

**GIDA MADDELERİNE KATILAN BAZI SENTETİK
AZO GIDA BOYALARININ *Drosophila melanogaster*'in
OREGON R YABANIL ve VESTIGIAL MUTANT
SOYLARINDA LARVAL MORTALİTE ve
ÖMÜR UZUNLUĞU ÜZERİNE ETKİLERİ**

Sıdıka SEMERDÖKEN

**Yüksek Lisans Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Doç. Dr. Handan UYSAL
2012
Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MADDELERİNE KATILAN BAZI SENTETİK AZO GIDA
BOYALARININ *Drosophila melanogaster*'in OREGON R YABANIL
ve *VESTIGIAL* MUTANT SOYLARINDA LARVAL MORTALİTE ve
ÖMÜR UZUNLUĞU ÜZERİNE ETKİLERİ

Sıdıka SEMERDÖKEN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ERZURUM
2012

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

GIDA MADDELERİNE KATILAN BAZI SENTETİK AZO GIDA BOYALARININ
Drosophila melanogaster'in OREGON R YABANIL ve VESTIGIAL MUTANT
SOYLARINDA LARVAL MORTALİTE ve ÖMÜR UZUNLUĞU ÜZERİNE
ETKİLERİ

Doç. Dr. Handan UYSAL danışmanlığında, Sıdıka SEMERDÖKEN GENÇ tarafından hazırlanan bu çalışma 28/12/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR

İmza :

Üye : Doç. Dr. Handan UYSAL (Danışman)

İmza :

Üye : Doç. Dr. Göksel TOZLU

İmza :

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum

Prof. Dr. İhsan EFEOĞLU
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

GIDA MADDELERİNE KATILAN BAZI SENTETİK AZO GIDA BOYALARININ *Drosophila melanogaster*'in OREGON R YABANIL ve *VESTİGİAL* MUTANT SOYLARINDA LARVAL MORTALİTE VE ÖMÜR UZUNLUĞU ÜZERİNE ETKİLERİ

Sıdıka SEMERDÖKEN

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Handan UYSAL

Bu çalışmada, sentetik gıda boyalarından Tartrazin, Amarant, Sunset Yellow, Ponceu 4R'nin *Drosophila melanogaster*'in Oregon (R) yabanıl ve *Vestigial* mutant soylarına ait 72±4 saatlik larvaları üzerine toksik etkileri araştırılmıştır. Ayrıca gıda boyaları ile kronik beslenmeye bağlı olarak her iki soyun ergin bireylerinde ömür uzunlukları da belirlenmiştir.

Çalışmanın ilk aşamasında kontrol ve uygulama gruplarına ait besiyerlerine aynı yaşlı 100'er larva konulmuş ve larvadan ergine gelişebilen bireyler kaydedilmiştir. Tüm uygulama gruplarında konsantrasyon artışına bağlı olarak larval mortalite oranının hem yabanıl hem de mutant soylarında arttığı gözlenmiştir ($P<0,01$).

Çalışmanın ikinci aşamasında dişi ve erkek popülasyonlarına ait ergin bireylerin maksimum ve ortalama ömür uzunlukları belirlenmiştir. *D. melanogaster*'in hem Oregon R hem de *Vestigial* soylarına ait dişi ve erkek bireylerin hayat tablosu verileri değerlendirildiğinde kontrol grubuna göre tüm uygulama gruplarında hem erkek hem de dişi bireylerin ömür uzunluğunun önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir ($P<0,01$).

Larval mortalite ve ömür uzunluğu deneylerinden elde edilen sonuçlara göre, gıda boyaları için toksisite sıralamasının Tartrazin> Amarant> Sunset Yellow≥ Ponceu 4R şeklinde olduğu belirlenmiştir. Tüm uygulama gruplarında larval mortalite ve ömür uzunluğu bakımından dişi ve erkek bireyler arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P<0,01$).

2012, 90 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Drosophila melanogaster*, gıda boyası, larval mortalite, ömür uzunluğu

ABSTRACT

Master Thesis

THE EFFECTS of SOME SYNTHETIC AZO FOOD DYES on THE LARVAE MORTALITY and LONGEVITY in OREGON R WILD and VESTIGIAL MUTANT of *Drosophila melanogaster*

Sıdıka SEMERDÖKEN

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

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Handan UYSAL

In this study, the toxic effects of synthetic food dyes Tartrazine, Amaranth, Sunset Yellow and Ponceau 4R on the 72 ± 4 hour larvae of *Drosophila melanogaster* Oregon (R) wild and *Vestigial* mutant types have been examined. In addition, the adult longevities for both types have been determined depending on chronic feeding with food dyes.

In the first stage of study, 100 larvae of the same age were placed in the control and application group media and the individuals that could develop from larvae to adult were recorded. It was observed that the mortality ratio increased in both the wild and the mutant types based on the concentration increase in all application groups ($P<0,01$).

In the second stage of study, we were determined the maximum and average longevities of the adult individuals of the female and male populations. When the life tables of both Oregon R and *Vestigial* types of female and male *D. melanogaster* individuals were evaluated, it was determined that the longevities of both male and female individuals in all application groups decreased significantly ($P<0,01$).

According to the results obtained from the larval mortality and longevity experiments, toxicity order has been for food dyes as Tartrazine> Amaranth> Sunset Yellow \geq Ponceau 4R. Significant differences have been determined between the female and male individuals in all application groups regarding the larval mortality and longevities ($P<0,01$).

2012, 90 pages

Keywords: *Drosophila melanogaster*, food dyes, larval mortality, longevity

TEŞEKKÜR

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

Öncelikle çalışmalarında yapıcı eleştirileri ile bana yol gösteren ve yardımlarını hiç esirgemeyen çok değerli hocam, tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Handan UYSAL'a (Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü) en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Ayrıca Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ökkeş ATICI'ya (Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü), gerek çalışmalarında, gerekse tezin yazımında bana yardımcı olan aynı laboratuvarı paylaştığım çok değerli ekip arkadaşlarım Sayın Arş. Gör. Deniz ALTUN ÇOLAK ve Doktora Öğrencisi Arif AYAR'a ve çalışmalarım sırasında her konuda tecrübe ve önerilerinden faydalandığım Biyoloji Bölümü'nün tüm öğretim elemanlarına şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım sırasında destek ve teşviklerini esirgemeyen babam S. Hilmi SEMERDÖKEN ve eşim Adem GENÇ'e teşekkürü borç bilirim.

Sıdıka SEMERDÖKEN

Kasım 2012

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Gıda Katkı Maddeleri	1
1.2. Gıda Boyaları (Renklendiriciler).....	5
1.2.1. Sentetik gıda boyaları	6
1.2.1.a. Azo boyaları	7
1.3. Yaşlanma Teorileri	7
1.3.1. Somatik mutasyon teorisi	8
1.3.2. Serbest radikal teorisi	9
1.3.3. Genetik yaşlanma teorisi.....	11
1.3.4. Hücre yaşlanması teorisi	11
1.3.5. İmmünolojik teori.....	12
1.3.6. Endokrin teori.....	12
1.3.7. Nöroendokrin teori	13
1.3.8. Mutasyon birikimi teorisi	13
1.3.9. Antagonistik pleiotropi teorisi.....	14
1.4. Ömür Uzunluğunu Etkileyen Faktörler	15
1.4.1. İç faktörler	15
1.4.1.a. Anasal yaş	15
1.4.1.b. Yumurta üretimi (Fekundite).....	15
1.4.1.c. Eşeylik	16
1.4.1.d. Genetik yapı	16
1.4.2. Dış (Çevresel) faktörler	17
1.4.2.a. Beslenme	17

1.4.2.b. Radyasyon	17
1.4.2.c. Popülasyon yoğunluğu	18
1.4.2.d. Işık	18
1.4.2.e. Sıcaklık	19
2. KAYNAK ÖZETLERİ	21
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	29
3.1. Kullanılan Organizma	29
3.1.1. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in hayat döngüsü	32
3.1.1.a. Yumurta	32
3.1.1.b. Larva.....	34
3.1.1.c. Pupa	35
3.1.1.d. Ergin	36
3.2. Çalışmamızda Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	37
3.3. Deney Koşulları.....	39
3.3.1. Çevre koşulları	39
3.3.2. Besin ortamının hazırlanması.....	39
3.3.3. Bayıltma yöntemi	40
3.4. Deneylerin Yapılışı.....	40
3.4.1. 3. evre larvaların elde edilmesi ve larvalara gıda boyalarının uygulanması	40
3.4.2. Ömür uzunluğu deneyleri.....	41
3.5. Mikrofotografi	41
3.6. İstatistiksel Yöntemler.....	42
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	43
4.1. Azo Gıda Boyalarının 3. Evre Larvaların Yaşama Yüzdesi (Larval Mortalite) Üzerine Etkileri	43
4.1.1. Azo gıda boyalarının Oregon R yabanıl soyu 3. evre larvaları üzerine etkileri	45
4.1.2. Azo gıda boyalarının <i>Vestigial</i> mutant soyu 3. evre larvaları üzerine etkileri	48
4.2. Azo Gıda Boyalarının Ömür Uzunluğu Üzerine Etkileri.....	52
4.2.1. Azo gıda boyalarının Oregon R yabanıl soyuna ait ergin bireylerinde ömür uzunluğu üzerine etkisi	52

4.2.2. Azo gıda boyalarının <i>Vestigial</i> mutant soyuna ait ergin bireylerinde ömür uzunluğu üzerine etkisi.....	62
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	72
KAYNAKLAR	83
ÖZGEÇMİŞ	91

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

C	Santigrat
cm	Santimetre
cc	Santimetreküp (= mililitre)
dk	Dakika
g	Gram
mg	Miligram
mm	Milimetre
ml	Mililitre
kg	Kilogram
μM	Mikromolar
°	Derece
%	Yüzde değer
♀♀	Dişi
♂♂	Erkek
Σ	Toplam

Kısaltmalar

ADI	Günlük Alınabilecek Miktar
ANOVA	Tek Değişkenli Varyans Analizi
DHEA	Dehidroepiandrosteron
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu
GKM	Gıda Katkı Maddeleri
GSH	Redükte (İndirgenmiş) Glutasyon
Gsh-Px	Glutasyon Peroksidaz
HNMT	Histamin N-metil Transferaz
JECFA	Gıda Katkı Maddeleri Uzmanlar Komitesi

L1	1. Evre Larva
L2	2. Evre Larva
L3	3. Evre Larva
LD ₅₀	Canlının %50'sini Öldüren Doz
LD ₁₀₀	Canlının %100'ünü Öldüren Doz
MDA	Malondialdehit
NO	Nitrit Oksit
S.H.	Standart Hata
SDB	Standart <i>Drosophila</i> Besiyeri
SOD	Süperoksit Dismutaz
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
W.t.	Wild type = Yabanıl tip
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. <i>D. melanogaster</i> 'in Oregon R soyu (yabanıl tip) erkek ve dişi bireyleri	29
Şekil 3.2. <i>D. melanogaster</i> 'in <i>Vestigial</i> mutant soyu erkek ve dişi bireyleri	30
Şekil 3.3. <i>D. melanogaster</i> 'de hayat döngüsü	33
Şekil 3.4. <i>D. melanogaster</i> 'de besiyerine bırakılan yumurtaların toplu halde görünüşü	34
Şekil 3.5. <i>D. melanogaster</i> 'de 1., 2. ve 3. evre larvaların mikroskopik görünüşü	35
Şekil 3.6. <i>D. melanogaster</i> 'de pupa gelişimi	36
Şekil 3.7. <i>D. melanogaster</i> 'in erkek bireylerinde bulunan eşey tarağı (metatarsal tarak)	37
Şekil 3.8. Ponceu 4R gıda boyasının kimyasal formülü	37
Şekil 3.9. Sunset Yellow gıda boyasının kimyasal formülü	38
Şekil 3.10. Amarant gıda boyasının kimyasal formülü	38
Şekil 3.11. Tartrazin gıda boyasının kimyasal formülü	38
Şekil 4.1. Gıda boyası içeren besi yeri ile beslenen ergin bireylerde gözlenen çeşitli malformasyonlar	44
Şekil 4.2. <i>D. melanogaster</i> 'in Oregon R yabanıl soyuna ait F ₁ neslinin 3. evre larvalarında mortalite oranlarının karşılaştırılması	48
Şekil 4.3. <i>D. melanogaster</i> 'in <i>Vestigial</i> mutant soyuna ait F ₁ neslinin 3. evre larvalarında mortalite oranlarının karşılaştırılması	51
Şekil 4.4. <i>D. melanogaster</i> 'in Oregon R yabanıl soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Ponceu 4R uygulamasına ait hayatta kalış eğrileri	58
Şekil 4.5. <i>D. melanogaster</i> 'in Oregon R yabanıl soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Sunset Yellow uygulamasına ait hayatta kalış eğrileri	59
Şekil 4.6. <i>D. melanogaster</i> 'in Oregon R yabanıl soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Amarant uygulamasına ait hayatta kalış eğrileri ...	60
Şekil 4.7. <i>D. melanogaster</i> 'in Oregon R yabanıl soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Tartrazin uygulamasına ait hayatta kalış eğrileri ..	61

Şekil 4.8. <i>D. melanogaster</i> 'in <i>Vestigial</i> mutant soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Ponceu 4R uygulamasına ait hayatta kalış eğrileri	68
Şekil 4.9. <i>D. melanogaster</i> 'in <i>Vestigial</i> mutant soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Sunset Yellow uygulamasına ait hayatta kalış eğrileri	69
Şekil 4.10. <i>D. melanogaster</i> 'in <i>Vestigial</i> mutant soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Amaranat uygulamasına ait hayatta kalış eğrileri .	70
Şekil 4.11. <i>D. melanogaster</i> 'in <i>Vestigial</i> mutant soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Tartrazin uygulamasına ait hayatta kalış eğrileri	71

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Çalışmada kullanılan gıda boyalarına ait ADI değerleri.	4
Çizelge 3.1. <i>D. melanogaster</i> 'in sistematığı.....	32
Çizelge 4.1. Farklı konsantrasyonlarda gıda boyası ile beslenen <i>D. melanogaster</i> 'in Oregon R yabanıl soyu 3. evre larvalarında gözlenen larval mortalite oranları.....	46
Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyonlarda gıda boyası ile beslenen <i>D. melanogaster</i> 'in <i>Vestigial</i> mutant soyu 3. evre larvalarında gözlenen larval mortalite oranları.....	49
Çizelge 4.3. <i>D. melanogaster</i> 'in Oregon R yabanıl soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunlukları ve gruplar arası önem kontrolleri.....	54
Çizelge 4.4. <i>D. melanogaster</i> 'in <i>Vestigial</i> mutant soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunlukları ve gruplar arası önem kontrolleri.....	64

1. GİRİŞ

1.1. Gıda Katkı Maddeleri

Günümüzde tüketiciye sunulan gıdaların içeriğinde doğal olarak KH, protein, yağ ve vitamin gibi organik bileşikler ile çeşitli kimyasal maddeler bulunmaktadır. Bu kimyasal maddeler gıda işleme sırasında gıdaya istenilerek katılmakta veya istenilmeden bulaşmaktadır.

