlenen olguları açıklayabilecek bir senaryo oluşturma çabası içinde olmak zorundadır. Diğer bir anlatımla, biyolog tarihsel bir anlatım kurgular.”

Ernst Mayr [13]: "Biyoloji Canlılar Dünyasını Nasıl Açıklar"

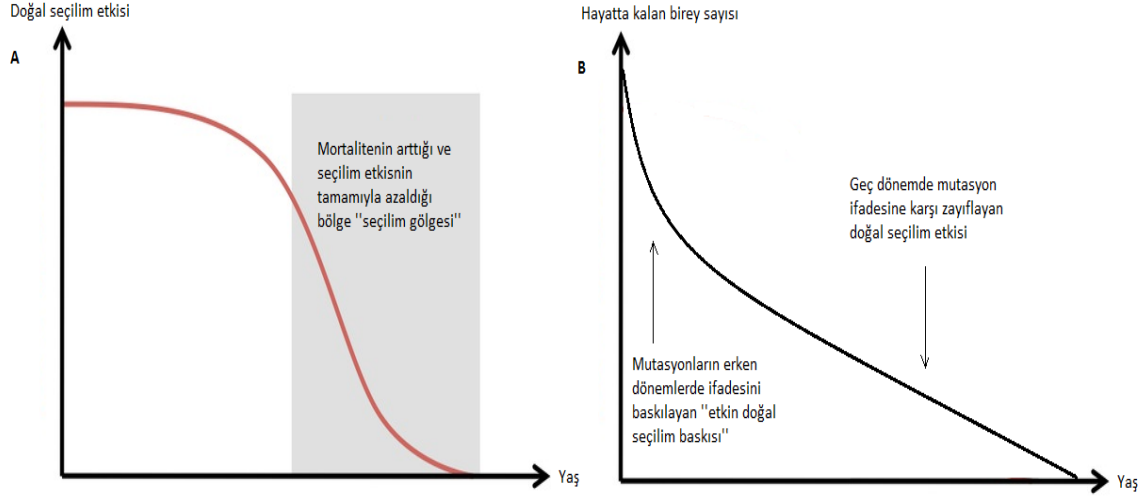
Yaşlanma, çok hücreli canlıların büyük bir kısmı için değişen hız ve oranlarda işleyen bir süreçtir. Bu sürecin kaçınılmaz ve ortak oluşu, yaşlanma teorilerinin evrimsel bir çerçevede incelenmesini gerektirmektedir.

Darwin, hayatta kalma oranı ve verimli döl verebilme başarısının kuşaktan kuşağa aktarılmasıyla, canlının yararına olan bir uyum süreci tanımlamaktadır. Matematiksel olarak da doğal seçilimin, popülasyonların ortalama uyum başarısını arttırdığı kabul edilmektedir [14]. Bu nedenle artan yaşla birlikte uyum ve hayatta kalma yeteneğindeki düşüş, bir çelişki haline dönüşmüştür. Bu paradoksu çözmek için ortaya atılan ilk yaşlanma teorisi, Alfred Russel Wallace tarafından 19 yy sonlarında ortaya atılmıştır. Wallace, yaşlanmanın popülasyonun yararına bir süreç olduğunu söyleyerek aslında bir grup seçiliminden bahsetmektedir. Wallace’ın teorisini geliştiren Weismann, popülasyondaki yıpranmış bireylerin yaşlanma sayesinde bir seçim süzgecinden geçtiğini ve böylece genç bireylerin oluşturduğu popülasyonun uyumunun arttığını varsaymaktadır. Weismann ve Wallace’ın yaklaşımı yaşlanmaya uyumsal sürece uygun bir açıklama getirmekte ancak grup halinde yaşamayan türler için aydınlatıcı olmamaktadır [15].

1941 yılında J.B.S. Haldane, yaşlanma açıklamalarına yeni bir boyut kazandırmıştır. Baskın bir mutasyon sonucu oluşan nörodejenaratif bir hastalık olan Huntington hastalığının yayılımı üzerine çalışan Haldane, bu mutasyonun neden doğal seçim ile popülasyondan elenmediğini araştırmıştır. Haldane'nin teorisine göre, yaşamın geç döneminde görülen bu hastalığın üzerindeki seçim baskısı zayıf kalmaktadır. Çünkü mutasyon, fenotipik etkisini ağırlıklı olarak üreme döneminden sonra göstermektedir [16].

Bu zamana kadar çeşitli yaşlanma teorileri üretilse de, yaşlanmanın evrimsel teorilerinin en güçlü görüşlerinden biri **mutasyon birikimi teorisidir**. Teori, 1952 yılında ilk olarak Peter Medawar tarafından ortaya atılmıştır. Böylece tümden gelimsel bir bakış açısı kazanan yaşlanma teorileri Ronald Fisher'in gözlemleri ile sağlam bir popülasyon genetiği temeline oturtulmuştur. Mutasyon birikimi teorisi, olumsuz etkilere sahip mutasyonların sadece geç yaşlarda ve kalıtsallık sonucu oluşan birikim sonucu ortaya çıkabileceğini öngörmektedir. Mutasyonlar, ancak yaşlanma döneminde azalan doğal seçim etkisi sonucunda yüksek frekansa ulaşabilmektedir [16]. Bu durum artan yaşla birlikte artan mortaliteye neden olmaktadır (Şekil 2.1).

Popülasyonda yaşlı bireylerin sayısının artması, bireyler arasındaki çeşitliliğin (varyasyonun) yüksek olması anlamına gelmektedir [17]. Geç yaşlarda ifade olmaya başlayan mutasyonlarla birlikte alel çeşitliliğindeki artış popülasyonun genetik yapısını da değiştirmektedir. Bu nedenle mutasyon birikimi teorisi, popülasyonların genetik değişimleri konusunda da tahminde bulunmaktadır. Bunlardan birisi; genç bireylerin artan yaşla birlikte ebeveynlerine benzemesidir. Çünkü yumurta verimi ve hayatta kalabilirlik, kalıtılabilir yaşam öyküsü karakterleridir. Yaşlanan bireylerin, popülasyonda oluşturduğu varyasyon, bir süreliğine sabit kalır çünkü erginleşen genç bireyler de aynı varyasyon aralığındadırlar. Geç dönem mutasyonlarının sayısı arttıkça, popülasyonun genetik çeşitliliğinin artış göstermesi beklenir. Ancak *D. melanogaster*'de bu çeşitlilik tam olarak bulgulanamamıştır [18]. Mutasyon birikimi teorisinin bir diğer tahmini ise, kendileşme çöküntüsüdür (inbreeding depression). Yaşlanmayla birlikte uyum bileşenlerindeki düşüş aslında popülasyonla da ilgili bir sonuçtur. Yani sürekli aynı bireyler arasında meydana gelen gen akışı, popülasyonun genetik çeşitliliğinin azalmasına ve artan yaşla birlikte daha çok olumsuz etkili mutasyonun birikimine neden olmaktadır [19].

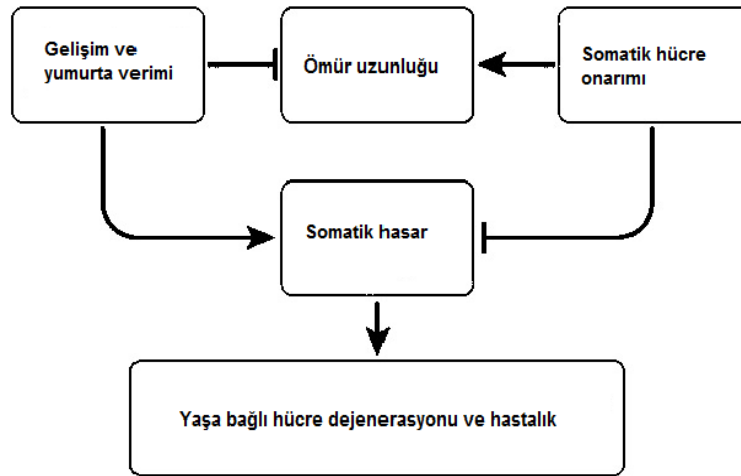


Şekil 2.1 Doğal populasyonlarda artan yaşla doğal seçilim etkisi ve mortalite değişimi. (A) Artan yaş ile azalan seçilim baskısı (B) Artan yaş ile artan mortalite ve doğal seçilimin değişen etkisi [21].

Yaşlanmaya evrimsel bakışta, ikinci temel görüş ise **antagonistik pleiotropi teorisidir**. Bu görüş; erken yaşta olumlu, geç dönemde ise olumsuz özellikler gösteren alellerin seçilimini öngörür [20]. Çünkü genlerin ifadeleri her zaman olumlu ya da her zaman olumsuz değildir. Erken yaşta uyum karakterleri üzerinde olumlu etkileri olan aleller, pozitif doğal seçilim sonucu seçilmişlerdir. Yalnızca ileri yaşlarda ifade olabilecek negatif etkili bir mutasyon, üreme periyodunu etkilemeyecek ve dolayısıyla doğal seçilimin etkisi geç dönemde zayıf kalacaktır [21, 22]. Ancak artan yaşla birlikte azalan doğal seçilim baskısı, aynı genlerin olumsuz etkisini baskılayamadığında uyum bileşenlerinin gücünün azalması söz konusudur. Örnek vermek gerekirse; insanda testosteron hormonu, yaşamın erken döneminde üreme başarısını artırırken geç dönemde prostat kanseri riskini arttırmaktadır [23]. Sonuç olarak antagonistik gen etkileri, erken ve geç dönem yaşam öyküsü karakterleri arasında arasında negatif bir korelasyon göstermektedir. *D. melanogaster* ile yapılan birçok çalışma da bu teoriyi destekler niteliktedir. *D. melanogaster*'de ki tek gen mutasyonlarının büyük bir kısmı ömür uzunluğunu artırsa da yumurta veriminde düşüş ya da kısırılık meydana getirmektedir [24].

Günümüzde en açıklayıcı yaşlanma teorisi, temelini antagonistik pleiotropiden alan **disposable soma** (tüketilen soma) **teorisidir**. Thomas Kirkwood ve Holliday [25] tarafından önerilen teori, hem "neden" hem de "nasıl" sorularının cevaplanması için temel oluşturmaktadır. Eğer yaşlanma bilimsel bir gerçeklik ise evrimsel ve mekanistik

açıklamaları da birbirini tamamlar nitelikte olmalıdır. Bu teoriye göre; pleiotropik genler bir ödün-bedel (trade-off) ilişkisi içindedirler. Uzun süreli hayatta kalış, bunu sağlayacak olan onarım mekanizmalarına yapılacak yatırım ile mümkündür. Ancak bir sonraki kuşağa yavru döl verebilmek amacıyla yumurta verimine yapılacak olan yatırımın maliyeti yüksektir ve somatik hücre hasarıyla sonuçlanır. Bu iki seçim arasındaki uzlaşma organizmanın ömür uzunluğunu belirlemektedir. Üreme dönemine ve yumurta üretimine yapılan yatırım ömür uzunluğunda düşüşe neden olmaktadır. Eğer bu enerji somatik hücre onarımına harcanırsa ömür uzunluğunda artış görülmektedir (Şekil 2.2). Doğal seçim mekanizması, yaşayabilirlik koşulunu sağladıktan sonra verimli yavru döl için yatırım yapılmasını teşvik edici yönde işlemektedir. Ancak çevresel bir stres koşulu varsa mevcut enerji, somatik hücre onarımı için kullanılmaktadır.



Şekil 2.2 Disposable soma teorisinin şematize edilmiş hali [26].

Ömür uzunluğu ve üreme potansiyeli arasındaki negatif korelasyon, *D. melanogaster* ile yapılan çalışmalarda da desteklenmiştir. Yüksek yumurta verimi, ömür uzunluğunda düşüşe neden olmaktadır ya da düşük yumurta verimi ömür uzunluğu artışı ile sonuçlanmaktadır [26, 27].

Günümüzde Disposable soma teorisi temelli başka görüşler de öne sürülmektedir. Bunlardan biri, ömür uzunluğu ve üreme potansiyeli arasındaki bu uzlaşımın pleiotropik

genlerle değil sadece mevcut kullanılabilir enerjiyle alakalı olduğudur. “Optimality teorisi” (en iyilik teorisi) olarak Partridge ve Barton tarafından [28] öngörülen bu teoriye göre genlere bakılmaksızın, yaşam öyküsü karakterleriyle çeşitli modellemeler yapabilmek mümkündür.

Yaşlanmanın evrimine bakış, yukarıda bahsedilen iki temel görüş etrafında şekillenmektedir. Mutasyon birikimi teorisi ve antagonistik pleiotropi. Aslında bu iki görüş, var olan ömür uzunluğu varyasyonunu açıklamaya çalışır. Benzer şekilde bu görüşlerden türetilen diğer teoriler de öyledir. Mutasyon birikimi teorisi, bu çeşitliliğin temelini genetik sürüklenme ile açıklarken; antagonistik pleiotropi, bu çeşitliliği dengeleyici seçilimin bir sonucu olarak görür. Ancak ömür uzunluğundaki mevcut çeşitliliğin ve nedenlerinin açıklanabilmesi için bu yaklaşımların göreceli katkıları şimdilik yetersiz kalmaktadır [29].

Yaşlanmanın nasıl gerçekleştiği sorusuna cevap bulabilmek ise ancak mekanistik teoriler geliştirmekle mümkündür. Yaşlanmanın fizyolojisini inceleyen bu teoriler, yaşlanma üzerinde etkili olan genetik kontrol mekanizmaların nasıl çalıştığını, organizma seviyesinde incelemektedir. Çünkü yaşlanma ne sadece DNA, RNA ya da protein düzeyinde ne de sadece organ ve doku düzeyinde işleyen bir süreçtir.

Günümüzde tartışılan mekanistik teorilerin tümü, yaşlanmanın biyolojik sürecini ve bu sürece etki eden mekanizmaların kompleks doğasını açıklamaya çalışır. Bu bütünlük, mekanistik teorileri ciddi bir çıkmaza sokmaktadır. Bir başka problem ise mekanistik teorilerin deneysel olarak test edilebilirliğinin zorluğudur. Yaşlanma çok farklı mekanizma ve süreçlerin etkileşimi sonucu gelişen karmaşık bir olgudur.

Evrimsel biyolog Brian Charlesworth’un da belirttiği üzere yaşlanma mekanistiği, hemen hemen her yaşlılık belirtisi üzerine çok ciddi ama bir o kadar da karmaşık bilgiler sunan bir alan haline gelmiştir. Günümüz literatüründe yaklaşık üç yüz tane yaşlanma mekaniği teorisi bulunmaktadır [30]. Ancak bu tez kapsamında sadece bir kısmı açıklanmaktadır.

Fizyolojik yaşlanma teorilerinden ilki Elie Metchnikoff tarafından ortaya atılan “intestinal bacteria” (bağırsak bakterileri) teorisidir [15]. Bu öncü teoriye göre yaşlanma, bağırsaklarda bulunan bakterilerin oluşturduğu toksik ürün birikiminden kaynaklanmakta ve bu hasar tüm organizmayı etkilemektedir. Bu teori ve sonrasında ortaya atılan teorilerin

temelinde organizma seviyesinde meydana gelen hasar ve hücre içerisinde biriken zararlı maddelerin varlığı farklı yol ve mekanizmalarla tartışılmaktadır.

Hızlı yaşa genç öl... Yaşam hızı teorisi, yaşlanmanın metabolik hızla bağlantılı olduğunu öngören bir başka mekanistik teoridir. Teori, küçük vücutlu canlıların, büyük kütleli olanlara göre daha yüksek metabolizmaya sahip oldukları için daha hızlı öldüklerini öngörür [31]. Metabolizma hızını etkileyen bir başka etmen ise sıcaklıktır. Bu teoriye göre, yüksek sıcaklığa maruz bırakılan ergin meyve sineklerinin yüksek sıcaklığın metabolizma hızını arttırmasından dolayı daha kısa ömürlü olduklarını gösterir [32].

Yaşlanmanın somatik mutasyon teorisi, mekanistik teorilerin genetik mekanizmalar temelli ilk örneğidir. Teori, 1959 yılında Leo Szilard [33] tarafından ortaya atılmıştır. DNA'da meydana gelen değişimlerin bir sonucu olan mutasyonların birikimi nedeniyle hücre hasarının oluştuğunu öngören teoriye göre protein yapı ve fonksiyonlarında zamanla değişim oluşmaktadır. Bu teori, farelerde radyasyon sonucu meydana gelen somatik mutasyonların ömür uzunluğuna etkileri araştırılmasının bir sonucu olarak ortaya atılmıştır. Radyasyon sonucu oluşan mutasyonların etkisiyle farklı *Drosophila* türleri [34] ve farelerde [35] ömür uzunluğunun azaldığı ve buna bağlı olarak DNA onarımının arttığı bulgulanmıştır.

Yaşlanmanın evrimsel teorilerinin ışığında, ömür uzunluğu ve stres direnci arasında ciddi bir genetik korelasyon olduğu anlaşılmıştır. Organizmanın maruz kaldığı stres durumunda değişen ömür uzunluğu, stres direnci mekanizmaları tarafından düzenlenir. Bu mekanizmalarda rol alan "Heat shock" proteinleri (Hsp) ve şaperon proteinler, stres koşulları altında protein yapılarını korumaktadırlar. Bu nedenle Hsp ve stres direnci, yaşlanmanın mekanik teorileri arasındadır. Hem *Drosophila* türlerinde hem de *Caenorhabditis elegans*'ta Hsp70 aktivitesinin artışına bağlı olarak ömür uzunluğunda da bir artış bulgulanmıştır [36].

Lipit metabolizması, yaşlanma fizyolojisi için ortaya atılan önemli teoriler arasında bulunmaktadır. Çünkü açlık direnci organizmanın lipit miktarı ile doğrudan bağlantılıdır [37, 38]. Diğer stres dirençlerinin aksine organizmanın sahip olduğu lipit miktarı ne kadar fazlaysa açlık direnci de o kadar yüksek olmaktadır. Açlık direnci aynı zamanda metabolik hıza ve Hsp aktivitesindeki değişimlere de bağlıdır [39]. Tüm bunların yanında yumurta üretimi sürecinde de etkili olan lipit metabolizması, ömür uzunluğu ile uzlaşma içerisinde bulunan uyum karakterleri üzerinde de etkilidir [40]. Lipit birikimi ile oluşturulan

Caenorhabditis'in *daf-2* mutantları [41] ve *D. melanogaster*'in *chico* mutantları [42] ile uzun ömürlü bireyler elde edilmiştir. İki mutantın aynı zamanda daha sonra bahsedilecek olan insulin/insulin büyüme faktörü benzeri (*IIS*) metabolizmasında da etkili olduğu bilinmektedir.

Serbest radikal / oksidatif stres teorisi günümüzde kullanılan en popüler mekanistik yaşlanma teorisidir. Teoriyi ortaya atan Harman'a göre yaşlanmanın sebebi, her biri serbest radikal formu olan oksidatif fosforilasyon ürünlerinin birikimidir [43]. Bu radikallerin birikimi, lipitlerden proteine tüm biyomoleküllere zarar vermektedir. Bu hasara karşı *Superoksit dismutaz (SOD)*, *Katalaz*, *Glutasyon peroksidaz* enzimleri işlev görmektedir [44]. Böceklerde ve insanlarda, bu enzimlerin ifadelerindeki artışa bağlı olarak ömür uzunluğunda artış gözlenmiştir [45]. Serbest radikal teorisi temelinde besin kısıtlamasıyla (BK) yapılan çalışmalar oldukça ilginçtir. BK, memeliler başta olmak üzere balıklar ve böceklerde yaşlanmanın fenotipik etkilerini azaltan bir çevresel faktördür [45, 46]. BK ile birlikte organizmanın metabolik hızı düşmektedir. Bu nedenle hücrede biriken serbest radikallerin miktarı azalmakta ve ömür uzunluğunda artış görülmektedir.

Nöro-endokrin teori, yaşlanmayı etkileyen iç ve dış faktörlerin nöral ağlarla olan ilişkisini açıklayan bir teoridir. Çok hücreli canlılarda çevresel stres, nöral ağlarla kontrol edilen hormon mekanizması ile tüm organizmayı etkilemektedir. Bu nedenle birçok organizma için dış çevre ile değişen metabolik faaliyetler, üreme aktivitesi ve somatik düzenlemeler aslında bir nöroendokrin sistem olan IIS mekanizmasıyla kontrol edilir. *C. elegans*'ın *age-1* ve *daf-2* mutantlarıyla yapılan çalışmalarda bu mekanizmaya bağlı olarak ömür uzunluğu artışı bulgulanmıştır [47]. IIS mekanizmasının ömür uzunluğu üzerine etkisi aslında üreme sistemi üzerinden kontrol edilmektedir. Gonadların somatik kısımlarından (üreme organlarının orijini) ve eşeyssel hücrelerden salınan antagonistik sinyaller ömür uzunluğu üzerinde etkilidir [48]. IIS mekanizması, stres direnciyle de bağlantılı bir mekanizmadır. Bu nedenle çevresel değişimlere karşı uyum başarısı bileşenleri arasındaki uzlaşımın kontrol edilmesinde rol oynadığı kabul edilmektedir.

2.3. Yaşlanmanın genetiği

Bilindiği üzere yaşlanma kalıtlılabir bir özelliktir [49]. Bu konuda ilk çalışma, Alexander Graham Bell tarafından yapılmıştır [50]. Aslında soy bilimci olan Graham Bell etkilendiği bir bilim adamı olan William Hyde'ın aile ağacını çıkararak, ömür uzunluğu üzerine basit bir istatistiksel gruplandırma yapmıştır. Hyde'ın soy ağacına göre, uzun ömürlü

ebeveynlerin çocukları da daha uzun ömre sahiptir. Daha sonraki yıllarda New York eyaletinde monozigotik ve dizigotik ikizlerle yapılan bir çalışmada, monozigotik ikizlerin ömür uzunluklarının birbirine daha çok benzediği bulgulanmıştır. Böylece genetik benzerlik ve ömür uzunluğu arasında kuvvetli bir korelasyon olduğu, ilk yaşlanma çalışmalarıyla öne sürülmüştür [51].

Yaşlanmanın genetiğine ilişkin temel çalışmalardan biri, Maynard Smith ve Jean M. Clarke tarafından 1955 yılında yapılmış olan hibridizasyon deneyidir [52]. Çalışmada, iki inbreed (kendileşmiş) *D. subobscura* soyuna ait dişi ve erkekler ve bunların hibritleri kullanılmıştır. Resiprokal (karşılıklı) çaprazlar sonucu elde edilen hibrit soyun ilk kuşağı (F1) %100 daha uzun ömürlü olduğu saptanmıştır. Bununla bağlantılı olarak inbreed soy hatlarının hayatta kalabilirlikleri hibrit soya göre aynı oranda daha düşüktür.

Mutant soylar kullanılarak yapılan ilk ömür uzunluğu çalışmaları, yaklaşık 100 yıl önce Thomas Morgan tarafından gerçekleştirilmiştir. Morgan'ın çalışmaları doğrultusunda *D. melanogaster* soylarında ömür uzunluğunun, Mendel genetiğine göre kalıtıldığı düşünülmüştür [53]. Bu yaklaşımın sadece F1 döllerinin ortalama ömür uzunluğuna göre doğru olabileceği ve ömür uzunluğunun kantitatif bir özellik olduğu çok daha sonra anlaşılacaktır.

D. melanogaster mutantlarıyla farklı gen kombinasyonları kullanarak ömür uzunluğunun genetiği araştırılmıştır. Bu çalışmalarda kullanılan başlıca mutantları, eşeysel X kromozomunda bulunan *white eyes (w)*, *miniature (m)* ile otozomal kromozomlarda bulunan *vestigal (vg)*, *ebony (e)*, *sepia (s)* mutantları olmuştur [4]. Bu mutantlarla yapılan çalışmalarda mutant bireylerin, yabanıl soylara göre daha kısa ömür uzunluğuna sahip olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmalarla ömür uzunluğu üzerine doğrudan etkili genler olduğu düşünülse de yaşlanma sürecinde tek gen ya da gen ailesinin değil tüm genetik altyapının etkili olduğu bilinmektedir [4].

Mutant bireylerle yapılan çalışmalar sonucunda ömür uzunluğunun genetik bir kontrol mekanizması altında olduğunu anlaşılmıştır [54]. Ancak bu düzenlenmenin nasıl ve ne şekilde olduğu; evrimsel süreç boyunca korunmuş kompleks biyolojik süreçlerin açıklanması, aynı zamanda yaşlanmanın hız ve oranlarındaki varyasyonun farklı organizasyon seviyesindeki canlı gruplarında ayrı ayrı incelenmesiyle anlaşılacaktır. Bu nedenle çalışmalar, evrensel fizyolojik mekanizmalara ve bu mekanizmalarda etkili olan enzim gruplarına odaklanmıştır. Bu çerçevede yapılan ilk çalışmada, kanat kaslarında

bulunan aktomyozin ATPaz aktivitesinin *D. melanogaster* erkeklerinde yaşa bağlı değişiminin araştırılmış ve kalsiyuma bağlı olarak artan enzim aktivitesinin, pupadan çıkıştan hemen sonra ciddi ölçüde arttığı görülmüştür [55]. Aynı çalışmada evrensel enerji metabolizmasında rol oynayan bir enzim olan APK aktivitesinin, ergin dönemde bir artış gösterdiği bulgulanmıştır. Tüm bu sonuçlar temelde holometabol canlılar olan böceklerin uçuş yeteneklerinin, dönemsel olarak genetik kontrol mekanizmasına bağlı olarak düzenlendiklerinin bir kanıtı niteliğindedir. Mevcut genetik kontrol mekanizması, böceklerin üreme yaşına gelme ve yaşlanma dönemlerinde biyokimyasal düzenlemelerle varlığını göstermektedir. Ancak günümüzde hala ömür uzunluğu üzerinde doğrudan etkili olan gen ya da genlerin varlığı tartışılmaktadır.

Yaşlanma sürecinde tek gen yaklaşımı, 1993 yılında bulunan bir tek gen mutasyonu ile tekrar heyecan kazanmıştır. Tek gen *daf-2* mutasyonuna sahip ergin *C. elegans* bireylerinin yabanıl bireylere göre iki kat daha uzun ömürlü olduğu ortaya konulmuştur [56]. Ancak bu yaklaşım yaşlanma olgusu için çok doğru kabul edilmemektedir. Çünkü yaşlanma tek bir gen kontrolünde olmadığı gibi tek bir mekanizma üzerinden işleyen bir süreç de değildir. Bu nedenle aday gen belirleme çalışmaları, farklı fizyolojik mekanizmalar üzerine yoğunlaşmaktadırlar.

Yaşlanma mekanizması üzerine yapılan genetik araştırmalar daha çok serbest radikal hipotezi çerçevesinde yapılmaktadır [57]. Yağ metabolizması, protein tamir mekanizması, heat shock protein mekanizması ve insülin/ insülin benzeri büyüme faktörü sinyal mekanizması (IIS), ömür uzunluğu çalışmalarında en çok araştırılan mekanizmalar arasındadır. Bu mekanizmalarla, ömür uzunluğunu etkilediği bilinen birçok aday gen belirlenmiştir. Bunlar arasında *methuselah (mth)*, *I am not dead yet (Indy)*, *chico*, *Insulin-like receptor (InR)*, *Cu/Zn-superoxide dismutase (SOD)*, *Catalase*, *hsp70*, *DPOSH* sayılabilir [15].

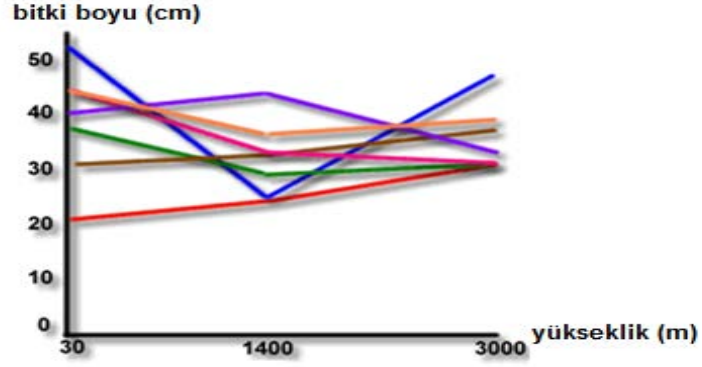
Son zamanlarda yapılan yaşlanma genetiği çalışmaları, gen ifadeleri ve bu genlerin ifadelerinin aktif olarak proteine çevrilip çevrilmediğini sınavan yöntemler kullanılarak yapılmaktadır. Evrimsel ve ekolojik çalışmalarda da oldukça kullanışlı olan bu yöntemlere mikroarray teknolojisi ve transkript haritalama teknikleri örnek verilebilir. Bu yöntemler ile organizmanın belirli bir hücrede, belirli bir anda ve koşulda hangi genlerin ifade olduğu belirlenebilmektedir. Bu teknikte, *D. melanogaster*'in gelişim süresi üzerinde etkili

olan birçok aday gen bulunmuş ve genlerin etkili olduğu biyolojik yollar keşfedilmiştir [58].

Günümüze kadar süregelen yaşlanma genetiği çalışmaları, Harshman'a [59] göre beş farklı yaklaşım kullanılarak yürütülmüştür. Bunlar; 1-Seçilim deneyleri, 2-Kantitatif genetik çalışmaları, 3-Transgenik ifadeler, 4-Mutasyon analizleri, 5-Gen ifadelerinin ölçümü'dür. Bu şekilde evrilen yaşlanma genetiği çalışmaları sonucunda, yaşlanmanın sebepleri anlaşılmaya çalışılmaktadır.

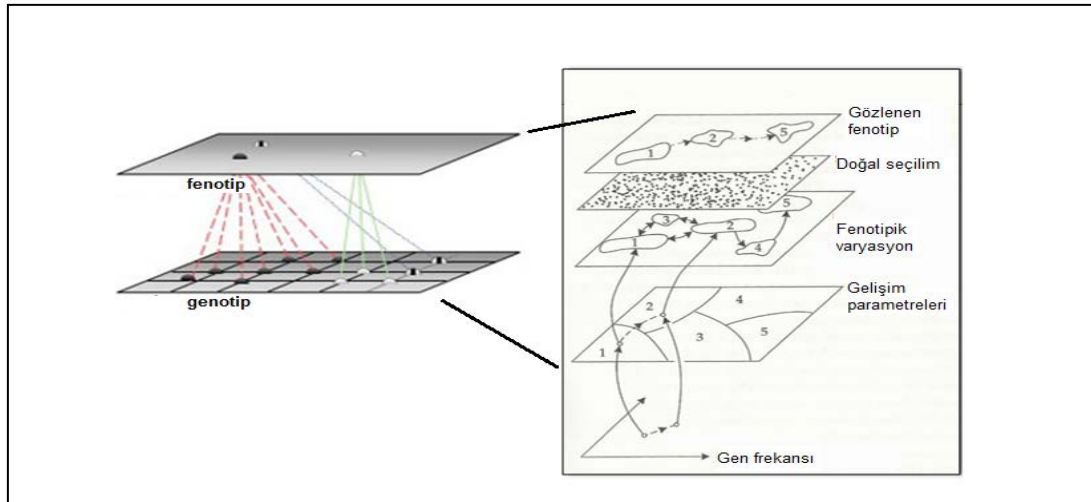
Yaşlanma mekanizmaları sadece gen ifadesi düzeyindeki verilerle değerlendirilecek kadar deterministik bir yaklaşımla açıklanamamaktadır. Yaşlanma mekanizması üzerinde etkili olan birçok gen ve gen ailesi bulunmaktadır. Ancak bu genlerden hiç biri tek başına ömür uzunluğunu arttırmamaktadır. Eğer bir gen ömür uzunluğunu etkiliyorsa o genin ya da kodladığı proteinin birçok başka gen ya da protein ile etkileşim içerisinde olduğu (epistazi) ve bu mutant genin etkisinin organizmanın genotipine bağlı olduğu bilinmektedir (genetik arka plan etkisi) [60]. Yaşlanmanın evrimsel genetiğini anlamak için bu epistatik etkileşimler oldukça önemlidir.