Gıdalarda kimyasal madde kullanımı ile ilgili tarihsel gelişmeler incelendiğinde, M.Ö. 3000 yıllarında et ürünlerini saklamada tuzdan yararlanıldığı, M.Ö. 900 yıllarında ise odun tütsüsünün kullanıldığı bilgisine rastlanılmaktadır. Ortaçağda tuz ve tütsünün yanı sıra etin rengini olumlu yönde değiştirmek ve botulizmi önlemek amacıyla nitratın da kullanıldığı bilinmektedir (Altuğ 2001). M.Ö. 50 yıllarında baharatlardan lezzet verici olarak yararlanılmıştır. Gıda boyaları ise günümüzden yaklaşık 3500 yıl kadar önce ilk kez Mısırlılar tarafından renklendirme amacıyla kullanılmıştır. İlk sentetik boya 1856'da Sir William Henry Perkins tarafından siyah anilinden elde edilmiştir (Crosby 1981; Newsome 1986). 19. Yüzyıldan itibaren endüstrileşme ile birlikte gıda katkı maddelerinin kullanımında da artış başlamıştır. Bu yüzyılda gıdalara katılmaya başlayan benzoik asit, sodyum, karbonat, sakarin gibi maddeler günümüzde de gıda katkısı olarak kullanılmaktadır. 20. yüzyılda gıda üretiminin artması ile gıda katkı maddelerinin kullanımında da önemli artışlar gözlenmiştir. Örneğin; işlenmiş peynir yapımında sitratlar, fosfatlar gibi emülsifiye edici tuzlar kullanılmış, emülgatör katılımı ile margarin yapımı giderek kolaylaşmış, gıdaların kalitesini geliştirmek amacıyla lezzet verici maddelerden ve lezzet artırıcılardan yararlanılmaya başlanılmıştır (Erdoğan 2008).

Tarihsel süreç içerisinde katkı maddeleri her zaman yararlı amaçlar için kullanılmamıştır. Bu nedenle söz konusu dönemlerde katkıların zararlı veya ucuz dolgu maddeleri olarak kullanılmalarını önlemek amacıyla yasalar çıkarılmıştır. Özellikle

gıdalara boya katılımının oldukça karışık bir geçmişi bulunmakta olup, civa, arsenik ve kurşun bileşikleri gibi toksik etkili maddelerin gıdaları boyamada kullanıldıkları rapor edilmektedir. Sütü korumak amacıyla formaldehitin, eti korumak amacıyla boraksın kullanımı, una beyaz renkte tozların katılımı gibi örnekler katkı maddelerinin gıdalarda uygulamaları konusunda yasal düzenlemeler yapılmasını zorunlu kılmıştır (Erdoğan 2008).

Yukarıda verilen bilgilerin ışığında gıda katkı maddelerinin (GKM) tarihsel gelişimlerinin iki etki ile şekillendiği anlaşılmaktadır. Bunlardan birincisi gelişen teknoloji paralelinde gıda saklama yöntemlerinin geliştirilmesine duyulan gereksinimdir. İkinci etki ise tüketici gözünde gıdanın mevcut kalitesinin daha iyi algılanmasını sağlamaktır. Bu etkilerden ilki günümüzde gelişen uluslararası ticaret göz önüne alındığı zaman gıda katkı maddelerinin teknolojinin vazgeçilmez bir parçası olmalarının nedenini açıklamaktadır. İkinci etki ise daha farklı bir anlayışla ele alınmış olup katkı maddelerinin gıdaların teknolojik karakterlerini geliştirmek amacıyla kullanılmalarını sağlamıştır. Bu amaçlar doğrultusunda gıda katkı maddelerinin dünyadaki pazarı 1900'lü yıllarda 10 milyar dolara ulaşmış olup 21. yüzyılda bu pazarın daha da büyümesi beklenmektedir (Altuğ 2001).

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'ne göre, gıda katkı maddeleri; "tek başına gıda olarak tüketilmeyen veya gıda ham veya yardımcı maddesi olarak kullanılmayan, tek başına besleyici değeri olan veya olmayan; seçilen teknoloji gereği kullanılan işlem veya imalat sırasında kalıntı veya türevleri mamul maddede bulunabilen, gıdanın üretilmesi, tasnifi, işlenmesi, hazırlanması, ambalajlanması, taşınması, depolanması sırasında gıda maddesinin tat, koku, görünüş, yapı ve diğer niteliklerini korumak, düzeltmek veya istenmeyen değişikliklere engel olmak ve düzeltmek amacıyla kullanılan maddeler" olarak tanımlanmaktadır (Anonim 2002).

Yirminci yüzyılın başlarında, o zamana kadar her hangi bir kurala bağlı olmadan kullanılan gıda katkı maddeleri ve gıda boyaları üzerinde tartışmalar başlamış ve ilk önce ABD'de 1920 yılından itibaren belirli kurallar konmuştur. Bugün ise dünyada, tüm

lkeler için referans teŖkil edebilecek araŖtırmaların çoğu Amerikan Gıda ve İlaç Yönetimi (Food & Drug Administration) ile Dünya Sağlık rgt'nün (World Health Organization=WHO) bir yan kuruluŖu olan Uluslararası Kanser AraŖtırma Merkezi (International Agency for Research on Cancer) tarafından organize edilmektedir (Erdoğan 2008). Ayrıca, WHO ile BirleŖmiŖ Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu'nun (Food & Agricultural Organization of the United Nations=FAO) birlikte oluŖturdukları gıda katkı maddeleri uzmanlar komitesi (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives=JECFA) bu alanda; özellikle gıda katkı maddelerinin toksikolojik yönden araŖtırmalarını gerekleŖtirmekte ve sonuçları yayınlamaktadır (Larsson and Nilsson 1987). Bu komiteler bilimsel veriler doğrultusunda hazırlanmıŖ oldukları gıda mevzuatlarında, hangi katkı maddesinin hangi gıdaya, hangi amaçla ve ne kadar katılacağını belirlemiŖlerdir. Ayrıca, bu mevzuatta her bir katkı maddesi için "günlük alınabilecek miktarlar" (Acceptable Daily Intake=ADI)' da verilmektedir (Erdoğan 2008).

Katkı maddelerinin ADI değerleri toksikolojik testlerle saptanabilmektedir. Bu alıŖmalarda kimya, biyokimya, hematoloji, bakteriyoloji gibi eŖitli disiplinler görev almaktadır. Deney hayvanlarına öldürücü dozda (Letal doz = LD₅₀: deney hayvanlarının %50'sinin ölümüne neden olan doz) katkı maddesi verilmektedir. Daha sonra doz tedrici olarak azaltılarak doz-cevap iliŖkisi araŖtırılmaktadır. Her dozda; katkı maddesinin emilimi, metabolizması ve atımı incelenmektedir. Sonraki aŖamada ise, deney hayvanlarının hücre, doku ve organları incelenerek, gıda katkı maddelerinin karsinogenik, mutajenik, teratojenik ve alerjik etkileri araŖtırılmaktadır (Gürcan 1993; Renwiek 1995). Bu tip deneyler insanlar üzerinde etik nedenlerden dolayı yapılamayacağından, güvenlik faktörü kullanılmaktadır (Uesugi *et al.* 2006). Güvenlik faktörü genellikle 100'dr. Yani, deney hayvanında hiçbir etki göstermeyen dozun 1/100'i insan için kabul edilir. Böylece günlük alınabilecek miktar (ADI), insanın vücut ağırlığı baŖına mg olarak belirlenir (Gürcan 1993; Renwiek 1995). alıŖmada kullanılan gıda boyalarına ait ADI değerleri izelge 1.1'de verilmiŖtir.

Çizelge 1.1. Çalışmada kullanılan gıda boyalarına ait ADI değerleri (Renwiek 1995).

Ponceu 4R	0-4 mg / kg vücut ağırlığı/gün
Sunset Yellow	0-2,5 mg/kg vücut ağırlığı/gün
Amarant	0-0,5 mg/kg vücut ağırlığı/gün
Tartrazin	0-7,5 mg/kg vücut ağırlığı/gün

Hem pratik olmaları hem de daha dikkat çekici görünmeleri nedeniyle çok fazla düşünmeden tükettiğimiz hazır yiyecekler, doğal besinlerden hızla uzaklaşmamıza neden olmuştur (Çalışır ve Çalışkan 2003). Beslenme alışkanlıklarının değişmesi, besin hazırlamak için daha az zaman ayrılması gibi nedenler yarıhazır veya ticari olarak neredeyse tamamen hazır olan besin üretimini teşvik etmiş, bu da GKM'nin kullanımını kaçınılmaz kılmıştır (Sarıkaya ve Solak 2003). Yapılan araştırmalar sonucunda, GKM ile hazırlanan besinlerin vücuda gerekli olan vitamin ve mineral gibi çeşitli besin öğelerini yetersiz miktarda içerdikleri ve beslenme ile ilgili olarak başta kardiyovasküler hastalıklar, alerjik astım ve ürtiker gibi çeşitli hastalıkların gelişmesine eğilim yarattıkları tespit edilmiştir (Batu ve Molla 2008). Bu katkı maddelerinin değişik dozlarda tüketilmesi ile psikolojik rahatsızlıklardan kansere kadar varan geniş bir hastalık spektrumunun oluştuğu da belirtilmektedir (Richard and Lipton 2000; Vincent and Behbehani 2001). Bu gibi nedenlerden dolayı Avrupa Topluluğunun direktifleri ile maden suları, süt, un, ekmek, şeker, salça gibi bazı ürünlere gıda katkı maddelerinin katılmasını yasaklamıştır. Ayrıca, gıda katkı maddelerinin bebek ve çocuklar için hazırlanmış yiyeceklerde kullanılmaması da önerilmektedir (Thorley 1984). İngiltere'de özellikle et, balık, kümes hayvanları, meyve, sebze, çay, kahve, süt, bal gibi işleminden geçirilmemiş veya çiğ yiyeceklere herhangi bir gıda boyası eklenmesi de yasaklanmıştır (Coulter 1993).

Gıdalarda kullanılmasına izin verilen ve gıda katkı maddelerinin bir grubunu oluşturan gıda boya maddelerinin sayısı ve çeşidi ülkelere göre değişmektedir. Örneğin İskandinav ülkelerinden Norveç 1978'de, İsveç ise 1980'de her türlü sentetik boyanın gıda maddelerine katılımını tamamen yasaklarken, Avusturya, 8'i sentetik olmak üzere

toplam 27 boyaya müsaade etmektedir (Karaali ve Özçelik 1993; Ekşi 1996; Yaman 1996). Ülkemizde de gıdaların boyanmasında kullanımına izin verilen boya maddeleri ve miktarları Sağlık Bakanlığı tarafından belirlenmektedir. Bu amaçla gıda katkı maddeleri yönetmeliği hazırlanmıştır. Türkiye’de Sağlık Bakanlığı’na oluşturulmuş Gıda Katkıları Teknik Komisyonu, Kodeks Alimentarius Komisyonu raporları, AB mevzuatı ve çeşitli ulusal gıda yasalarını değerlendirmiştir. Böylece 1988 yılında Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği hazırlanmış ve son olarak da 25 Ağustos 2002 tarih, 24857 numaralı Resmi Gazete’de revize edilerek Tarım ve Köy işleri Bakanlığı’na yayınlanan Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği (Tebliğ No: 2002/55) ile Türkiye’de gıdalara katılıma müsaade edilecek boyalar hükme bağlanmıştır. Ülkemizde yürürlükte olan, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı’nın 2002 yılında yayımladığı “Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği” ile bu maddelerin gıdalarda kullanım miktarları belirtilmiştir (Anonim 2002; Anonim 2003).

AB ortak mevzuatında gıda katkı maddeleri renklendiriciler, tatlandırıcılar ve diğer katkı maddeleri olmak üzere 3 ana başlıkta gruplandırılmıştır.

1.2. Gıda Boyaları (Renklendiriciler)

Tüketiciye cazip hale getirmek amacıyla gıdaların üretimi ve depolanması sırasında gıdaların kaybolan doğal rengini yeniden kazandırmak, zayıf olan doğal rengini kuvvetlendirmek ya da gerçekte renksiz olan gıdalara renk vermek için kullanılan gıda boyaları, gıda katkı maddeleri içerisinde önemli bir grubu oluşturmaktadır (Amin *et al.* 2010). Gıda boyaları, doğal kaynaklardan ve sentetik olarak elde edilenler şeklinde ikiye ayrılmaktadır (Sowbhagya *et al.* 2005).

1.2.1. Sentetik gıda boyaları

Sentetik boyalar potansiyel olarak daha toksik olduğundan kullanımları resmi kurumlarca sınırlandırılmıştır (Ekşi 1996). Ancak, sentetik gıda boyalarının doğal kaynaklardan elde edilen boyalara göre birçok avantajı da bulunmaktadır. Bunlar;

- Sentetik boyalar, ısı işlemlere dayanıklı olmaları, iyi çözünmeleri, kuvvetli renk vermeleri ayrıca parlak ve geniş renk tonlarına sahip olmaları nedeni ile üreticiler tarafından tercih edilmektedirler (Crosby 1981; Demirağ ve Altuğ 1990; Sadecka and Polonsky 2000). Bununla birlikte, sentetik boyaların stabilitesi ısı, ışık, asit, tuz, koruyucular ve pH gibi birçok faktör etkilenebilmektedir (Thakur and Arya 1993).
- Üretim masrafları göz önüne alındığı zaman sentetik boyalar doğal boyalara göre daha ucuzdur (Özcan ve Akgül 1995).
- Sentetik boyaların en önemli avantajlarından birisi doğal gıda boyalarının bileşimleri, kullanılan bitki türü, coğrafi özellikler ve mevsimlere göre değişiklik gösterir. Bu nedenle doğal boya üretimi yapılırken, her defasında aynı ton standardını elde etmek mümkün değildir. Diğer taraftan, doğal boyaların, renk katma özellikleri de sentetik olanlara göre daha düşüktür (Taylor and Clydesdale 1986; Keskin 1999).

Bu avantajlardan dolayı sentetik boyalar üreticilerin sıklıkla tercih ettiği katkı maddeleridir.

Sentetik gıda boyaları azo, trifenilmetan, floresein ve sülfonatlı indigo boyaları olarak dört gruba ayrılır.

1.2.1.a. Azo boyaları

Azo boyalarının önemli özelliği iki yada daha fazla aromatik halkayı birleştiren ve meydana gelen konjuge sistemin bir parçasını oluşturan kromoforazo grubudur (-N=N). Azo boyaları diazolaştırılan aromatik aminin başka bir amin fenol yada naftolle birleşmesinden elde edilmektedir. Bunlardan en az bir sülfü grubu içerenlere asidik azo boyar maddeleri, bazik amin veya dialkil amin grubu içerenlere ise bazik azo boyar maddeleri denilmektedir. Amino azo-benzen (anilin sarısı) ilk keşfedilen bazik ve β naftol oranj ise ilk keşfedilen asidik azo boyar maddeleridir (Noonan *et al.* 1980).

Yapılan literatür taramalarına göre, daha önce yapılan çalışmalarda hem sentetik hem de doğal gıda boyalarının çeşitli organizmalar üzerinde toksik etkiler yaptığı bildirilmektedir (Chung 1983; Mekkawy *et al.* 1998; Ito 2000; Gao *et al.* 2011). Bu tip toksik etkilerin ömür uzunluğunu kısaltıcı etki yaparak yaşlanmaya sebep olabileceği kuvvetle muhtemeldir.

1.3. Yaşlanma Teorileri

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

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

genom ile çevrenin etkileşimi de bu süreçte önemli bir rol oynamaktadır (Demirsoy ve Bozcuk 1997).