Yaşlanma dahil olmak üzere tüm fenotipik özellikler, bu özellikler üzerine etkili genlerin kompleks epistatik etkileşimlerin yanında çevreden de etkilenmektedir. Biyolojik yolların sınırlarında meydana gelen fenotipik çeşitlilik, gelişimsel süreçlere bağlıdır. Bazı durumlarda, gelişimsel süreçlerdeki farklılıklar düşük ölçüde fenotipik varyasyona neden olmaktadır. Kimi durumlarda ise tek bir genotip, çevresel faktörlere yanıt olarak, birbirinden son derece farklı fenotipler meydana getirebilir. Bu nedenle aynı genotipe sahip canlılar her zaman aynı fenotipe sahip değildirler. Örneğin, bir alpin bitkisi olan *Achillea* türlerine ait aynı genotipe sahip bireylerde, farklı yüksekliklerde bitki boyu varyasyonu gözlenmektedir [61]. Farklı renkteki her bir kesintisiz hat bir reaksiyon normunu göstermektedir. Bir genotipin reaksiyon normu, onun farklı çevrelerde ifade ettiği fenotiplerdir (Şekil 2.3). Bu durum fenotipik esneklik (*fenotipik plastisite*) kavramı ile açıklanmaktadır. Fenotipik esneklik, bir genotipin ontogenisi doğrultusunda olmak koşuluyla farklı çevresel ortamlarda farklı fenotipler üretebilme kapasitesidir [62].



Şekil 2.3 Farklı yüksekliklerde yetişen *Achillea* türlerinin bitki boyu varyasyonunun gösteren reaksiyon normları [61].

Gelişimsel yolların fenotipik çeşitlilik üzerindeki etkisi, özelliklerin evriminin anlaşılmasında kilit rol oynamaktadır. Çeşitlilik ya da değişkenlik terimi bir örneklem grubu ya da bir türdeki var olan gerçek farklılıkları ifade etmesine karşın değişebilirlik, kelimenin tam anlamıyla organizmanın değişebilme yeteneğine ya da potansiyeline işaret etmektedir [63]. Fenotipik özelliklerin evrimi de aslında bu değişebilme potansiyelinin bir ürünüdür. Genotipten fenotipe giden yolda, doğal seçilim ve gelişimsel süreçler oldukça etkilidir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 Genotip – Fenotip ilişkisi [62].

Ancak bazı durumlarda, en uyumsal reaksiyon normu sabit bir fenotip haline gelmiş olmandır ve çevresel değişime karşı tamponlanmaktadır. Yani organizmanın gelişimsel

süreci, fenotip üzerindeki varyasyona direnç gösterecek şekilde evrimleşebilmektedir [64]. Bu şekilde gelişimsel süreçlerin fenotip üzerindeki tamponlayıcı etkisine ise *kanalizasyon* denmektedir.

Yaşlanma genetiği üzerine yapılan araştırmalar, yaşlanmanın yapısal ve fonksiyonel olarak bahsedilebilecek içsel değişimlerin yanında çevresel değişimlerden de oldukça etkilenen bir süreç olduğunu göstermiştir [65].

2.4. Çevresel Etmenlerin Yaşlanma Üzerine Etkisi

Çevre, canlının fenotipinin belirlenmesinde rol oynayan ve eklemeli genetik parametreleri doğrudan etkileyen bir faktördür. Özellikle stres yaratan çevre koşulları, morfolojik karakterler ve yaşam öyküsü karakterleri üzerinde kalıtılabilir bir varyasyona sebep olmaktadır [66, 67]. Çevresel stres koşulları doğal seçilimin yönünü belirleyen en önemli faktördür [68]. Böceklerde ve diğer canlı gruplarında özellikle iklimsel stres koşulları altında meydana gelen fenotipik varyasyon, bu koşullara karşı geliştirilebilen adaptasyon yeteneği ve stres direnciyle ilişkilidir [38]. *D. melanogaster*'de susuzluk direnci, kurak ortama adaptasyon ile ilgili iken soğuk direnci de yüksek enlemlere veya rakımlara adaptasyon ile bağlantılıdır [69].

D. melanogaster'de ömür uzunluğu gibi diğer yaşam öyküsü karakterleri de hem genetik hem de çevresel koşullardan etkilenen kantitatif özelliklerdir. Lints [70], *D. melanogaster*'de ömür uzunluğuna etki eden başlıca çevresel faktörleri; sıcaklık, popülasyon yoğunluğu, karşı cinse ait bireylerin varlığı ve besin olarak tanımlamıştır.

Bir çevresel etmen olarak sıcaklık, *D. melanogaster*'de başta ömür uzunluğu olmak üzere tüm yaşam öyküsü karakterleri üzerinde oldukça etkilidir. Değişken vücut ısısına sahip (poikilothermic) bir canlı olan *D. melanogaster* için optimum sıcaklık 25°C olarak belirlenmiştir. Bu sıcaklıkta optimum olan uyum bileşenleri, sıcaklık değişimlerinden etkilenmektedir. Sıcaklık arttıkça ömür uzunluğunda düşüş gözlenmektedir [71]. Böceklerde sıcaklık aynı zamanda gelişim süresi, pupal ağırlık ve vücut büyüklüğü arasındaki genetik korelasyonlar üzerinde oldukça etkili bir çevresel parametre olarak kabul edilmektedir [38]. *D. melanogaster*'de vücut büyüklüğü, oldukça önemli bir uyum bileşenidir. Çünkü vücut büyüklüğü; dışının yumurta üretim potansiyelini, eşleşme başarısını ve ömür uzunluğunu etkilemektedir [72]. Larval yoğunluk vücut büyüklüğü üzerinde oldukça etkili bir çevresel bileşendir [73]. Ayrıca larval yoğunluk, pupal ölüm

oranıyla pozitif bir korelasyon gösterir. Larval yoğunluk arttıkça pupa dönemindeki yaşayabilirliğin azaldığı bilinmektedir [74].

D. melanogaster'de ömür uzunluğunu etkileyen bir diğer çevresel faktör ışıktır. 1911 yılında Payne tarafından yapılan çalışmada 69 kuşak boyunca karanlıkta bırakılan *D. melanogaster* soylarının ömür uzunlukları, normal fotoperiyotta tutulmuş soylara göre daha kısa olduğu gözlenmiştir [75]. Işık aynı zamanda çifleşmeden hemen önce gerçekleştirilen kur davranışları ve eşini bulmada da belirleyici olduğu için, çifleşme başarısı üzerinde doğrudan etkilidir. Hatta bazı *Drosophila* türlerinde çifleşmenin gerçekleşmesi için ışık zorunlu bir çevresel faktördür [76].

D. melanogaster'de çevresel stres yaratabilecek bir diğer etmen nemdir. *Drosophilid*'ler için %60 nem optimum olarak kabul edilmektedir. Nem seven bu türler için optimum koşulun altındaki koşullar, stres yaratmakta ve bir susuzluk (desiccation) direnci oluşturmaktadır. Optimum nemin altındaki koşullarda organizma vücut yüzeyinden su kaybetmekte ve nemsizliğin şiddetinin artması sonucunda ölüm gerçekleşmektedir [77].

2.4.1 Besin Kısıtlamasının (BK) Yaşlanma Üzerine Etkisi

Besin, organizma için oldukça kritik bir çevresel etmendir. Doğada bir bireyin hayatta kalabilirliğini doğrudan etkileyen ve uyum başarısı bileşenlerinde varyasyon yaratan en önemli çevresel faktörlerden biri besindir. Çoğu canlı grubunda yumurta verimi, vücut büyüklüğü gibi özellikler organizmanın beslenmesi ile ilişkilidir [78]. Bu özelliklerdeki çeşitlilik, bireylerin bir sonraki kuşağa verimli döl aktarımını ve eşeyssel seçilimini önemli ölçüde etkilemektedir.

Doğada çoğu organizmanın periyodik olarak karşılaştığı besin yokluğuna karşı açlık (*starvation*) direnci evrimleşmiştir. Özellikle besin yokluğunun neden olduğu çevresel stres, organizmanın değişen çevre koşullarına karşı stres direnci oluşturmaya neden olan adaptasyonların oluşumunu tetiklemektedir [38, 79]. Açlık direnci özelliği için yapılan seçim deneylerinde, açlık direncinin yüksek olduğu *D. melanogaster* soylarında lipit birikimindeki artış, yumurta üretimi ve veriminde düşüş yaratmaktadır [40]. Soylarda meydana gelen bu değişimler, gelişimsel süreçlerin belirlediği sınırlar içerisinde, uyumsal olarak varyasyon göstermektedir [39].

Açlık direnci, eşeyler arasında farklılık gösteren bir özelliktir. *Drosophila* türlerinde organizmanın yağ / protein oranıyla bağlantılı olarak eşeyssel dimorfizm gösteren açlık

direnci, dişilerde erkek bireylere göre daha yüksektir [80]. Açlık direncinin larval gelişimle de bağlantılı olduğu bulgulanmıştır. *C. elegans*'da açlık direnci arttıka larval gelişim süresi uzamakta ve buna bağlı olarak ömür uzunluğu varyasyonu gözlenmektedir [81]. Açlık direnci arttıka larval gelişim süresinin uzaması organizmanın stres koşulları altında yağ biriktirme potansiyelinin artmasından kaynaklanmaktadır [39]. Açlık direnci aynı zamanda erken dönem yumurta veriminde düşüşe neden olmaktadır [82,83].

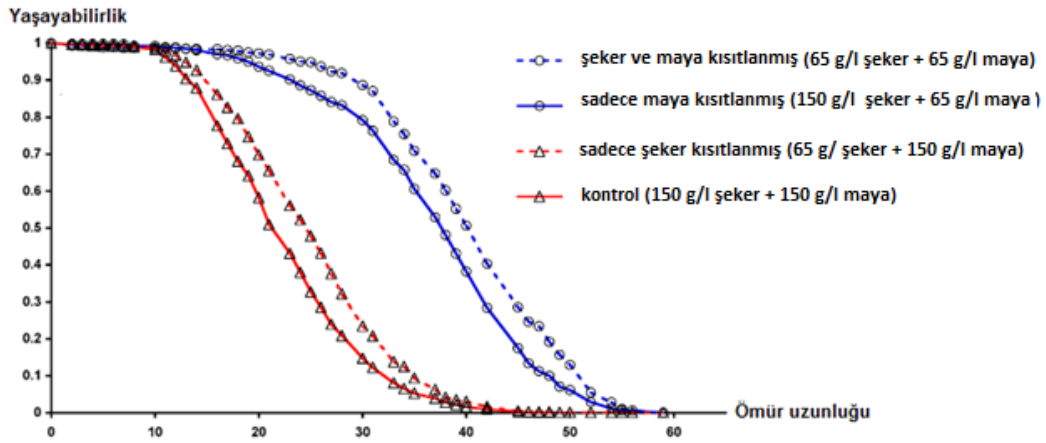
Açlık direnci ile ömür uzunluğu arasında bir ilişki olduğu yönünde bulgular vardır. *D. melanogaster* ile yapılan seçilim deneyleri, yüksek açlık direnci gösteren bireylerin daha uzun ömürlü olduğunu göstermektedir [84]. Aynı zamanda uzun ömürlü bazı *D. melanogaster* mutantlarının yüksek açlık direnci gösterdiği bilinmektedir [85]. *C. elegans* mutantlarında da yüksek seviyede açlık direnci gösteren bireylerin daha uzun ömürlü oldukları ortaya konmuştur [85, 86]. Ancak açlık direnci ve ömür uzunluğunun her zaman pozitif korelasyon göstermediğine ait bulgular vardır [39].

Ömür uzunluğunu etkileyen çevresel etmen olarak beslenme, McCay ve arkadaşlarının [87] besin kısıtlaması ve artan ömür uzunluğu arasında gösterdiği pozitif ilişkiden beri farklı organizmalarda çalışılmaktadır. Besin kısıtlamasının birçok organizmada ömür uzunluğunu arttırdığı bilinmektedir [88, 89, 90]. Besin kısıtlamasına bağlı olarak, besin alımındaki azalmanın; yaşa bağlı hastalıkların ortaya çıkışını ertelediği, ortalama ömür uzunluğunu ve maksimum yaşam süresini meyve sineği [91], kemirgenler [92], balıklar [93], primatlar [94, 95] ve insanlar [96, 97] gibi farklı taksonomik basamaklarda yer alan canlılarda arttırdığı bilinmektedir.

Besin kısıtlamasının yaşlanma üzerine olan etkisi, *D. melanogaster* ile yapılan çalışmalarından elde edilen birçok bulgudan sonra bilim adamlarının ilgisini çekmiştir [98]. Meyve sineği ile yapılan besin kısıtlaması deneylerinde, kısıtlı besinin ömür uzunluğunu standart besine göre %50 oranında arttırdığı gösterilmiştir [15, 46, 88, 98]. Ömür uzunluğunda gözlenen bu artışın sebebi, kısıtlı besin alımıyla birlikte oksidatif stresin azalmasıdır [99].

D. melanogaster, besin kısıtlaması çalışmaları için oldukça kullanışlı bir organizmadır. Bu organizma doğada çürümüş mantarlardan ve fermente meyvelerden beslenmektedir. Organizmanın laboratuvar ortamında beslenmesi için eskiden şekerli muz karışımları kullanılırken şimdi farklı oranlarda besin maddeleri içeren agarlı besiyerleri kullanılmaktadır. Besiyerleri; sükroz, maya, mısır unu ve agar içermektedir. Klasik besin

kısıtlaması çalışmalarında standart olarak 150 g/l maya ve 150 g/l şeker kullanılmaktadır. Besin kısıtlaması agarlı besiyeri içindeki şeker ve maya miktarının seyrelmesiyle sağlanmaktadır. Besin kısıtlaması çalışmaları genellikle; organizmanın temel protein ihtiyacını karşılayan maya miktarının kısıtlanması ile yapılmaktadır. Ancak hem maya hem de şeker miktarının kısıtlandığı çalışmalar da bulunmaktadır [100]. *D. melanogaster*'de bu iki yöntemde de besin kısıtlaması sonucu ortalama ömür uzunluğunun ve maksimum ömür uzunluğu değerlerinin arttığı bulgulanmıştır (Şekil 2.5). *D. melanogaster*'de yumurta verimi ve ömür uzunluğu özellikleri için optimum maya miktarı 100 g/l, şeker miktarı ise 50 g/l olarak belirlenmiştir [101].

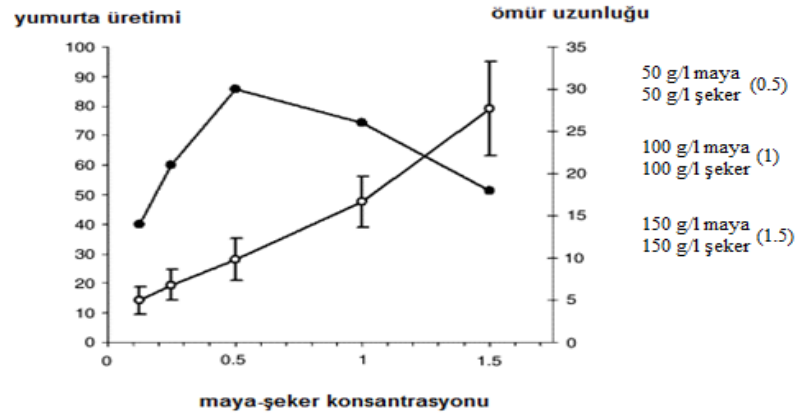


Şekil 2.5 Besin bileşenlerinden sadece maya, sadece şeker ve her ikisinin de kısıtlanmasına bağlı olarak ömür uzunluğunda gözlenen artışı gösteren yaşayabilirlik grafiği [99].

Ömür uzunluğu ve beslenme arasındaki ilişkiyi kısıtlanmış kalori değil protein ve yağ düzeyleri belirlemektedir [100]. Besin kısıtlaması için kullanılmış olan “kalori kısıtlaması” teriminin ömür uzunluğu artışını açıklayamadığı görülmüş ve aynı kaloriye sahip ancak azalan protein miktarı içerikli besinlerle beslenen sıçanların ömür uzunluğunun protein miktarındaki düşüşe bağlı olarak arttığı gösterilmiştir [100].

Besin kısıtlaması, birçok organizmada ömür uzunluğunu arttırmaktadır ancak bir uzlaşma olarak yumurta üretimini ve verimini düşürmektedir [102]. Bu durum *Drosophila* türleri için de böyledir [88]. Besin konsantrasyonu arttıkça, ömür uzunluğunun aksine günlük ve hayat boyu yumurta verimi artmaktadır [99] (Şekil 2.6).

Besin kısıtlamasının uzlaşma mekanizmalarındaki etkisinin, doğadaki besin kıtlığına bir cevap olarak gelişmiş olduğu düşünülmektedir. Ömür uzunluğu ve yumurta verimi arasındaki uzlaşma, besin kısıtlaması olduğu durumlarda daha belirgin olarak görülmektedir [103]. Bu kısıtlama, organizmanın sahip olduğu toplam enerjinin yumurta üretimi ve somatik hücre tamirati arasında bölüştürülmesinde etkilidir [104].



Şekil 2.6 İçi boş noktalar yumurta üretimini, içi dolu olan noktalar ömür uzunluğunu ifade etmektedir. Besin konsantrasyonu artarken yumurta üretimi ve ömür uzunluğu ters orantılı olarak değişim göstermektedir [98].

Holometabol böceklerde ömür uzunluğu, ergin dönem beslenmesi kadar larval dönem beslenmesinden de etkilenmektedir. Ergin dönem morfolojisi ve uyum başarısı, ergin ve larval dönem beslenmesinden elde edilen enerji ile belirlenmektedir. Larval dönem beslenmesi öncelikle larva gelişimi için önemlidir. Larval dönemde alınan ve depolanan besin miktarı, larval gelişim süresi, pupasyon süresi ve minimum vücut büyüklüğü üzerinde etkilidir. Larval dönemde yeterince beslenemeyen bireyler, kritik vücut büyüklüğüne ulaşamamakta ve pupasyona geçememektedir [105]. Bu nedenle larvanın kritik büyüklüğe ulaşması, yaşayabilirlik ve morfolojik karakter varyasyonu için belirleyici olmaktadır [106]. *D. melanogaster*'de larval dönem gelişme hızı, ergin dönem gelişim hızı ile vücut büyüklüğü arasındaki ilişkiyi belirlemektedir [107]. Hızlı gelişim süresi ile ergin öncesi dönem ilişkili olduğu için, juvenil dönem gen ekspresyonlarının ergin dönem seçiminde etkili olabileceği düşünülmektedir [108]. *D. melanogaster*'de gelişim süresinin uzaması yaşanmayı da geciktirmektedir. Ergin öncesi dönemde gelişim süresinin artması yağ oranında artışa neden olmakta ve ergine ait fizyolojik karakterleri etkilemektedir. Bu durum besin kalitesine bağlı olarak, gen-çevre etkileşimi sonucu

erginde bazı genlerin ifadelerini değiştirebilmektedir. Tüm bu etkileşimlerin sonucu olarak ömür uzunluğunda artış olabileceği düşünölmektedir [109].

D. melanogaster'in özellikle larval dönemdeki beslenmesinin ergin dönem ömür uzunluğu ve yumurta verimliliği ile ilişkili olduğu düşünölmektedir. Larval gelişim sırasındaki beslenme, yumurta verimi ve eşleşme başarısı gibi ergin bireye ait yaşam öyküsü karakterleri üzerinde etkilidir [88, 110]. Aynı zamanda larval dönemdeki besin kısıtlamasının, ovaryol sayısı ve yumurta verimini doğrudan etkilediği ve bu bağlamda dişilerde ömür uzunluğunu arttırdığı gösterilmiştir [111].

Besin kısıtlaması ile artan ömür uzunluğu ve stres direnci arasındaki etkileşimin genetik temelinde savunma mekanizması, enerji metabolizması, protein metabolizması, gen stabilitesi, sinir sistemi fonksiyonları gibi bir çok mekanizmanın etkili olduğu düşünölmektedir [99]. Bu mekanizmalardan en çok bilineni İnsülin/ insülin benzeri büyüme faktörü sinyal mekanizması (IIS) ve repamisin hedef mekanizması (TOR)'dır. Her iki mekanizma da maya, solucanlar, böcekler ve fareler için evrimsel olarak korunmuş mekanizmalardır. Organizmanın besin kısıtlamasına verdiği cevapta aracı rolünü üstlenmekte olduğu tahmin edilen bu mekanizmalar; insülin sinyal mekanizması, besin algılama, büyüme, gelişimde ve stres direncinde rol oynamaktadır [112].

İnsülin / insülin benzeri büyüme faktörü, IIS sinyal mekanizmasını etkileyen ve ifadesi besin kısıtlamasına göre değişen bir gen grubudur [113]. Bu gen grubunun *D. melanogaster* mutantlarına ait ömür uzunluğunda belirgin bir artış gözlenmiştir [114] ve IIS sinyal mekanizmasının yaşlanma hızını ayarladığı gösterilmiştir [115]. Ayrıca, *IGF-1* (*insulin-like growth factor-1*) vücut büyüklüğünün ana belirleyicilerinden biridir. Farelerde, köpeklerde, insanda dolaşım sisteminde bulunan *IGF-1* seviyeleri vücut büyüklüğüyle korelasyon gösterir [115]. İndirgenmiş Büyüme Hormonunun (GH) artan ömür uzunluğunun sebebi olabileceği düşünölmektedir. Örneğin, transgenik farelerde büyüme hormonunun overekspresyonu *IGF-1* seviyelerinde artış ve aniden hızlanan yaşlanma ile sonuçlanmıştır. İkinci olarak normal tirotropin salgılatırıcı hormon (TSH) ve prolaktin hormon (PRL) fonksiyonu olan, ancak GH reseptöründe meydana gelen bir bozukluğun sonucunda GH duyarsızlığı gösteren Lordon cüce faresinde de ömür uzunluğunun dişilerde %38 ve erkeklerde %55 arttığı gösterilmiştir [115]. Bir diğer çalışmada *D. melanogaster*'de besin kısıtlaması ile ömür uzunluğu arasındaki ilişkinin IIS mekanizmasında yer alan *chico* genindeki mutasyona bağlı olabileceği kaydedilmiştir

[112]. *D. melanogaster*'de insulin reseptöründe bir substrat proteininin null mutasyonu olan *chico* mutantları, daha uzun ömürlü, kısır ve strese daha dirençli fenotipler oluşturmuştur [42, 112] Farklı besin konsantrasyonları kullanılarak devam eden çalışmalarında en uzun ömürlü olan sinekler *chico* homozigotları olmuştur [116].

Benzer şekilde *D. melanogaster*'de besin kısıtlaması ile *TOR* mekanizmasına bağlı olarak *tsc2*, *tor*, *sk6*, *tsci tsc2* genlerinin overekspresyonu büyüme ve vücut büyüklüğünde önemli bir rol oynamaktadır [98, 117]. Aynı genlerin overekspresyonu sonucu ömür uzunluğunun da arttığı gözlenmiştir [118]. IIS sinyal mekanizması *chico* homozigotlarının da besin kısıtlamasına benzer cevaplar verdiği bulgulanmıştır [116]. Bu nedenle artan ömür uzunluğunda, *TOR* ve IIS sinyal mekanizmalarının bağlantılı olabileceği tartışılmaktadır.

Besin kısıtlaması ve ömür uzunluğu üzerine etkili olabileceği düşünülen aday genlerden bir diğeri *Sir2* genidir. Bu geninin maya, solucan ve sinekte ömür uzunluğunu arttırdığı ve memelilerin strese karşı verilen cevapta rol oynadığı bilinmektedir. Sirtuin ailesine ait olan deasetilaz proteinini kodlayan bu genin insanda da ortoloğu mevcuttur. Yakın dönem çalışmaları *Sir2* gen ekspresyonunun besin kısıtlaması ile ilişkili olduğunu ortaya koysa da [119] bazı çelişkiler vardır. Burnett ve arkadaşlarının [120] yaptıkları çalışma, hem *C. elegans* hem de *D. melanogaster*'de besin kısıtlamasına bağlı olarak ömür uzunluğunun *Sir2* geninin ifadesi sonucu artmadığını ortaya koymuştur.

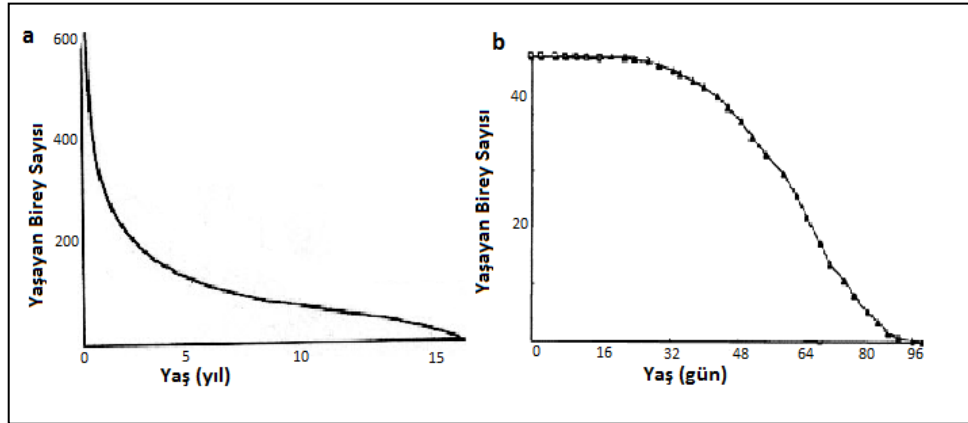
Ömür uzunluğu üzerinde etkili olduğu düşünülen genlerden *Indy* (I'm not dead yet)'dir. Memelilerde krebs döngüsüyle bağlantılı olduğu düşünülen bu genin mutant erkekleri ve heterozigot dişilerinin daha uzun ömürlü oldukları bulgulanmıştır [121]. *D. melanogaster*'de *Indy* mutantlarıyla yapılan besin kısıtlaması deneylerinde, kısıtlı besin gruplarının ömür uzunluğunun kontrol gruplarına göre daha uzun olduğu, yumurta verimi ve ölüm oranının azaldığı bulgulanmıştır [122]. Konuyla ilgili ileriki çalışmalar merak konusudur. Ancak yaşlanma ve yaşlanmayı geciktirebilen genetik ve çevresel etmenlerin açıklanması için daha birçok araştırma yapılması gerekmektedir.

2.5 Yaşlanmanın Demografik Olarak Ölçümü

Yaşlanma evrimsel olarak uyum karakterlerinin düşüşü, gerontolojik olarak ise ölüm potansiyeli olarak tanımlanmaktadır. Bu iki tanım, yaşlanmayı bir uyum bileşeni olan “yaşa bağlı hayatta kalma potansiyeli” olarak ölçebilme imkanı sunmaktadır [1]. Yaşa bağlı hayatta kalabilirlik ihtimali aynı zamanda kronolojik olarak artan ölüm oranını (belli

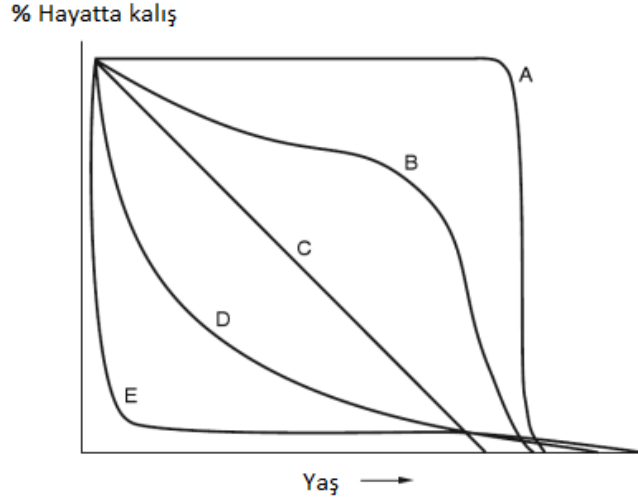
bir periyotta ölen birey sayısının yaşayan birey sayısına bölümü) ifade etmektedir [1]. Eğer bir populyasyonda artan yaş ile birlikte yükselen ölüm oranı gözlenmekte ise o populyasyonun yaşlandığı kabul edilmektedir [2]. Yaşlanmanın demografik olarak ölçülebilmesi için ise hayat tabloları ve hayata kalma eğrileri kullanılarak *yaşa bağlı ölüm oranı* belirlenmektedir.

Çevresel etmenler, bir uyum bileşeni olan hayatta kalabilirlik üzerinde doğrudan etkilidir [123]. Ömür uzunluğu ise bir uyum bileşeni olan hayatta kalabilirliği etkileyen tüm etmenlerden etkilenmektedir [124]. Çevre faktörünün ömür uzunluğuna katkısının olup olmadığı, *yaşa bağlı ölüm oranları* hesaplamalarıyla kontrol edilebilmektedir. Çünkü yaşlanma etkisi organizmanın sadece geç döneminde görülürken, yaşlanma üzerinde yaşa bağlı olmayan faktörlerin etkisi her yaş döneminde gözlenebilmektedir [124]. Örneğin, bir kuş türü olan *Vanellus vanellus*'un doğada gözlenen ölüm oranı artan yaş ile birlikte hızlı bir artış göstermektedir (Şekil 2.7a) [125]. Bu tür için ölüm oranındaki artış, yaşa bağlı olmamakla birlikte tamamen çevresel faktörlere bağlıdır. Çünkü çevresel faktörler, doğal populyasyonların uyum bileşenleri üzerinde doğrudan etkili faktörlerdir (hazard function). Standart laboratuvar koşullarında yaşlandırılan *D. subobscura*'ların ise artan yaş ile değişen ölüm oranı, sadece organizmanın geç döneminde trajik bir düşüş göstermektedir (Şekil 2.7b) [126]. Ölüm oranındaki bu değişimin, standart laboratuvar koşullarından dolayı yaşa bağlı olduğu kabul edilmektedir.