Gerontologlar, yaşlanmanın bir bireyde olup olmadığını deneysel olarak göstermek amacıyla bir ilke benimsemişlerdir (Bozcuk 1981). Buna göre, yaşlanmayı gösterebilmek için bir canlının içinde bulunduğu popülasyonla hayat tablosu yapılmaktadır. Eğer hayat tablosuna göre çizilen hayatta kalış eğrisi dikdörtgensel ise, yani “ölüm oranı” denilen “belirli bir süre içinde ölen birey sayısının, o sürenin başlangıcındaki birey sayısına oranı”, kronolojik zamana bağlı olarak artıyorsa o popülasyon yaşlanmaktadır (Pearl *et al.* 1927; Maynard-Smith 1958). Hayat tablosu, canlıda yer alan tüm yaşlanma olay ve süreçlerinin kaba bir ölçüsü ve yansımasıdır. Hayat tablosunun şekli, verilen bir popülasyonda hayatta kalış süresinin, yani ömür uzunluğunu etkileyen genetik yapı ve çevrenin ortak bir ifadesidir (Maynard-Smith 1966).

Yaşlanmayla ilgili ileri sürülen tüm görüşler deneysel olarak test edilip yanlışlık ve doğrulukları belirli ölçülerde kanıtlanmış ve zamanla bir kısmı ayıklanmıştır. Çağdaş tıp, insanı daha uzun süre ve daha sağlıklı yaşatmanın yanıtını ararken yaşlanmayla ilgili teoriler üretmekte, koruyucu ve sağlığı geliştirici hizmetlere önem vermektedir. Yaşlanmaya özgü değişikliklerle ilgili moleküler düzeyden organ sistemleri fonksiyonlarına kadar birçok teori üretilmiştir. Bugün bilim çevrelerinde benimsenen başlıca yaşlanma teorilerine somatik mutasyon teorisi, serbest radikal teorisi, genetik yaşlanma teorisi, hücresel yaşlanma teorisi, immünolojik teori, endokrin teori, nöroendokrin teori, antagonistik pleiotropi teorisi ve mutasyon birikimi teorisi örnek verilmektedir (Ayar 2008).

1.3.1. Somatik mutasyon teorisi

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

1.3.2. Serbest radikal teorisi

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

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijen, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalleridir. Normal fizyolojik konsantrasyonlarda hücresel aktivite gösteren reaktif oksijen türevleri yüksek konsantrasyonlarda oksidatif strese yol açarak toksik olabilmektedir. Bunun sonucunda da genetik ve metabolik bozukluklara, nörodejeneratif bozukluklara, kardiyovasküler hastalıklara, otoimmün hastalıklara, enfeksiyöz hastalıklara, alerjik patolojilere ve kansere yol açarak yaşlanma sürecini hızlandırmaktadır (Harman 1981; Ames *et al.* 1993; Droge 2002).

Nitrik oksit (NO), serbest radikal özelliğine sahip bir moleküldür. Diğer radikal türlerle kıyaslandığında nitrik oksidin reaktivitesi oldukça düşüktür. Bunun sebebi paylaşılmamış elektronun azot ve oksijen atomları üzerinde lokalize olmamış bir şekilde bulunmasıdır. Nitrik oksit paylaşılmamış elektron taşıyan yüksüz bir molekül olması bakımından önemlidir. Çünkü yüksüz olduğu için membranlardan kolayca geçebilir ve hızla reaksiyona girebilir. Nitrik oksit büyük bir ilgi ile organik yapılarıdaki metal merkezlere bağlanır. Nitrik oksidin biyolojik moleküllerle en önemli tepkimeleri, kendiliğinden oksidasyonu sırasında oluşan reaktif nitrojen türleri aracılığı ile gerçekleşir (Kılınç ve Kılınç 2003).

Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikallerden etkilenirler. Fakat bu biyomoleküller arasında en hassas olanları lipitlerdir. Membranlardaki kolesterol ve yağ

asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerini oluştururlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipit peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerlemektedir. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür (Alem 2007).

Serbest oksijen radikallerinin yanı sıra başta nitrit oksit olmak üzere reaktif nitrojen türleri, hücrelerin lipit, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederek hücrelerin yapı ve işlevlerini bozmaktadırlar. Lipit peroksidasyonun en önemli ürünü malondialdehit (MDA)'tir. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur (Kılınç ve Kılınç 2003).

Serbest radikal yaratan kaynaklar arasında radyasyon, virüsler, güneş ışınlarının bir kısmı olan ultraviyole ışınları, hava kirliliği yaratan fosil kökenli yakıtların yanma sonundaki ürünleri, sigara dumanı, enfeksiyon, stres, yağ metabolizması sonunda ortaya çıkan ürünler gibi hücre metabolizmasının toksik ürünleri, bazı tahrip edici kimyasallar, haşere kontrol ilaçları sayılabilir (Kılınç ve Kılınç 2003).

Serbest radikaller ve reaktif karakterli maddeler ile bu maddeleri üreten tüm faktörler “oksidan” veya “prooksidan” olarak tanımlanmaktadır. “Antioksidan savunma sistemleri” veya kısaca “antioksidanlar” ise reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önleyici savunma mekanizmalardır. Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve redükte (= indirgenmiş) glutatyon (GSH) gibi antioksidanların bazıları vücut tarafından üretilmekte, bazıları da (A, C, E vitaminleri gibi) besinlerle dışarıdan alınmaktadır (Kılınç ve Kılınç 2003).

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

İlerleyen yaşla birlikte biriken serbest radikallerin, yaşlanma süreci üzerine büyük bir etkisi olduğu birçok çalışma ile desteklenmiştir (Setsini *et al.* 1991; Orr and Sohal 1992; Fıfşkın *et al.* 1994; Jordens *et al.* 1999; Zou *et al.* 2000). Ancak, yaşlanmada serbest radikallerin etkisinin yaşlanma için tek faktör olmadığı da bilinmektedir.

1.3.3. Genetik yaşlanma teorisi

Kişilerin yaşam süresini soy, cins ve ırktan gelen DNA programlarına dayandıran bir teoridir. Bu teoriyi savunan bilim adamları, yaşlanmanın nedeninin genetik şifremizde yazılı olduğunu, yani bizim ne zaman yaşlanacağımızın belli olduğunu ileri sürmektedirler. Bu bilim adamlarına göre, erken dönemdeki büyüme ve gelişmenin bir program izlemesi gibi, olgunluk, yaşlanma ve ölüm de bir program izlemektedir (Jazwinski 1996).

1.3.4. Hücre yaşlanması teorisi

Bu teoriye göre, hücre çoğalmasını kontrol eden genler klonal yaşlanmanın sebeplerindedir. Kromozom uçlarında bulunan telomer bölgesindeki DNA kayıpları hücre yaşlanmasının bir nedenidir. Yaşla birlikte gelişen telomer kısalma fenomeni, hücrelerin büyüme potansiyelleri için kurulu bir saat gibi çalışmaktadır. Yaşla birlikte telomerlerin boyu, özellikle lenfositlerde kısalırken, kök hücrelerde bir değişiklik olmamaktadır (Hemann *et al.* 2001).

1.3.5. İmmünolojik teori

Bu teoriye göre, yaşlanmanın nedeni, yaş ile birlikte bazı hormonların düzeyindeki azalma ya da bağışıklık sistemindeki zayıflamadır. Bu teorinin esası, T- lenfositlerin kalite ve miktarca zayıflamasına dayanmaktadır. Bu azalma timüs bezinin işlevlerindeki azalmayla (bozulmayla) ilgilidir. Hücresel bağışıklık için çok önemli bir görevi olan timüs bezinin ergenlikten sonra fonksiyonlarında önemli oranda azalma olması, yaşlanmada timüs bezinin önemli bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Yaşlanma ile birlikte, vücudumuzun hastalıklarla savaşan bağışıklık sisteminin fonksiyonları azalmakta, virüs, bakteri ya da diğer hastalık yapıcı etkenlere giriş yolu açılmaktadır. Ayrıca, yaşlanma ile beraber vücut kendi dokuları ile yabancı maddeler arasındaki farkı tanıma yeteneğini kaybetmeye başlar. Bu nedenle, immün sistem, eskiden istila eden organizma ile savaşırken, yaşlanmayla birlikte kendi vücuduna saldırıp hastalık oluşturmaktadır (Walford 1980).

1.3.6. Endokrin teori

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

1.3.7. Nöroendokrin teori

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

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

1.3.8. Mutasyon birikimi teorisi

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

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

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

1.3.9. Antagonistik pleiotropi teorisi

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

Yukarıda açıklanan teorilerin hiç birisi, tek başına yaşlanmayı açıklamak için yeterli değildir. Tüm bu teorilerin yanında, yaşlanmayı ve ömür uzunluğunu etkileyecek başka faktörler de mevcuttur. Ömür uzunluğunu etkileyen bu faktörler Lints and Lints (1971) tarafından iç (anasal yaş, yumurta üretimi, eşey ve genetik yapı) ve dış (sıcaklık, beslenme, popülasyon yoğunluğu, ışık, nem ve radyasyon) faktörler olmak üzere, iki sınıfa ayrılarak incelenmiştir.

1.4. Ömür Uzunluğunu Etkileyen Faktörler

1.4.1. İç faktörler

1.4.1.a. Anasal yaş

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

1.4.1.b. Yumurta üretimi (Fekundite)

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

1.4.1.c. Eşeylik

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

1.4.1.d. Genetik yapı

Bir organizmanın ergin ömür uzunluğu, onun sahip olduğu genetik etmenler ve organizmayı çeviren çevresel etkenlerin etkileşimiyle belirlenmektedir. Çevre şartları kontrol edildiği zaman, yaşayabilme için gerekli optimum koşullar organizmanın hayatı boyunca sürdürülür. Bu durumda, organizmanın değişik soylarında görülen ergin ömür uzunluğundaki çok belirgin farklar genetik etkenlere bağlanabilir (Bozcuk 1981). *D. melanogaster*'de ömür uzunluğuna gen kombinasyonlarının ve spesifik mutant genlerin etkisinin olduğunu ilk olarak Gonzales (1923) ortaya koymuştur. Bu çalışmada, beş mutant genin bir arada bulunduğu bireylerin, bu genlerin ayrı ayrı bulunduğu bireylerden daha kısa ömür uzunluğuna sahip oldukları gözlenmiştir. Öte yandan, melez genotipin ömür uzunluğunun denetiminde çok etkili olduğu ve melezlerin arı döl ebeveynlerden daha uzun yaşadıkları belirlenmiştir (Pearl *et al.* 1923). Diğer bir araştırma sonucunda, *D. melanogaster*'in birinci ve ikinci kuşak dölllerinde, melezlerin kendileşmiş arı döl bireylerden daha uzun yaşadıkları ve aynı zamanda ekstrem sıcaklık koşullarına daha dayanıklı oldukları ortaya konulmuştur (Woodhams and Hollingsworth 1971).

1.4.2. Dış (Çevresel) faktörler

1.4.2.a. Beslenme

Böceklerde besin çeşidi ömür uzunluğu üzerine oldukça etkilidir. Örneğin, besin ortamına şeker kaynağı olarak sukroz yerine galaktoz konulan *Drosophila*'ların ömür uzunluklarının istatistiksel olarak anlamlı derecede kısaldığı bulunmuştur (Jordens *et al.* 1999). Başka bir çalışmada, pantotenik asit'in *Drosophila*'ların ömür uzunluğunu arttırdığı gözlemlenmiştir (Strehler 1962). Sadece sukroz+agar'la beslenen *Drosophila subobscura* popülasyonunun standart ortamda beslenenlerden yaklaşık %50 daha kısa ortalama ömür uzunluğuna sahip oldukları bulunmuştur (Bozcuk 1981). Bir liken türü olan *Usnea longissima* likeninin su ekstresinin (Ule) *D. melanogaster* popülasyonlarına ait ömür uzunluğu üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışma sonucunda, düşük konsantrasyonda Ule ile beslenen bireylerin ömür uzunluğunda artış, yüksek konsantrasyonda Ule ile beslenen bireylerin ömür uzunluğunda ise azalma gözlemlenmiştir (Altun 2007). Başka bir liken türü ile yapılan çalışmada ise *Lobaria pulmonaria* likeninin metanol, kloroform ve su ekstraktlarının *D. melanogaster*'in ömür uzunluğu üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda, tüm ekstraktların konsantrasyon artışına paralel olarak ömür uzunluğunu artırdığı, ancak metanol ekstresinin diğerlerine göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Uysal vd 2008).

1.4.2.b. Radyasyon

Böcekler radyasyona oldukça dayanıklı canlılardır. Örneğin, ergin *Drosophila*'nın iyonize radyasyona duyarlılığı oldukça azdır (Bozcuk 1981). Fakat yapılan bazı çalışmalarda, yüksek dozdaki radyasyonun somatik mutasyon birikimine neden olarak ömür uzunluğunu kısalttığı, düşük dozdaki radyasyonun ise ömrü uzatıcı etkisinin olduğu gözlemlenmiştir. Ömür uzunluğundaki bu artış, muhtemelen bazı enfeksiyonların radyasyon etkisiyle azalması ve/veya sineğin çevresel direncinin artması sonucudur (Ashburner and Wright 1978). Diğer bir çalışmada ise mikrodalga frekansındaki elektromanyetik radyasyonun *D. melanogaster*'in bazı mutant soylarında

ömür uzunluğuna etkisi araştırılmış ve sonuçta özellikle üçlü mutantların dişilerinde ömür uzunluğunda azalma, erkeklerinde ise ömür uzunluğunda artış tespit edilmiştir (Dalgıç vd 2002).

1.4.2.c. Popülasyon yoğunluğu

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

1.4.2.d. Işık

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

1.4.2.e. Sıcaklık

Böcekler soğukkanlı (poikilothermal) canlılar olduklarından, çevresel sıcaklıktaki yükselme, onların metabolik aktivitesini, solunum hızını ve serbest radikal oluşumunu artırarak hücresel hasara ve ömür uzunluğunda azalmaya neden olmaktadır. Yani, yaşamaya izin veren sıcaklık sınırları içerisinde sıcaklık arttıkça ısı üretimi ve oksijen harcanması artmakta, buna karşılık ömür uzunluğu kısalmaktadır (Setsini *et al.* 1991).

Yapılan çalışmalarda gıda boyalarının tüketiminin artmasıyla birlikte bu maddelerin çeşitli hastalıklarla olan ilişkisi de önem kazanmıştır (Sarıkaya vd 2010). Fare, sıçan ve bakteri gibi deney hayvanları üzerinde yapılan toksisite çalışmaları ve epidemiyolojik kanıtlar, belirli şartlar altında boyaların karsinojenik olabileceğini göstermektedir (Poula *et al.* 2009; Erkmen 2010). Ayrıca gıda renklendiricilerinin aşırı duyarlılık, astım, deri döküntüleri, migren, erken doğum, aspirin duyarlılığı ve kanserleşmeye yol açtığı da belirtilmektedir (Mamur vd 2008; Maier *et al.* 2010).