Şekil 2.7 a) *Vanellus vanellus*'un doğada hayatta kalma eğrisi erken yaşta ciddi bir düşüş göstermektedir. b) Standart laboratuvar koşullarında yaşlandırılan *D. subobscura*'ların ölüm oranları ilerleyen yaşta düşüş göstermektedir [125]

Yaşlanma çalışmalarında kullanılan hayatta kalma eğrilerinin tipleri populasyonun yaşlanma profili hakkında bilgi vermektedir. Bu eğriler kullanılarak yaşlanmanın yaşa bağlı olup olmadığı tahmin edilebilmektedir [127]. *D. melanogaster* populasyonlarının yaşlanma şekli standart laboratuvar koşulları altında tipik dikdörtgensel eğri ile ifade edilirken (Şekil 2.8 - B), çevresel stres koşullarında erken yaşlarda hayatta kalma oranının düşüşü olarak doğrusal (Şekil 2.8 - C) ya da üstsel (Şekil 2.8 - D) olarak ifade edilir.



Şekil 2.8 Farklı populasyonlarda gözlenebilen hayatta kalış eğrisi tipleri. (A) İdeal , (B) Tipik, (C) Doğrusal, (D) Üstsel, (E) L tipi hayatta kalış eğrisi [127].

Yaşa bağlı ölüm oranları, her yaş ya da yaş aralığı için yaşa bağımlı olmayan ve ömür uzunluğunu etkileyen faktörleri yok saymak için kullanılmaktadır [9]. Yaşa bağlı ölüm oranları kullanılarak oluşturulan metotlar, yaşa bağlı ölümün genetik ve fenotipik örüntüleri analiz etmek ve bu örüntülerinin gruplar arasındaki farkını görebilmeyi kolaylaştırmaktadır [129].

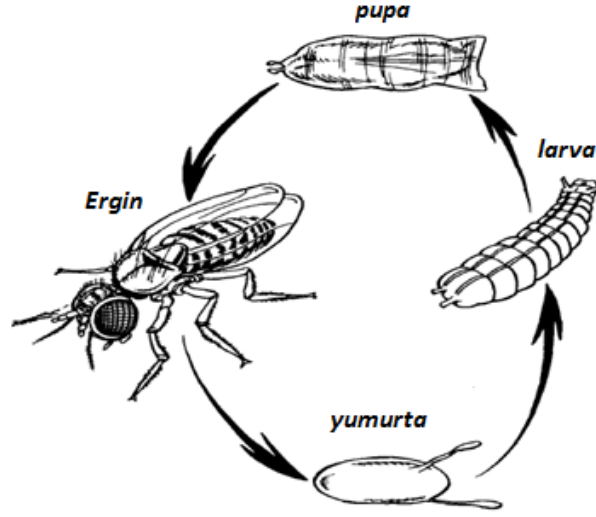
Bu metotların temelinde, gözlemlenen ölüm oranı değerleri populasyonlar arasında kıyaslayarak bir hipotezle ilişkilendiren matematik modelleri bulunmaktadır. Bunlardan *Gompertz modeli*, ölüm analizi yapılan çalışmalarda en çok kullanılan metottur. Gompertz modeli, yaşa bağlı ölüm oranının yaşla birlikte üssel olarak arttığını öngörmektedir. Lojistik modeller, yaşlı bireylerde gözlenen mortalite oranının yavaşladığı örüntüleri açıklar. Bu oran sifıra eşitlenirse Gompertz modeli kullanılır. Makeham modeller ise yaşa bağlı mortaliteyi hesaplamak için sabit değerlerin eklendiği modellerdir.

Bir çevresel stres olarak besin kısıtlaması uygulanan çalışmalarda da yaşa bağlı ölüm oranları yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu oranların analizi, yaşlanma sürecini her yaş için takip edebilme olanağı sağlamaktadır [9].

2.6. Yaşlanma Çalışmalarında Kullanılan Model Organizmalar

Biyolojik süreçler araştırılırken kullanılacak olan model organizma seçimi oldukça önemlidir. Bu biyolojik süreç yaşlanma ise kullanılacak organizmanın gelişiminden fizyolojisine kadar daha birçok biyolojik mekanizmasının çok iyi bilinmesi gerekmektedir. Günümüzde kullanılan model organizmalar biyolojik mekanizmaları bakımından insana en yakın özellik gösteren canlı grupları içinden seçilmektedir. Ancak yaşlanma çalışmalarında model organizma seçimi yapılırken temel olarak organizmanın ömür uzunluğu dikkate alınmaktadır. Yaşlanma çalışmaları için primatlar gibi insana evrimsel süreç olarak en yakın taksonomik basamaktan canlılarla çalışmak en ideal olanıdır. Ancak primatların ortalama ömür uzunluğunun yaklaşık 40 yıl olması, yaşlanma çalışmaları için daha kısa ömürlü model organizmaların seçimini zorunlu kılmaktadır [129]. Günümüz yaşlanma çalışmalarında maya (*Saccharomyces cerevisiae*), nematod (*C. elegans*) ve meyve sinekleri (*D. melanogaster*) en çok kullanılan kısa ömürlü model organizmalardır.

D. melanogaster, *Diptera* takımının *Drosophilidae* familyasının bir üyesidir. Türün adı latince "nem seven" anlamına gelmektedir. Bu organizmaya sıcak ve nemli bölgelerde daha sık rastlanmaktadır. *D. melanogaster*, yaşlanma çalışmalarında oldukça yaygın kullanıma sahip bir organizmadır. Bu organizmanın, kültürünün kolay ve ucuz olması, bir seferde çok sayıda yavru vermesi, yaşam döngüsünün ve ömür uzunluğunun görece kısa olması, yaşlanma çalışmaları için tercih edilmesinin başlıca sebepleridir. Ergin ömür uzunluğu, standart laboratuvar koşullarında altında yaklaşık 45 - 60 gündür. *D. melanogaster*, holometabol bir organizmadır. Yumurta, larva, pupa dönemlerini yaklaşık 10 günde tamamlar (Şekil 2.9).



Şekil 2.9 Holometabol bir organizma olan *D.melanogaster*'de gelişim dönemlerinin gösterimi.

2.6.1 İzosoyların Kullanılması ve Önemi

İzosoyların kullanımının temelinde seçilen soyların kendine özgü bir genetik altyapıya sahip olması ve genomlarının %99.9 oranında homojen olduğu kabulü [130] gerekliliği yatmaktadır. Çünkü soyların bireyleri arasında çeşitlilik varsa, farklı çevresel koşullara verdikleri tepkiler bu durumdan etkilenmektedir [131].

Doğadan toplanan populasyonların laboratuvar koşullarında mevcut nicel özellikleri ölçüldüğünde, kendi tekrarları arasında oldukça yüksek çeşitlilik göstermektedirler [131]. Fenotipik olarak yüksek varyasyon gösteren bu soyların standart laboratuvar koşulları altında gösterdikleri anlamlı farklılıkları minimuma indirebilmek için izosoylar kullanılmıştır.

Doğadan toplanan her bir dişiden türetilen soyların homojen bir genoma sahip olması ve bir genotipin ifadesi olarak değerlendirilmesini amaçlayan bu yöntem, populasyon genetiği ve nicel özellik analizi çalışmalarında oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Böylece deney için seçilen soyların tekrarları arasındaki farklılığın, sadece deneysel hata ve / veya çevresel farklılıklardan kaynaklandığı kabul edilebilmektedir.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Kullanılan Soylar

Deneyle, *D. melanogaster*'in kendileşmiş dört soyu kullanılarak yapılmıştır. Kullanılan dört soydan birisi *Canton-s B (Cs-B)* yabancı soyu diğere üçü Rize'nin Pazar ilçesi Boğazlı köyünden 2009 yılında izosoy hattı olarak toplanmış soylardır.

3.1.1 Standart Soy

Cs-B soyu, genetik altyapısında *P* elementi transpozonu bulundurmayan bir soydur. *P* elementi genom içinde rasgele yer değiştirerek ömür uzunluğu gibi birçok yaşam öyküsü karakteri üzerinde baskın bir seçilimsel etki göstermekte ve genomda girdikleri yere göre gen ifadelerinde farklılığa neden olabilmektedir [132]. Bu nedenle yaşam öyküsü karakterleri çalışmalarında bu transpozondan arındırılmış soyların kullanımı tercih edilmektedir. Deneyde kullanılan *Cs-B* soyu, *white* aleli taşıdıklarından dolayı beyaz gözlü bireylerdir.

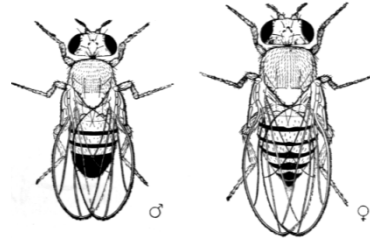
3.1.2 İzosoylar

Deneyle için seçilen soylar, 2009 yılının Ağustos ayında Banu Şebnem Önder tarafından Türkiye'nin Doğu Karadeniz Bölgesi'nden toplanmıştır. Örnekleme için seçilen istasyon, Rize ili sınırlarında Pazar ilçesine bağlı Boğazlı Köyü'dür. Pazar ilçesine 5 km uzaklıkta olan köyün meydanının coğrafi konumu; enlem 41.138, boylam ise 40.923'de bulunmaktadır ve yüksekliği deniz seviyesinden 243 metredir.

D. melanogaster evsel atıkların ve meyve bahçelerinin olduğu yerlerden daha yüksek verimde toplanabilmektedir. Bu nedenle tuzaklar, köyün içerisinde evlere yakın yerlere kurulmuştur. Yerleştirilen ve plastik şişelerle hazırlanan tuzakların içinde bir gece önceden hazırlanmış muz, maya ve su içeren lapa ve sineklerin tüneyebilmeleri için dal parçaları konmuştur.

Tuzaklar gün doğumundan hemen sonra asılıp gün batımından hemen önce toplanmıştır. Asılan tuzakların kapakları dikkatli bir şekilde kapatıldıktan sonra bir bayıltma tüpüne aktararak, eter yardımıyla bayıltılmış ve eşey ayrımı gerçekleştirilmiştir. Eşey ayrımı için, erkek bireylerin ön ayaklarının ikinci tarsal segmentindeki eşey kılları, dişilerin abdomen segmentleri ayırıcı morfolojik özellikler olarak kullanılmıştır (Şekil 3.1). Doğada muhtemel olarak çiftleşmiş kabul edilen dişi bireyler, içinde taze besiyeri bulunan tüplerin

her birine bir dişi olacak şekilde ayrı ayrı alınmış ve uygun kodlamalar yapılmıştır. İki gün yumurtlamasına izin verildikten sonra dişiler tüplerden uzaklaştırılmıştır. Böylece bu dişilerin yumurtlaması sonucunda tüplerde, tek bir dişiden ve en son çiftleştiği erkek bireyden meydana gelen yavru dölleri elde edilecek olması amaçlanmıştır. Bu yöntemle tek bir dişiden gelen yavru dölleri devamı ile oluşan izosoylarla, genotipik olarak benzer bireyler elde etmek amaçlanmıştır.



Şekil 3.1 *D. melanogaster* dişi ve erkeklerinde gözlenen eşeyssel dimorfizm.

Deney için seçilmiş olan soylar, 45 kuşak boyunca sadece kendileriyle eşleşmiş ve kuşakları çakışmamış soylardır. Bu nedenle genetik altyapılarının homojen olduğu kabul edilmektedir [133].

3.2. Deney Koşulları

3.2.1. Soyların Kültürü ve Laboratuvar Koşulları

Kültür aşamasında *D. melanogaster* için standart kabul edilen $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, 12 saat aydınlık : 12 saat karanlık ışık periyodu ve 55 ± 5 nem koşullarına sahip SANYO marka iklim dolabı kullanılmıştır.

Soylar laboratuvarımızın standart besiyeri olan 1 litre suda 20 g maya, 50 g şeker, 100 g mısır unu ve 6 g agarın karıştırılıp pişirildikten sonra antibakteriyel ve antifungal olarak eklenen %10'luk 15 ml Nipagin ile 6 ml asit karışımı (81 ml su + 83 ml ortofosforik asit + 836 ml propionik asit) ile hazırlanan stok besiyerinde kültüre edilmiştir. Soy hatları her 14 günde bir taze besin ortamına alınarak kültür yenilenmiştir. Atasallar 2 gün boyunca yumurtlamaları için tüplerde bekletilmiş ve daha sonra uzaklaştırılmışlardır. Bu yolla kuşakların birbiri ile çakışmaları önlenmiştir.

3.2.2. Soyların Deneye Hazırlanması

Soylar deneye başlanmadan iki kuşak öncesinden Bass ve arkadaşlarının [101] önerdiği optimum besiyerinde (100 g/l maya, 50 g/l şeker, 15 g/l agar, 30ml/l %10'luk Nipagin, 3 ml/l asit karışımı) çoğaltılmıştır. Açlık direnci ve ömür uzunluğu deneyinde kullanılacak ergin bireyler farklı yöntemlerle toplanmıştır. Buna göre açlık direnci deneyi için 10 dişi ve 10 erkek birey kontrollü olarak standart besiyerinde çiftleştirilmiş ve bırakılan yumurtadan gelişen ve pupadan çıkan ergin bireyler toplanmıştır. Toplanan bu ergin bireylerin açlık direnci ölçülmüştür.

Ömür uzunluğu deneyi için ise yumurta toplama yöntemi kullanılmıştır. Buna göre soylara ait ergin bireyler içinde 6 g agar ve 1 l su ile hazırlanmış agar plakları bulunan yumurtlama kaplarına alınmıştır. Plakanın ortasına çiftleşmeyi uyarmak için bir miktar maya eklenmiştir. Ergin bireyler alındıkları farklı çevreye alışmaları için 8 saat bekletilmişlerdir. Daha sonra yeni agar plaklarının bulunduğu yumurtlama kaplarına alınan atasallar, yumurtlamaları için 8 saat tutulmuş ve sonrasında agar plakalarından ince uçlu pens yardımıyla yumurta toplama işlemi gerçekleştirilmiştir. Deney planına uygun besiyeri içeren tüplerin her birine 40 adet yumurta ekilmiştir. Böylece açılan yumurtalardan çıkan larvaların, deney planına uygun besin tipinde beslenmeleri sağlanmıştır.

Ömür uzunluğu deneyleri gibi uyum bileşeni karakterleriyle yapılan çalışmalarda larval yoğunluk, standart tutulması gereken bir koşuldur [98]. Bu nedenle deneyler sırasında besiyerlerine ekilen yumurta sayısı ve tüplerdeki genel populasyon yoğunluğu sabit tutulmuştur. *Drosophila* türlerinde larval yoğunluk rekabeti ve beslenme hızını etkilemektedir [134]. Buna bağlı olarak ergin dönem vücut büyüklüğü ve stres direnci de değişkenlik göstermektedir [135].

Çalışma boyunca kurulan deneylerde çiftleşmemiş dişi ve erkek bireyler kullanılmıştır. Özellikle yaşam öyküsü karakterleri çalışmalarında bu yöntemin kullanımı yaygındır. Çünkü bir uyum bileşeni olan çiftleşme başarısı, populasyon içindeki her birey için aynı değildir. Bireyin çiftleşme başarısı, bireyin yaşam öyküsü karakterleri olan yumurta verimi, yaşayabilirlik ve ömür uzunluğu gibi nicel olan tüm yaşam öyküsü karakterleriyle bir trade-off (bedel, değiş-tokuş) ilişkisi içindedir. Bu uzlaşma ilişkisi bireyin uyumunu arttırmakta ve evrimsel olarak seçim baskısına karşı işlemektedir [136].

D. melanogaster dişileri standart laboratuvar koşullarında, pupadan çıktıktan yaklaşık 8 saat sonra eşeyssel olgunluğa erişir [137]. Bu olgunluğa ulaşmadan toplanacak olan bireyler çiftleşmemiş kabul edilmektedir. Bu nedenle ekilen yumurtalardan çıkan ergin bireyler eşeyssel olgunluğa ulaşmalarına izin verilmeden her 6 saatte bir toplanmıştır.

Eşey ayrımı için sinekler CO₂ ile bayıltılmış ve Leica marka ışık mikroskobu kullanılmıştır. *D. melanogaster* dişi ve erkekleri arasında oldukça belirgin bir eşeyssel dimorfizm görülmektedir. Erkek bireyler belirgin bir şekilde dişilerden daha küçük vücutlu olup ön bacaklarının tarsal segmentinde yan yana dizilmiş ortalama 10 kıldan oluşan eşey tarağı bulunur. Bu tarak, eşey ayrımı yapmak için en güvenilir morfolojik karakterdir (Şekil 3.2). Eşey ayrımı için abdomen yapısı da yardımcı olmaktadır. Erkek bireylerin abdomeninin dorsal kısmı daha yuvarlaktır ve dorsaldeki son iki abdominal segment (A5 ve A6) tamamen melanize olmuştur ve daha koyu renkli görünmektedir. CO₂ uygulaması tüm erginlere eşit miktar ve sürede uygulanmıştır. Bu koşullarda toplanan dişi ve erkek bireyler, her tüpte 10 birey olmak üzere ömür uzunluğu deneyi için uygun besiyerleri tiplerine alınmıştır. Böylece pupadan çıkan ergin bireylerin planlanan besin tiplerinde beslenmesi sağlanmıştır. Tüm bu işlemler yapılırken bireylerin fiziksel zarar görmemesi için yumuşak uçlu suluboya fırçası kullanılmıştır.

3.2.3 Besin Tipleri ve Hazırlanması

Çalışmanın amacı, ergin öncesi ve ergin dönem beslenme farklılıklarının ömür uzunluğuna etkisini ölçmektir. Bu nedenle deney için standart besin olarak Bass ve arkadaşları'nın [101] "*Drosophila*'da besin kısıtlamasının optimizasyonu" çalışmasında önerdiği optimum besin tipi ve bu optimumdan türetilen 3 tane kısıtlı besin tipi kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Klasik besin kısıtlaması çalışmalarında kullanılan standart besin bileşenleri, organizma üzerinde olumsuz etkilere (yaşayabilirliğin düşmesi, enfeksiyonun artması vb.) neden olduğu için bu deneyde "standart" olarak kullanılmamıştır. Bu çalışmada kullanılan optimum besiyeri, klasik besin kısıtlaması çalışmaları için "kısıtlı besin" olarak adlandırılmaktadır. Kısıtlı besin grupları ise standart besiyeri bileşenlerinin maya miktarı üzerinden kısıtlanmasıyla oluşturulmuştur.

Standart besiyeri (S) 1 l suda 100 g ticari maya (Pakmaya marka), 50 g toz şeker, 15 g agar agar (Kimetsan marka), 3 ml propiyonik asit + ortofosforik asit ve 30 ml nipajin (100 g metil paraben / 1 l %95'lik etanol) içermektedir. Besiyerindeki maya organizmanın protein, şeker ise karbonhidrat ihtiyacını karşılamaktadır. Agar, besin karışımının

katılaştırılması ve sinekler için uygun yüzey oluşturulması amacıyla kullanılmaktadır. Asit karışımı ve nipajin ise besiyerine anti-bakteriyel ve anti-fungal olarak eklenmektedir.

Besiyeri hazırlanırken temelde katı bileşenlerden bir lapa oluşturulması ve daha sonra sıvı olan koruyucuların eklenmesi sırası izlenmiştir. Öncelikle 1 l distile suya maya ve agar eklenmiş, karıştırılarak homojen hale getirilmiş ve kaynatılmıştır. Kaynama gerçekleşikten hemen sonra şeker eklenmiştir. Karışımın sıcaklığı 70°C'ye düşürüldükten sonra nipajin ve asit karışımı ilave edilerek homojen olması için karıştırılmıştır. Daha sonra lapa 50 ml büyük tıbbi şırınga yardımıyla 27,0 mm x 64,0 mm ebadındaki tüplere 1 mm kalınlığında dökülmüştür ve kurutulmuştur. Kuruyan besinler maksimum 3 hafta +8°C de bozulmadan saklanarak kullanılmıştır.

Deney boyunca stres faktörü olarak besiyerlerinde maya kısıtlaması yapılmıştır. Kısıtlı besin tiplerinde, sadece standart besiyerinde kullanılan maya miktarı kısıtlanmış ve hazırlanma yöntemi, standart besiyeri hazırlama yöntemine göre yapılmıştır. Ömür uzunluğu deneyi için kullanılan besin tipleri 100 g/l, 50 g/l, 20 g/l ve 10 g/l maya miktarları içeren ve sırasıyla S, K1, K2 ve K3 olarak kodlanmaktadır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.1 Deneyde kullanılan standart (S) ve kısıtlı besin gruplarının (K1, K2, K3) bileşenleri ve miktarları.

Besin Grubu				
Besin bileşeni	S	K1	K2	K3
Maya	100 g	50 g	20 g	10 g
Şeker		50 g		
Agar agar		15 g		
Asit Karışımı		3 ml		
Nipajin		30 ml		
Distile su		1000 ml		

3.3 Deneylerin Yapılışı

3.3.1 Açlık Direncinin Ölçülmesi

Besin kısıtlamasına bağlı olarak ömür uzunluğu ölçülecek olan soyların seçimi için açlık (*starvation*) deneyi yapılmıştır. Bu deneyin amacı 28 izosoy hattı arasından açlığa en dirençli ve açlığa en dirençsiz soyların seçilmesidir.

Açlık direnci deneyine öncelikli olarak her bir soydan 3-6 günlük eşleşmemiş onar dişi ve erkek bireyin toplanması ile başlanmıştır. Daha sonra bu ergin bireylerin çiftleşmeme stresini azaltmak için 24 saat boyunca kontrollü olarak çiftleşmelerine izin verilmiştir. Sonra eşeyler ayrılarak bir tüpte 10 birey olacak şekilde, her soyun her bir eşeyi için beşer replikadan oluşan toplam 50 birey, % 0.6 g Agar agar içeren tüplere aktarılmıştır. Agar plaklarının, besleyici bir özelliği yoktur. Ancak ergin bireylerin sadece açlık direncini ölçebilmek ve ikinci önemli bir stres faktörü olan susuzluk (*dessication*) stresini eş zamanlı yaşatmamak için kullanılmış. Deney $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, $\% 55 \pm 5$ nem ve 12:12 saat aydınlık ve karanlık ışık periyodundan oluşan standart laboratuvar koşullarında yapılmıştır. Kontroller 6 saat aralıklarla son birey ölünceye kadar sürdürülmüştür. Bu yöntemle 28 izosoy hattına ait açlık direnci verileri hesaplanmıştır. Ölçülen tüm soylar arasından en yüksek dirence sahip bir ve en düşük dirence sahip iki soy seçilmiştir (Çizelge 3.2). Deney sonuçlarını içeren 28 izosoy hattının dişi ve erkek bireyelerine ait ortalama açlık direnci süreleri Ek 1’de verilmektedir.

Çizelge 3.2 Açlık direnci sonunda seçilen soy hatları ve ömür uzunluğu deneyi için kullanılan kodları.

Soy Hattı	<i>B100</i>	<i>B219</i>	<i>B235</i>	<i>B107</i>
Soy Hattı Kodu	<i>Cs-B</i>	<i>m1</i>	<i>m2</i>	<i>m3</i>

3.3.2 Ömür Uzunluğu Deneyi

Ömür uzunluğu deneylerine başlamadan açlık deneyi ile belirlenen üç soy ve kontrol amacıyla deneye dahil edilen *Cs-B* soyu için yumurta toplanmış, her bir deney setine göre (Şekil 3.3) standart besiyeri (S) ve / veya kısıtlı besiyerine (K1, K2, K3) yumurta ekimi gerçekleştirilmiştir. Yumurta ekimi her tüpte 40 yumurta olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Ekilen her yumurtanın erginleşme olasılığı yani viabilitesi yaklaşık

%50 olduğundan, ömür uzunluğunda yaşlandırmak istediğimiz ergin birey sayısının katları sayıda yumurta ekimi gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.4). Larval dönem beslenmesinin, gelişim süresi ve yaşayabilirlik üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Besin miktarı azaldıkça yaşayabilirlik düşmektedir. Bu nedenle kısıtlı besiyerlerine gerçekleştirilen yumurta ekimlerinde replika sayısı arttırılmıştır. Ayrıca soyun uyum başarısı da tekrar sayısını belirlemiştir. Ömür uzunluğu deneyi için ekilen yumurta sayısı Çizelge 3.3’de gösterilmektedir.

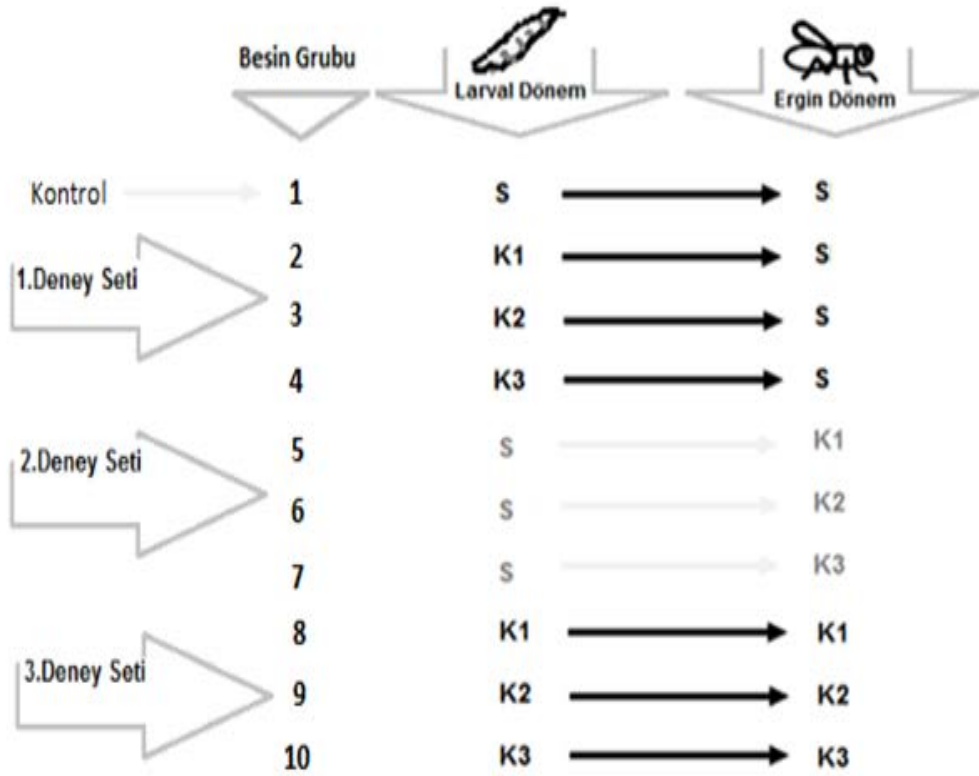
Larval dönemini, ekim yapılan besiyerlerinde geçirmesi sağlanan bireyler, pupadan çıkışlarıyla birlikte ergin dönemlerini geçirmeleri planlanan besiyerlerine alınmıştır. Pupadan çıkış gerçekleşikten sonra erginler eşeylerine ayrılmıştır. Her tüpte 10 birey olacak şekilde her eşey ve deney grubu için 5 tekrarlı olarak ilgili besiyerlerine alınmış ve her soy için toplam 50 dişi ve 50 erkek birey yaşlandırılmıştır. Yaşlanmaya alınan ergin bireyler son birey ölene kadar haftada üç kez taze besiyerine aktarılmıştır.

Çizelge 3.3 Ömür uzunluğu deneyinde kullanılacak ergin bireylerin elde edilmesi için ekilen yumurta sayısı.

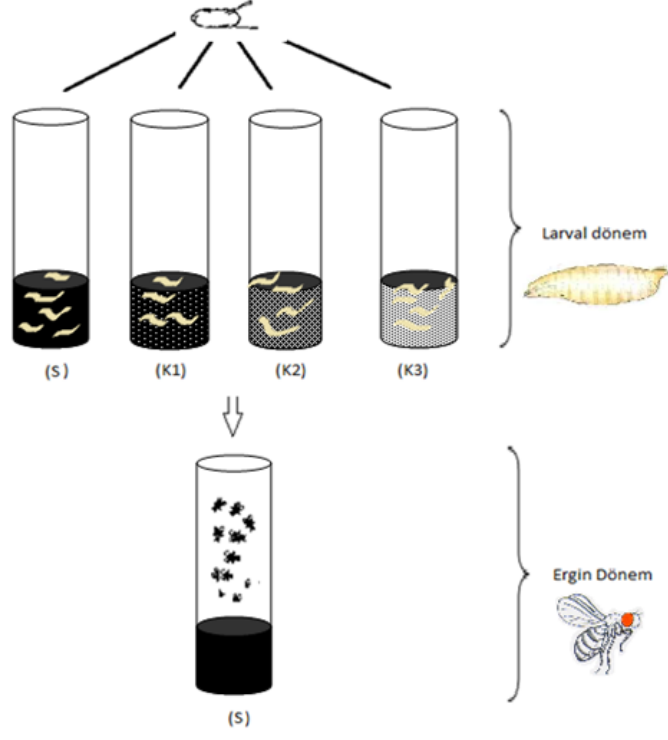
Soy Hattı	Besiyeri Tipi	Hedeflenen Ergin Birey Sayısı	Toplanan Yumurta Sayısı
<i>Cs-B</i>	S	400	3200
	K1	200	1600
	K2	200	2400
	K3	200	2400
<i>m1</i>	S	400	1600
	K1	200	800
	K2	200	1600
	K3	200	1600
<i>m2</i>	S	400	1600
	K1	200	800
	K2	200	1600
	K3	200	1600
<i>m3</i>	S	400	1600
	K1	200	800
	K2	200	800
	K3	200	800

Ömür uzunluğu deneyi 10 farklı besin grubu ile yapılmıştır. Besin gruplarından biri kontrol grubunu oluştururken diğer 9 besin grubu kısıtlanan besin dönemine göre üç deney seti altında toplanmıştır. Buna göre 1. deney setinde yumurta ekimi; S, K1, K2, K3 besiyerlerine yapılmış ve ergin hale gelen bireylerin hepsi S besiyerinde yaşlandırılmıştır

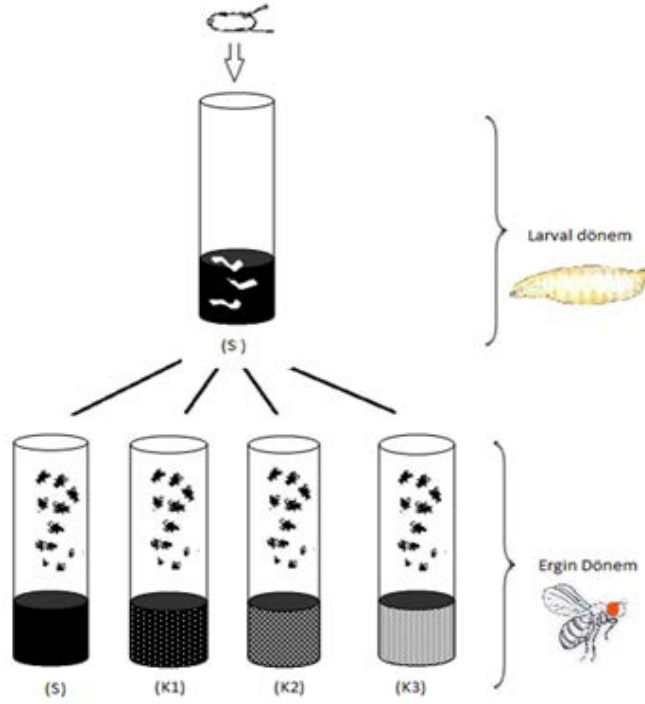
(Şekil 3.3). Bu sette bireyler larva dönemini kısıtlı besin ortamında geçirmişlerdir ve larval dönem beslenmesinin ömür uzunluğu üzerindeki etkisi ölçülmüştür. 2. Deney setinde; yumurta ekimi, S besiyerinde yapılmış ve ergin hale gelen bireyler S, K1, K2, K3 besiyerinde yaşlandırılmışlardır. Böylece larval dönem beslenmesi standart tutulmuş sadece ergin dönem beslenmesinin ömür uzunluğuna etkisi gözlenmiştir (Şekil 3.4). Son olarak 3. deney setinde larva ve ergin dönem için aynı tip besin grubu kullanılmıştır. Yani yumurta ekimi yapılan besin grubu ile erginlerin yaşlandırıldığı besin grubu aynı tutulmuştur (Şekil 3.5). Böylece ergin öncesi ve sonrası dönemde uygulanan besin stresi sürekliliğinin ömür uzunluğu üzerine kümülatif etkisi araştırılmıştır.