Günlük hayatımızda kullandığımız sayısız gıda maddesi içerisinde bulunan Tartrazin, Sunset Yellow, Ponceu 4R gibi sentetik gıda boyalarının kullanım miktarları tüketici sağlığı açısından büyük önem taşımakla beraber bu boyaların bilinçsizce kullanımı insanlarda başta astım olmak üzere çeşitli alerjik reaksiyonlara neden olmaktadır (Sasaki and Kawaguchi 2002). Gıda renklendiricilerinin alerjik, mutajenik hatta kanserojenik etkilerinin olabileceği birçok araştırmacı tarafından ortaya konulmuştur (Sasaki and Kawaguchi 2002; Maier *et al.* 2010). Gıda boyalarından Eritrosin'in düşük dozda etkisinin araştırıldığı çeşitli çalışmalarda, Eritrosinin atopik hastalıklara (Uysal ve Aral 1998), tümör oluşturarak kansere (Borzelleca and Hallagan 1987; Sasaki *et al.* 2002) ve gastrointestinal organlarda DNA hasarına neden olduğu ortaya konulmuştur (Mekkawy *et al.* 1998). Yine Amarant, Allura Red, Sunset Yellow gibi gıda boyaları laboratuvar hayvanlarında test edilmiş ve kanserojen oldukları ve ayrıca kısa süreli testler kullanılarak genotoksik oldukları da bildirilmiştir (Combes and Haveland 1982).

Hindistan'da yapılan bir araştırmaya göre Tartrazin içeren ilaçların 2210 hastanın %13,2'sinde alerjik reaksiyona neden olduğu gözlenmiştir (Bhatia 2000). Karmin ve Annatto gibi doğal boyaların da bu tip etkilerinin olduğu daha önceki araştırmacılar tarafından belirlenmiştir (Quirce *et al.* 1994). Yine Sunset Yellow, Ponceu 4R ve Karmoisin gibi boyaların alerjik reaksiyonlara sebep olduğu özellikle Ponceu 4R ile renklendirilmiş meyveli yoğurtla beslenen bir kız çocuğunun ağız ve dudaklarında granülomatöz lezyonlarının oluştuğu grlmştir (Veien and Krogdahl 1991). An *et al.* (2007) tarafından yapılan bir çalışmada Sudan I azo gıda boyasının yüksek konsantrasyonda (100 μ M) DNA hasarına sebep olduğu bulunmuştur.

Bazı gıda boyalarının, çocuklarda hiperaktiviteye sebep olduğu ya da hiperaktiviteyi arttırdığı iddia edilmektedir. 1970'lerin sonunda yapılan çalışmalarda, çoğunlukla azo boyalarının hiperaktivite etkisinin bulunduğu özellikle Azo boyalarının benzoik asit ile birlikte kullanılması ile bu maddeleri içeren gıdaları tüketen çocuklarda güçlü bir hiperaktivite oluşturduğu Chung *et al.* (1978) tarafından belirlenmiştir

Yaşlanma, sürekli devam eden biyolojik bir süreçtir. Yaşlanma ve ömür uzunluğunun saptanmasında, hangi temel yasa ve mekanizmaların işlediğinin anlaşılması, yaşlılıkla ilgili problemlerin çözümüne yardımcı olabilir. Bu nedenle, yaşlanma ve ömür uzunluğunu etkileyen stres faktörlerini araştırmak, bu noktada oldukça önem kazanmaktadır. Bu stres faktörlerinden birisi olan beslenme alışkanlığı, günümüzde etkileri giderek daha iyi anlaşılan gıda katkı maddeleri ile daha fazla önem kazanmıştır. Tüm dünyada çeşitli gıdalara eklenen GKM'nin uzun süre kullanılması sonucunda canlılar üzerine etkisini belirlemek için birçok araştırma yapılmaktadır. Çeşitli kaynaklarda GKM ve gıda boyaları ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Ancak, gıda boyalarının *D. melanogaster* zerine etkisi ile ilgili çalışma oldukça azdır. Bu amaçla, alışmamızda *D. melanogaster*'in Oregon R yabanıl soyu ile *Vestigial* mutant soyları kullanılarak, azo gıda boyalarının larval mortalite ve ergin bireylerin ömür uzunluğu üzerine etkileri karşılaştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bu bölümde kaynak özetleri, ömür uzunluğu ve gıda katkı maddelerinden gıda boyaları ile ilgili olarak yapılan çalışmalar olmak üzere iki kısım halinde kronolojik sırayla verilmiştir.

Pearl *et al.* (1923) tarafından yapılan bir çalışmaya göre, *Drosophila melanogaster*'de melez genotipin ömür uzunluğunun denetiminde çok etkili olduğu ve melezlerin arı döl ebeveynlerden daha uzun yaşadıkları gözlenmiştir.

Yine, *D. melanogaster*'de ömür uzunluğu üzerine farklı gen kombinasyonlarının ve spesifik mutant genlerin etkisi ilk olarak Gonzales (1923) tarafından ortaya konulmuştur.

Gowen and Johanson (1946)'a göre, *D. melanogaster*'de yüksek yumurta verimi olan ve sürekli çiftleşen dişiler bakire (virjin) dişilerden daha kısa ömürlüdürler.

Anasal yaşın yavru dölün ömür uzunluğunda önemli bir etken olduğu ilk kez Rotiferlerden *Philodina citrina* türü ile yapılan bir çalışma ile belirlenmiştir (Lansing 1952).

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

Miller and Thomas (1958)'a göre de metamorfoz süresince larval büyümenin geciktirilmesiyle ergin bireylerin ömür uzunluğu artırılabilir.

D. melanogaster'de preimeginal evrenin uzamasına bağlı olarak, yavru bireylerin pupadan çıkış süresinin normal süreden daha geç ve pupadan çıkan erginlerin daha

küçük olduğu ancak bu bireylerin normal büyüklükteki erginlere göre daha uzun yaşadıkları gözlenmiştir (Lints 1963).

D. melanogaster'in birinci ve ikinci kuşak ergin bireylerinde, melezlerin homozigot bireylerden daha uzun yaşadıkları ve aynı zamanda ekstrem sıcaklık şartlarına daha dayanıklı oldukları ortaya konulmuştur (Woodhams and Hollingsworth 1971).

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

Sürekli karanlık ortamda yaşatılan *D. melanogaster*'in erkek bireylerinde %20, dişi bireylerinde ise %43'e varan ömür uzunluğu artışı gözlenmiştir (Allemand *et al.* 1973).

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

Standart *Drosophila* Besiyerinin içeriği değiştirilerek yalnızca sukroz+agarla beslenen *D. subobscura* popülasyonunun standart besiyeri ile beslenenlere göre yaklaşık %50 daha kısa ömür uzunluğuna sahip olduğu, Bozcuk (1981) tarafından gösterilmiştir.

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

Setsini *et al.* (1991)'e göre, yüksek sıcaklık metabolik aktiviteyi ve bu bağlamda solunum hızını ve serbest radikal oluşumunu artırarak hücrel hasara ve ömür uzunluğunda azalmaya neden olmaktadır.

Fred and Timothy (1997), *Drosophila* popülasyonu ile yaptıkları çalışmada, besin ortamında metabolik artıkların olmaması halinde ömür uzunluğunun arttığını tespit etmişlerdir.

Besin ortamına şeker kaynağı olarak sukroz yerine galaktoz konulduğu zaman, *Drosophila*'da ömür uzunluğu istatistiksel olarak anlamlı derecede kısalmaktadır. (Jordens *et al.* 1999).

Oksidatif stres genetik ve metabolik bozukluklara, nörodejeneratif bozukluklara, kardiyovasküler hastalıklara, otoimmün hastalıklara, enfeksiyöz hastalıklara, alerjik patolojilere ve kansere yol açarak yaşlanma sürecini hızlandırmaktadır (Droge 2002).

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

Novoseltsev *et al.* (2003)'e göre, *D. melanogaster*'e ait dişi bireylerde erken çiftleşme ve erken yumurtlama ömür uzunluğunu azaltmaktadır.

Bir liken türü olan *Usnea longissima*'ya ait su ekstresinin (Ule) *D. melanogaster* popülasyonlarına ait ömür uzunluğu üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışma sonucunda, düşük konsantrasyonda Ule ile beslenen bireylerin ömür uzunluğunda artış, yüksek konsantrasyonda Ule ile beslenen bireylerin ömür uzunluğunda ise azalma gözlenmiştir (Altun 2007).

Uysal ve Semerdöken (2011)'e göre, kronik beslenmeye bağlı olarak sentetik gıda boyaları, *D. melanogaster*'in ergin bireylerinde ömür uzunluğunu sınırlandırıcı bir dış faktördür. Kontrol grubunda ortalama ömür uzunluğu $58\pm 0,18$ gün iken farklı konsantrasyonlarda gıda boyaları ortalama ömür uzunluğunu $1\pm 0,04$ - $7\pm 0,11$ güne kadar düşürmüştür.

Fareler üzerinde yapılan teratojenik bir çalışmada, gebe farelere gebeliğin ilk gününden itibaren 7 gün boyunca Ponceu 4R gıda boyası içeren besi yeri verilmiş ve gebeliğinin 8. gününden sonra %12,7 oranında fetal ölüm tespit edilmiştir (Larson 1975).

Kısa süreli test teknikleri kullanılarak, Amarant, Allura Red ve Sunset Yellow gibi gıda boyalarının laboratuvar hayvanlarında genotoksik ve kanserojen oldukları Combes ve Haveland (1982) tarafından belirlenmiştir.

Bu boyalardan özellikle Sunset Yellow ve Tartrazin'in gıdalarda kullanımıyla birlikte kolon kanseri riskinin arttığı da Chung (1983) tarafından bildirilmiştir.

İlk sentetik boya 1856'da Sir William Henry Perkins tarafından siyah anilinden elde edilmiştir (Newsome 1986).

Gıda boyalarından Tartrazin'in genotoksik etkileri, *Drosophila*'da somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile araştırılmış ve %0,03-0,06'lık uygulamaların mutajeniteyi ve rekombinojeniteyi uyardığı gözlenmiştir (Niraj *et al.* 1989).

Japonya'da gıda sektöründe yaygın olarak kullanılan Benzil Violet 4B isimli gıda boyası ile kronik olarak beslenen ratlarda büyümenin önemli ölçüde gerilediği görülmüştür. Ayrıca bu boya ile beslenen dişi ratlarda meme kanseri gözlenirken kontrol gruplarında kanser vakasına rastlanmamıştır (Sudhic and Khanna 1991).

Agarwal *et al.* (1993a) tarafından yapılan bir çalışmada, Black PN ve Kinolin Yellow'un hem insan lenfosit hücrelerinde hem de *Vicia faba* kök meristem hücrelerinde mutajenik ve klastojenik olduğu gösterilmiştir.

Yine, Agarwal *et al.* (1993b) tarafından yapılan bir başka çalışmada, Ponceu 4R boyasının farelerin kemik iliği hücrelerinde kromozomal anormallikler meydana getirdiği tespit edilmiştir.

Karmin ve Annatto gibi doğal boyaların alerjik etkileri Quirce *et al.* (1994) tarafından belirlenmiştir.

Rhodamin ve Amaran'tın *D. melanogaster* üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, Rhodamin'in hem somatik hem de üreme hücrelerinde genotoksik olduğu ancak Amaran'tın böyle bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir (Tripathy *et al.* 1995).

Sentetik boyalar doğal boyalara göre potansiyel olarak daha toksik olduğundan kullanımları resmi kurumlarca sınırlandırılmıştır (Ekşi 1996) ve farklı gıda komisyonları tarafından hazırlanan gıda mevzuatlarına göre, gıda boyalarının günlük alınabilecek miktarları deney hayvanları üzerinde toksikolojik yönden değerlendirilerek gıda ile ilgili endüstriyel alanlarda kullanımına izin verilmiştir.

Uysal ve Aral (1998)'a göre, gıda boyalarından Eritrosin düşük dozlarda kullanılsa bile, atopik hastalıklara (alerjik kökenli hastalıklara) neden olmaktadır.

Eritrosin gibi bir çeşit gıda boyası olan Tartrazin, ilaç sanayinde bazı ilaçların renklendirilmesinde kullanılmaktadır. Hindistan'da yapılan bir araştırmada, Tartrazin içeren ilaçların 2210 hastanın %13,2'sinde alerjik reaksiyona neden olduğu gözlenmiştir (Bhatia 2000).

Bazı araştırmacılar tarafından belirtildiğine göre, değişen konsantrasyonlarda gıda katkı maddesinin tüketilmesi ile psikolojik rahatsızlıklardan kansere kadar varan geniş bir hastalık spektrumu oluşmaktadır (Richard and Lipton 2000; Vincent and Behbehani 2001).

Oral yolla Amarant ve Allura Red gibi kırmızı gıda boyları ile beslenen gebe dişi ve erkek farelerde DNA hasarının uyarıldığı gösterilmiştir (Tsuda *et al.* 2001).

Sasaki *et al.* (2002) gıda boylarından Eritrosin'in tümör oluşturarak kansere yol açabileceğini vurgulamıştır.

Tartrazin, Sunset Yellow ve Ponceu 4R gibi sentetik gıda boylarının bilinçsizce kullanımı insanlarda başta astım olmak üzere çeşitli alerjik reaksiyonlara neden olabilmektedir (Sasaki and Kawaguchi 2002).

Günümüzde günlük yaşama bağlı olarak hem pratik olmaları hem de daha dikkat çekici görünmeleri nedeniyle çok fazla düşünmeden tükettiğimiz hazır yiyecekler, doğal besinlerden hızla uzaklaşmamıza neden olmuştur (alışır ve alışkan 2003). Bu da her gün diyetle birlikte daha fazla katkı maddesi / gıda boyası alımına yol açmaktadır.

An *et al.* (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, Sudan I azo gıda boyasının yüksek konsantrasyonda (100 μ M) DNA hasarına sebep olduğu bulunmuştur.

Gıda boyları, doğal kaynaklardan ve sentetik olarak elde edilenler şeklinde ikiye ayrılmaktadır (Sowbhagya *et al.* 2005). Sentetik olanların üretim maliyetinin düşük olmasına karşılık daha toksik olmaları özellikle gıda sanayinde doğal boyların kullanımını gerekli kılmaktadır.

Mittal *et al.* (2007)'e göre, yüksek dozlarda Amarant ve Sunset Yellow gibi boylar farelerde karaciğer ve iskelet anomalilerine sebep olmaktadır.

Tartrazin gastrointestinal mikroflorada metabolize edildikten sonra aromatik amin gruplarına dönüştürülmektedir (Moutinho *et al.* 2007).

Ratlar üzerinde yapılan bir başka çalışmada, 10 ay boyunca içme sularına ilave edilen Tartrazin'in lenfosit ve eozinofil sayısını artırdığı tespit edilmiştir (Moutinho *et al.* 2007).

Çeşitli gıda katkı maddelerinin başta kardiyovasküler hastalıklar, alerjik astım ve ürtiker gibi hastalıkların gelişmesine eğilim yarattıkları, Batu ve Molla (2008) tarafından tespit edilmiştir

Masannat *et al.* (2009)'e göre, Metilen Blue, Patent Blue ve İndigo Karmin gibi gıda boya ları insan meme epitel hücrelerinde DNA hasarına sebep olmaktadır.

Mpountoukas *et al.* (2010) Amarant, Eritrosin ve Tartrazin'in *in vitro* ortamda insan periferik kan hücrelerindeki genotoksik, sitotoksik ve sitostatik (hücre gelişiminin büyüme ve özellikle bölünmenin G1 ve S fazında durdurulması) potansiyelini araştırmışlar ve bu boya ların insan lenfosit hücrelerinde toksik etkiye neden olduğu, kardeş kromatit değişimini kontrol grubuna göre 1,7 kez artırdığı ve doğrudan DNA'ya bağlanma etkisi gösterdiği tespit edilmiştir.

Shimada *et al.* (2010) tarafından yapılan bir çalışmada, 10 mg kg⁻¹ Amarant azo gıda boyasının uygulanmasından üç saat sonra fare kolonunda DNA hasarı olduğu gözlenmiştir.