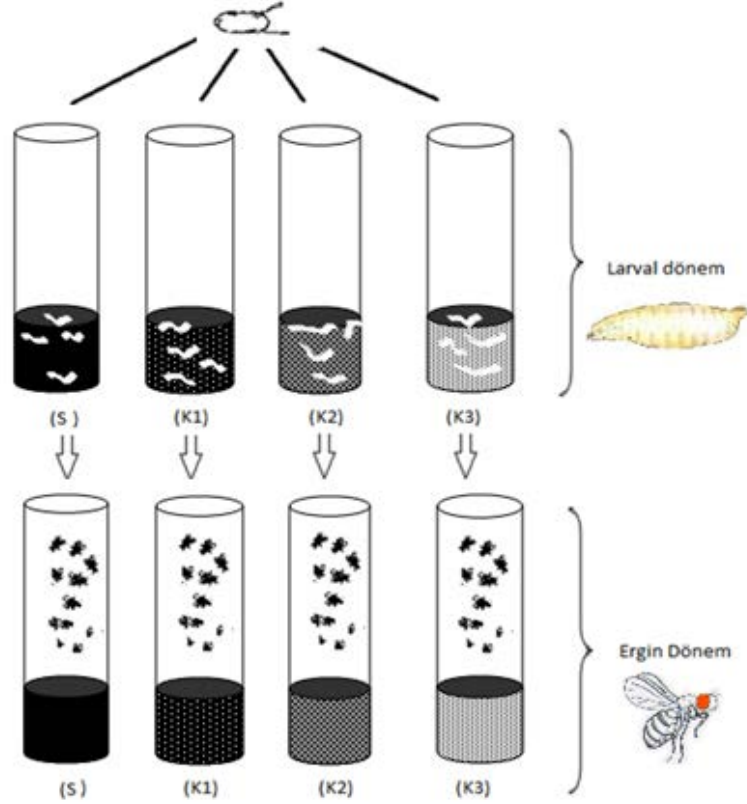
Şekil 3.2 *D. melanogaster* ile yapılan ömür uzunluğu deneyinde larval ve ergin dönemini standart ve / veya kısıtlı besiyerlerinde geçirmesini temel alan 3 deney setinin şematik gösterimi.



Şekil 3.3 Ömür uzunluğu deneyi 1. deney setinin şematik gösterimi.



Şekil 3.4 Ömür uzunluğu deneyi 2. deney setinin şematik gösterimi.



Şekil 3.5 Ömür uzunluğu deneyi 3. deney setinin şematik gösterimi.

3.3 Yaşa Bağlı Ölüm Oranlarının Hesaplanması

Yaşla bağlı ölüm oranlarının hesaplanmasında *Gompertz* fonksiyonu kullanılmıştır. Organizmalarda ölümün yaşlılıkla artması, değişik yaşlardaki mortalite-ölüm oranlarının hesaplanabilmesi ve populasyon mortalitesinin esasını oluşturan öğelerin saptanması amacıyla yaşa bağlı ölüm oranları hesaplanmıştır. Her bir deney seti, besin grubu ve eşey için dört modelden; *Gompertz* (G), *Gompertz- Makeham* (GM), *Lojistik* (L), *Lojistik Makeham* (LM) olarak önerilen dört modelden en uygun olanı seçilmiştir. Daha sonra yaşa bağlı mortalitedeki artış oranı (b değeri) hesaplanmış ve yaşlanma örüntüleri ortaya konmuştur.

Yaşlanma oranının hesaplanmasında *Gompertz* fonksiyonunu temel alan Pletcher'ın [138] WinModest 1.0.2. programı kullanılmıştır. *Gompertz* fonksiyonu:

$$y(t) = ae^{be^{ct}}$$

(Eşitlik 3.1)

a= asıl mortalite oranı (yaşa bağlı olmayan mortalite oranı)

b= yaşa bağlı mortalite artış oranı

c= büyüme oranı

e= 2,71828

olup, yukardaki parametreleri içermektedir.

3.4 Hayatta Kalma Eğrilerinin Oluşturulması

Her besin grubu için 50 dişi ve 50 erkek birey ile başlatılan ömür uzunluğu deneyinde her bir yaş aralığında eşeylere ait yüzde hayatta kalma oranları hesaplanmıştır. Elde edilen eğriler yaşa bağlı % hayatta kalış dağılımlarını göstermektedir. Bu bilgi ile her soy hattına ait dişi ve erkek bireylerde görülen hayatta kalma eğrileri değerlendirilmiştir. Hayatta kalma oranlarının dikdörtgensel dağılımı yaşlanmanın yaşa bağlı olduğunu gösterirken; erken yaşlarda hayatta kalma oranında hızlı düşüş gösteren eğriler, yaşlanmanın yaşa bağlı değil çevresel strese bağlı olarak gerçekleştiğini göstermektedir.

Hayatta kalma eğrileri, her yaş aralığında yaşayan bireylerin yüzdeleri kullanılarak Microsoft Excel 2010 programı kullanılarak oluşturulmuştur.

3.5 Verilerin Analizi

Açlık direnci deneyinde her soy hattı için; elde edilen ölüm sürelerinin saat olarak aritmetik ortalamaları, ortalamaların standart hataları, sapmaları ve varyasyon katsayıları (CV) SPSS 21 programı kullanılarak hesaplanmıştır.

Ömür uzunluğu deneyinde kullanılan 4 izosoyun ömür uzunluğu verilerinin öncelikle normal dağılım durumları ve varyanslarının homojen olup olmadığı kontrol edilmiş ve uç değerler veri dizisinden çıkarılmıştır. Her soy hattı için deney seti içinde bulunan besin gruplarına ait ömür uzunluğu tanımlayıcı istatistikleri olan ortalama (\bar{Y}) ve ortalamaların standart hataları (S.H.), sapmaları (S.S) ve varyasyon katsayıları (CV) SPSS 21 kullanılarak hesaplanmıştır.

Her bir soy kendi içerisinde besin grupları, eşey farklılıkları ve besin-eşey etkileşimleri çok yönlü varyans analizi (ANOVA) ve uygun *post hoc* testler ile karşılaştırılmıştır. Soy içi her bir eşey grubunun besin grupları ve kontrol ile karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA), *Tukey* ve *Games-Howell post hoc* testleri kullanılmıştır.

Her deney seti ve kontrol grubu dört temel beslenme tipine göre (1 kodu, kontrol grubu için; 2 kodu, 1. deney seti için; 3 kodu, 2. deney seti için; 4 kodu, 3. deney seti için) kodlandıktan sonra deney setleri için çok yönlü varyans analizi (ANOVA), *Tukey* ve *Games-Howell post hoc* testleri yapılmıştır. Aynı işlem 10 farklı besin grubu kodlanarak da gerçekleştirilmiştir. Ortalama ömür uzunlukları ile *Student-Newman-Keuls* testi yapılarak ortalamalar ile homojen alt gruplar oluşturulmuştur.

4. BULGULAR

4.1 Açlık Direncinin Belirlenmesi

Açlık direnci ömür uzunluğu üzerinde etkili olduğu düşünülen bir özelliktir [139]. Yapılan seçim deneyleri, yüksek açlık direnci gösteren bireylerin daha uzun ömürlü olduğunu göstermektedir [84]. Bu nedenle bu deney ile ömür uzunluğu deneyine alınacak soyların açlığa karşı verdikleri tepki temel alınarak seçilmesi amaçlanmıştır. Bu deney sonucunda 28 izosoy hattından 3 soy hattı seçilmiştir.

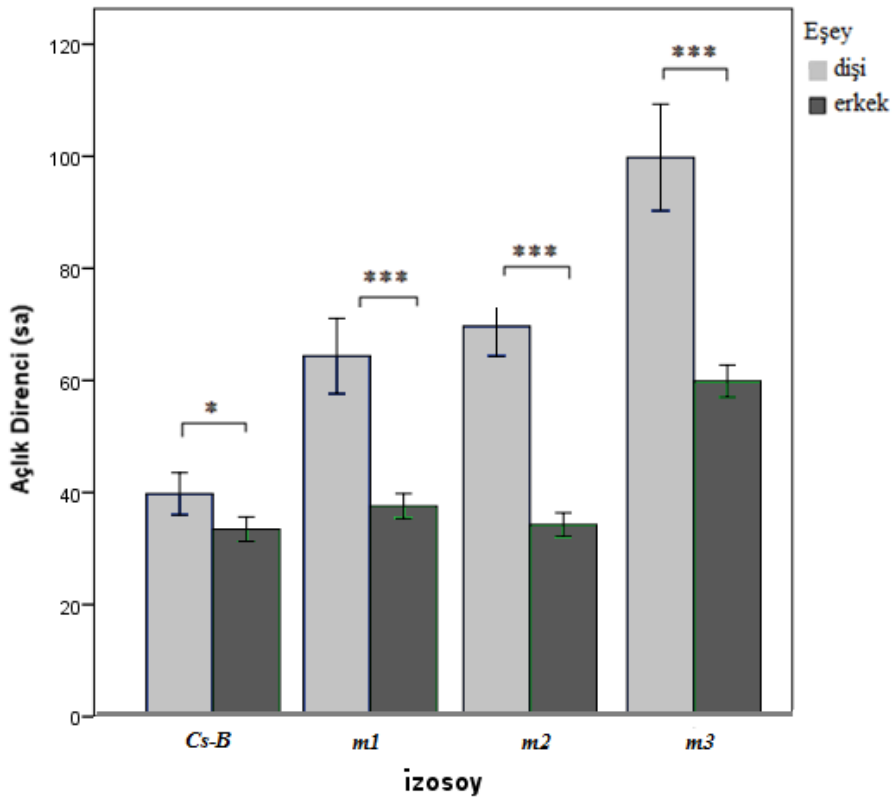
Çalışmaya dahil edilen 28 soy hattı için saat olarak açlık direnci ortalamaları elde edilmiştir (Ek1). Bu ortalamalara göre, besin yokluğuna karşı en uzun süre yaşayan (açlık direnci yüksek) ve en kısa süre yaşayan (açlık direnci düşük) soy hatları seçilmiştir. Bu doğrultuda yapılan seçimde soy hatlarının laboratuvar koşullarındaki üreme başarıları ve açlık direnci ortalamalarına ait standart hataları da dikkate alınmıştır. Açlık direnci düşük iki ve açlık direnci yüksek bir soy hattı ile *Cs-B* kontrol soyu seçilerek ömür uzunluğu deneyi yapılmıştır. Düşük açlık direncine sahip iki soy hattının seçilmesinin nedeni ömür uzunluğu ve açlık direnci arasında ortaya koyacağımız olası ilişkiyi kontrol edebilmektir. Seçilen soy hatlarının açlık direncine ait verilerin tanımlayıcı istatistikleri Çizelge 4.1’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.1 Ömür uzunluğu deneyine alınan soy hatlarının dişi ve erkek bireylerinin saat olarak açlık direnci ortalamaları (\bar{Y}), ortalamaların standart hata (S.H.), varyasyon katsayıları (CV) ve örneklem sayıları (N).

Dişi					Erkek				
Soy Hattı	N	\bar{Y}	\pm S.H.	CV	Soy Hattı	N	\bar{Y}	\pm S.H.	CV
<i>Cs-B</i>	40	39,15	1,86	0,30	<i>Cs-B</i>	40	32,85	1,07	0,21
<i>m1</i>	47	64,04	3,34	0,47	<i>m1</i>	48	37,25	1,12	0,21
<i>m2</i>	48	69,38	2,68	0,76	<i>m2</i>	50	33,96	1,05	0,22
<i>m3</i>	41	99,49	4,70	0,30	<i>m3</i>	50	59,56	1,43	0,17

Drosophila türlerinde açlık direnci, organizmanın yağ / protein oranıyla ilişkili olarak dişi bireylerde daha yüksektir [38]. Elde ettiğimiz bulgular, bu bilgiyi desteklemektedir (Ek1). Soylara ait *D. melanogaster* dişilerinin açlık direncinin erkek bireylere göre yaklaşık iki kat daha yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 4.1) (Ek 1). Ayrıca yapılan *post hoc* testleri

eşeyler arası gözlenen bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Ömür uzunluğu deneyi için kullanılan dört izosoy hattının ortalama açlık direnci (saat) ve %95 güven aralıklarını gösteren bar grafik (* p < 0,05; *** p < 0,001).

4.2 Ömür Uzunluğu

Açlık direnci deney sonuçlarına göre seçilen 3 soy hattı ve *Cs-B* kontrol soyu ile ömür uzunluğu deneyi yapılmıştır. Besin tipleri, ömür uzunluğu deneyi ile yaşlandırılan soylar için standart maya miktarı olan 100 g/l'nin 50 g/l, 20 g/l ve 10 g/l olarak kısıtlanmasıyla oluşturulmuştur (Çizelge 3.1). Deney, larval ve ergin dönem beslenmesinin ömür uzunluğu üzerindeki etkisini görebilmek amacıyla kontrol grubu ve 3 deney setinden oluşmaktadır (Şekil 3.2)

Ömür uzunluğu deneyinin 3 ayrı deney seti halinde gerçekleştirilmesinin nedeni, ergin öncesi, ergin sonrası ve her iki dönemde de uygulanan besin kısıtlamasının ergin ömür uzunluğuna etkisini soylar arasında ve eşeyler arasında karşılaştırarak incelemektir.

4.2.1 Larval Dönem Besin Kısıtlamasının Ömür Uzunluğuna Etkisi (1. Deney Seti)

Ömür uzunluğu deneyi için gerçekleştirilen deney setlerinden ilki olan 1. deney seti, larval dönemde kısıtlı besin ortamında gelişen bireylerin, ergin dönemde standart besin ortamında yaşlandırıldığı besin gruplarından oluşmaktadır. Bu deney setinde larval dönem besin kısıtlamasının ömür uzunluğu üzerindeki etkisi incelenmiştir.

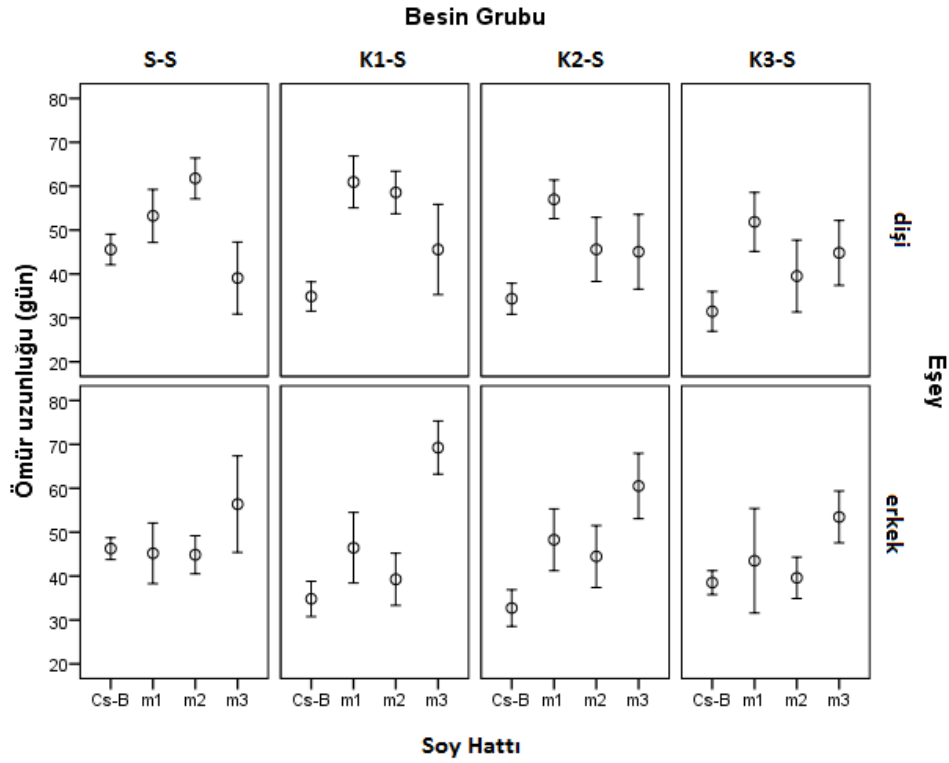
Bu deney seti için yapılan çok yönlü varyans analizine göre besin grubu ve soy hatları ömür uzunluğu bakımından anlamlı bir farklılık gösterirken eşeyssel farklılıkların istatistiksel olarak anlamsız olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.2). Bununla beraber soy* eşey ikili etkileşimi ve soy*besin grubu* eşey üçlü etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlıdır.

Çizelge 4.2 1. Deney seti tüm soy hatları için ortalama ömür uzunluklarının çok yönlü varyans analizi.

Varyasyon	Kareler Toplamı	sd	Ortalama kare	F
Soy	56766,333	3	18922,111	45,602***
Besin grubu	5553,675	2	2776,837	6,692***
Eşey	1,849	1	1,849	0,004
<i>Etkileşim</i>				
Soy * besin grubu	2735,867	6	455,978	1,099
Soy * eşey	24791,777	3	8263,926	19,916***
Besin grubu* eşey	883,013	2	441,507	1,064
Soy * besin grubu * eşey	7765,100	6	1294,183	3,119**
Hata	417841,589	1007	414,937	

* $p < 0.05$; ** $p < 0.001$; *** $p < 0.0001$, sd: serbestlik derecesi

Larval dönemde farklı miktarlarda uygulanan besin kısıtlaması ile soylar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulgulanmıştır ($p < 0.001$) (Çizelge 4.2). Her 3 besin grubu için *Cs-B* kontrol soyunun diğer soylardan anlamlı olarak farklı olduğu gözlenmektedir ($p < 0.001$) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 Tüm soy hatları ve eşeyleri için larval dönem besin kısıtlamasının ömür uzunluğu üzerine etkisini gösteren grafik.

Ortalama ömür uzunluğunun *Cs-B* soyu için oldukça düşük olduğu görülmektedir. Yüksek oranda kendileşmiş olarak kabul edilen bu soy düşük ömür uzunluğu ve düşük açlık direncine sahiptir. Anlamlı bir ömür uzunluğu varyasyonu göstermemesi oldukça yüksek oranda kendileşmiş bir soy olmasından kaynaklanan durağan genetik alt yapısına bağlanabilir. Bu deney seti için diğer izosoyların açlık direnci özellikleri ile bağlantılı olarak ömür uzunluklarında bir örüntü gözlenmemiştir. Ancak besin kısıtlaması arttıkça açlık direnci düşük olan *Cs-B* ile açlık direnci görece yüksek olan izosoylar belirgin olarak ayrılmaktadır (Şekil 4.2). Bu deney seti için yapılan çok yönlü varyans analizi sonuçlarına göre de besin kısıtlaması düzeyi arttıkça bütün soylar arasındaki ömür uzunluğu farklılığının belirgin hale geldiği bulgulanmıştır (Şekil 4.2). Ayrıca artan besin kısıtlamasına cevap olarak eşeylerin ömür uzunluğu ortalamalarındaki varyasyon farklıdır. Eşeylerin ayrı bir genotip gibi davrandığı dolayısıyla eşey ve soy etkileşiminin güçlü olduğu görülmüştür.

4.2.2 Ergin Dönem Besin Kısıtlamasının Ömür Uzunluğuna Etkisi (2. Deney Seti)

Bu deney seti, larval dönemini standart besin ortamında, ergin dönemini ise kısıtlı besin ortamında geçirmiş bireylerin yaşlandırıldığı besin gruplarından oluşmaktadır. Bu deney setiyle ergin dönem besin kısıtlamasının ömür uzunluğu üzerindeki etkisi incelenmiştir.

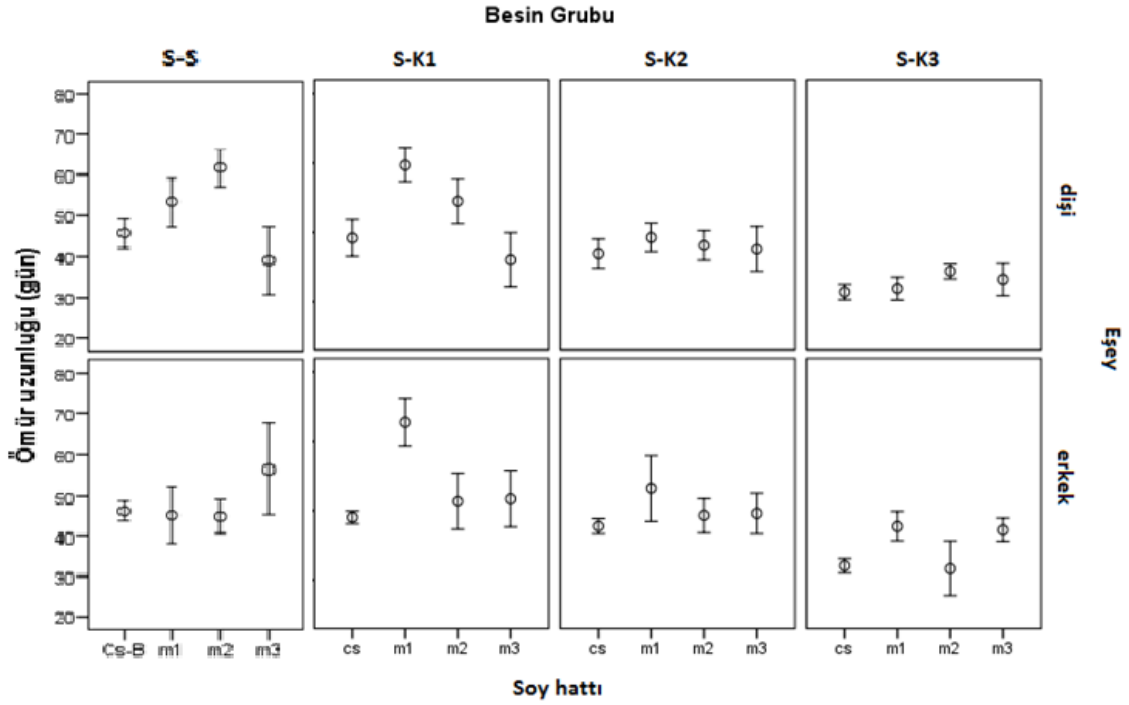
Bu deney seti için yapılan çok yönlü varyans analizine göre soy hattı, eşey ve besin grupları ömür uzunluğu bakımından anlamlı farklar içermektedir (Çizelge 4.3). Besin grubu ile soy arasındaki etkileşim ve soy ile eşeyler arasındaki etkileşimin $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.3 2. Deney seti tüm soy hatları için ortalama ömür uzunluklarının çok yönlü varyans analizi.

Varyasyon	Kareler Toplamı	sd	Ortalama kare	F
Soy	21588,632	3	7196,211	26,406***
Besin grubu	47159,173	2	23579,586	86,523***
Eşey	2798,094	1	2798,094	10,267***
<i>Etkileşim</i>				
Soy * besin grubu	16432,474	6	2738,746	10,049***
Soy * eşey	4618,701	3	1539,567	5,649***
Besin grubu* eşey	83,062	2	41,531	0,152
Soy * besin grubu * eşey	1646,444	6	274,407	1,007
Hata	258077,833	947	272,521	

* $p < 0.05$; *** $p < 0.001$, sd: serbestlik derecesi.

Soyların açlık direnci özellikleri ile bağlantılı olarak ömür uzunluklarında bir örüntü gözlenmemiştir. Açlık direnci en düşük olan *Cs-B* soyu ile açlık direnci en yüksek olan *m3* soyu en düşük ve birbirine yakın ömür uzunluğu ortalamalarına sahiptir. Bu deney setinde ergin dönemde kısıtlanan maya miktarına sahip besin gruplarının her birinde kontrol grubu ve birbirlerine göre karşılaştırma yapılacak olursa anlamlı derecede ömür uzunluğu düşüşü görülmüştür.



Şekil 4.3 Tüm soy hatları ve eşeylerine ait ergin dönem besin kısıtlamasının ömür uzunluğu üzerine etkisini gösteren grafik.

Her soy hattı ve eşeyin ömür uzunluğu üzerinde kendi genotiplerine özgü bir varyasyon yarattığı görülmüştür. Deney setine ait besin gruplarında, açlık direnci özelliklerine ya da eşey özelliklerine bağlı bir örüntü bulgulanmamış ancak her besin grubu artan besin kısıtlamasına karşı azalan ömür uzunluğu ile tepki vermiştir (Şekil 4.3). Bu deney seti için yapılan çok yönlü varyans analizi sonuçlarına göre besin stresi miktarı arttıkça soylar arasındaki ömür uzunluğu farklılığının belirgin hale geldiği bulgulanmıştır.

4.2.3 Larval ve ergin dönem besin kısıtlamasının ömür uzunluğuna etkisi (3. Deney Seti)

Bu deney seti, hem larval dönem hem de ergin dönemini kısıtlı besin ortamında geçiren bireylerin yaşlandırılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Bu deney setinde hem larval hem de ergin dönemde uygulanan besin kısıtlamasının ömür uzunluğu üzerine etkisi birlikte incelenmiştir.

Bu deney seti için yapılan çok yönlü varyans analizine göre besin tipi ve soy hatları ömür uzunluğu bakımından anlamlı bir farklılık gösterirken eşeyssel farklılıklar anlamsız olarak bulgulanmıştır (Çizelge 4.4). Ayrıca soy ile besin grubu, ve besin grubu ile eşey

etkileşimleri anlamlı iken soy ile eşey etkileşimi anlamsızdır. Soy, besin grubu ve eşey üçlü etkileşimi de istatistiksel olarak anlamlıdır.

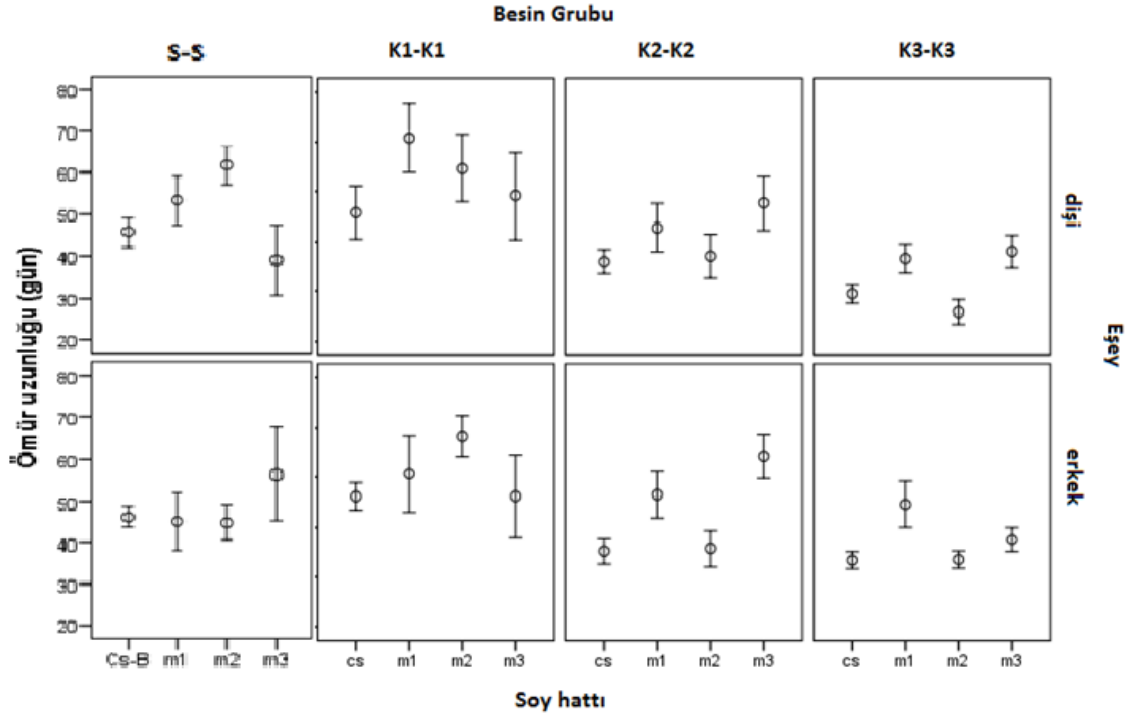
Çizelge 4.4 3. Deney seti tüm soy hatları için ortalama ömür uzunluklarının çok yönlü varyans analizi.

Varyasyon	Kareler		Ortalama	
	Toplamı	sd	kare	F
Soy	15315,083	3	5105,028	22,235***
Besin grubu	48513,950	2	24256,975	105,654***
Eşey	586,648	1	586,648	2,555
<i>Etkileşim</i>				
Soy * besin grubu	13519,527	6	2253,254	9,814***
Soy * eşey	269,238	3	89,746	0,391
Besin grubu* eşey	2180,770	2	1090,385	4,749***
Soy * besin grubu * eşey	3760,203	6	626,701	2,729*
Hata	249332,84	1086	229,588	

* $p < 0.05$; *** $p < 0.001$, sd: serbestlik derecesi.

Her soy hattı için ergin ve larval döneminde kısıtlı besin ortamında beslenen bireylerin ömür uzunluklarında anlamlı olarak düşüş bulgulanmıştır (Şekil 4.4). Bulgularımıza göre bu düşüşün, temelde ergin dönem beslenmesinden kaynaklanmakta olduğu ancak larval dönem besin kısıtlaması ile birlikte ergin dönem kısıtlamasının ömür uzunluğu üzerine kümülatif bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Her iki gelişimsel dönemde de besin kısıtlamasına bağlı olarak soy hatlarının ömür uzunluklarındaki düşüşün, soy hatlarının genetik altyapılarına özgü olarak değiştiği gözlenmiştir. *Cs-B* soy hattının çevresel stres faktörü olarak besin kısıtlamasına diğer soy hatlarına göre daha durağan cevaplar verdiği bulgulanmıştır. Bu deney setine ait en uzun ömürlü bireylerin *m1* soy hattına ait olduğu gözlenmiştir. Düşük açlık direnci özelliğine sahip bu soy hattı ve diğer soy hatlarının ömür uzunluğu ve açlık direnci arasındaki beklenen ilişki doğrultusunda anlamlı farklılıklar taşımadığı görülmektedir.



Şekil 4.4 Her soy hattı ve eşeyleri için ergin ve larval dönemde besin kısıtlamasının ömür uzunluğuna etkisini gösteren grafik.

Bu deney setine ait besin kısıtlamasının hem larval hem de ergin dönemde uygulanmış olması, bu set için elde edilen verilerin organizmanın her iki gelişimsel dönemine ait kümülatif tepkisinin değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır. Her iki dönemde de 10 g/l (K3-K3) ile beslenen bireylerin ömür uzunluğu ortalamaları diğer besin gruplarının ortalamalarından oldukça düşüktür ve standart besiyeri ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklılık göstermektedir (Şekil 4.4).

4.2.4 Tüm Soy Hatları, Eşey ve Besin Gruplarının Genel Örüntülerinin Analizi

Bütün soy hatlarına ait ömür uzunluğu verileri ile yapılan çok yönlü varyans analizi sonuçlarına (Çizelge 4.5) göre soy hattı, besin grubu ve eşey ömür uzunluğu üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahiptir. Özelliklerin ikili ve üçlü etkileşimlerinin de anlamlı olduğu bulgulanmıştır. Yani ömür uzunluğu üzerinde her soy hattı, besin grubu ve eşey değişkenlerinin anlamlı farklılıklar yarattığı görülmektedir.

Çizelge 4.5 Tüm soy hatları için ortalama ömür uzunluklarının çok yönlü varyans analizi.

Varyasyon	Kareler Toplamı	sd	Ortalama kare	F
Soy	69527,232	3	23175,744	73,801***
Besin grubu	223841,470	9	24871,274	79,200***
Eşey	1530,939	1	1530,939	4,875*
<i>Etkileşim</i>				
Soy * besin grubu	61173,667	27	2265,691	7,215*
Soy * eşey	18556,307	3	6185,436	19,697***
Besin grubu* eşey	5456,014	9	606,224	1,930***
Soy * besin grubu * eşey	37339,985	27	1382,962	4,404***
Hata	1062364,871	3383	314,030	

* $p < 0.05$; ** $p < 0.001$; *** $p < 0.0001$, sd: serbestlik derecesi.

Ömür uzunluğu deneyi sonucu ile her soy hattının kendi genetik arka planlarının ortaya çıktığı görülmüştür. Çok yönlü varyans analizinin sonuçları ile ömür uzunluğunun 4 soy hattı arasında anlamlı olarak farklılık gösterdiği bulgulanmıştır ($p < 0.001$). *Cs-B* soyu diğer soylara göre oldukça düşük açlık direnci göstermiştir (Çizelge 4.1) ve ortalama ömür uzunluğu en düşük soy olarak bulunmuştur (Çizelge 4.6). *Cs-B* soy hattı için açlık direnci ve ömür uzunluğu arasında pozitif bir korelasyon gözlememize rağmen diğer soy hatlarında bu yönde bir ilişki görülmemiştir.

Ömür uzunluğu deneyi verilerinin analiz edilmesiyle dişi ve erkek bireyler arasında anlamlı istatistiksel farklılıklar olduğu bulgulanmıştır (Çizelge 4.5). Ancak her soy için ortalama ömür uzunluklarına bakıldığında dişi ve erkek bireylerin ömür uzunlukları farklılığının belli bir örüntü içinde olmadığı görülmektedir (Şekil 4.6). Çiftleştirilmeden deneye alınan dişi ve erkeklerin ortalama ömür uzunlukları karşılaştırıldığında, yumurta verimi ile ömür uzunluğu arasındaki uzlaşma ilişkisi (trade-off) ortadan kalktığı için dişi bireylerin daha uzun ömürlü olmaları beklenmektedir. Beklenenin aksine bu deneyde dişi ve erkek ömür uzunlukları arasında böyle bir ilişki gözlenmemiştir. Yani soy ve eşey etkileşimi oldukça yüksek bulgulanmıştır. Bu nedenle her bir eşeyin farklı bir genotip gibi

davrandığı görülmüştür.

Ömür uzunluğunun hem ergin öncesi hem de ergin sonrası maya miktarı ile ilişki içerisinde olduğu görülmektedir. Yapılan çok yönlü varyans analizinin sonuçlarına göre besin grupları arasında ömür uzunlukları açısından oldukça anlamlı istatistiksel farklar bulunmaktadır. *Student-Newman-Keuls* (SNK) ile oluşturulan homojen alt gruplarla ortalama ömür uzunlukları beslenme gruplarına göre Şekil 4.5’ de görüldüğü haliyle sıralanmaktadır.

Besin gruplarının ömür uzunluğu ortalamaları

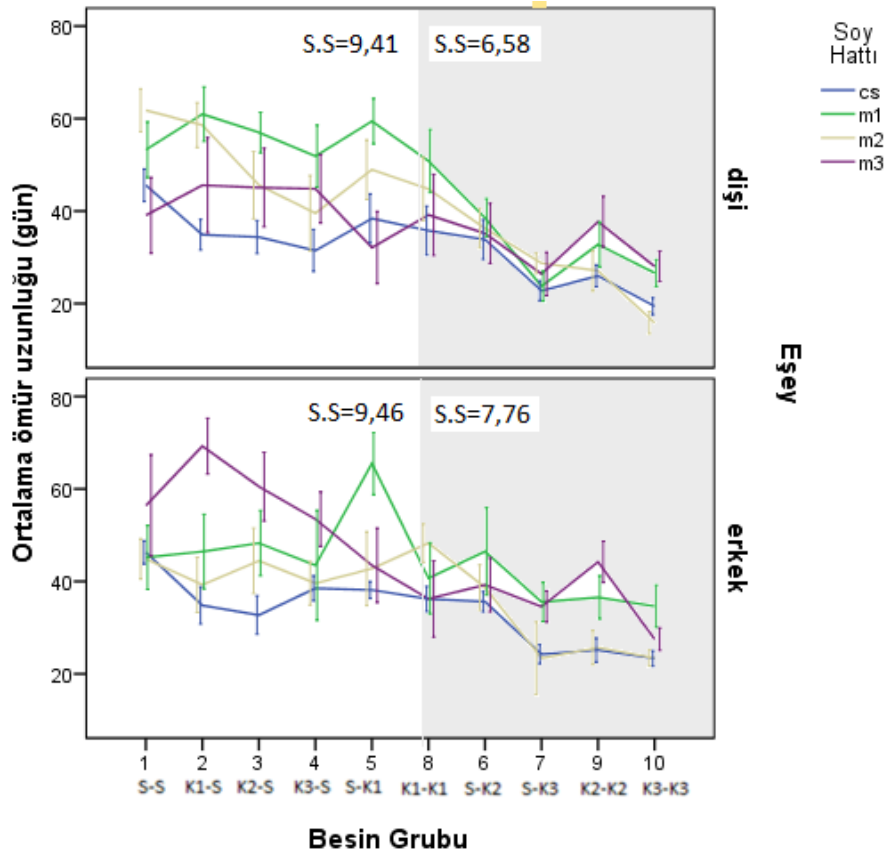
Besin grubu Larval dönem- Ergin dönem	N	Alt grup						
		1	2	3	4	5	6	7
Student-Newman-Keuls								
K3-K3 10	392	24,30						
S-K3 7	294		27,93					
K2-K2 9	370			31,18				
S-K2 6	340				37,42			
K1-K1 8	348					41,10		
K3-S 4	349					43,36	43,36	
K2-S 3	350						44,95	
S-K1 5	337						46,18	46,18
K1-S 2	332							48,27
S-S 1	351							48,60
P		1.000	1.000	1.000	1.000	.094	.092	.172

Artan ömür uzunluğu (gün)

Şekil 4.5 Tüm soy hatları ve eşey karışık ortalama ömür uzunluklarının beslenme gruplarına göre oluşturdukları alt grupların *Student-Newman-Keuls* testi ile gösterimi.

Şekil 4.5’de görüldüğü gibi larval ve ergin dönemini standart besin ortamında (S-S) geçiren bireylerde ortalama ömür uzunluğu daha yüksektir. Larval ve ergin dönem beslenmesinden en az birini, 50 g/l maya içeren besin ortamında (S-K1, K1-S) geçiren bireylerin, ömür uzunluğu ortalamaları açısından S-S besin grubuyla arasında farklılık görülmediği ve aynı alt grupta yer aldıkları bulgulanmıştır. Bu bulgu, *D. melanogaster*’de ömür uzunluğu açısından standart olarak kabul edilen 100 g/l maya miktarının, ömür uzunluğu açısından 50 g/l maya miktarıyla anlamlı bir fark yaratmadığını ortaya koymaktadır. Ancak hem larval hem de ergin dönemde 50 g/l maya ile beslenen bireylerin (K1-K1) ortalama ömür uzunlukları istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p < 0.001$) düşmektedir.

En düşük ömür uzunluğuna, hem larval hem de ergin dönemde 10 g/l maya içeren besin grubunda gelişen ve yaşlandırılan bireyler (K3-K3) sahiptir ($p<0.001$) (Şekil 4.6). Aynı şekilde larval dönemi ve ergin dönemi 20 g/l maya içeren besin grubunda geçiren ve yaşlanan bireylerin ortalama ömür uzunluklarının kısaldığı K3-K3 grubunda görülmektedir ($p<0.001$). Larval dönemini standart besin grubunda geçirdiği halde ergin dönemde besin kısıtlamasına sahip olan grupların (S-K3, S-K2) görece daha kısa ömürlü olduğu bulgulanmıştır ($p<0.001$). Bu bulgular ömür uzunluğu üzerinde ergin dönem beslenmesinin larval dönem beslenmesine göre daha etkili olduğunu göstermektedir. Aynı şekilde larval döneminde 20 g/l ve 10 g/l maya ile beslenen ancak ergin dönemini standart besiyerinde geçiren bireylerin (K2-S, K3-S) ömür uzunluklarının S-K2 ve S-K3 grubunda beslenen bireylerin ortalama ömür uzunluklarına göre daha yüksek olması ile de ergin dönem beslenmesinin ömür uzunluğu üzerinde daha etkili olduğu görülmektedir. Larval dönem K2 veya K3 besiyerinde beslenen ve standart besiyerinde yaşlanan grup ile larval dönemi standart besiyerinde geçiren ve K2 veya K3 besiyerinde yaşlanan grupların ortalama ömür uzunlukları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.001$).



Şekil 4.6 Tüm soy hatlarına ait dişi ve erkeklerin 10 farklı beslenme grubunda ortalama ömür uzunluklarının %95 güven aralıklarıyla gösterimi.

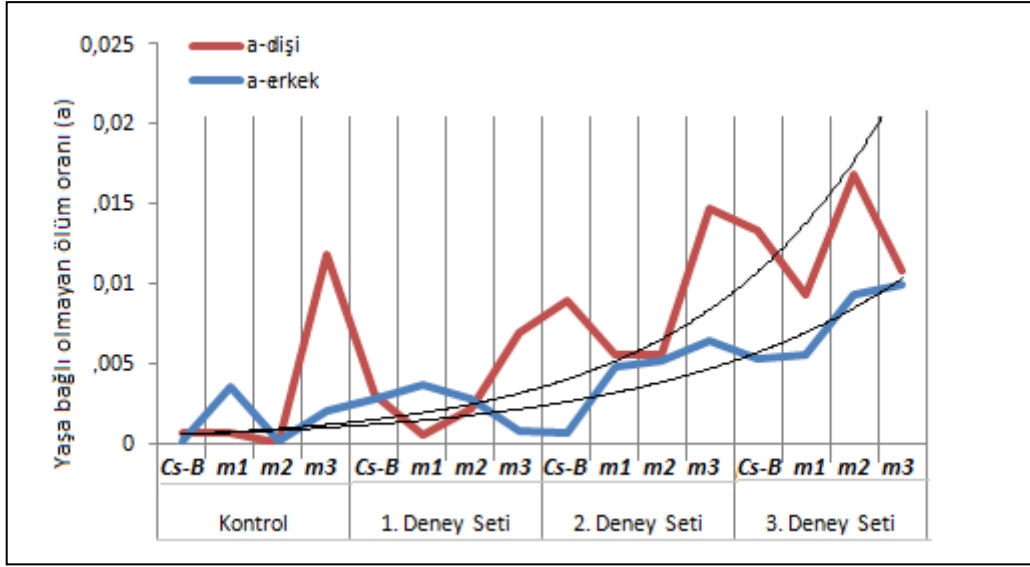
Bu bulgulara göre, ergin dönem besin kısıtlaması diğer bir değişle azalan maya miktarı yaşlanma süreci üzerinde etkilidir. Larval dönemdeki besin stresinin ömür uzunluğuna etkisi ise daha azdır. Bu durumda larval besin stresinin miktarı ömür uzunluğu açısından anlamlı olmadığı görülmüştür. Bireyler larval dönemlerini 10 g/l maya miktarı ile beslenerek geçirseler bile ergin dönemde standart beslenmeleri (K3-S), ortalama ömür uzunluğunda yaşamaları için yeterli olmaktadır (Şekil 4.5) Ancak hem larval dönem hem de ergin dönem maya miktarı açısından 10 g/l ve 20 g/l oranında birlikte kısıtlandığında ergin dönem ortalama ömür uzunluğu üzerinde olumsuz etkisinin diğer gruplara göre yüksek artış gösterdiği görülmektedir.

Şekil 4.6 incelendiğinde ergin dönemini 10 g/l maya ortamında (S-K3, K3-K3) ve 20 g/l maya miktarında hem ergin öncesi hem de ergin dönemi geçiren gruplarda (K2-K2) ömür uzunluğu değerlerinde diğer beslenme gruplarına göre anlamlı bir düşüş göstermektedir. Aynı zamanda ergin dönemde besinin kısıtlandığı gruplarda (6,7,9,10) soyların ömür uzunlukları ortalamaları kendi genotiplerine göre şekillense de bu gruplara ait standart sapmaların (S.S) ergin dönemde kısıtlama olmayan gruplara (1,2,3,4,5,8) göre düştüğü bulgulanmıştır. Buna göre besin kısıtlaması arttıkça tüm soyların ömür uzunluğu ortalamaları birbirine yaklaşmaktadır.

4.2.5 Yaşa Bağlı Olan ve Olmayan Ölüm Oranlarının Ölçülmesi (Gompertz Modeli)

Yaşlanma, canlının geç dönemlerinde yaşa bağlı ölüm oranının artması olarak kendini göstermektedir. Canlılığın erken dönemlerinde görülen yaşa bağlı olmayan ölüm oranı artışı ise çevresel etmenler ya da genetik altyapıya bağlı olan faktörlerin etkisiyle açıklanabilir.

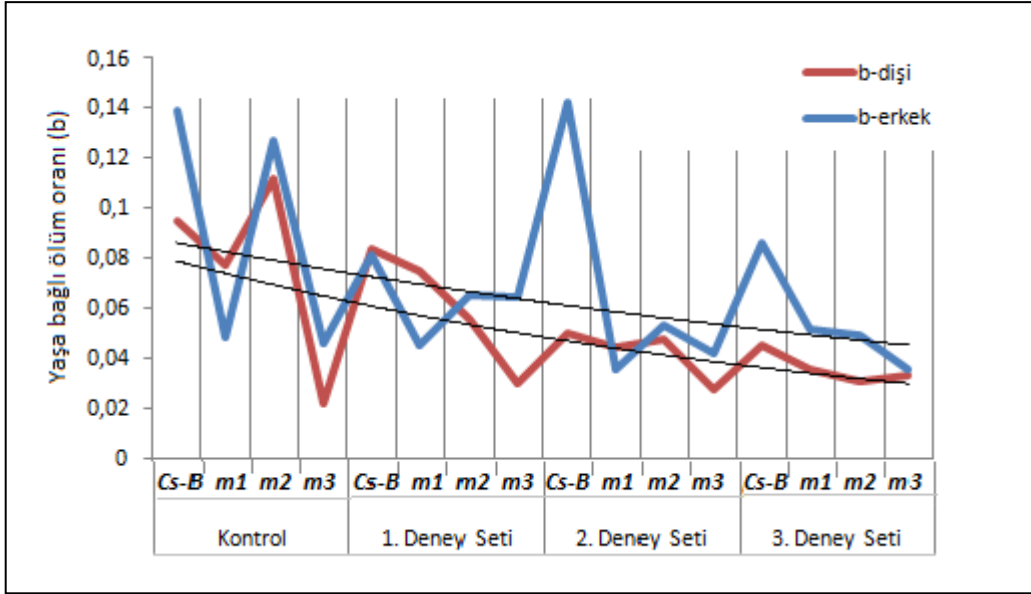
Bu nedenle Gompertz modeli kullanılarak a (yaşa bağlı olmayan ölüm oranı) değerleri hesaplanmıştır (Ek 3). Yaşa bağlı ölüm görülmeyen gruplarda a değerinin yüksek olması beklenmektedir. Şekil 4.7 incelendiğinde a değerinin, her deney seti ve soy hattında besinsel stresin daha yüksek olduğu ve ergin dönem beslenmesinde kısıtlama içeren 2. ve 3. deney setinde arttığı görülmektedir. Maya miktarı azaldıkça organizmanın ölümü çevresel strese bağlı olarak artmaktadır.



Şekil 4.7 Tüm soy hatları ve eşeyleri için a (yaşa bağlı olmayan ölüm oranı) değerleri.

Genel olarak her soy hattı için a değeri, 3. deney setinde en yüksek değerleri alırken, en düşük a değerleri kontrol grubunda görülmektedir. Ancak *m3* soyu dişileri için en yüksek a değeri ergin dönem besin kısıtlamasında görülürken, en düşük a değeri larval dönem besin kısıtlaması grubunda görülmektedir. Aynı soyun erkekleri ise diğer soylardan farklı olarak en düşük a değerine larval dönem besin kısıtlamasında sahiptir. Her soy için dişi ve erkek bireylerde gözlenen farklı örüntüler, eşey ve genotip etkileşiminin yüksek olmasından kaynaklanmaktadır.

Gompertz modeli kullanılarak hesaplanan bir başka değer ise b (yaşa bağlı ölüm oranı) değerleridir (Ek 3). Yaşa bağlı ölüm görülen gruplarda b değerinin yüksek olması beklenmektedir. Yaşa bağlı ölüm oranının bir ölçüsü olan b değerine ait dağılım grafiği ise Şekil 4.8'de verilmektedir. Grafiği incelediğimizde kontrol grubu ve sadece larval dönem kısıtlanmasını içeren 1. deney setinde yaşa bağlı ölüm oranlarının yüksek olduğunu, stresin arttığı 2. ve 3. deney setinde ise hem dişi hem de erkeklerde düştüğü görülmektedir. *m3* soyu dışında her soy hattının kontrol grubunda b değerlerinin deney setlerine göre yüksek olduğu gözlenmiştir.



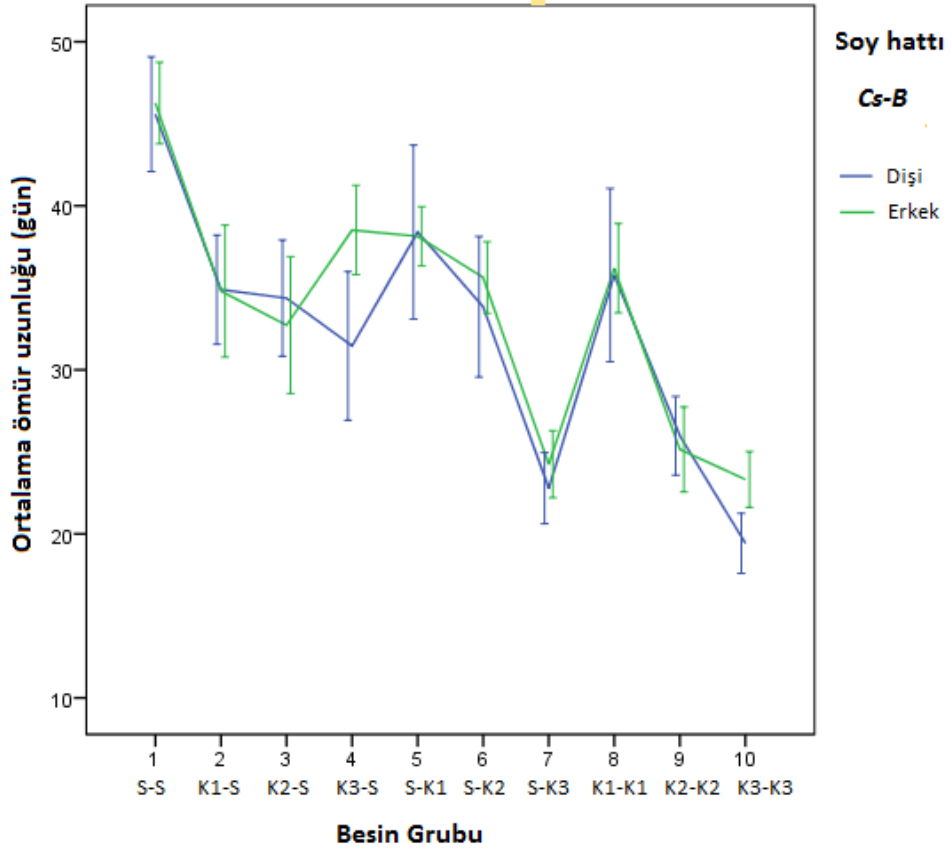
Şekil 4.8 Tüm soy hatları dişi ve erkekleri için b (yaşa bağılı ölüm oranı) değerleri.

a ve b değerlerinin hesaplanması ile elde edilen ölüm oranlarına göre, ergin dönem besin kısıtlamasının artışı a değerini artırırken b değerini düşürmektedir. Soy*eşey ikili etkileşimleri bu analizle de görülmüştür. Yaşa bağılı olmayan ölüm oranının, yani a değerinin arttığı gruplarda çevre etkisinin ölüm üzerinde daha etkili olduğunu dolayısıyla bu grupların yüksek çevresel bir strese maruz kaldığını göstermektedir.

4.2.6 Soy Hatlarının Ömür Uzunluğu ve Hayatta Kalış Eğrileri Varyasyonları

Ömür uzunluğu deneyi sonucunda, her soy hattı ve eşeyin genetik arka planına ve çevresel değişken olan besin kısıtlamasına bağılı varyasyonlar ön plana çıkmıştır. Her soy hattı ve eşeylerinin besin gruplarına ait ömür uzunluklarının tanımlayıcı istatistiksel verileri Çizelge 4.6, Çizelge 4.7, Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9'te sırasıyla Cs-B, m1, m2 ve m3 için verilmiştir.

Çizelge 4.6 incelendiğinde kontrol grubunda (S-S) beslenen bireylerin ortalama ömür uzunluklarına göre diğer 9 beslenme grubu hem dişi hem de erkek bireylerde ortalama ömür uzunluğunda düşüş gözlenmiştir. Özellikle S-K3, K2-K2 ve K3-K3 besin gruplarında ortalama ömür uzunlukları yaklaşık yarı yarıya kısalmıştır (Şekil 4.9)



Şekil 4.9 Cs-B soy hattına ait ömür uzunluğu ortalamaları.

Cs-B soyuna ait ortalama ömür uzunluğunun her besin grubunda eşeyler arasında farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğu görülmektedir ($p=0.085$). Cs-B soyunda tüm besin grupları açısından benzer varyasyon katsayıları görülmektedir (Çizelge 4.6)

Çizelge 4.6 Ömür uzunluğu deneyine alınan *Cs-B* soy hattı dişi ve erkeklerinin her deney setine ait ömür uzunluğu ortalamaları (gün olarak) (\bar{Y}), ortalamaların standart hata (S.H.), varyasyon katsayısı (CV) değerleri ve örneklem sayıları (N).

Deney Seti	Eşey	N	\bar{Y}	\pm S.H.	CV	
Kontrol 1. S-S	Dişi	51	45,59	1,74	27,24	
	Erkek	49	46,27	1,24	18,73	
	Toplam	100	45,92	1,49	23,30	
1	2. K1-S	Dişi	45	34,89	1,65	31,73
		Erkek	45	34,80	1,99	38,51
		Toplam	90	34,84	1,82	35,07
	3. K2-S	Dişi	46	34,37	1,76	34,71
		Erkek	61	32,72	2,09	49,79
		Toplam	107	33,43	1,92	43,48
4. K3-S	Dişi	41	31,46	2,24	45,67	
	Erkek	52	38,52	1,36	25,39	
	Toplam	93	35,41	1,80	35,18	
2	5. S-K1	Dişi	40	38,40	2,62	43,17
		Erkek	55	38,15	0,90	17,54
		Toplam	95	38,25	1,76	30,90
	6. S-K2	Dişi	45	33,84	2,13	42,22
		Erkek	51	35,63	1,09	21,78
		Toplam	96	34,79	1,61	32,40
	7. S-K3	Dişi	46	22,78	1,08	32,03
		Erkek	37	24,24	1,01	25,34
		Toplam	83	23,43	1,045	29,04
3	8. K1-K1	Dişi	45	35,78	2,62	49,12
		Erkek	57	36,19	1,36	28,33
		Toplam	102	36,01	1,99	38,57
	9. K2-K2	Dişi	50	25,98	1,19	32,43
		Erkek	60	25,15	1,29	39,97
		Toplam	110	25,53	1,24	36,49
	10. K3-K3	Dişi	47	19,43	0,91	32,16
		Erkek	69	23,32	0,85	30,25
		Toplam	116	21,74	0,88	32,10

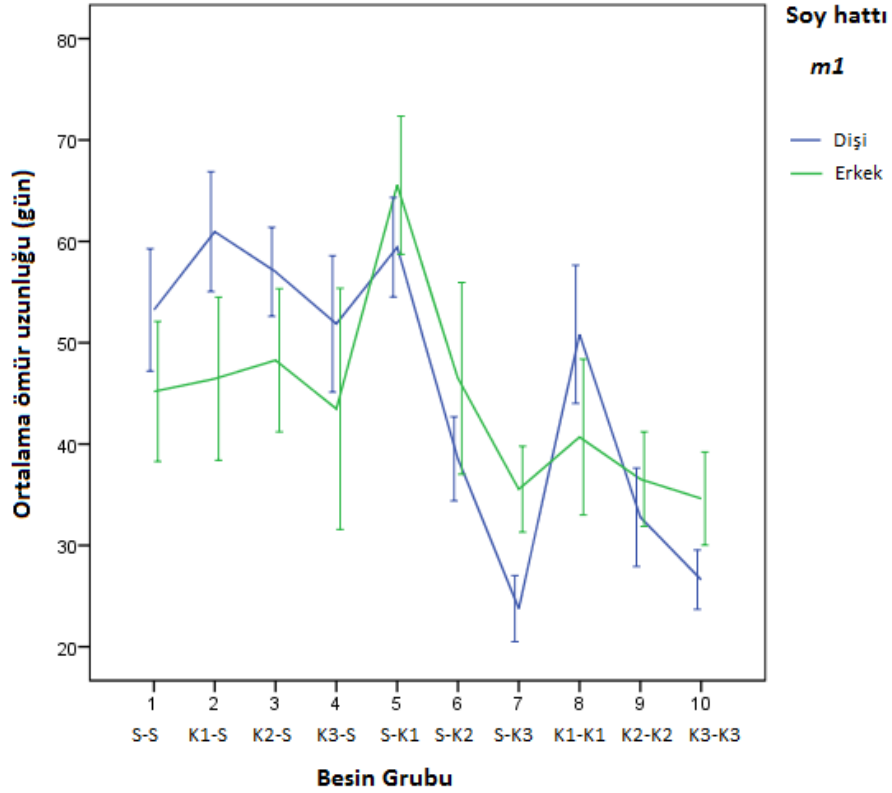
S (Standart) :100 g/l maya, K1:50 g/l maya, K2:20 g/l maya, K3:10 g/l maya içermektedir.

1.Deney seti; larval dönemde kısıtlı, ergin dönemde standart beslenme

2.Deney seti; larval dönemde standart, ergin dönemde kısıtlı beslenme

3.Deney seti; larval dönemde kısıtlı, ergin dönemde kısıtlı beslenme

Açlık direnci düşük olan *m1* soyunun (Çizelge 4.1) ömür uzunlukları verilerine ait tanımlayıcı istatistikler Çizelge 4.7’de verilmektedir. Çizelge 4.7 incelendiğinde dişi ve erkeklerin ortalama ömür uzunluklarının farklı olduğu görülmektedir. Ancak tüm grupların değerlendirildiği çok yönlü varyans analizine göre bu fark istatistiksel olarak anlamsızdır ($p=0,385$).



Şekil 4.10 *m1* soy hattına ait ömür uzunluğu ortalamaları.

Bu soyun varyasyon katsayıları incelendiğinde beslenme grupları ve eşeyler açısından farklı varyasyon katsayıları görülmektedir.

Çizelge 4.7 Ömür uzunluğu deneyine alınan *m1* soy hattı dişi ve erkeklerinin her deney setine ait ömür uzunluğu ortalamaları (gün olarak) (\bar{Y}), ortalamaların standart hata (S.H.), varyasyon katsayısı (CV) değerleri ve örneklem sayıları (N).

Deney Seti	Eşey	N	\bar{Y}	S.H.	CV	
Kontrol 1. S-S	Dişi	50	53,24	2,51	39,91	
	Erkek	47	45,19	1,92	52,00	
	Toplam	97	49,34	2,22	45,84	
1	2. K1-S	Dişi	47	60,96	3,03	33,05
		Erkek	38	46,45	1,90	52,68
		Toplam	85	54,47	2,47	42,61
	3. K2-S	Dişi	28	57,00	5,03	19,86
		Erkek	44	48,27	2,08	48,07
		Toplam	72	51,67	3,56	38,38
	4. K3-S	Dişi	51	51,86	2,17	46,10
		Erkek	19	43,47	1,76	56,80
		Toplam	70	49,59	1,97	48,88
2	5. S-K1	Dişi	40	59,43	3,87	25,84
		Erkek	46	65,54	2,85	35,06
		Toplam	86	62,70	3,36	31,79
	6. S-K2	Dişi	44	38,55	2,83	35,34
		Erkek	25	46,48	2,03	49,32
		Toplam	69	41,42	2,43	43,02
	7. S-K3	Dişi	39	23,77	2,36	42,31
		Erkek	49	35,55	2,41	41,49
		Toplam	88	30,33	2,39	46,50
3	8. K1-K1	Dişi	46	50,83	2,21	45,19
		Erkek	36	40,69	1,79	55,88
		Toplam	82	46,38	2,00	50,20
	9. K2-K2	Dişi	49	32,78	1,94	51,49
		Erkek	39	36,54	2,54	39,37
		Toplam	88	34,44	2,24	46,00
	10. K3-K3	Dişi	52	26,62	2,54	39,41
		Erkek	24	34,63	3,19	31,36
		Toplam	76	29,14	2,87	38,36

S (Standart): 100 g/l maya, K1:50 g/l maya, K2:20 g/l maya, K3:10 g/l maya içermektedir.