Gıda boya larına bağlı olarak çocuklarda görülen hiperaktivitenin nedenlerini belirlemek için yapılan bir araştırmada, gıda boya larının histamin-N-metil transferaz (HNMT) enzimini inhibe ettiği buna bağlı olarak beyine geçen histaminin ve onun miktarındaki artışın hiperaktiviteyi artırdığı bildirilmektedir (Stevenson *et al.* 2010).

Gao *et al.* (2011) farelerde Tartrazin'in katalaz, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) miktarlarını azalttığını buna karşılık beyin dokusunda metabolik bir ürün olan malondialdehit (MDA) seviyesini artırdığını, bu artışın da beyin hücrelerinde membran yapısının bozulmasına yol açtığını tespit etmişlerdir.

Sarıkaya *et al.* (2012), *D. melanogaster*'de Amarant, Patent Blue, Karminik Asit, İndigotin ve Eritrosin gibi gıda boyalarının genotoksik etkisini somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile araştırmışlardır. Elde edilen bulgulara göre, Karminik Asit ve İndigotin gıda boyalarının genotoksik olmadığı ancak Eritrosin'in genotoksik olduğu sonucuna varılmıştır.

Farklı konsantrasyonlarda sentetik gıda boyalarından Black PN, Brilliant Blue, Pea Green, Ponceu 4R ve Kinolin Yellow ile kronik olarak beslenen *D. melanogaster*'in Oregon R yabanıl soyuna ait 3.evre larvalarında gıda boyası konsantrasyonu artışına bağlı olarak larval toksisitenin uyarıldığı gözlenmiştir. Ergine dönüşebilme oranı kontrol grubunda %98 iken gıda boyalarında bu değer yalnızca %5-25 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca uygulama gruplarında larval toksisiteye bağlı olarak malformlu birey sayısının da arttığı gözlenmiştir (Uysal ve Semerdöken 2011).

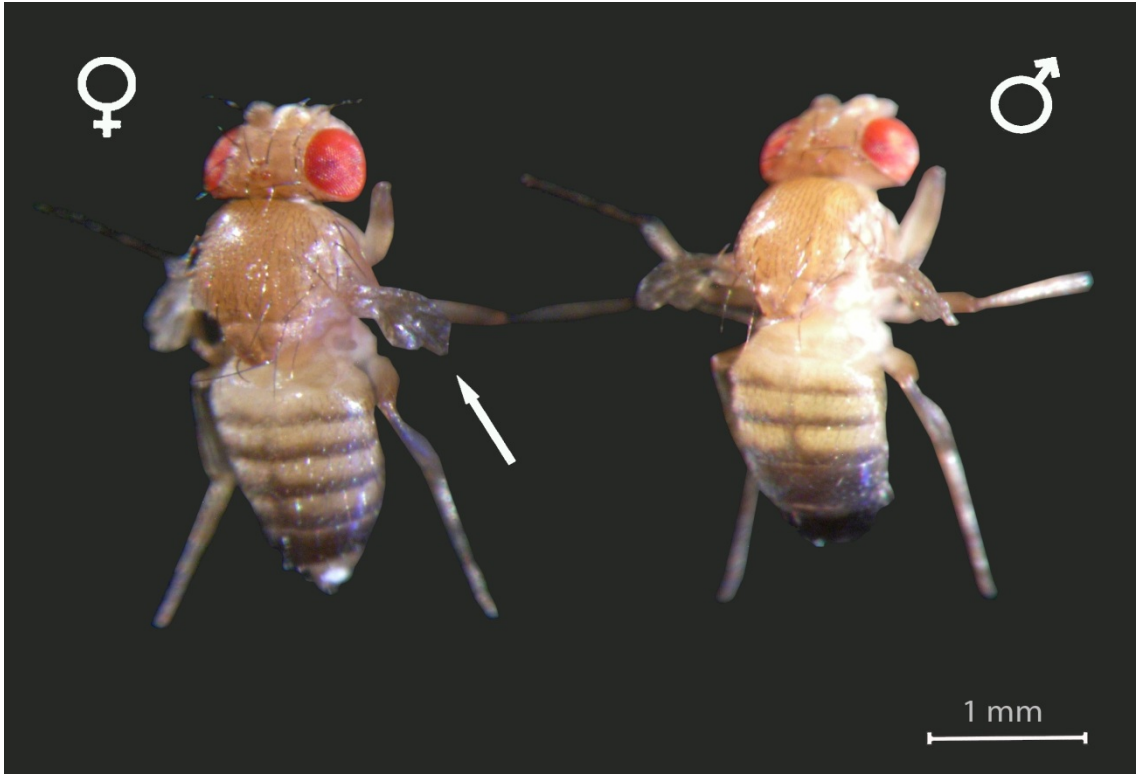
3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Organizma

Bu çalışmada, *Drosophila melanogaster*'in (Diptera: Drosophilidae) Oregon R yabanıl ve *Vestigial* mutant türü kullanılmıştır. Bu soylar Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Genetik Araştırma Laboratuvarı'nda 1988 yılından bu yana ileri derecede kendileştirilerek yaşatılmaktadır. *D. melanogaster*'in Oregon R soyu normal, yuvarlak-kırmızı gözlü ve herhangi bir mutant karakter taşımayan yabanıl tip (w.t.= wild type) soydur (Şekil 3.1). *Vestigial* mutanı ise yuvarlak-kırmızı gözlüdür ancak kanatları ve denge organları körelmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.1. *D. melanogaster*'in Oregon R soyu (yabanıl tip) erkek ve dişi bireyleri



Şekil 3.2. *D. melanogaster*'in *Vestigial* mutant soyu erkek ve dişi bireyleri

Drosophila'da bütün böceklerde olduğu gibi vücut baş (kaput), göğüs (toraks) ve karın (abdomen) olmak üzere, üç kısma ayrılmaktadır. Baş ve göğüs kısmında büyük sert kıllar (makroseta) ve ufak yumuşak kıllar (mikroseta) bulunmaktadır. Kılların her iki çeşidi de duyu organı olarak görev yapmaktadır. Sayı ve şekilleri kalıtsal olarak değişebilir. Başın iki yanında birer bileşik göz (petek göz) ve alın kısmında (frons) da üç basit göz (ocel), başın ön ventralinde ağız parçaları ve 1 çift arista tipi anten bulunmaktadır. Göğüs bölgesinde bulunan üç segmentten her birinde bir çift bacak, ikinci göğüs segmentinde bir çift kanat ve 3. göğüs segmentinde de bir çift halter organı yer almaktadır.

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

1. Genetik denemelerde kullanılan organizmalarda, belirgin bazı farklılıklar (varyasyonlar) görülmelidir. *Drosophila* çok çeşitli doğal ya da yapay varyasyonların gözlenebildiği bir organizmadır. Bu varyasyonları taşıyan mutant bireylerde göz rengi, göz şekli, kıl tipi, vücut rengi, kanat şekli açısından farklı fenotipik özellikleri görebilmek mümkündür. Bu tip zıt karakterleri çıplak gözle ya da binoküler mikroskop altında incelemek oldukça kolaydır.

2. *Drosophila*'nın hayat devri çok kısadır. Yumurtadan çıktıktan sonra yaklaşık 9-10 günde erginleşir ve yeniden üremeye başlar.

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

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

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

6. *Drosophila*'nın diğer bir avantajı, mitotik kromozomlardan kolayca ayırt edilebilen ve özellikle larvaların tükrük bezi hücrelerinde görülebilen dev kromozomları (politen

kromozom) taşınmasıdır. Bu kromozomlar, sitogenetik olarak kromozom haritaları ve kromozom fonksiyon analizlerinin yapılmasını sağlar.

7. *Drosophila*'lar özel düzenekler kullanılarak eterle kolayca bayıltıldıklarından, üzerlerinde çeşitli incelemeler yapılabilmektedir (Uysal vd 2006) .

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

3.1.1. *Drosophila melanogaster*'in hayat döngüsü

D. melanogaster tam başkalaşım (holometabol) gösteren bir türdür. Hayvanlar alemindeki yeri Çizelge 3.1'de verilmiştir. Gelişim evreleri yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere dört evreden oluşmaktadır (Şekil 3.3).

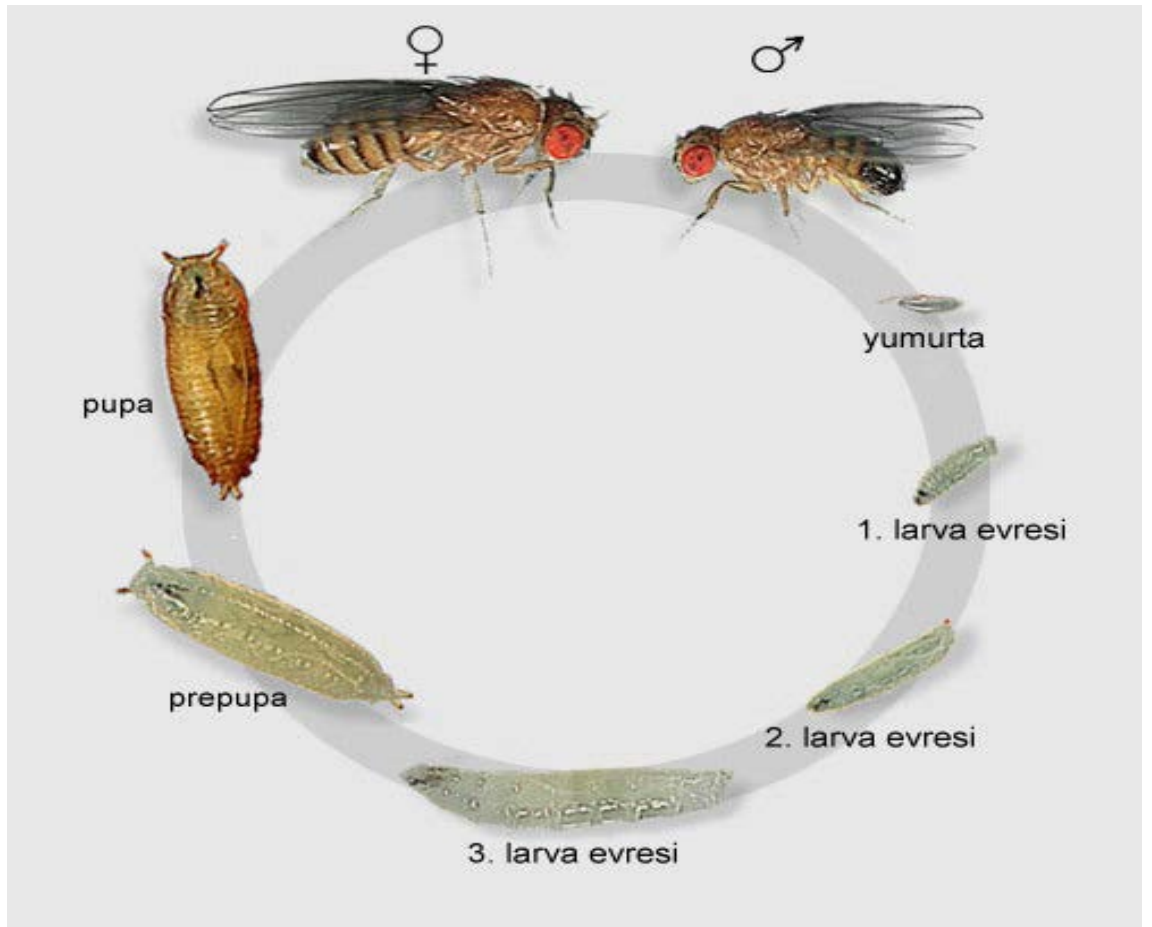
Çizelge 3.1. *D. melanogaster*'in sistematigi

Alem	Animalia (Hayvanlar alemi)
Şube	Arthropoda (Eklem bacaklılar)
Sınıf	Insecta (Böcekler)
Takım	Diptera (Çift kanatlılar)
Familya	Drosophilidae (Sirke sineğigiller)
Cins	<i>Drosophila</i> (Sirke sineği)
Tür	<i>Drosophila melanogaster</i> (Sirke sineği)

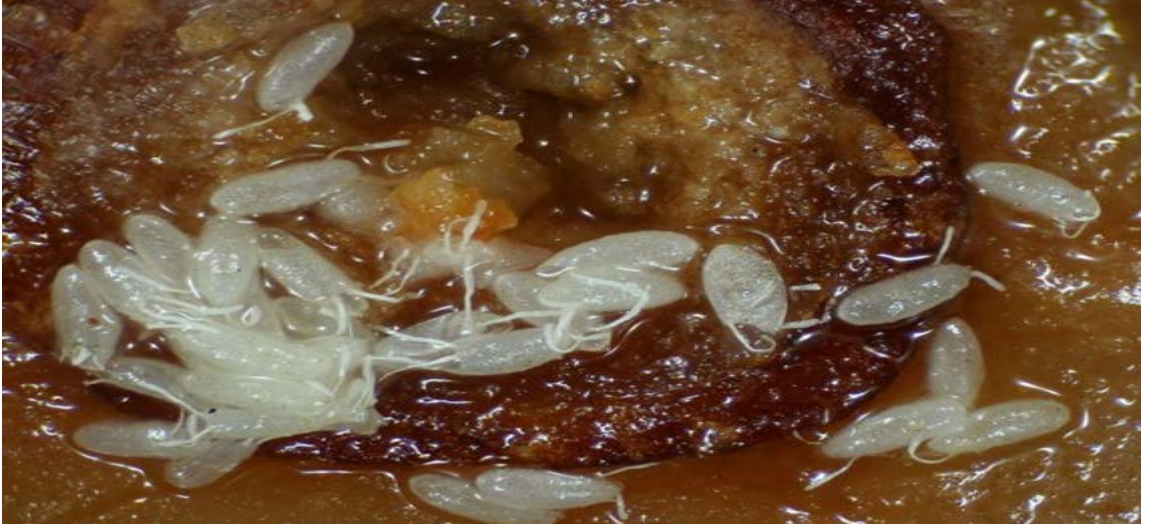
3.1.1.a. Yumurta

D. melanogaster yumurtaları, ventral yüzü yuvarlak, dorsal yüzü ise daha düzdür ve yaklaşık 0,5 mm boyunda, 0,2 mm eninde oval şekillidir. Dorsal bölgenin ön ucunda yumurtaların ıslak besiyerine batmasını engelleyen ve yaşamsal öneme sahip oksijenin

alınmasından sorumlu iki adet koryon uzantısı olan filament bulunur. Koryonun içinde, yumurtaya süt beyazı görüntüsünü veren ışık yansımaya neden olan hava ile dolu süngerimsi bir tabaka vardır. Döllenen yumurtalar, çiftleşmeden hemen sonra bırakılır (Şekil 3.4). *D. melanogaster*'de yumurtalar $25\pm^{\circ}\text{C}$ 'de 22-24 saat içinde açılır ve 1.evre larva çıkar (Ashburner 1989).



Şekil 3.3. *D. melanogaster*'de hayat döngüsü (Anonim 2012a)



Şekil 3.4. *D. melanogaster*'de besiyerine bırakılan yumurtaların toplu halde görünüşü (Anonim 2012b)

3.1.1.b. Larva

Larvalar, yumurtadan yaklaşık 22-24 saat sonra çıkar ve hemen beslenmeye başlar. Larva; 1 baş, 3 toraks ve 8 abdomen olmak üzere 12 segmentlidir. Larvaların vücut duvarı oldukça yumuşak ve esnektir. Vücut duvarı, dışta ince bir ekzokutikula ve kalın bir endokutikula, içte ise bir epidermis tabakasından oluşur. Larval gelişim sırasında kütikül tabakası iki kez atılarak yenisi ile değiştirilir. Gömlek değiştirme olarak bilinen bu olay larval yaşamı üç evreye ayırır. İki gömlek değiştirme arasındaki dönem bir evre (instar) olarak adlandırılır. Larva gelişiminde L1 (1. evre), L2 (2. evre) ve L3 (3. evre) olmak üzere üç dönem vardır. Birinci evre 1 gün, 2. evre 1 gün, 3. evre ise 2 gün sürer. Birinci evre larva besiyeri yüzeyinde beslenir ve ancak ikinci evre larva olduktan sonra besiyerinin içine girmeye başlar. Larvalar besiyeri içinde tüneller kazarak beslenirler. *D. melanogaster* larvaları, normal gelişimleri boyunca, ağırlıklarının yaklaşık 3-5 katı kadar beslenir. Larvaların pupa evresine geçebilmeleri için belirli bir ağırlığa (eşik ağırlık) ulaşmaları gerekmektedir. Larvalar beslenmelerini tamamlayıp yaklaşık 0,3 mg'lık eşik ağırlığa ulaştıklarında besiyerini terk eder ve pupa evresi için kuru bir yere genellikle kültür şişesinin duvarına geçer (Şekil 3.5) (Ashburner 1989).



Şekil 3.5. *D. melanogaster*'de 1., 2. ve 3. evre larvalarının mikroskopik görünüşü

3.1.1.c. Pupa

Besiyerini terk ederek kültür şişesinin duvarına tırmanan larvalar, ağız kısımları aşağıya doğru gelecek şekilde yerleşerek pupalaşmaya başlar (prepupa). Ergin çıkana kadar hareketsiz hayvanı çevreleyen sertleşmiş kütikülden oluşan larval örtüye “puparium” denir. Puparium oluşumu, larval gelişimin son birkaç saatinde meydana gelen ektisteroit hormon miktarındaki artış ile başlar. Puparium ilk oluştuğunda yumuşak ve beyazdır. Yaklaşık iki saat sonra sarıya, sonra da kahverengine dönüşür. Kahverengileşme sürerken puparium sertleşir. Pupalaşma, puparium oluşumundan yaklaşık 12 saat sonra meydana gelir. Ergin bireye ait metamorfoz evresi pupa içinde tamamlanır (Ashburner 1989) (Şekil 3.6).

Larval doku ve organlar parçalanır, tükrük bezleri, yağ doku, bağırsak ve kaslar tamamen ayrışır. Beyin ve malpigi tüplerinde ayrışma olmaz fakat yapısal olarak değişikliğe uğrarlar. Farklılaşmamış hücre grupları (histoblastlar) ve imajinal disklerden ergin vücut yapıları oluşur (Ashburner 1989).

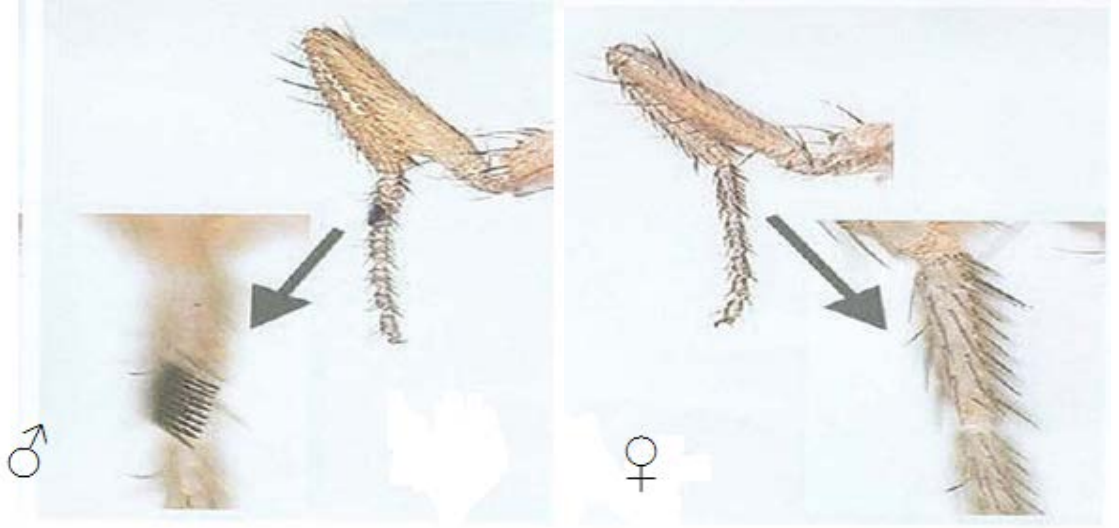


Şekil 3.6. *D. melanogaster*'de pupa gelişimi

3.1.1.d. Ergin

Pupadan ergin çıkması için yaklaşık 4-5 gün gereklidir. Pupadan yeni çıkmış erginlerin kanatları açılmamıştır, uzun, ince ve kısmen pigmentless vücutları vardır. Kanatların açılması pupadan çıktıktan sonra bir saat içinde, pigmentasyon ise 2-3 saat içinde gerçekleşir. *D. melanogaster*'in dişileri pupadan çıktıklarında eşeyssel olgunluğa erişmemiştir, 5-6 saat sonra eşeyssel olgunluğa erişir ve çiftleşme yeteneğini kazanır (Ashburner 1989). Ergin dişi ve erkekler abdomen şekli, eşey tarağı, ve renk gibi morfolojik farklılıklara sahiptir. Dişi bireylerde abdomenin ucu uzun ve sivri, erkeklerde daha kısa ve yuvarlaktır. Ayrıca, dişilerin yaşlanmasıyla birlikte abdomenleri yumurtalarla dolar ve buna bağlı olarak genişler. Yabanıl tipler ve birçok mutant bireylerde abdomen segmentlerinde bulunan koyu renkli çizgiler, erkek ve dişilerin ayırımında kullanılan önemli bir kriterdir. Erkek bireylerde abdomenin son segmentleri siyahtır. Dişide ise açık ve koyu çizgiler, abdomenin uç kısmına kadar devam eder. Dişinin abdomeninde 7, erkeğin abdomeninde ise 5 tane görülebilir segment mevcuttur. Erkeklerde, birinci çift bacağın birinci tarsus segmenti üzerinde 25 siyah ve kalın kıl

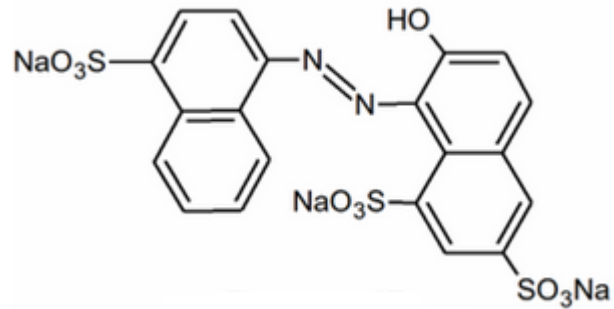
demetinden oluşan eşey tarağı (metatarsal tarak) bulunur (Şekil 3.7). Bu yapı, çiftleşme sırasında erkeğin dişiye kavraması için gereklidir ve dişilerde bulunmaz (Ashburner 1989).



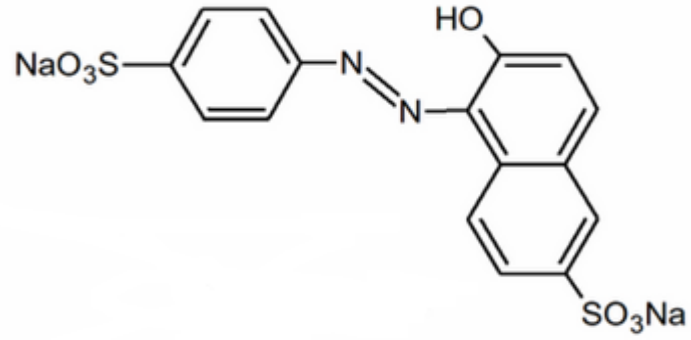
Şekil 3.7. *D. melanogaster*'in erkek bireylerinde bulunan eşey tarağı (metatarsal tarak)

3.2. Çalışmamızda Kullanılan Kimyasal Maddeler

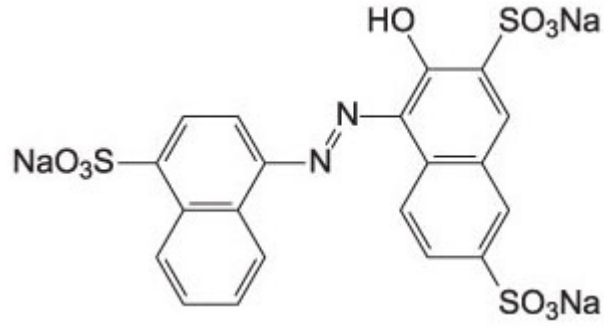
Besi yerinin hazırlanmasında kullanılan kimyasal maddeler Agar agar ve propiyonik asit Merck firmasından, dietil eter Fluka firmasından, gıda boyları (Ponceu 4R, Sunset Yellow, Amarant ve Tartrazin) ise Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. Bu boylara ait kimyasal formüller aşağıda verilmiştir (Şekil 3.8-3.11).



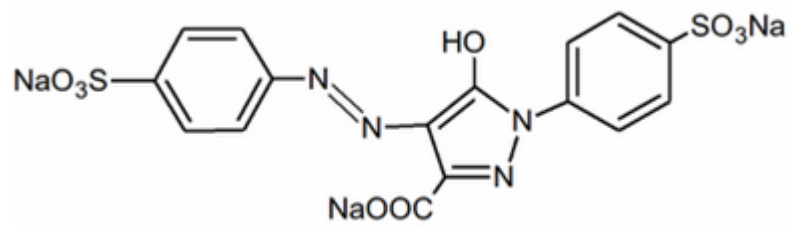
Şekil 3.8. Ponceu 4R gıda boyasının kimyasal formülü



Şekil 3.9. Sunset Yellow gıda boyasının kimyasal formülü



Şekil 3.10. Amarant gıda boyasının kimyasal formülü



Şekil 3.11. Tartrazin gıda boyasının kimyasal formülü

3.3. Deney Koşulları

3.3.1. Çevre koşulları

Drosophila stok kültürleri, %40-60 bağıl nem, $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ile sürekli karanlık koşullarını taşıyan ısıtmalı-soğutmalı sıcaklık kabinlerinde, Standart *Drosophila* besi yeri (SDB) içeren şişelerde yaşatılmaktadır. Kültür şişeleri 250 ml'lik süt şişeleri olup dip kısmından 2-3 cm yüksekliğe kadar besin maddesi içermektedir. Stokların yenilenmesi, taze hazırlanmış besin içeren şişelerin her birine $10\text{♀}\text{♀} \times 10\text{♂}\text{♂}$ birey çaprazlaması yapılarak sağlanmıştır. Stokların yenilenme işlemi, ortalama her 15 günde bir tekrarlanmıştır. Sinekler sadece taze besin ortamına aktarılmaları sırasında gün ışığına çıkarılmıştır.

3.3.2. Besin ortamının hazırlanması

Laboratuvar stok kültürleri Standart *Drosophila* Besiyeri'nde (SDB) (Lewis 1960) tutulmaktadır. SDB hazırlamak için gereken malzemeler; 9 g agar, 60 g toz seker, 19 g bira mayası, 50 g mısır unu, 565 cc saf su ve 3-3,5 cc propionik asittir. 440 cc saf su temiz bir beherde kaynatılır. Kaynamaya başlayan saf suya önce 9 g agar, daha sonra 60 g şeker ilave edilip bir cam baget yardımıyla iyice karıştırılır. Bir başka beher içinde 125 cc saf suda 50 g mısır unu ve 19 g bira mayası ezilir. Karıştırılarak ezilen bu karışım kaynayan şeker-agar karışımına ilave edilerek karıştırmaya devam edilir. Karışım kaynamaya başladıktan sonra karıştırma işlemine 15 dk daha kısık ateşte devam edilmelidir. Bu safhada karışımın kıvamına dikkat etmek gerekir. Eğer karışım çok sıvı olursa besin ortamı soğuduğu zaman çok katılaşmayacak ve sinekler besin ortamına yapışacaktır. Karışım çok katılaşrsa hem şişelere doldurmak hem de sineklerin beslenmesi güçleşecektir. Bu durumlar göz önüne alınarak hazırlanan besin ortamı ateşten indirilir. Karışım biraz soğuduktan sonra küf inhibitörü olarak kullanılan propionik asit ilave edilip hazırlanan besin ortamı henüz sıcakken 250 ml'lik kültür şişelerine dökülür ve üzerleri temiz kurutma kağıtlarıyla kapatılarak bir gün oda sıcaklığında soğumaları için bekletilir. Besiyerleri soğuyup katılaştığında şişelerin

ağızları sineklerin hava alabilmesi için sünger veya pamuk ve gazlı bezden yapılmış tıkaçlarla kapatılır.

3.3.3. Bayıltma yöntemi

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

3.4. Deneylerin Yapılışı

3.4.1. 3. evre larvaların elde edilmesi ve larvalara gıda boyalarının uygulanması

Hem deney hem de kontrol gruplarında kullanılacak olan 3. evre larvalar (72 ± 4 saat) yalnızca SDB içeren kültür ortamında Oregon R yabanıl ve *Vestigial* mutant soylarından $10 \text{♀} \times 10 \text{♂}$ çaprazı yapılarak elde edilmiştir. Ebeveynlerin çiftleştirilmesini takiben 4. günde 3. evre larvaları oluşmuştur. Deney grupları oluşturulurken her gıda boyası için çok sayıda tekrür ve ön denemeler ile belirlenen altı farklı uygulama dozu olan 5, 10, 15, 20, 25 ve 30 mg mL^{-1} boya maddesi + SDB içeren besi yerlerine 100'er larva konulmuştur. Larvalar besi yerine konulduğu günden itibaren gelişim evreleri bakımından günlük olarak izlenmiştir. Larvadan pupaya, pupadan ergine dönüşebilen bireyler günlük olarak sayılmış ve kaydedilmiştir. Ergin bireyler ise binoküler mikroskop altında incelenmiş ve malformasyonlu bireylerin fotoğrafları çekilmiştir. Deneyler üç kez tekrar edilmiştir.