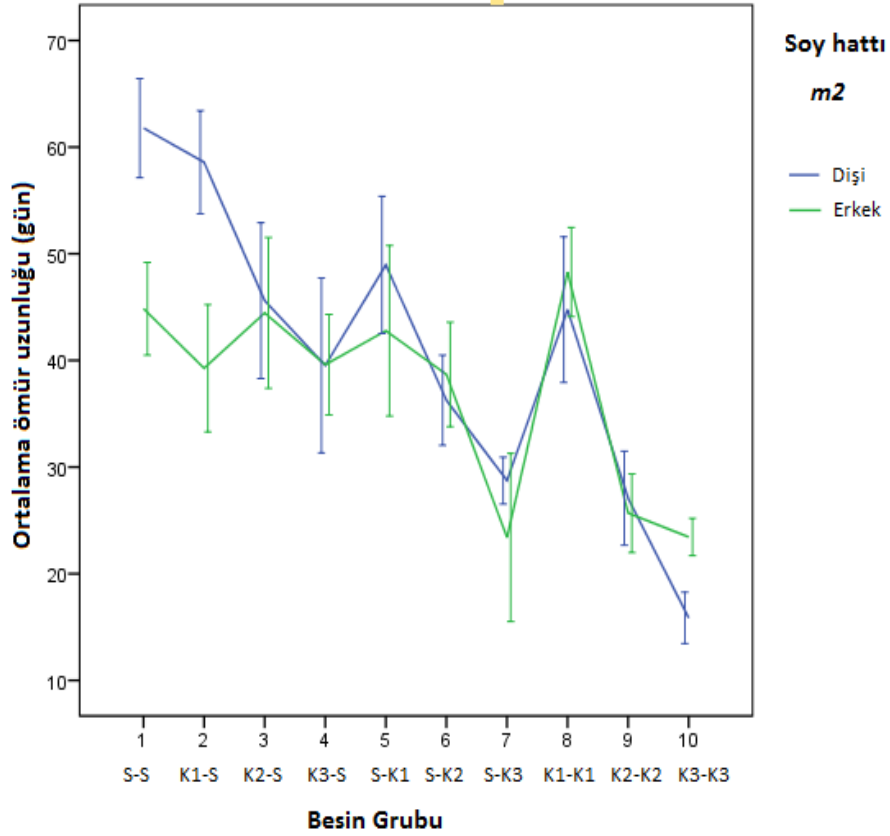
1.Deney seti; larval dönemde kısıtlı, ergin dönemde standart beslenme

2.Deney seti; larval dönemde standart, ergin dönemde kısıtlı beslenme

3.Deney seti; larval dönemde kısıtlı, ergin dönemde kısıtlı beslenme

Açlık direnci düşük olan *m2* soyunun (Çizelge 4.1) ömür uzunluklarına ait tanımlayıcı istatistikleri Çizelge 4.8'de verilmektedir. Bu soyun besin gruplarında dişiler ve erkekler

benzer ortalama ömür uzunluklarına sahip olmasına rağmen eşey farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.003$). $m2$ soyunda varyasyon katsayıları incelendiğinde tüm beslenme grupları ve eşeyler açısından farklı varyasyon katsayıları görülmektedir.



Şekil 4.11 $m2$ soyuna ait ömür uzunluğu ortalamaları.

Çizelge 4.8 Ömür uzunluğu deneyine alınan *m2* soy hattı dişi ve erkeklerinin her deney setine ait ömür uzunluğu ortalamaları (gün olarak) (\bar{Y}), ortalamaların standart hata (S.H.), varyasyon katsayısı (CV) değerleri ve örneklem sayıları (N).

Deney Seti	Eşey	N	\bar{Y}	\pm S.H.	CV	
Kontrol 1. S-S	Dişi	41	61,78	2,30	23,84	
	Erkek	34	44,85	2,14	27,79	
	Toplam	75	54,11	2,22	29,72	
1	2. K1-S	Dişi	43	58,58	2,40	26,86
		Erkek	45	39,27	2,96	50,53
		Toplam	88	48,70	2,68	41,72
	3. K2-S	Dişi	41	45,61	3,61	50,74
		Erkek	33	44,45	3,47	44,88
		Toplam	74	45,09	3,54	47,99
	4. K3-S	Dişi	38	39,53	4,05	63,12
		Erkek	48	39,60	2,35	41,04
		Toplam	86	39,57	3,20	51,61
2	5. S-K1	Dişi	44	48,95	3,19	43,20
		Erkek	27	42,78	3,89	47,26
		Toplam	71	46,61	3,54	44,79
	6. S-K2	Dişi	34	36,26	2,08	33,44
		Erkek	45	38,69	2,43	42,09
		Toplam	79	37,65	2,26	38,79
	7. S-K3	Dişi	30	28,73	1,07	20,42
		Erkek	10	23,40	3,48	47,08
		Toplam	40	27,40	2,28	28,05
3	8. K1-K1	Dişi	33	44,76	3,35	43,01
		Erkek	39	48,28	2,06	26,68
		Toplam	72	46,67	2,71	34,49
	9. K2-K2	Dişi	37	27,08	2,17	48,92
		Erkek	53	25,68	1,84	52,12
		Toplam	90	26,26	2,01	50,55
	10. K3-K3	Dişi	42	15,86	1,19	48,78
		Erkek	62	23,45	0,87	29,36
		Toplam	104	20,38	1,03	39,83

S (Standart): 100 g/l maya, K1:50 g/l maya, K2:20 g/l maya, K3:10 g/l maya içermektedir.

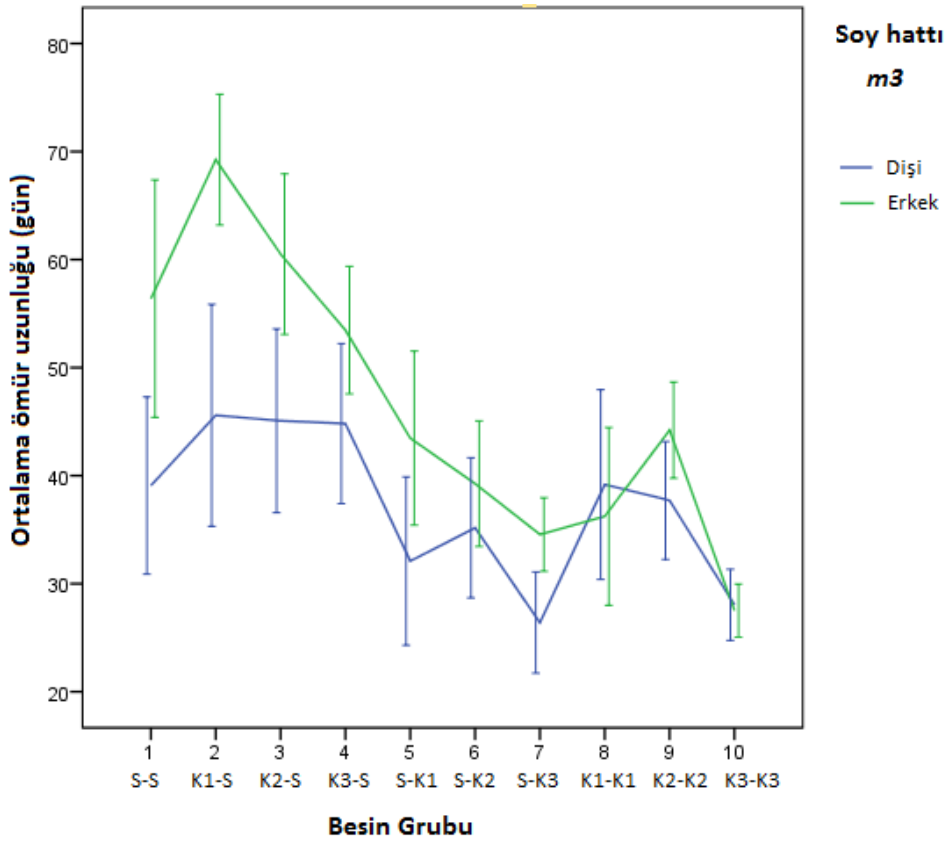
1.Deney seti; larval dönemde kısıtlı, ergin dönemde standart beslenme

2.Deney seti; larval dönemde standart, ergin dönemde kısıtlı beslenme

3.Deney seti; larval dönemde kısıtlı, ergin dönemde kısıtlı beslenme

Açlığa dirençli olduğu tespit edilen *m3* soyunun (Çizelge 4.1) 10 farklı beslenme grubunda yaşlandırılması sonucu elde edilen tanımlayıcı istatistikler Çizelge 4.9’de görülmektedir.

Bu soy için yapılan çok yönlü varyans analizi sonuçlarına göre eşeyler arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.001$). Aynı zamanda besin grupları ve eşey etkileşimleri de $p=0.005$ düzeyinde anlamlıdır. Varyasyon katsayıları besin grupları arasında fark göstermektedir. Genellikle dişilerin daha yüksek varyasyon katsayısına sahip olduğu görülmüştür. Besin kısıtlaması arttıkça varyasyon katsayıları azalmıştır (Çizelge 4.9)



Şekil 4.12 *m3* soyuna ait ömür uzunluğu ortalamaları.

Çizelge 4.9 Ömür uzunluğu deneyine alınan m^3 soy hattı dişi ve erkeklerinin her deney setine ait ömür uzunluğu ortalamaları (gün olarak) (\bar{Y}), ortalamaların standart hata (S.H.), varyasyon katsayısı (CV) değerleri ve örneklem sayıları (N).

Deney Seti	Eşey	N	\bar{Y}	S.H.	CV	
Kontrol 1. S-S	Dişi	48	39,08	4,08	72,26	
	Erkek	31	56,39	5,39	53,18	
	Toplam	79	45,87	4,73	65,35	
1	2. K1-S	Dişi	34	45,59	5,05	64,58
		Erkek	35	69,26	2,98	25,44
		Toplam	69	57,59	4,01	46,52
	3. K2-S	Dişi	50	45,08	4,24	66,44
		Erkek	47	60,51	3,69	41,81
		Toplam	97	52,56	3,96	54,64
	4. K3-S	Dişi	44	44,82	3,67	54,31
		Erkek	56	53,46	2,95	41,22
		Toplam	100	49,66	3,31	47,05
2	5. S-K1	Dişi	41	32,10	3,85	76,89
		Erkek	44	43,48	3,99	60,93
		Toplam	85	37,99	3,92	68,74
	6. S-K2	Dişi	53	35,17	3,23	66,86
		Erkek	43	39,26	2,88	48,10
		Toplam	96	37,00	3,05	58,24
	7. S-K3	Dişi	45	26,40	2,32	59,02
		Erkek	38	34,55	1,68	29,92
		Toplam	83	30,13	2,00	46,37
3	8. K1-K1	Dişi	45	39,18	4,36	74,64
		Erkek	47	36,23	4,09	77,39
		Toplam	92	37,67	4,22	75,69
	9. K2-K2	Dişi	45	37,71	2,71	48,17
		Erkek	37	44,22	2,20	30,21
		Toplam	82	40,65	2,45	40,37
	10. K3-K3	Dişi	50	28,04	1,64	41,32
		Erkek	46	27,52	1,22	30,09
		Toplam	96	27,79	1,43	36,30

S (Standart): 100 g/l maya, K1:50 g/l maya, K2:20 g/l maya, K3:10 g/l maya içermektedir.

1.Deney seti; larval dönemde kısıtlı, ergin dönemde standart beslenme

2.Deney seti; larval dönemde standart, ergin dönemde kısıtlı beslenme

3.Deney seti; larval dönemde kısıtlı, ergin dönemde kısıtlı beslenme

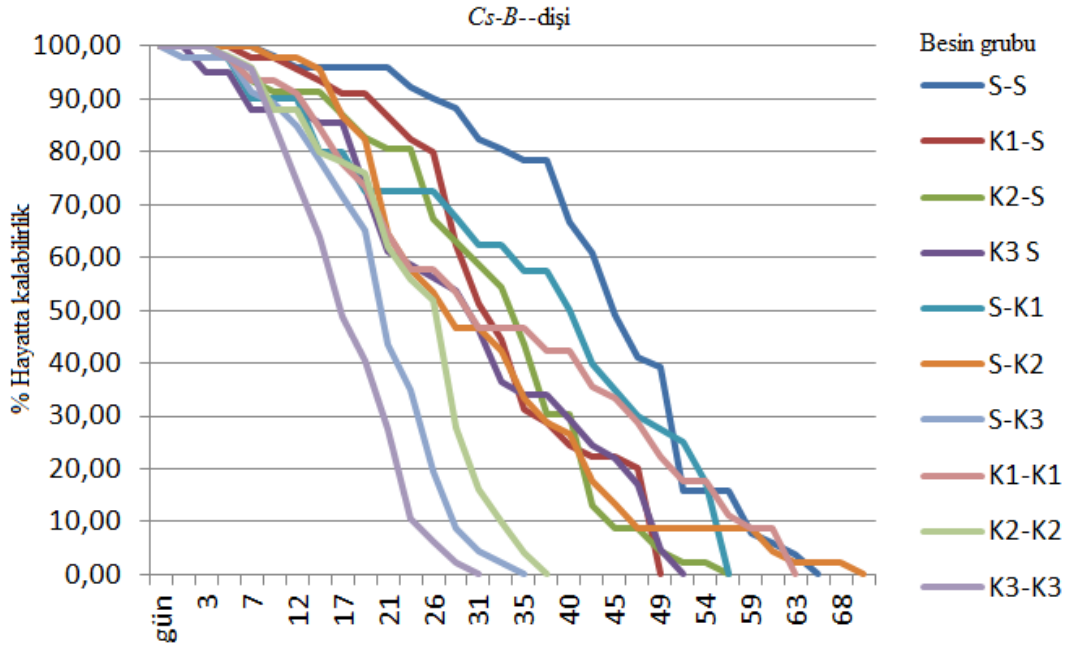
Hayatta Kalış Eğrileri

Bu çalışma kapsamında çevresel değişken olarak uygulanan besin kısıtlamasının etkisiyle gözlenen yaşlanma profili hayatta kalma eğrilerinin şekli ile belirlenmiştir. Hayatta kalma oranlarının dikdörtgensel dağılımı yaşlanmanın yaşa bağlı olduğunu gösterirken; erken yaş dönemlerinde doğrusal tipte düşüş gösteren eğriler, yaşlanmanın yaşa bağlı değil çevresel besin stresine ya da soyun genotipindeki homojenliğe bağlı olarak gerçekleştiğini göstermektedir.

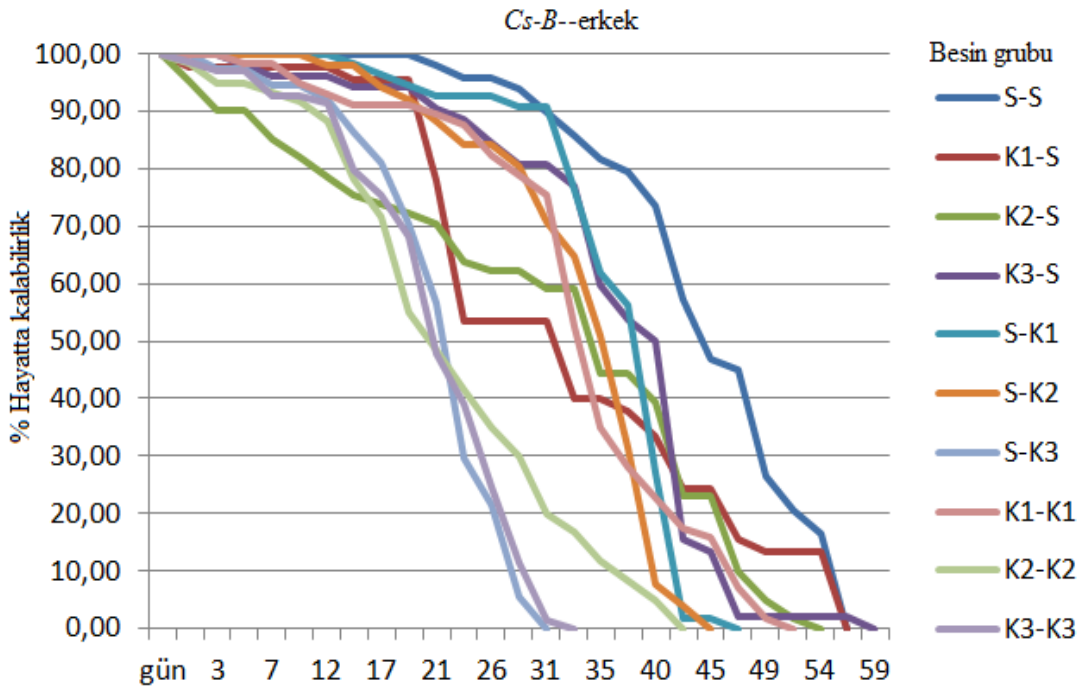
Ömür uzunluğu verileri kullanılarak her soy hattı ve eşeyler için hesaplanan % hayatta kalabilirlik değerleri ile her besin grubunda yaşlanan bireylerin ölüm eğrileri çizilmiştir (Şekil 4.13 - 4.20).

Şekil 4.13 ve Şekil 4.14’de sırasıyla *Cs-B* dişi ve erkek bireylerinin hayatta kalma eğrileri çizilmiştir. Hem dişi hem de erkeklerin kontrol gruplarında dikdörtgensel eğri görülmektedir. Yine her iki eşey için K3-K3, S-K3 ve K2-K2 besin gruplarında erken yaşlarda artan ölüm oranları kendini doğrusal tipte hayatta kalış eğrisi ile göstermektedir. Dişiler için maksimum ömür uzunluğuna sahip grup S-K2 besin grubu , minimum ömürlü grup ise K3-K3 besin grubudur. Erkekler için ise maksimum uzun ömürlü grup K3- S iken minimum ömür uzunluğuna sahip grup K3-K3 besin grubudur.

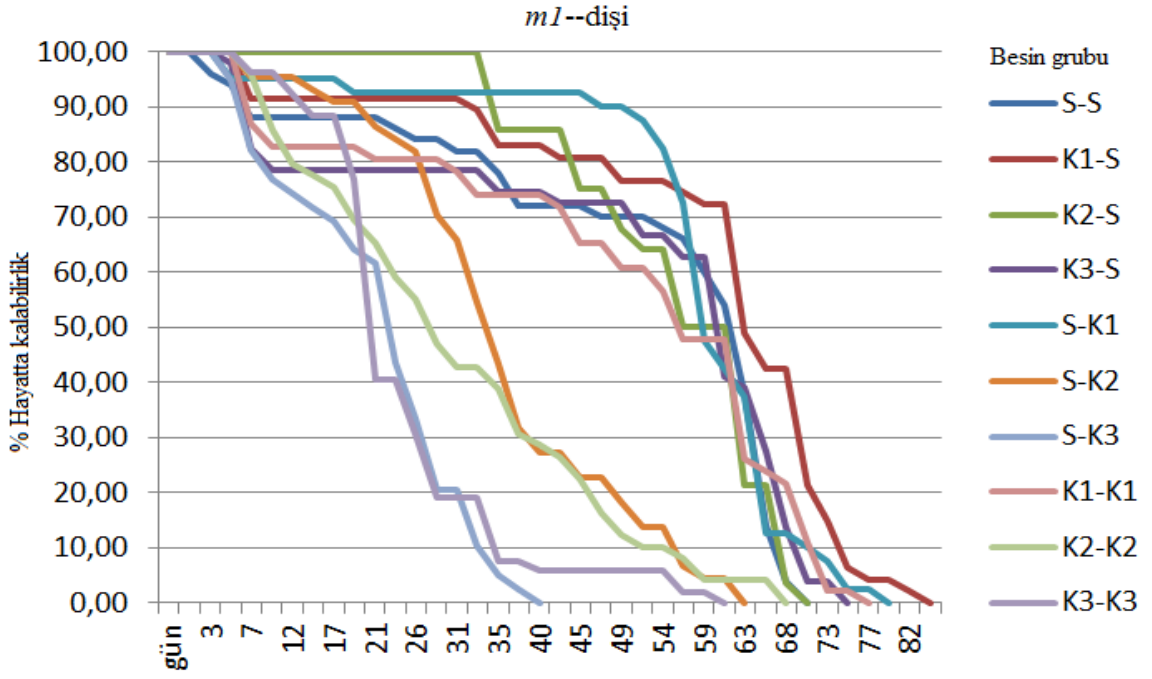
Şekil 4.15 ve Şekil 4.16’da sırasıyla *m1* dişi ve erkek bireylerinin hayatta kalma eğrileri çizilmiştir. Hem dişi hem de erkeklerin kontrol gruplarında dikdörtgensel eğri görülmektedir. Yine her iki eşey için K3-K3, S-K3 ve K2-K2 besin gruplarında erken yaşlarda artan ölüm oranları gözlenmektedir. Kısıtlı besin gruplarının hayatta kalış eğrileri doğrusal tiptedir. Dişiler için maksimum ömür uzunluğuna sahip grup K1-S besin grubu , minimum ömürlü grup ise S-K3 besin grubudur. Erkekler için ise maksimum uzun ömürlü grup S-K1 iken minimum ömür uzunluğuna sahip grup K3-K3 besin grubudur.



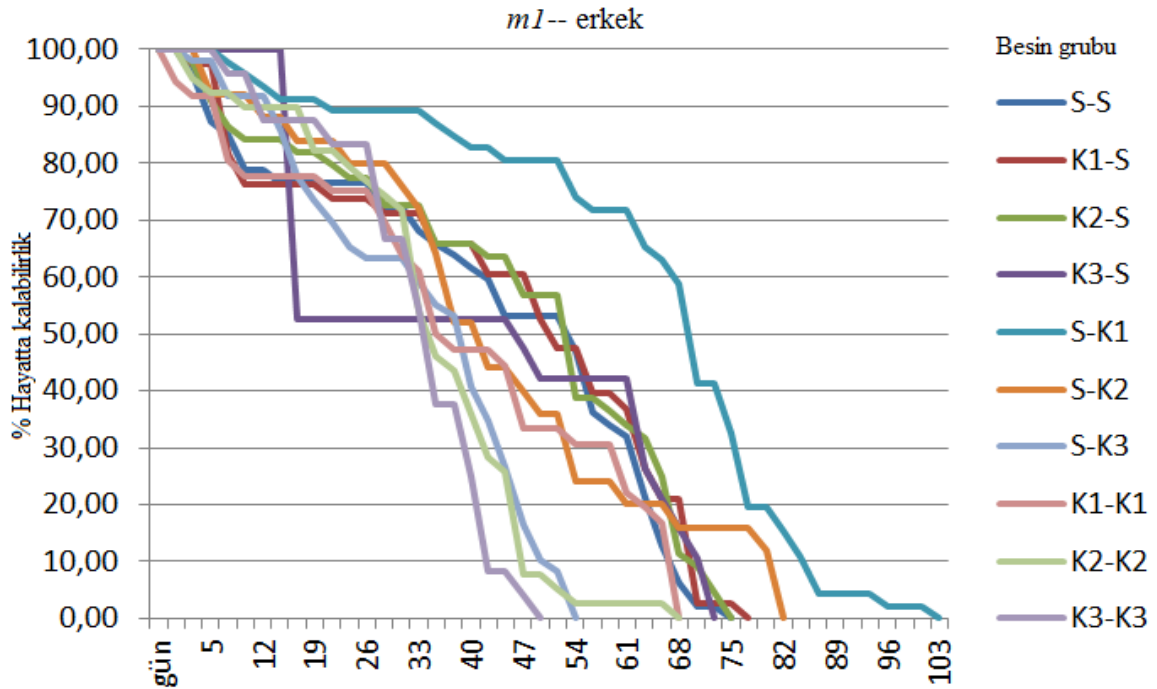
Şekil 4.13 *Cs-B* soy hattına ait dişi bireylerin her besin grubu için % hayatta kalabilirlik eğrileri.



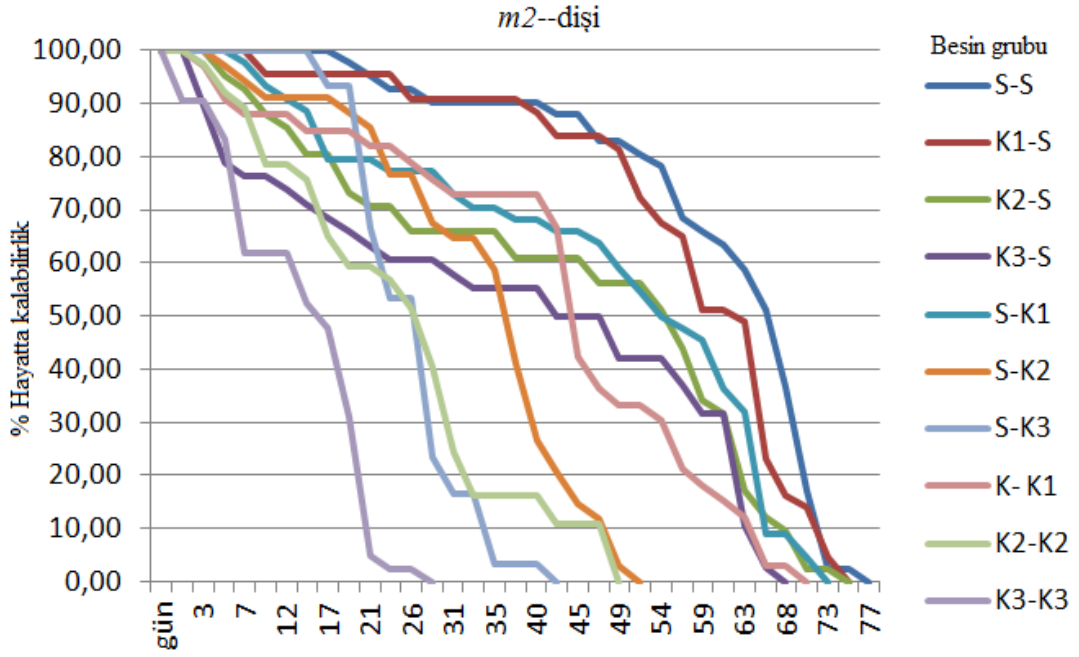
Şekil 4.14 *Cs-B* soy hattına ait erkek bireylerin her besin grubu için % hayatta kalabilirlik eğrileri.



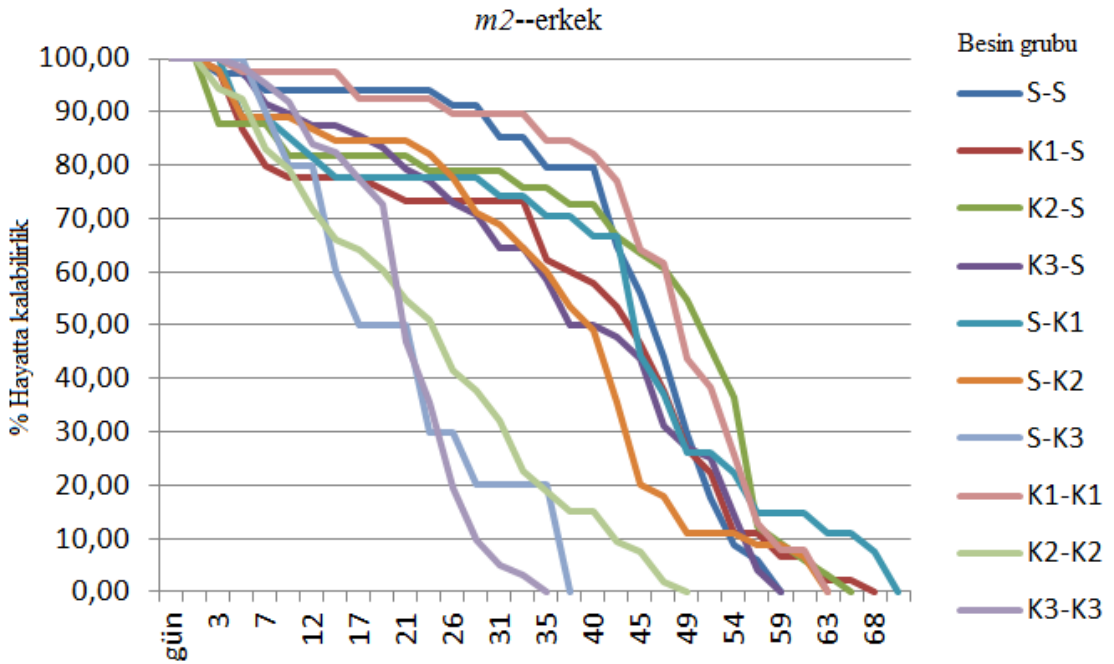
Şekil 4.15 *m1* soy hattına ait dişi bireylerin her besin grubu için % hayatta kalabilirlik eğrileri.



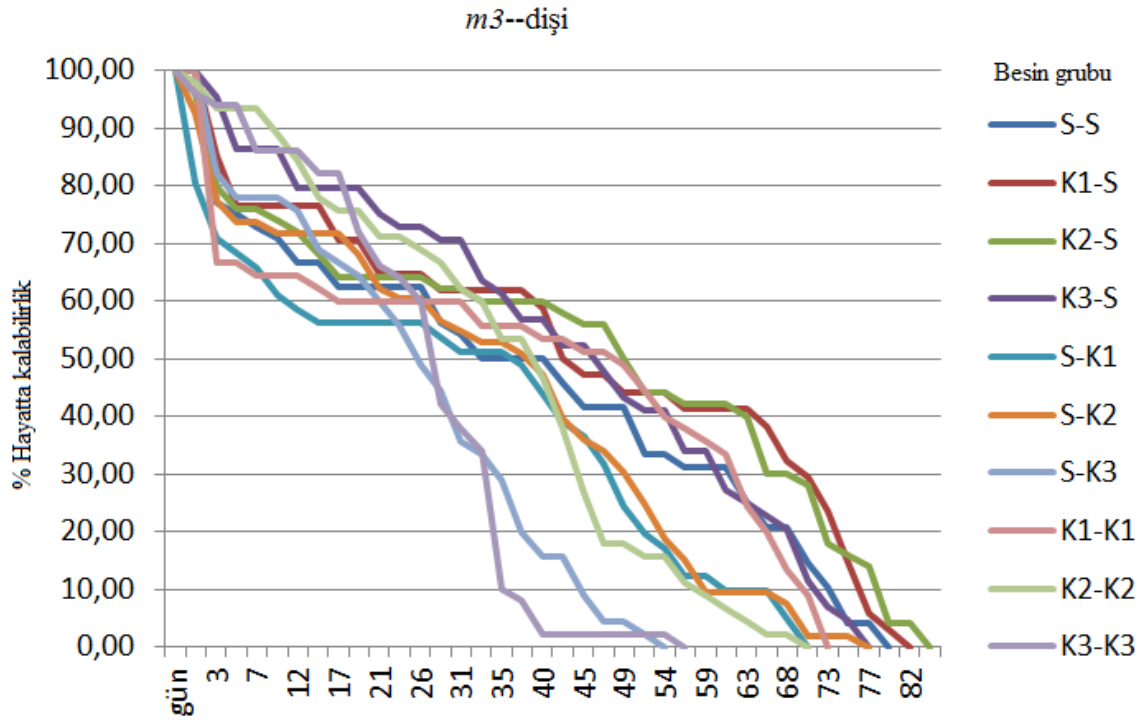
Şekil 4.16 *m1* soy hattına ait erkek bireylerin her besin grubu için % hayatta kalabilirlik eğrileri.



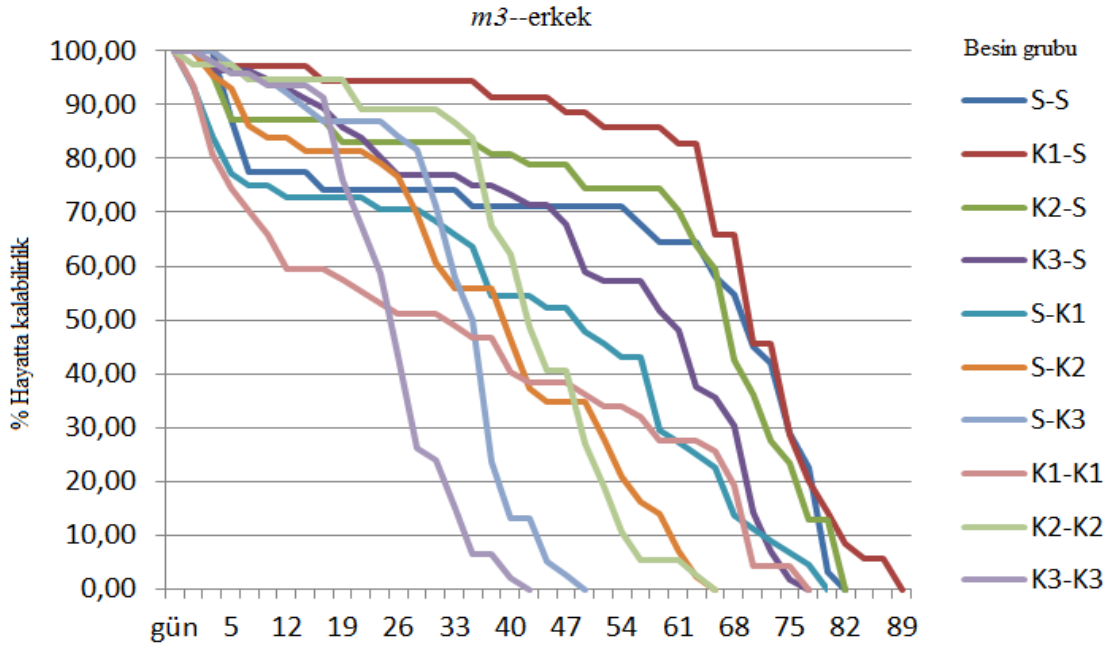
Şekil 4.17 m2 soy hattına ait dişi bireylerin her besin grubu için % hayatta kalabilirlik eğrileri.



Şekil 4.18 m2 soy hattına ait erkek bireylerin her besin grubu için % hayatta kalabilirlik eğrileri.



Şekil 4.19 *m3* soy hattına ait dişi bireylerin her besin grubu için % hayatta kalabilirlik eğrileri.



Şekil 4.20 *m3* soy hattına ait erkek bireylerin her besin grubu için % hayatta kalabilirlik eğrileri.

Şekil 4.17 ve Şekil 4.18'de sırasıyla *m2* dişi ve erkek bireylerinin hayatta kalma eğrileri çizilmiştir. Dişilerde S-S ve K1-S besin gruplarında, erkeklerde ise K1-K1 besin grubunda dikdörtgensel eğri görülmektedir. Her iki eşey için K3-K3, S-K3 ve K2-K2 besin gruplarında erken yaşlarda artan ölüm oranları kendini doğrusal tipte hayatta kalış eğrileri ile göstermektedir. Dişiler için maksimum ömür uzunluğuna sahip grup S-S besin grubu, minimum ömürlü grup ise K3-K3 besin grubudur. Erkekler için ise maksimum uzun ömürlü grup S-K1 iken minimum ömür uzunluğuna sahip grup K3-K3 besin grubudur.

Şekil 4.19 ve Şekil 4.20'de sırasıyla *m3* dişi ve erkek bireylerinin hayatta kalma eğrileri çizilmiştir. Erkeklerde K1-S besin grubunda dikdörtgensel eğri görülmektedir ve K3-K3, S-K3 besin gruplarında erken yaşlarda artan ölüm oranları gözlenmektedir. Dişilerde standart dahil tüm besin grupları için erken yaşlarda artan ölüm oranları gözlenmektedir. Dişilerin hayatta kalış eğrileri doğrusal tiptedir. Dişiler için maksimum ömür uzunluğuna sahip grup K2-S besin grubu, minimum ömürlü grup ise S-K3 besin grubudur. Erkekler için ise maksimum uzun ömürlü grup K1-S iken minimum ömür uzunluğuna sahip grup K3-K3 besin grubudur.

Hayatta kalma eğrilerine genel olarak bakıldığında, ergin dönemde 20 g/l ve 10 g/l maya içeren besin gruplarında her soy hattı için gözlenen ölüm eğrileri genç yaşta hızlı düşüş göstermektedir. Ergin dönem beslenmesinde 100 g/l (S-S, K1-S, K2-S, K3-S) ve 50 g/l (S-K1, K1-K1) maya içeren besin gruplarında yaşlanan bireylerin çoğunlukla yaşa bağlı olarak öldüğü gözlenmiştir. Larval dönem beslenmesinde kısıtlı besin içeren grupların (K3-S, K2-S, K1-S) hayatta kalma eğrilerinin dikdörtgensel olduğu görülmüştür. Ayrıca *m3* soyununun dişilerinde tüm besin gruplarında gözlenen doğrusal düşüşün yaşa bağlı olmadığını ve bu soyun genotipinden kaynaklandığını söylemek mümkündür.

5. SONUÇ ve TARTIŞMA

Yaşam öyküsü karakterleri teorisine göre; uyum bileşenleri ve birbirleriyle olan uzlaşmaları, doğal seçim etkisiyle canlının uyum süreci boyunca farklı dengeler içindedirler [10, 11]. Yaşlanma, temelde uyum bileşenlerinin gücünün azalması olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenle organizmanın hayatta kalma ve uyum başarısındaki düşüşün en temel nedenlerinden biri yaşlanmadır.

Ömür uzunluğu temel yaşam öyküsü karakterlerinden biridir ve canlının uyum süreci boyunca yaşlanmaya ilişkin genetik altyapı, epistasi ve çevresel etkilere bağlı olarak varyasyon göstermektedir. Ömür uzunluğunda gözlenen varyasyon gelişimsel süreçlerin belirlediği sınırlara yani organizmanın sahip olduğu fenotipik esnekliğe göre şekillenir [62].

Bu çalışma kapsamında çevresel değişken olarak besin miktarı kullanılmıştır. *D. melanogaster*'in laboratuvar koşullarında standart besiyerinde bulunan maya bileşeninin kısıtlanmasına bağlı olarak hazırlanan farklı besin gruplarına göre larval, ergin ve her iki dönem beslenmesinin ömür uzunluğuna etkisi araştırılmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre ergin dönem beslenmesi, ömür uzunluğu üzerinde daha etkilidir. Larval dönem beslenmesinde azalan maya miktarına bağlı olarak azalan ömür uzunluğu gözlenirse dahi bu fark ergin dönemde besin kısıtlamasının yarattığı fark kadar anlamlı olmamıştır. Literatürde larval dönem beslenmesinin ömür uzunluğuna etkisinin olmadığını gösteren çalışmalar olsa da [15] her iki dönemde de kısıtlı maya miktarı ile beslenen grupların ömür uzunluğunun sadece ergin dönem kısıtlanan gruplardan daha kısa olması, bu iki gelişim dönemindeki beslenmenin birikimsel etkisine işaret etmektedir.

Larval dönem beslenmesinin ergin döneme göre ömür uzunluğu üzerinde daha az etkili olması, larval ve ergin dönemin farklı fizyolojik yollara, genetik düzenlenmelere ve sinyal mekanizmalarına sahip olmasından kaynaklanabilir [140]. Evrimsel gelişim biyolojinin de temel aldığı bir nokta olarak ergin dönem özellikleri embriyolojik dönemde belirlenmektedir. Bu döneme ait gelişimsel yollar canlı grupları arasında ortaktır ve evrimsel olarak korunmuştur [140]. Bunun yanında, ömür uzunluğu üzerine larval ve ergin dönem beslenmesinin birikimsel etki göstermesi, ergin dönem morfolojisi ve uyum başarısının her iki dönem beslenmesinden elde edilen enerji ile belirlendiği bilgisini desteklemektedir [106].

Diğer taraftan, ortalama ömür uzunlukları farklı olsa dahi kullanılan izosoyların hepsi besin kısıtlanmasına ve uygulandığı gelişim dönemine bağlı olarak benzer tepkiler göstermiştir. Yaptığımız analizlere göre, sadece larval dönemin farklı miktarlarda kısıtlandığı durum ile sadece ergin dönemin kısıtlandığı durumda istatistiksel olarak anlamlı Soy x Eşey etkileşimi görülmüştür. Bu anlamlı etkileşim, her genotipin ve ona ait eşeylerin farklı tepkilerini ortaya koymaktadır. Öte yandan stresin arttığını kabul ettiğimiz ve her iki döneminde de kısıtlı beslenen grubun Soy x Eşey etkileşimi istatistiksel olarak anlamsızdır. Diğer bir değişle stres faktörü arttıkça soylar ve eşeyler arası fark azalmaktadır. Bu durum çevresel stresin yüksek olduğunu kabul ettiğimiz gruplara ait standart sapmanın düşük olması ile de belirginleşmektedir (Şekil 4.14). Standart sapmadaki bu düşüş ile stres altında verilen ömür uzunluğu yanıtının her bir genotipin (soy) oluşturduğu örüntü bakımında birbirine yaklaştığı ancak genotiplerin kendi özelliklerini koruduğu görülmektedir.

Bunun yanında en ilginç bulgularımızdan biri besin grupları içinde dişi ve erkekler arasındaki ortalama ömür uzunluklarının ortak (tüm soy hatlarında benzer) bir örüntü olmaksızın farklılık göstermesidir. Ömür uzunluğu dimorfizm gösteren bir özelliktir. Ömür uzunluğu çalışmalarına bakıldığında, dişilerin erkeklere göre daha uzun ömürlü olduğu görülmektedir [1]. Yumurta verimi ve ömür uzunluğu arasındaki uzlaşma ilişkisinden dolayı, dişilerin ömür uzunluğunun görece kısalması ile erkek ve dişilerin ömür uzunluğunun benzer olması mümkündür [24, 27]. Ancak bu çalışmada dişi ve erkeklerin virjin olması nedeniyle dişilerin daha uzun ömürlü olması beklenmesine rağmen aksi yönde sonuçlar da elde edilmiştir (Şekil 4.9 - 4.12). Aynı zamanda, her deney setinde Besin grubu x Eşey etkileşiminin anlamlı olduğu görülmektedir. Bu durum, besin kısıtlamasına karşı eşeye özgü bir ömür uzunluğu yanıtı bulunduğunu göstermektedir. İzosoyların ömür uzunluğunu ölçen çalışmalara bakıldığında benzer sonuçları içeren bulgular vardır [141]. Bununla birlikte dişilerin ömür uzunluğunun erkeklere oranla çok daha kısa olması kendileşme çöküntüsüyle açıklanabilir. Ancak literatürde bu çerçevede herhangi bir araştırma mevcut değildir. İzosoylarda dişilerin daha kısa ömür uzunluğuna sahip olmaları oldukça çarpıcı ve merak uyandırıcı bir durumdur. Bu sonuç, çalışmanın soruları dahilinde olmadığı için nedenine yönelik herhangi bir analiz yapılmamıştır. Ancak ileri dönem çalışmaları için mutlaka üzerine yoğunlaşılması gereken bir konudur.

Açlık direnci çalışması sonucu açlığa karşı gösterdikleri direnç göz önünde tutularak seçilen soyların ömür uzunlukları ve açlık dirençleri arasında bir ilişki bulunmamıştır.

Sadece ömür uzunluğu deneyinde kontrol soyu olarak kullanılan *Cs-B* soyunun açlık direnci ve ortalama ömür uzunluğu diğer soylara göre anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ve açlık direnci ile ömür uzunluğu arasında pozitif bir ilişki ortaya koymuştur. *Cs-B* soyunun düşük ömür uzunluğuna sahip olması, soyun *white* aleli taşımasıyla bağlantılı olabilir. Yabani soyların, mutant soylara göre daha uzun ömür uzunluğuna sahip oldukları bilinmektedir [4]. 1950 yılında doğadan toplanan bu soyun diğer izosoylara göre daha eski bir kendileşme geçmişinin olmasıdır. Yüksek kendileşme ile soy tüm lokusları açısından homojenleştiği bilinmektedir. *Cs-B* soyu, *wolbachia* enfeksiyonu içermeyen ve *P* elementi traspozonu bulundurmayan bir soydur. Özellikle yaşam öyküsü karakteri varyasyonunun önemli olduğu çalışmalarda hareketli genetik elementlerin bertaraf edildiği bu soyların kullanımı güvenilir sonuçlar vermektedir [132]. Öte yandan izosoy olarak türetilen açlık direnci düşük *m1* ve *m2* soyu ile açlık direnci yüksek *m3* soyu karşılaştırıldığında, açlık direnci ve ömür uzunluğu arasında belirgin bir ilişki görülmemiştir. Açlık direnci ve ömür uzunluğu arasında ilişki olduğunu gösteren çalışmalara bakıldığında, yüksek varyasyon gösteren kendileşmemiş (outbreed) soyların kullanıldığı görülmektedir [142, 143]. Ancak izosoy olarak türetilen ve tek bir genotipi temsil eden homozigot allel sayısının fazla olduğu soy hatları ile yapılan çalışmalarda kendileşme çöküntüsünün yaşam öyküsü karakterine özgü sonuçlar doğurduğu görülmektedir [39, 141, 144]. Kendileşmiş bir izosoyun bir özellik için genetik homojenliği düşükken başka bir özellik için bu homojenlik yüksek olabilir. Bu durum, her bir kendileşmiş soyun her bir özellik açısından genetik sürüklenme etkisiyle farklı alel frekanslarına sahip olduğuna işaret eder. Buna bağlı olarak izosoylarda görmediğimiz açlık direnci ve ömür uzunluğu korelasyonu kendileşme süresi boyunca yok olmuş olabilir.

Uyum bileşenlerini etkileyen iç ve dış faktörler ömür uzunluğu üzerinde etkili olmaktadır [1]. Özellikle yaşayabilirliği düşüren bütün faktörler ömür uzunluğunu da düşürmektedir. Bu faktörlerden biri de kendileşmiş genetik arkaplandır [124]. Kendileşme ile mortalite yaşa bağlı olmaksızın canlının erken döneminde hızlı bir artış göstermektedir. Sonuçlarımıza göre, *m3* soy hattına ait dişilerin besin kısıtlamasından bağımsız olarak her besin grubunda yaşayabilirliklerinin düşük olduğu görülmüştür (Şekil 4.8). Kendileşmiş soyların, outbreed soylara göre ömür uzunluğunun kısa olduğu bilinmektedir [141].

Mortalite oranındaki sadece yaşa bağlı olarak gözlenen artış, popülasyonun yaşlandığı anlamına gelir [12]. Bu nedenle larval ve ergin dönemde artan besin kısıtlaması ve şiddetinin azalan ömür uzunluğunda ifade ettiği örüntü oldukça önemlidir. Zira çalışma

için besin kısıtlaması ve besin stresi arasındaki farkı ayırmak, soyların genetik altyapıları ve değişen çevreye bağlı tepkilerini ölçmek amacıyla tasarlanmıştır. Sonuçlarımıza göre, sadece ergin dönem ve her iki dönemde de 10 g/l ve 20 g/l maya miktarı ile beslenen gruplarda stres olduğu görülmüştür ve bu sonucu yaşa bağlı olmayan ölüm oranını ifade eden *a* değişkeni doğrulamaktadır (Şekil 4.15). Bu durum, soyların hayatta kalış eğrilerinin aynı tür stres koşullarında doğrusal tipte düşüş göstermesiyle belirginleşmiştir. Özetle meydana gelen yaşlanma, doğal süreçlerden çok çevresel bir stres ile hızlanmaktadır. Elde ettiğimiz sonuçlar, besiyerinde bulunan maya bileşeninin 20 g/l ve altında olmasının *D. melanogaster*'de ömür uzunluğu bakımından stres yarattığını ortaya koymaktadır.

Ancak birçok laboratuvar besiyeri protokolü incelendiğinde 20 g/l maya miktarının yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir. Bu durum, ömür uzunluğu gibi bir başka yaşam öyküsü karakterinde de stres oluşturabileceğini düşündürmektedir. Böylelikle, özellikle yaşam öyküsü karakterleri varyasyonlarının ölçülmesine dayanan farklı laboratuvarlarda yürütülen çalışmaların ortak değerlendirilebilmesi açısından, besin optimizasyonlarının önemini bir kere daha vurgulamak isteriz. Besin kısıtlamasının ömür uzunluğunu arttırdığını ortaya koyan çok sayıda çalışma bulunmaktadır [15, 98, 100] Özellikle *D. melanogaster* ile yapılan çalışmalar incelendiğinde, laboratuvarlar arası besin bileşenleri ve miktarları arasında farklılıklar görülmektedir. Bu nedenle literatürdeki bu çalışmaları bir araya getirip yorumlamak güçleşmektedir. Bu sorundan yola çıkarak Bass ve arkadaşlarının [101] *D. melanogaster* besin optimizasyon protokolünü belirlemişlerdir. Bu protokole göre *D. melanogaster*'de optimum maya miktarı yumurta verimi için 100 g/l, ömür uzunluğu için ise 50 g/l'dir. Ancak klasik besin kısıtlaması çalışmalarında standart olarak kullanılan maya miktarının, optimumdan oldukça fazla olduğu görülmektedir. Protein miktarının artması besiyerlerinde enfeksiyon riskini arttırdığı ve bunun yanında yine protein miktarına bağlı olarak artan oksidatif stresin ömür uzunluğu üzerinde etkili olduğu bilinmektedir [43]. Bu durumda, yüksek maya miktarıyla azalan ömür uzunluğu, besin kısıtlaması durumunda artmaktadır. Halbuki bu çalışmada gördüğümüz üzere optimum maya miktarına göre yapılan besin kısıtlamasının ömür uzunluğunu azalttığı görülmüştür. Bu nedenle bir besin kısıtlaması çalışmasında en önemli nokta, kullanılan organizmanın standart besin ihtiyacını bilmektir. Doğada çürümüş mantar ve meyvelerden protein ve sükröz ihtiyacını karşılayan *D. melanogaster* için laboratuvar koşullarında farklı yaşam öyküsü karakterleri için farklı optimum besin tiplerinin belirlenmesi ve besin kısıtlamasının bu optimum üzerinden yapılması oldukça önemlidir. Klasik besin

kısıtlaması çalışmalarının bu çerçevede yeniden değerlendirilmesi, hem çalışmaların güvenilirliğini arttıracak hem de etik değerini yükseltecektir.

Bu çalışmada elde ettiğimiz bulgulara göre *D. melanogaster*'de ergin dönem besin kısıtlamasının ömür uzunluğu üzerine oldukça etkili olduğu görülmüştür. Larval dönem beslenmesinin ergin dönem kadar etkili olmadığı ancak ergin dönemle birlikte birikimsel bir etkisinin olduğu bulgulanmıştır. Çalışmada, izosoyların açlık direncinden bağımsız olarak kendi genetik arka planlarının önemi ortaya çıkmış ve çevresel bir etken olan besin kısıtlaması ile ömür uzunluğunda gözlediğimiz varyasyonun, canlının genetik altyapısına bağlı olarak şekillendiği görülmüştür. Soylara ait eşeylerin de ayrı birer genetik arka plan olarak değerlendirilebileceği bu çalışmada optimum maya miktarına bağlı olarak gerçekleştirilen besin kısıtlaması ile ömür uzunluğunda düşüş görülmüştür.

Sonuç olarak yapılan çalışmada kullanılan izosoy ve eşeylerinin her bir besin grubuna verdikleri tepkinin farklılığına göre genotip ve çevre etkileşimi kendini göstermiştir. Bu etkileşimde gen ifadelerindeki farklılıkları ortaya koyabilmek , etkileşime katkıda bulunan genetik yolların tanımlanmasına yardımcı olabilir. Hem besin stresi hem de ömür uzunluğu ile ilişkili olan aday genlerin belirlenmesinde yapılacak tüm genom ekspresyon çalışmaları oldukça önem arz etmektedir. Bu tez çalışmasının bir bölümü olduğu proje kapsamında ömür uzunluğu üzerinde etkili olduğu bilinen [145] *Apolipoprotein D* ailesine bağlı *Nlaz* ve *Glaz* genlerinin ifadelerinin yaşa bağlı olarak analizi, çalışmanın ileriki aşaması için bir basamak olacaktır.

6. KAYNAKLAR

- [1] Rose, M.R., *Evolutionary Biology of Aging: Observation of Aging*, Oxford University, Press, New York, **1991**.
- [2] Comfort, A., Biological theories of aging, *Human Development*, 27-39 , **1970**.
- [3] Zwaan, B.J., The Evolutionary Genetics of Ageing and Longevity, *Heredity*, 589-597, **1999**.
- [4] Bozcuk, A.N., Genetics of longevity in *Drosophila*. V. The specific and hybridised effects of rolled, sepia, ebony, and eyeless autosomal mutants, *Experimental Gerontology*, 415-27, **1981**.
- [5] Mangel, M., Complex Adaptive Systems, Aging and Longevity, *Journal of Theoretical Biology*, 559-571, **2001**.
- [6] Rose, M., Charlesworth B., A Test of Evolutionary Theories of Senescence, *Science of Aging Knowledge Environment*, **2002**.
- [7] Ricklefs, R.E., Finch C.E., Aging: A Natural History, *Scientific American Library/Scientific American Books*, **1995**.
- [8] Martínez, D.E, Mortality Patterns Suggest Lack of Senescence in Hydra, *Experimental gerontology*, 217-225, **1998**.
- [9] Vaupel W., Baudisch, J.A., Dölling M., Roach D.A., Gampe J., The Case for Negative Senescence, *Theoretical population biology* , 339-35, **2004**.
- [10] Roff, DA., Trade-Offs between Growth and Reproduction: An Analysis of the Quantitative Genetic Evidence, *Journal of Evolutionary Biology* ,434-445, **2000**.
- [11] Stearns, S., The Evolution of Life Histories (Pod), **1992**.
- [12] Comfort, A., Ageing. The Biology of Senescence, *Ageing. The biology of senescence.*, **1964**.
- [13] Mayr, E., *This Is Biology: The Science of the Living World*, Universities Press, **1997**.
- [14] Nagylaki, T., A Diffusion Model for Geographically Structured Populations, *Journal of Mathematical Biology* , 375-382, **1978**.
- [15] Grandison, R., *Establishing a role for specific nutrients in Drosophila Dietary Restriction*, Phd, University of London, London, **2009**.
- [16] Rose, M.R., *Evolutionary Biology of Aging: Genetic mechanisms of Aging*, Oxford University Press, New York, **1991**.
- [17] Hughes, K.A., Charlesworth, B., A Genetic Analysis of Senescence in *Drosophila*, *Nature*, 64-66, **1994**.

- [18] Promislow, D.E.L., Tatar, M., Khazaeli, A.A., Curtsinger, J.W., Age-Specific Patterns of Genetic Variance in *Drosophila Melanogaster*. I. Mortality, *Genetics*, 839-848, **1996**.
- [19] Pletcher, S.D., Houle, d., Curtsinger, J.M., Age-Specific Properties of Spontaneous Mutations Affecting Mortality in *Drosophila melanogaster*, *Genetics*, 287-303, **1998**.
- [20] Williams, P.D., Day, T., Antagonistic Pleiotropy, Mortality Source Interactions, and the Evolutionary Theory of Senescence, *Evolution*, 1478-1488, **2003**.
- [21] Zwaan, B.R., Hoekstra, R.F., Artificial Selection for Developmental Time in *Drosophila melanogaster* in Relation to the Evolution of Aging: Direct and Correlated Responses, *Evolution*, 635-648, **1995**.
- [22] Partridge, L., Barton, N.H., Optimally, Mutation and the Evolution of Ageing, *Nature*, 305-311, **1993**.
- [23] Gann, P.H., Hennekens, C.H., Ma, Longcope, C., Stampfer, M.J, Prospective Study of Sex Hormone Levels and Risk of Prostate Cancer, *Journal of the National Cancer Institute*, 1118-1126, **1996**.
- [24] Komitopoulou, K., Gans, M., Margaritis, L.L., Kafatos, F.C., Masson, M., Isolation and Characterization of Sex-Linked Female-Sterile Mutants in *Drosophila melanogaster* with Special Attention to Eggshell Mutants, *Genetics*, 897-920, **1983**.
- [25] Kirkwood, T.B.L., Kowald, K., Network Theory of Aging, *Experimental gerontology*, 395-399, **1997**.
- [26] Rose, M.R., Charlesworth, B., Genetics of Life History in *Drosophila melanogaster*, Exploratory Selection Experiments, *Genetics*, 187-196, **1981**.
- [27] Partridge, L., Fowler, K., Direct and Correlated Responses to Selection on Age at Reproduction in *Drosophila Melanogaster*, *Evolution*, 76-92, **1992**.
- [28] Partridge, L., Barton, N.H., Optimally, Mutation and the Evolution of Ageing, *Nature*, 305-311, **1993**.
- [29] Barnes, A.I., Partridge, N., Costing Reproduction, *Animal Behaviour* , 199-204, **2003**.
- [30] Medvedev, Z.A., An Attempt at a Rational Classification of Theories of Ageing, *Biological Reviews*, 375-398, **1990**.
- [31] Masoro, E.J., Caloric Restriction and Aging: An Update, *Experimental gerontology*, 299-305, **2000**.
- [32] Roark, A.M., Bjorndal, K.A., Metabolic Rate Depression Is Induced by Caloric Restriction and Correlates with Rate of Development and Lifespan in a Parthenogenetic Insect, *Experimental gerontology*, 413-419, **2009**.
- [33] Martin, George M., Somatic Mutagenesis and Antimutagenesis in Aging Research, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, **1996**.

- [34] Miquel, J., Bensch, K.G., Philpott, D.E., Atlan, H., Natural Aging and Radiation-Induced Life Shortening in *Drosophila Melanogaster*, *Mechanisms of Ageing and Development*, 71-97, **1972**.
- [35] Lindop, P. J., Rotblat, J., I. The Age Factor in Radiation Sensitivity in Mice, *British Journal of Radiology*, 23-31, **1962**.
- [36] Lithgow, G.J., Walker, G.A., Stress Resistance as a Determinate of *C. elegans* Lifespan, *Mechanisms of ageing and development*, 765-771, **2002**.
- [37] Zwaan, B.J., Bijlsma, R., Hoekstra, R.F., On the Developmental Theory of Ageing. I. Starvation Resistance and Longevity in *Drosophila Melanogaster* in Relation to Pre-Adult Breeding Conditions, *Heredity*, 370-379, **1991**.
- [38] Harshman, L.G., Hoffmann, A.A., Clark, A.G., Selection for Starvation Resistance in *Drosophila Melanogaster*: Physiological Correlates, Enzyme Activities and Multiple Stress Responses, *Journal of Evolutionary Biology*, 370-379, **1999**.
- [39] Hoffmann, A.A., Hallas, A., Sinclair, C., Mitrovski, P., Levels of Variation in Stress Resistance in *Drosophila* among Strains, Local Populations, and Geographic Regions: Patterns for Desiccation, Starvation, Cold Resistance, and Associated Traits, *Evolution*, 1621-1630, **2001**.
- [40] Rion, Stéphanie and Tadeusz J Kawecki. "Evolutionary Biology of Starvation Resistance: What We Have Learned from *Drosophila*." *Journal of evolutionary biology* 20, no. 5 (2007): 1655-1664.
- [41] Kimura, K.D., Tissenbaum, H.A., Liu, Y., Ruvkun, G., Daf-2, an Insulin Receptor-Like Gene That Regulates Longevity and Diapause in *Caenorhabditis elegans*, *Science*, 942-946277, **1997**.
- [42] Böhni, R., Escovar, J., Oldham, S., Brogiolo, W., Stocker, H., Andruss, B.F., Beckingham, K., Hafen, E., Autonomous Control of Cell and Organ Size by Chico, *Drosophila* Homolog of Vertebrate Irs1-4, *Cell*, 865-875, **1999**.
- [43] Harman, D., Free Radical Theory of Aging, *Mutation Research/DNAging*, 257-266, **1992**.
- [44] Toren, F., Holbrook, N.J., Oxidants, Oxidative Stress and the Biology of Ageing, *Nature*, 239-247, **2000**.
- [45] Sohal, R.S., Weindruch, R., Oxidative Stress, Caloric Restriction, and Aging, *Science*, 59-63, **1996**.
- [46] Mair, W., Goymer, P., Pletcher, S.D., Partridge, L., Demography of Dietary Restriction and Death in *Drosophila*, *Science*, 1731-1733, **2003**.
- [47] Yuan, Y., Kadiyala, C.S., Ching T.T., Hakimi, P., Saha, S., Xu, H., Enhanced energy metabolism contributes to the extended life span of calorie-restricted *Caenorhabditis elegans*, *Journal of Biological Chemistry*, 14-26, **2012**.
- [48] Hsin, H., Kenyon, K., Signals from the Reproductive System Regulate the Lifespan of *C. Elegans*, *Nature*, 362-366, **1999**.