3.4.2. Ömür uzunluğu deneyleri

D. melanogaster'in Oregon R yabanıl ve *Vestigial* mutant soylarında azo gıda boyalarının ömür uzunluğu üzerine etkileri dişi ve erkek popülasyonlarında ayrı ayrı çalışılmıştır. Bu amaçla aynı yaşlı bireyleri elde etmek için, taze besin ortamı içeren kültür şişelerinde çaprazlamalar yapılarak ön stoklar oluşturulmuştur. Çaprazlamaların yapıldığı tarihten itibaren pupanın görüldüğü gün ebeveynler ortamdan uzaklaştırılmıştır. 9. ve 10. günde pupadan çıkan bireyler, 6 saat sonra çiftleşme yeteneği kazandıklarından dişiler ve erkekler ayrı ayrı olmak üzere 5 saatte bir toplanmışlardır. Bu şekilde aynı yaşlı ve çiftleşmemiş ♀♀ ve ♂♂ sineklerden her bir deney grubu için ortalama 100 birey toplanmıştır. Toplanan bireyler 250 ml'lik boş kültür şişelerine konularak uygulamadan önce 2 saat aç bırakılmıştır. Uygulama grupları için, her bir kültür şişesine 2 kat kurutma kağıdı konulmuş ve farklı konsantrasyonlarda gıda boyası emdirilmiştir. Uygulama şişelerine alınan bireyler 2 saat bu ortamda bırakılmıştır. Uygulamalar için tek şişede toplanan 100 birey uygulama sonrasında (♀♀ ve ♂♂ için ayrı ayrı olmak üzere) içinde SDB+ gıda boyası bulunan kültür şişelerine 25'er tane konularak ayrılmıştır. Kontrol ve deney grupları için çalışmalar eş zamanlı başlatılmıştır. Tüm kültür şişeleri 3.2.1'de anlatılan şartlara uygun sıcaklık kabinlerinde tutulmuştur. Deney süresince besi yerleri her hafta Pazartesi ve Perşembe günleri olmak üzere iki kez tazelenmiştir. Birey sayıları her uygulama günü başlangıcında ve sonunda kontrol edilmiş ve ölen bireyler kaydedilerek ortamdan uzaklaştırılmıştır. Uygulamalara her bir deney ve kontrol grubunda en son birey ölünceye kadar devam edilmiştir.

3.5. Mikrofotografi

Çalışmalarımızda, *D. melanogaster*'in gelişim evrelerine ait larva, pupa ve ergin bireylerin fotoğrafları Nikon SMZ-1500 marka binoküler mikroskop ve yine Nikon marka Coolpix 5400 dijital kamera kullanılarak çekilmiştir. Ölçekler fotoğraflar ile birlikte verilmiştir.

3.6. İstatistiksel Yöntemler

Larval mortalite ve ömür uzunluğu deneylerinden elde edilen verilerle ilgili istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 13.0 programı kullanılmıştır.

Larval mortalite sonuçlarının kontrol ve uygulama grupları arasında karşılaştırılması için tek değişkenli varyans analizi (ANOVA), larvadan ergine gelişebilen bireyler ile ilgili sonuçlar için ise Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır.

Ömür uzunluğu deneylerinde kontrol ve uygulama gruplarının ömür uzunluğu ortalamaları istatistiksel olarak %1 düzeyinde Duncan testi (Sokal ve Rohlf 1995), dişi ve erkek bireylerin ortalama ömür uzunluğu t-testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Hayatta kalış eğrileri ve larval mortaliteye ait grafikler ise Microsoft Windows Office-Excel programı kullanılarak çizilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

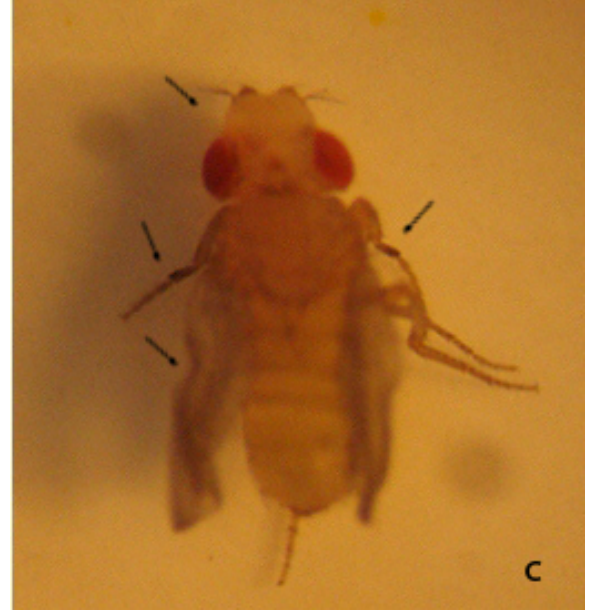
Bu çalışmada, iki ayrı parametre göz önüne alınmıştır. Çalışmanın ilk kısmında, 4 farklı sentetik azo gıda boyasının (Amarant, Ponceu 4R, Sunset Yellow ve Tartrazin) kronik beslenmeye bağlı olarak *D. melanogaster*'in Oregon R yabanıl ve *Vestigial* mutant soyuna ait 3. evre larvalarında yaşama yüzdesi (larval mortalite) üzerine etkileri, çalışmanın ikinci kısmında ise yine azo boyalarının kronik beslenmeye bağlı olarak *D. melanogaster*'in Oregon R yabanıl ve *Vestigial* mutant soyuna ait ergin bireylerin ömür uzunluğu üzerine etkileri araştırılmıştır.

Yapılan ön denemeler ile önce her boya için ayrı ayrı olmak üzere LD₁₀₀ değerleri belirlenmiştir. LD₁₀₀ değeri deney grubundaki bireylerin tamamını öldüren konsantrasyon olarak tanımlanabilir. Bu değerler Ponceu 4R ve Sunset Yellow için 35 mg mL⁻¹, Amarant için 30 mg mL⁻¹, Tartrazin için de 15 mg mL⁻¹ olarak tespit edilmiştir. LD₁₀₀ değerleri, her bir boya uygulama grubu için en yüksek doz olarak kullanılmış ve daha düşük dozlarla birlikte Ponceu 4R, Sunset Yellow ve Amarant için 5, 10, 15, 20, 25 ve 30 mg mL⁻¹ olmak üzere 6 farklı uygulama grubu oluşturulmuştur. Ancak, daha öncede belirtildiği gibi, Tartrazin için bu değer 15 mg mL⁻¹ olarak belirlendiğinden Ponceu 4R, Sunset Yellow ve Amarant için kullanılan son üç uygulama dozu (20, 25 ve 30 mg mL⁻¹) ömür uzunluğu ile ilgili deneylerde kullanılamamıştır. Bu nedenle yalnızca bu boya için uygulama grupları yeniden belirlenmiş ve ömür uzunluğu deneylerinde 2,5, 5, 7,5, 10, 12,5 ve 15 mg mL⁻¹ olarak belirlenen yeni dozlar çalışılmıştır.

4.1. Azo Gıda Boyalarının 3. Evre Larvaların Yaşama Yüzdesi (Larval Mortalite) Üzerine Etkileri

Azo gıda boyalarının larval mortalite üzerine olan etkilerini araştırmak için hem yabanıl hem de mutant soylara ait larvaların gelişim evreleri, larvalar gıda boyası+SDB'ye konulduğu günden itibaren izlenmiştir. Larvadan pupaya, pupadan ergine dönüşebilen

bireyler günlük olarak sayılarak kaydedilmiş ve elde edilen veriler ile Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2 hazırlanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda gıda boyası içeren tüm deney gruplarında erginleşebilen bireyler, binoküler mikroskop altında incelenmiş ve malformasyonlu bireylerin fotoğrafları çekilmiştir (Şekil 4.1a-c). Malformasyonlar, kanat, toraks ve abdomen deformasyonu (Şekil 4.1a), pupa kılıfından çıkamama (Şekil 4.1b) ve normalden daha küçük baş ve vücut gelişimi ile eksik yürüme bacağı (Şekil 4.1c) şeklinde gözlenmiştir.



Şekil 4.1. Gıda boyası içeren besi yeri ile beslenen ergin bireylerde gözlenen çeşitli malformasyonlar

4.1.1. Azo gıda boyalarının Oregon R yabanıl soyu 3. evre larvaları üzerine etkileri

Yapılan çalışmada Oregon R yabanıl soyu larvalarına uygulanan gıda boyalarının hepsinin tüm uygulama gruplarında konsantrasyon artışına bağlı olarak larval mortaliteyi arttırdığı gözlenmiştir (Çizelge 4.1a-d, Şekil 4.2). Kontrol grubunda yalnızca SDB ile beslenen larvalarda hayatta kalış oranı ortalama $96\pm 1,15$ iken deney gruplarında bu değerler en düşük ve en yüksek konsantrasyonlarda ($5-30 \text{ mg mL}^{-1}$) Ponceu 4R için $86\pm 1,15-35\pm 2,88$, Sunset Yellow için $82\pm 1,15-32\pm 1,15$, Amarant için $80\pm 2,88-18\pm 3,46$ olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1a-c).

Tartrazin'de ise Çizelge 4.1d'de görüldüğü gibi yalnızca ilk üç uygulama grubunda ($5,10$ ve 15 mg mL^{-1}) larval gelişim gözlenmiş son 3 uygulama grubunda ($20, 25$, ve 30 mg mL^{-1}) ise hayatta kalan birey olmamıştır (Şekil 4.2). En düşük uygulama grubu olan 5 mg mL^{-1} 'de hayatta kalış oranı $52\pm 2,31$ iken 15 mg mL^{-1} uygulama grubunda bu değer $10\pm 1,15$ olarak tespit edilmiştir. (Çizelge 4.1d). Çizelge 4.1a-d incelendiği zaman, elde edilen sonuçlar gıda boyaları için doz artışı ve toksik etki arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermektedir. İstatistiksel değerlendirmeye göre de kontrol ve deney grupları arasındaki bu fark $P < 0,01$ düzeyinde anlamlıdır. Larvaların hayatta kalış oranları dikkate alındığı zaman, kullandığımız gıda boyalarının toksisite sıralaması Tartrazin>Amarant>Sunset Yellow>Ponceu 4R şeklinde olmuştur.

Çizelge 4.1. Farklı konsantrasyonlarda gıda boyası ile beslenen *D. melanogaster*'in Oregon R yabancıl soyu 3. evre larvalarında gözlenen larval mortalite oranları

a-PONCEU 4R (LD₁₀₀: 35 mg mL⁻¹)						
Konsantrasyon (mg mL⁻¹)	∑ Larva	Uygulama Grupları				
		1	2	3	Ortalama ± S.H	p -Değeri
Kontrol	100	96	94	98	96±1,15	
5	100	88	86	84	86±1,15	<0,01*
10	100	80	78	76	78±1,15	<0,01*
15	100	72	68	64	68±2,31	<0,01*
20	100	60	57	54	57±1,73	<0,01*
25	100	58	50	42	50±4,61	<0,01*
30	100	40	35	30	35±2,88	<0,01*

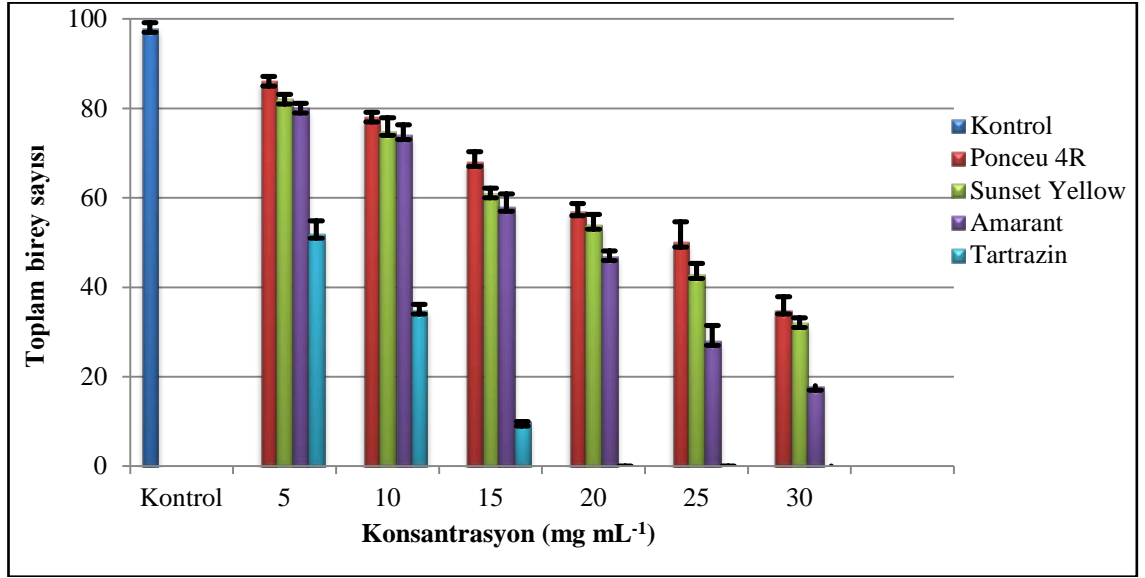
b-SUNSET YELLOW (LD₁₀₀: 35 mg mL⁻¹)						
Konsantrasyon (mg mL⁻¹)	∑ Larva	Uygulama Grupları				
		1	2	3	Ortalama ± S.H	p -Değeri
Kontrol	100	96	94	98	96±1,15	
5	100	84	82	80	82±1,15	<0,01*
10	100	80	75	70	75±2,88	<0,01*
15	100	63	61	59	61±1,15	<0,01*
20	100	58	54	50	54±2,31	<0,01*
25	100	47	43	39	43±2,31	<0,01*
30	100	34	32	30	32±1,15	<0,01*

Çizelge 4.1 (devam)

c-AMARANT (LD₁₀₀: 30 mg mL⁻¹)						
Konsantrasyon (mg mL⁻¹)	∑ Larva	Uygulama Grupları				
		1	2	3	Ortalama ± S.H	p -Değeri
Kontrol	100	96	94	98	96±1,15	
5	100	85	80	75	80±2,88	<0,01*
10	100	74	76	72	74±1,15	<0,01*
15	100	54	62	58	58±2,31	<0,01*
20	100	42	52	47	47±2,88	<0,01*
25	100	26	30	28	28±1,15	<0,01*
30	100	18	24	12	18±3,46	<0,01*

d-TARTRAZİN (LD₁₀₀: 15 mg mL⁻¹)						
Konsantrasyon (mg mL⁻¹)	∑ Larva	Uygulama Grupları				
		1	2	3	Ortalama± S.H	p -Değeri
Kontrol	100	96	94	98	96±1,15	
5	100	48	52	56	52±2,31	<0,01*
10	100	30	35	40	35±2,88	<0,01*
15	100	8	10	12	10±1,15	<0,01*
20	100	-	-	-	-	<0,01*
25	100	-	-	-	-	<0,01*
30	100	-	-	-	-	<0,01*

S.H: Standart hata; *: Gruplar arasındaki fark p<0,01 düzeyinde önemlidir.



Şekil 4.2. *D. melanogaster*'in Oregon R yabancı soyuna ait F₁ neslinin 3. evre larvalarında mortalite oranlarının karşılaştırılması

4.1.2. Azo gıda boyalarının *Vestigial* mutant soyu 3. evre larvaları üzerine etkileri

Yapılan çalışmada bu soyun 3. evre larvalarına uygulanan gıda boyalarının hepsinin tıpkı yabancı soyda olduğu gibi tüm uygulama gruplarında konsantrasyon artışına bağlı olarak larval mortaliteyi arttırdığı gözlenmiştir (Çizelge 4.2a-d, Şekil 4.3). Kontrol grubunda yalnızca SDB ile beslenen larvalarda hayatta kalış oranı ortalama $89 \pm 0,97$ iken deney gruplarında bu değerler en düşük ve en yüksek konsantrasyonlar da (5-30 mg mL⁻¹) Ponceu 4R için $78 \pm 8,81$, $81-28 \pm 2,28$, Sunset Yellow için $71 \pm 2,06$, $21 \pm 1,45$ Amaran için $77 \pm 1,81$, $12 \pm 1,22$ olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2a-c).

Tartrazin de ise yine Oregon R yabancı soyunda olduğu gibi yalnızca ilk üç uygulama grubunda (5,10 ve 15 mg mL⁻¹) larval gelişim gözlenmiştir (Çizelge 4.2ad, Şekil 4.3). Tartrazin için larvalarda hayatta kalış oranı en düşük uygulama grubu olan 5 mg mL⁻¹'de ortalama $41 \pm 2,88$ iken en yüksek uygulama grubu olan 15 mg mL⁻¹'de bu değer $8 \pm 0,99$ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.2d). Çizelge 4.2a-d dikkatle incelendiği zaman, elde edilen sonuçlar gıda boyalarında doz artışı ve toksik etki arasında tıpkı yabancı soyda olduğu gibi mutant soyda da pozitif bir korelasyon olduğunu

göstermektedir. İstatistiksel değerlendirmeye göre de kontrol ve deney grupları arasındaki bu fark $P < 0,01$ düzeyinde anlamlıdır. Larvaların hayatta kalış oranları dikkate alındığı zaman, kullandığımız gıda boyalarının toksisite sıralaması yine Oregon R yabanıl soyunda elde edilen sonuçlarla paralellik göstermiş ve Tartrazin>Amarant>Sunset Yellow>Ponceu 4R şeklinde olmuştur.

Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyonlarda gıda boyası ile beslenen *D. melanogaster*'in *Vestigial* mutant soyu 3. evre larvalarında gözlenen larval mortalite oranları

a-PONCEU 4R (LD₁₀₀: 15 mg mL⁻¹)						
Konsantrasyon (mg mL⁻¹)	Σ Larva	Uygulama Grupları				
		1	2	3	Ortalama ± S.H	p -Değeri
Kontrol	100	91	87	89	89±0,97	
5	100	71	83	80	78±1,81	<0,01*
10	100	67	70	73	70±2,03	<0,01*
15	100	60	59	58	59±0,66	<0,01*
20	100	49	47	45	47±3,01	<0,01*
25	100	38	45	37	40±1,17	<0,01*
30	100	32	23	30	28±2,28	<0,01*

Çizelge 4.2 (devam)

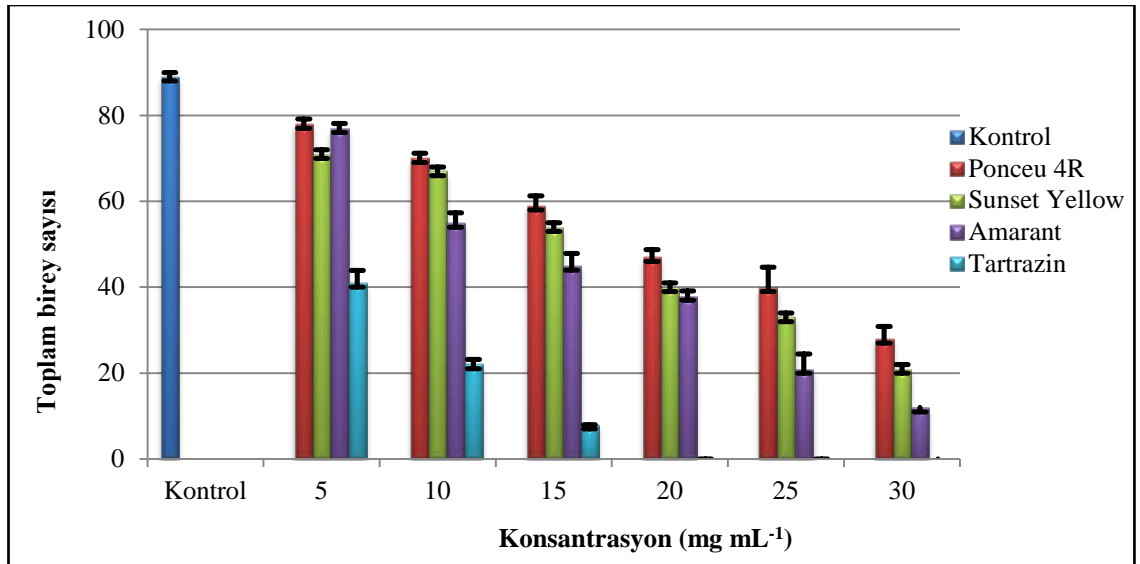
b-SUNSET YELLOW (LD₁₀₀: 35 mg mL⁻¹)						
Konsantrasyon (mg mL⁻¹)	∑ Larva	Uygulama Grupları				
		1	2	3	Ortalama ± S.H	p -Değeri
Kontrol	100	91	87	89	89±0,97	
5	100	74	70	69	71±2,06	<0,01*
10	100	65	69	67	67±1,45	<0,01*
15	100	52	54	56	54±2,88	<0,01*
20	100	38	40	42	40±1,31	<0,01*
25	100	33	31	35	33±0,78	<0,01*
30	100	18	20	23	21±1,45	<0,01*

c-AMARANT (LD₁₀₀: 30 mg mL⁻¹)						
Konsantrasyon (mg mL⁻¹)	∑ Larva	Uygulama Grupları				
		1	2	3	Ortalama ± S.H	p -Değeri
Kontrol	100	91	87	89	89±0,97	
5	100	77	76	78	77±1,81	<0,01*
10	100	54	55	56	55±1,66	<0,01*
15	100	48	45	42	45±1,72	<0,01*
20	100	40	36	38	38±2,68	<0,01*
25	100	23	20	20	21±3,30	<0,01*
30	100	14	10	8	12±1,22	<0,01*

Çizelge 4.2 (devam)

d-TARTRAZİN (LD ₁₀₀ : 15 mg mL ⁻¹)						
Konsantrasyon (mg mL ⁻¹)	Σ Larva	Uygulama Grupları				
		1	2	3	Ortalama ± S.H	p -Değeri
Kontrol	100	91	87	89	89±0,97	
5	100	41	39	43	41±2,88	<0,01*
10	100	30	35	40	22±1,63	<0,01*
15	100	8	10	6	8±0,99	<0,01*
20	100	—	—	—	—	<0,01*
25	100	—	—	—	—	<0,01*
30	100	—	—	—	—	<0,01*

S.H: Standart hata; *: Gruplar arasındaki fark p<0,01 düzeyinde önemlidir.



Şekil 4.3. *D. melanogaster*'in *Vestigial* mutant soyuna ait F₁ neslinin 3. evre larvalarında mortalite oranlarının karşılaştırılması

4.2. Azo Gıda Boyalarının Ömür Uzunluğu Üzerine Etkileri

Deneylemizimizin ikinci kısmında gıda boyalarının ergin bireylerin ömür uzunluğu üzerine etkisi çalışılmıştır. Uygulamalar hem Oregon R yabanıl hem de *Vestigial* mutant soylarında *D. melanogaster*'in dişi ve erkek popülasyonları için ayrı ayrı yapılmıştır. Elde edilen verilere dayanılarak dişi ve erkekler popülasyonlarında kontrol ve uygulama grupları için ortalama ömür uzunlukları hesaplanmış ve bu değerlere bağlı olarak ömür uzunluğu eğrileri çizilerek (Şekil 4.4-4.7) her iki eşey için hayatta kalış çizelgeleri hazırlanmıştır (Çizelge 4.3a-d).

4.2.1. Azo gıda boyalarının Oregon R yabanıl soyuna ait ergin bireylerinde ömür uzunluğu üzerine etkisi

Elde ettiğimiz sonuçlara göre, kontrol grubunda maksimum ömür uzunluğunun ♀♀ için 98, ♂♂ için 91 gün olduğu bulunmuştur. Uygulama gruplarında bu değerler ♀♀ de en düşük ve en yüksek konsantrasyonlar da (5-30 mg mL⁻¹) Ponceu 4R için 87-53 gün (Çizelge 4.3a, Şekil 4.4a), Sunset Yellow için 74-46 gün (Çizelge 4.3b, Şekil 4.5a) ve Amarant için 74-39 gündür (Çizelge 4.3c, Şekil 4.6a). ♂♂ için de maksimum ömür uzunluğu Ponceu 4R için 74-42 gün (Çizelge 4.3a, Şekil 4.4b), Sunset Yellow için 77-42 gün (Çizelge 4.3b, Şekil 4.5b) ve Amarant için 67-35 gün (Çizelge 4.3c, Şekil 4.6b) olarak bulunmuştur.

Maksimum ömür uzunluğunun yanı sıra ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarda ortalama ömür uzunluğuda hesaplanmıştır. Ortalama ömür uzunluğu kontrol grubunda ♀♀ için 66,42±1,89, ♂♂ için 62,04±1,65 gün olduğu bulunmuştur. Uygulama gruplarında bu değerler ♀♀ de en düşük ve en yüksek konsantrasyonlar da (5-30 mg mL⁻¹) Ponceu 4R için 58,43±1,95-28±1,48 gün (Çizelge 4.3a), Sunset Yellow için 51,69±1,79-24,01±1,41gün (Çizelge 4.3b) ve Amarant için 50,41±1,97-22,50±1,17 gün olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3c). Ortalama ömür uzunluğu ise Ponceu 4R için 42,76±1,91-21,66±1,06 gün (Çizelge 4.3a), Sunset Yellow için 46,91±1,93-19,12±1,27 gün (Çizelge 4.3b) ve Amarant için 45,20±1,81-15,14±0,96 gün (Çizelge 4.3c) olarak bulunmuştur.

Ponceu 4R, Sunset Yellow ve Amarant için LD_{100} değerleri sırasıyla 35 ve 30 $mg mL^{-1}$ iken Tartrazin'de bu değer 15 $mg mL^{-1}$ olarak bulunmuştur ve bu değer üzerinde yaşayabilen larva ve buna bağlı olarak ergin birey bulunmadığı için ömür uzunluğu deneylerinde daha düşük dozlar (2,5, 5, 7,5, 10, 12,5 ve 15 $mg mL^{-1}$) seçilmiştir. Seçilen bu dozlarla yapılan uygulamalar sonucunda en düşük (2,5 $mg mL^{-1}$) ve en yüksek (15 $mg mL^{-1}$) uygulama gruplarında sırasıyla ♀♀'de maksimum ömür uzunluğu 70-39 gün (Çizelge 4.3d, Şekil 4.7a), ♂♂'de 74-39 gün (Çizelge 4.3d, Şekil 4.7b) olarak bulunmuştur.

Ortalama ömür uzunluğu ise ♀♀ için $47,39 \pm 1,84$ - $17,40 \pm 1,01$, ♂♂ için de $46,20 \pm 1,87$ - $15,97 \pm 1,05$ olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda dişi ve erkek popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunluğu arasındaki fark $P > 0,01$ düzeyinde önemsizken tüm uygulama grupları arasındaki bu fark önemli bulunmuştur ($P < 0,01$).

Ayrıca bu değerlere göre, hem dişi hem erkek bireylerde gıda boyası konsantrasyonundaki artışına bağlı olarak ömür uzunluğu azaldığı için negatif korelasyon tespit edilmiştir. Negatif korelasyona ait değerlerde sırasıyla, Ponceu 4R için ♀♀ $R = -0,56$, ♂♂ $R = -0,56$; Sunset Yellow için ♀♀ $R = -0,60$, ♂♂ $R = -0,62$; Amarant için ♀♀ $R = -0,61$, ♂♂ $R = -0,68$ Tartrazin için ♀♀ $R = -0,68$ ♂♂ $R = -0,65$ olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. *D. melanogaster*'in Oregon R yabanıl soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunlukları ve gruplar arası önem kontrolleri

a-PONCEU 4R									
Deney Grubu (mg mL ⁻¹)	Birey Sayısı	♀♀ Popülasyonu				♂♂ Popülasyonu			
		Max. Ömür	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)± SH	Standart Sapma	P	Max. Ömür	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)± SH	Standart Sapma	P
K	100	98	66,42±1,89	18,98	3-4* 4-5* 5-6*	91	62,04±1,65	16,46	3-4* 3-5* 4-5* 4-6* 5-6*
5 (1)	100	87	58,43±1,95	19,52		74	42,76±1,91	19,11	
10 (2)	100	74	50,43±1,87	18,68		67	35,91±1,71	17,05	
15 (3)	100	67	44,09±1,77	17,77		63	33,48±1,52	15,22	
20 (4)	100	67	40,00±1,83	18,33		60	30,26±1,48	14,76	
25 (5)	100	60	33,00±1,72	17,22		56	28,66±1,35	13,51	
30 (6)	100	53	28,00±1,48	14,79		42	21,66±1,06	10,55	

Çizelge 4.3 (devam)

b-SUNSET YELLOW									
Deney Grubu (mg mL ⁻¹)	Birey Sayısı	♀♀ Popülasyonu				♂♂ Popülasyonu			
		Max. Ömür	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)± SH	Standart Sapma	<i>P</i>	Max. Ömür	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)± SH	Standart Sapma	<i>p</i>
K	100	98	66,42±1,89	18,98	4-5* 5-6*	91	62,04±1,65	16,45	4-5* 4-6* 5-6*
5 (1)	100	74	51,69±1,79	17,91		77	46,91±1,93	19,31	
10 (2)	100	74	45,27±1,99	19,90		74	38,23±1,68	16,80	
15 (3)	100	60	38,07±1,75	17,49		63	31,02±1,78	17,83	
20 (4)	100	60	33,61±1,69	16,91		56	25,86±1,43	14,32	
25 (5)	100	53	29,48±1,48	14,75		56	26,08±1,49	14,90	
30 (6)	100	46	24,01±1,41	14,06		42	19,12±1,27	12,72	

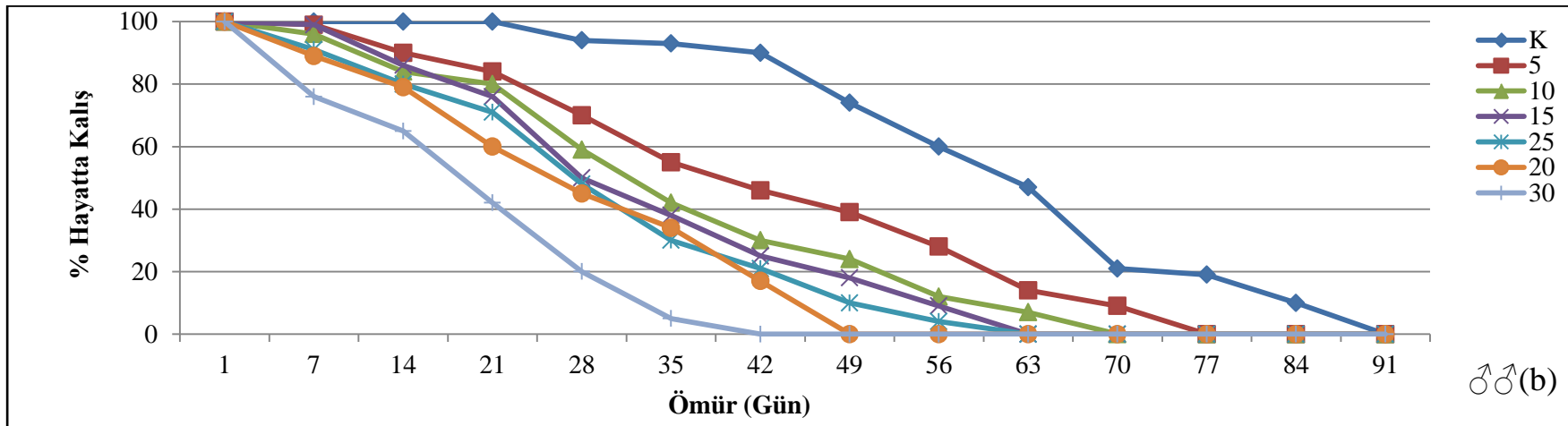