- [49] Helfand, S.L., Rogina, B., From Genes to Aging in *Drosophila*, *Advances in genetics*, 67-109, **2003**.
- [50] Priest, N.K., Mackowiak, B., Promislow, D.EL., The Role of Parental Age Effects on the Evolution of Aging, *Evolution*, 927-935, **2002**.
- [51] Philippe, P., Opitz, J.M., Familial Correlations of Longevity: An Isolate-Based Study, *American journal of medical genetics*, 121-129, **1978**.
- [52] Smith, J.M., Clarke, J.M., Hollingsworth, M.J., The Expression of Hybrid Vigour in *Drosophila Subobscura*, *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 159-171, **1955**.
- [53] Pearl, R., Parker, S.L., Gonzalez, B.M., Experimental Studies on the Duration of Life. Vii. The Mendelian Inheritance of Duration of Life in Crosses of Wild Type and Quintuple Stocks of *Drosophila melanogaster*, *American Naturalist*, 153-192, **1923**.
- [54] Kirkwood, T.B.L., Understanding the Odd Science of Aging, *Cell*, 437-447, **2005**.
- [55] Grotewiel, M.S., Martin, J., Bhandari, P., Wiens, E.C., Functional Senescence in *Drosophila melanogaster*, *Ageing research reviews*, 372-397 4, **2005**.
- [56] Dorman, J. B., Albiner, B., Shroyer, T., Kenyon, C., The Age-1 and Daf-2 Genes Function in a Common Pathway to Control the Lifespan of *Caenorhabditis elegans*, *Genetics*, 1399-1406, **1995**.
- [57] Finkel, T., Holbrook, N.J., Oxidants, Oxidative Stress and the Biology of Ageing, *Nature*, 239-247, **2000**.
- [58] White, K.P., Rifkin, S.A., Hurban, P., Hogness, D.S., Microarray Analysis of *Drosophila* Development During Metamorphosis, *Science*, 2179-2184, **1999**.
- [59] Vijg, J., Suh, Y., Genetics of Longevity and Aging, *Annu. Rev. Med.*, 193-212, **2005**.
- [60] Promislow, D.EL., Pletcher, S.D., Advice to an Aging Scientist, *Mechanisms of ageing and development*, 841-850, **2002**.
- [61] Bradshaw, A.D., Evolutionary Significance of Phenotypic Plasticity in Plants, *Advances in genetics*, 115-155, **1965**.
- [62] Pigliucci, M., Evolution of Phenotypic Plasticity: Where Are We Going Now?, *Trends in Ecology & Evolution*, 481-486, **2005**.
- [63] Visser, J.A.G.M., Hermisson, J., Wagner, G.P., Meyers, L.A., Elena, S.F., Fontana, W., Perspective: Evolution and Detection of Genetic Robustness, *Evolution*, 1959-1972, **2003**.
- [64] Denver, R.J., Proximate Mechanisms of Phenotypic Plasticity in Amphibian Metamorphosis, *American Zoologist*, 172-184, **1997**.
- [65] Paaby, A. B., Schmidt, P.S., Dissecting the Genetics of Longevity in *Drosophila melanogaster*, 29-38, **2009**.

- [66] Sgro, C.M., Hoffmann, A.A., Genetic Correlations, Tradeoffs and Environmental Variation, *Heredity*, 241-248, **2004**.
- [67] Merilä, J., Sheldon, B.J., Kruuk, L.E.B., Explaining Stasis: Microevolutionary Studies in Natural Populations, *Genetica*, 199-22, **2001**.
- [68] Hoffmann, A.A., Hercus, M.J., Environmental Stress as an Evolutionary Force, *Bioscience*, 217-226 50, **2000**.
- [69] Ayrihac, A., Debat, V., Gibert, P., Kister, A.G., Legout, H., Moreteau, B., Vergilino, R., David, J., Cold Adaptation in Geographical Populations of *Drosophila melanogaster*: Phenotypic Plasticity Is More Important Than Genetic Variability, *Functional Ecology*, 700-706, **2004**.
- [70] Lints, F.A., Lints, C.V., Influence of Preimaginal Environment on Fecundity and Ageing in *Drosophila melanogaster* Hybrids ii. Developmental Speed and Life-Span, *Experimental gerontology*, 427-445, **1971**.
- [71] Miquel, J., Lundgren, P.R., Bensch, K.G., Atlan, H., Effects of Temperature on the Life Span, Vitality and Fine Structure of *Drosophila melanogaster*, *Mechanisms of ageing and development*, 347-370, **1976**.
- [72] Partridge, L., Green, A., Fowler, K., Effects of Egg-Production and of Exposure to Males on Female Survival in *Drosophila melanogaster*, *Journal of Insect Physiology*, 745-749, **1987**.
- [73] Dawood, M.M., Strickberger, M.W., The Effect of Larval Interaction on Viability in *Drosophila melanogaster*: Effects of Biotic Residues, *Genetics*, **1969**.
- [74] Lints, F.A., Life Span in *Drosophila*, *Gerontology*, 33-51, **1971**.
- [75] Saarikettu, M., Liimatainen, J.O., Hoikkala, A., Intraspecific Variation in Mating Behaviour Does Not Cause Sexual Isolation between *Drosophila virilis* Strains, *Animal behaviour*, 417-426, **2005**.
- [76] Oguma, Y., Jallon, Y.M., Tomaru, M., Matsubayashi, H., Courtship Behavior and Sexual Isolation between *D. auraria* and *D. triauraria* in Darkness and Light, *Journal of Evolutionary Biology*, 803-815, **1996**.
- [77] Hoffmann, A.A., Acclimation for Desiccation Resistance in *Drosophila melanogaster* and the Association between Acclimation Responses and Genetic Variation., *Journal of Insect Physiology*, 885-891, **1990**.
- [78] Fontana, L., Partridge, L., Longo, V.D., Extending Healthy Life Span from Yeast to Humans, *science*, 321-326, **2010**.
- [79] Harley, C.D.G., Hughes, A.R., Hultgren, K.M., Miner, B.G., Williams, S.L., The Impacts of Climate Change in Coastal Marine Systems, *Ecology letters*, 228-244, **2006**.
- [80] Wang, M.H., Lazebny, O., Harshman, L.G., Nuzhdin, S.V., Environment Dependent Survival of *Drosophila melanogaster*: A Quantitative Genetic Analysis, *Aging*, 133-140, **2004**.

- [81] Jia, K., Chen,D., Riddle, D.L., The Tor Pathway Interacts with the Insulin Signaling Pathway to Regulate C. Elegans Larval Development, Metabolism and Life Span, *Development*, 3897-3906, **2004**.
- [82] Hofmann, A.A., Parsons, P.A., An Integrated Approach to Environmental Stress Tolerance and Life History Variation: Desiccation Tolerance in Drosophila, *Biological Journal of the Linnean Society*, 117-136, **1989**.
- [83] Leroi, A. M., Chippindale A.K., Rose, M.R., Long-Term Laboratory Evolution of a Genetic Life-History Trade-Off in Drosophila Melanogaster. 1. The Role of Genotype-by-Environment Interaction, *Evolution*, 1244-1257, **1994**.
- [84] Archer, M.A., Phelan, J.P., Beckman, K.A., Rose, M.R., Breakdown in Correlations During Laboratory Evolution. Ii. Selection on Stress Resistance in Drosophila Populations, *Evolution*, 536-543, **2003**.
- [85] Lin, Y., Seroude,L., Benzer, S., Extended Life-Span and Stress Resistance in the Drosophila Mutant Methuselah, *Science*, 943-946, **1998**.
- [86] Hoffmann, A.A., Hallas,R., Anderson, A.R., Scott, M.T., Evidence for a Robust Sex Specific Trade Off between Cold Resistance and Starvation Resistance in *Drosophila melanogaster*, *Journal of evolutionary biology*, 804-810, **2005**.
- [87] McCay, C.M., Crowell, M.F., Maynard, L.A., The Effect of Retarded Growth Upon the Length of Life Span and Upon the Ultimate Body Size, 63-79, **1935**.
- [88] Chippindale, A.K., Leroi,A.M., Kim, S.B., Rose, M.R., Phenotypic Plasticity and Selection in *Drosophila* Life History Evolution. I. Nutrition and the Cost of Reproduction, *Journal of Evolutionary Biology*, 171-193, **1993**.
- [89] Min, K., Tatar, M., Restriction of Amino Acids Extends Lifespan in *Drosophila melanogaster*, *Mechanisms of ageing and development*, 643-646, **2006**.
- [90] Mockett, R.J., Cooper,M.T., Orr,W.O., Sohal, R.S., Effects of Caloric Restriction Are Species-Specific, *Biogerontology*, 157-160, **2006**.
- [91] Jiang, J. C., Marina,E.J., Repnevskaya,V., Jazwinski,M.S., An Intervention Resembling Caloric Restriction Prolongs Life Span and Retards Aging in Yeast, *The FASEB Journal*, 2135-2137, **2000**.
- [92] Leto, S., Kokkonen, G.C., Barrows,C.H., Dietary Protein, Life-Span, and Physiological Variables in Female Mice, *Journal of Gerontology*,149-154, **1976**.
- [93] Comfort, A., Effect of Delayed and Resumed Growth on the Longevity of a Fish (*Lebistes reticulatus*, Peters) in Captivity, *Gerontology*, 150-155, **1963**.
- [94] Weindruch, R., Will Dietary Restriction Work in Primates?, *Biogerontology*, 169-171, **2006**.
- [95] Ingram, D.K.,Young,J., Mattison,J.A., Calorie Restriction in Nonhuman Primates: Assessing Effects on Brain and Behavioral Aging, *Neuroscience* , 1359-1364, **2007**.

- [96] Holloszy, J. O., Fontana, L., Caloric Restriction in Humans, *Experimental gerontology*, 709-712 42, **2007**.
- [97] Willcox, B.J., Willcox, D.C., Todoriki, H., Fujiyoshi, A., Yano, K., He, Q., Curb, J.D., Suzuki, M., Caloric Restriction, the Traditional Okinawan Diet, and Healthy Aging, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 434-455, **2007**.
- [98] Partridge, L., Piper, M.D.W., Mair, W., Dietary Restriction in *Drosophila*, *Mechanisms of ageing and development*, 938-950, **2005**.
- [99] Kabil, H., Partridge, L., Harshman, L.G., Superoxide Dismutase Activities in Long-Lived *Drosophila melanogaster* Females: Chico 1 Genotypes and Dietary Dilution, *Biogerontology*, 201-208, **2007**.
- [100] Mair, W., Piper, M.D.W., Partridge, L., Calories Do Not Explain Extension of Life Span by Dietary Restriction in *Drosophila*, *PLoS biology*, **2005**.
- [101] Bass, T.M., Grandison, R.C., Wong, R., Martinez, P., Partridge, L., Piper, M.D.W., Optimization of Dietary Restriction Protocols in *Drosophila*, *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 1071-108, **2007**.
- [102] Partridge, L., Gems, D., Withers, D.J., Sex and Death: What Is the Connection?, *Cell*, 461-472, **2005**.
- [103] Partridge, L., Pletcher, S.D., Mair, W., Dietary Restriction, Mortality Trajectories, Risk and Damage, *Mechanisms of ageing and development*, 35-41, **2005**.
- [104] Amdam, G. V., Simões, Z.L.P., Hagen, A., Norberg, K., Schröder, K., Mikkelsen, Ø., Kirkwood, T.B.L., Omholt, S.W., Hormonal Control of the Yolk Precursor Vitellogenin Regulates Immune Function and Longevity in Honeybees, *Experimental gerontology*, 767-773, **2004**.
- [105] Kruitwagen, D.M., C.L.J.J. G., Jong, D., Scharloo, W., Critical Weight for the Induction of Pupariation in *Drosophila melanogaster*: Genetic and Environmental Variation, *Journal of Evolutionary Biology*, 852-858, **1999**.
- [106] Güler, P., Ayhan, N., Koşukçu, C., Önder B.Ş., Besin Kısıtlamasının *D. melanogaster*'de Gelişim Süresine Etkisinin Araştırılması, 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 3-7 Eylül, İzmir, **2012**.
- [107] Borash, D.J., Teotonio, H., Rose, M.R., Mueller, L.D., Density-Dependent Natural Selection in *Drosophila*: Correlations between Feeding Rate, Development Time and Viability, *Journal of Evolutionary Biology*, 181-187, **2000**.
- [108] Prasad, N.G., Shakara, M., Anitha, D., Rajamani, M., Joshi, A., Correlated Responses to Selection for Faster Development and Early Reproduction in *Drosophila*: The Evolution of Larval Traits, *Evolution*, 1363-1372, **2001**.
- [109] Zwaan, B.J., Linking Development and Aging, *Science*, **2003**.
- [110] Onder, B.Ş., Yılmaz, M., The Effect of Dietary Restriction on Developmental Time in *Drosophila melanogaster* and Its Sibling *D. simulans*, *Drosophila Information Service*, **2009**.

- [111] Tu, M.P., Tatar, M., Juvenile Diet Restriction and the Aging and Reproduction of Adult *Drosophila melanogaster*, *Aging cell* , 327-333, **2003**.
- [112] Clancy, D.J., Gems,D., Harshman,L.G., Oldham,S., Stocker, H., Hafen,E., Leivers, S.J., Partridge, L., Extension of Life-Span by Loss of Chico, a *Drosophila* Insulin Receptor Substrate Protein, *Science Signaling* , **2001**.
- [113] Tatar, M., Bartke,A., Antebi, A., The Endocrine Regulation of Aging by Insulin-Like Signals, *Science* , 1346-1351, **2003**.
- [114] Broughton, S.J., Piper, D.W., Ikeya,T., Bass,T.M., Jacobson,J., Drieger,Y, Martinez, P., Hafen,E., Withers,D.J., Leivers, S.J., Longer Lifespan, Altered Metabolism, and Stress Resistance in *Drosophila* from Ablation of Cells Making Insulin-Like Ligands, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 3105-3110, **2005**.
- [115] Gems, D., Partridge, L., Insulin/Igf Signalling and Ageing: Seeing the Bigger Picture, *Current opinion in genetics & development*, 287-292 11, **2001**.
- [116] Clancy, D. J., Gems,D., Hafen,E., Leivers, S.R., Partridge, L., Dietary Restriction in Long-Lived Dwarf Flies, *Science*, 319-319, **2002**.
- [117] Colombani, J., Bianchini, L., Layalle,S., Pondeville, E., Antoniewski, C.D.C., Carré, C., Noselli ,S., Léopold, P., Antagonistic Actions of Ecdysone and Insulins Determine Final Size in *Drosophila*, *Science*, 667-670, **2005**.
- [118] Kapahi, P., Zid, B., Tor Pathway: Linking Nutrient Sensing to Life Span, **2004**.
- [119] Viswanathan, M., Kim,S.K., Berdichevsky, A., Guarente, L., A Role for Sir-2.1 Regulation of Er Stress Response Genes in Determining *C. elegans* Life Span, *Developmental cell*, 605-615, **2005**.
- [120] Burnett, C.,Valentini,S., Cabreiro,F., Goss, M., Somogyvári,M., Piper,M.D., Hoddinott,M., Sutphin,G.L., Leko, V.L., McElwee, J.J., Absence of Effects of Sir2 Overexpression on Lifespan in *C. elegans* and *Drosophila*, *Nature* , 482-485, **2011**.
- [121] Rogina, B., Reenan,R.A., Nilsen, S.P., Helfand, S.L., Extended Life-Span Conferred by Cotransporter Gene Mutations in *Drosophila*, *Science*, 2137-2140, **2000**.
- [122] Marden, J.H., Rogina,B., Montooth,K.L., Helfand, S.L., Conditional Tradeoffs between Aging and Organismal Performance of Indy Long-Lived Mutant Flies, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 3369-3373, **2003**.
- [123] Hoffman, D. J., Franson,J.C., Pattee, O.H., Bunck, C.M., Anderson, A., Survival, Growth, and Accumulation of Ingested Lead in Nestling American Kestrels (*Falco Sparverius*), *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 89-94, **1985**.
- [124] Vermeulen, C.J., Genetics of Life Span Determination in *Drosophila melanogaster*, Proefschrift, Groningen University, Groningen, **2004**.
- [125] Haldane, J.B.S., Some Animal Life Tables, *Journal of the Institute of Actuaries*, 83-89, **1953**.

- [126] Kirkwood, T.B.L., Rose, M.R., Evolution of Senescence: Late Survival Sacrificed for Reproduction, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 15-24, **1991**.
- [127] Arking, R., *Biology of Aging: Observations and Principles*, Oxford University Press New York, **2006**.
- [128] Fukui, H.H., Xiu,L., Curtsinger, J.W., Slowing of Age-Specific Mortality Rates in *Drosophila melanogaster*, *Experimental Gerontology*, 585-599, **1993**.
- [129] Weindruch, R., Will Dietary Restriction Work in Primates? *Biogerontology*, 169-171, **2006**.
- [130] Hoffmann, A.A., Parsons, P.A., The Analysis of Quantitative Variation in Natural Populations with Isofemale Strains, *Genet. Sel. Evol*, 87-98, **1988**.
- [131] David, J.R., Araripe,L.O., Bitner-Mathé, B.C., Capy,P., Goñi,B., Klaczko,L.B., Legout,H., Martins, M.B., Vouidibio, J., Yassin, A., Quantitative Trait Analysis and Geographic Variability of Natural Populations of *Zaprionus indianus*, a Recent Invader in Brazil, *Heredity*, 53-62, **2005**.
- [132] Mackay, T. F.C., The Genetic Architecture of Quantitative Traits: Lessons from *Drosophila*, *Current opinion in genetics & development*, 253-257, **2004**.
- [133] Falconer, D.S, *Introduction to Quantitative Genetics*, Longman, **1981**
- [134] Santos, M., Fowler ,K., Partridge,L., Gene-Environment Interaction for Body Size and Larval Density in *Drosophila melanogaster*: An Investigation of Effects on Development Time, Thorax Length and Adult Sex Ratio, *Heredity* ,**1994**.
- [135] Hallas, R., Schiffer,M., Hoffmann, A.A., Clinal Variation in *Drosophila serrata* for Stress Resistance and Body Size, *Genetical research*, 141-148, **2002**.
- [136] Flatt, T., Survival Costs of Reproduction In *Drosophila*, *Experimental gerontology*, 369-375, **2011**.
- [137] Beltramí, M., Medina-Muñoz,M.C., Arce,D., Godoy-Herrera, R., *Drosophila* Pupation Behavior in the Wild, *Evolutionary Ecology*, 347-358, **2010**.
- [138] Pletcher, S.D., Model Fitting and Hypothesis Testing for Age-Specific Mortality Data, *Journal of Evolutionary Biology* , 430-439, **1999**.
- [139] Samaras, T.T., Elrick,H., Storms, L.H., Is Height Related to Longevity?, *Life sciences*, 1781-1802, **2003**.
- [140] Futuyma, D.J., *Evrin*, (çev: Kence,A., Bozcuk, A.N.), Palme Yayıncılık, Ankara, **2008**.
- [141] Valtonen, T. M., Roff, D.A., Rantala, M.J., Analysis of the Effects of Inbreeding on Lifespan and Starvation Resistance in *Drosophila melanogaster*, *Genetica* , 525-533, **2011**.
- [142] Khazaeli, A.A., Curtsinger, J.W., Genetic Analysis of Extended Lifespan in *Drosophila melanogaster*. On the Relationship between Artificially Selected and Wild Stocks, *Genetica*, 245-253, **2000**.

- [143] Vieira, C., Pasyukova, E.G., Zeng, Z., Hackett, J.B., Lyman, R.F., and Mackay, T.F.C., Genotype-Environment Interaction for Quantitative Trait Loci Affecting Life Span in *Drosophila melanogaster*, *Genetics*, 213-227, **2000**.
- [144] Mikkelsen, K., Loeschcke, V., Kristensen, T.N., Trait Specific Consequences of Fast and Slow Inbreeding: Lessons from Captive Populations of *Drosophila melanogaster*, *Conservation Genetics*, 479-488, **2010**.
- [145] Sanchez, D., López-Arias, B., Torroja, L., Canal, I., Wang, X., Bastiani, M.J., Ganfornina, M.D., Loss of Glial Lazarillo, a Homolog of Apolipoprotein D, Reduces Lifespan and Stress Resistance in *Drosophila*, *Current biology*, 680-686, **2006**.

EKLER

Ek 1: Deneye alınan tüm soy hatlarının dişi ve erkeklerine ait ortalama açlık direnci süreleri (sa)

Dişi				Erkek			
Soy Hattı	N	\bar{Y}	S.S	Soy Hattı	N	\bar{Y}	S.S.
100	40	39,15	11,77	100	40	32,85	6,79
104	50	100,24	19,02	104	49	42,14	8,40
105	48	72,00	13,46	105	50	41,92	9,05
107	41	99,49	30,12	107	50	59,56	10,11
112	50	69,76	10,30	112	49	47,78	7,74
113	50	102,88	19,56	113	50	61,00	8,49
118	49	100,06	26,82	118	49	65,86	13,36
119	50	90,20	25,66	119	50	55,88	15,58
202	26	67,08	17,71	202	24	51,75	10,76
203	47	60,66	14,14	203	42	42,29	7,56
206	45	106,73	28,97	206	47	48,02	8,51
207	48	70,83	28,15	207	49	60,69	23,37
208	44	193,95	104,07	208	49	120,49	81,05
211	50	85,00	32,12	211	49	54,94	17,71
214	47	145,11	73,00	214	48	189,08	68,97
215	47	69,83	19,88	215	44	56,00	16,69
218	50	83,06	29,60	218	50	45,72	9,36
219	47	64,04	22,89	219	48	37,25	7,73
220	50	94,64	31,46	220	50	54,24	13,40
221	46	81,00	26,83	221	45	42,33	12,83
224	17	65,12	19,55	224	18	36,00	8,55
226	40	65,70	15,37	226	44	45,00	7,87
230	48	80,50	23,61	230	50	37,92	5,51
235	48	69,38	18,58	235	50	33,96	7,41
236	48	74,00	23,75	236	50	32,52	12,11
242	50	103,12	24,16	242	49	49,67	7,63
244	50	48,88	10,58	244	50	37,12	9,25
245	50	144,40	50,13	245	49	120,57	40,40
305	19	67,16	18,69	305	13	41,38	7,41
Toplam	1295	88,06	45,39	Toplam	1305	57,87	41,23

Ek 2: Ömür uzunluğu deneyinde kullanılan soylara ait a ve b değerleri.

Soyhattı	Besin Tipi	Eşey	a	b	LCI(a)	LCI(b)	UCI(a)	UCI(b)	Likelihood
<i>C_S-B</i>	1	Dişi	0.00066	0.09517	0.00023	0.07573	0.00189	0.1196	-197.92227
		Erkek	0.00011	0.13856	0.00002	0.11002	0.00052	0.17449	-174.07316
	2	Dişi	0.00192	0.09546	0.00075	0.0736	0.00494	0.12382	-171.84702
		Erkek	0.00427	0.06702	0.00197	0.04977	0.00925	0.09024	-182.37886
	3	Dişi	0.00243	0.09	0.001	0.06898	0.00589	0.11744	-178.06125
		Erkek	0.00462	0.06905	0.00224	0.05143	0.00955	0.09271	-248.64771
	4	Dişi	0.00546	0.06677	0.00246	0.04751	0.01216	0.09384	-165.7184
		Erkek	0.00052	0.12543	0.00017	0.10143	0.00154	0.15511	-187.8498
	5	Dişi	0.00318	0.06691	0.00125	0.04759	0.00812	0.09407	-165.85787
		Erkek	0.00001	0.23503	1.51x10 ⁻⁶	0.1885	0.00009	0.29306	-169.40285
	6	Dişi	0.00744	0.05117	0.00395	0.03723	0.01402	0.07033	-186.38375
		Erkek	0.0001	0.19029	0.00002	0.15095	0.00051	0.23988	-167.20058
	7	Dişi	0.00259	0.15319	0.001	0.11896	0.00672	0.19726	-154.91358
		Erkek	0.00067	0.21275	0.00016	0.16219	0.00286	0.27907	-115.46594
	8	Dişi	0.00655	0.04833	0.00324	0.03372	0.01325	0.06927	-191.44578
		Erkek	0.00099	0.11599	0.00038	0.09321	0.00261	0.14433	-209.62911
	9	Dişi	0.00174	0.14457	0.00063	0.11267	0.00479	0.18551	-173.35309
		Erkek	0.00631	0.09092	0.00327	0.07012	0.01217	0.1179	-224.20356
	10	Dişi	0.00362	0.16638	0.00147	0.12921	0.0089	0.21424	-152.85567
		Erkek	0.00133	0.18015	0.00052	0.14634	0.0034	0.22177	-225.47185
<i>mI</i>	1	Dişi	0.00061	0.07717	0.00018	0.05835	0.00204	0.10205	-210.92274
		Erkek	0.00355	0.04807	0.00156	0.03395	0.00809	0.06807	-208.17589
	2	Dişi	0.00028	0.08111	0.00008	0.06261	0.00108	0.10507	-195.30575
		Erkek	0.00359	0.04541	0.00145	0.03068	0.00888	0.06721	-169.95053
	3	Dişi	0.00006	0.11918	6.32x10 ⁻⁰⁶	0.08659	0.00058	0.16404	-104.73563
		Erkek	0.00281	0.0506	0.00117	0.03612	0.00679	0.07089	-194.42379

	4	Dişi	0.00131	0.06197	0.00048	0.04603	0.00359	0.08342	-222.97308
		Erkek	0.00647	0.03487	0.00217	0.01817	0.01933	0.06694	-85.78621
	5	Dişi	0.0001	0.10569	0.00002	0.08222	0.00049	0.13585	-154.57186
		Erkek	0.00071	0.058	0.00025	0.04478	0.002	0.07513	-202.22424
	6	Dişi	0.00329	0.06877	0.00148	0.05212	0.00731	0.09075	-178.40449
		Erkek	0.00548	0.03672	0.0022	0.02272	0.01363	0.05933	-112.48595
	7	Dişi	0.00552	0.10393	0.0023	0.07524	0.01323	0.14355	-142.97382
		Erkek	0.003	0.07685	0.00126	0.05731	0.00713	0.10303	-197.44781
	8	Dişi	0.00168	0.05785	0.00064	0.04252	0.00445	0.0787	-201.40515
		Erkek	0.00608	0.04083	0.00271	0.02632	0.01367	0.06336	-159.10017
	9	Dişi	0.00899	0.04497	0.00488	0.0314	0.01656	0.06442	-206.30267
		Erkek	0.00356	0.07055	0.00153	0.05246	0.00829	0.09487	-157.29846
	10	Dişi	0.01074	0.05741	0.00618	0.04284	0.01865	0.07694	-205.02325
		Erkek	0.00105	0.11783	0.00023	0.08287	0.0048	0.16754	-88.55974
<i>m2</i>	1	Dişi	0.00005	0.11123	7.32E-06	0.08459	0.00036	0.14628	-158.54435
		Erkek	0.00019	0.12658	0.00003	0.09488	0.00108	0.16887	-125.63845
	2	Dişi	0.00013	0.10011	0.00003	0.07722	0.00065	0.12979	-169.43425
		Erkek	0.00376	0.05843	0.00161	0.04181	0.00877	0.08168	-191.19843
	3	Dişi	0.00337	0.04866	0.00138	0.03362	0.00822	0.07041	-181.43202
		Erkek	0.00146	0.07356	0.00042	0.05148	0.00506	0.10512	-138.40069
	4	Dişi	0.00748	0.03504	0.0034	0.02109	0.01643	0.05822	-170.26239
		Erkek	0.00244	0.07267	0.001	0.0544	0.00596	0.09709	-196.9326
	5	Dişi	0.00173	0.06044	0.00064	0.04419	0.00469	0.08266	-190.42289
		Erkek	0.00354	0.05399	0.00125	0.03563	0.01005	0.08184	-116.2792
	6	Dişi	0.00129	0.10526	0.00038	0.07764	0.00438	0.14272	-128.95399
		Erkek	0.00346	0.06547	0.00154	0.04871	0.00778	0.08801	-185.62169
	7	Dişi	0.0012	0.1499	0.00034	0.11412	0.00418	0.19691	-100.50757
		Erkek	0.00874	0.08352	0.00187	0.04148	0.04087	0.16818	-37.51808
	8	Dişi	0.00246	0.06167	0.00088	0.0435	0.00685	0.08744	-140.1531
		Erkek	0.00022	0.11381	0.00005	0.08737	0.00101	0.14825	-147.37154
	9	Dişi	0.00971	0.05988	0.00468	0.0403	0.02018	0.08899	-147.4402

		Erkek	0.01021	0.06136	0.00549	0.04349	0.01901	0.08658	-209.98407
	10	Dişi	0.01008	0.13405	0.00446	0.09533	0.02277	0.1885	-141.6428
		Erkek	0.002	0.16099	0.00084	0.12898	0.0048	0.20094	-205.78879
m3	1	Dişi	0.01175	0.02213	0.00642	0.01207	0.0215	0.04057	-219.20982
		Erkek	0.00199	0.04558	0.00062	0.0298	0.00641	0.06971	-142.68895
	2	Dişi	0.00736	0.02761	0.00331	0.01567	0.01637	0.04863	-157.7487
		Erkek	0.00007	0.09338	0.00001	0.07069	0.00045	0.12336	-140.31258
	3	Dişi	0.00804	0.0254	0.00422	0.01541	0.01535	0.04187	-233.01818
		Erkek	0.00071	0.06308	0.00023	0.04724	0.00226	0.08424	-206.65894
	4	Dişi	0.00504	0.03944	0.00238	0.02686	0.01069	0.05791	-197.74369
		Erkek	0.00132	0.0605	0.00052	0.04618	0.00332	0.07926	-243.89768
	5	Dişi	0.01717	0.02035	0.00918	0.00893	0.03214	0.04636	-180.65975
		Erkek	0.00663	0.03322	0.00318	0.02117	0.01381	0.05214	-200.32178
	6	Dişi	0.01132	0.02954	0.00634	0.01827	0.02021	0.04776	-234.42283
		Erkek	0.00426	0.05513	0.00189	0.03919	0.00958	0.07755	-183.03097
	7	Dişi	0.01077	0.0535	0.00548	0.03545	0.02115	0.08075	-182.51237
		Erkek	0.00065	0.13313	0.00017	0.10179	0.00242	0.1741	-136.35069
	8	Dişi	0.01099	0.02362	0.00566	0.01256	0.02136	0.04444	-205.65882
		Erkek	0.01546	0.0173	0.00867	0.00788	0.02756	0.03796	-213.13553
	9	Dişi	0.00568	0.05096	0.00276	0.03622	0.01171	0.0717	-191.19175
		Erkek	0.0008	0.09406	0.00024	0.07179	0.00264	0.12323	-144.08938
	10	Dişi	0.00556	0.0816	0.00284	0.06274	0.01088	0.10612	-192.10053
		Erkek	0.00218	0.1288	0.00086	0.10085	0.0055	0.16449	-161.98236

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: Pınar Güler

Doğum Yeri: Altındağ- Ankara

Medeni Hali: Bekar

E-posta: pinargulerank@gmail.com

Adresi:

Eğitim Bilgileri

Lise: (2002-2006) Denizli Anadolu Lisesi

Lisans: (2006-2011) Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans: (2011-2014) Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Genel Biyoloji Anabilim Dalı

Yabancı Dil Düzeyi

İngilizce: İyi

İş Deneyimi

Deneyim Alanları

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

“Besin kısıtlamasının iki *Drosophila* türünde ömür uzunluğuna etkisinin, insan *Apolipoprotein D* homoloğu olan *GLaz* ve *NLaz* genlerinin besine bağlı ekspresyon profil değişimleriyle araştırılması” (TÜBİTAK – TBAG, Proje No: 212T170)- 28,900 TL

Tezden Üretilmiş Yayınlar

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar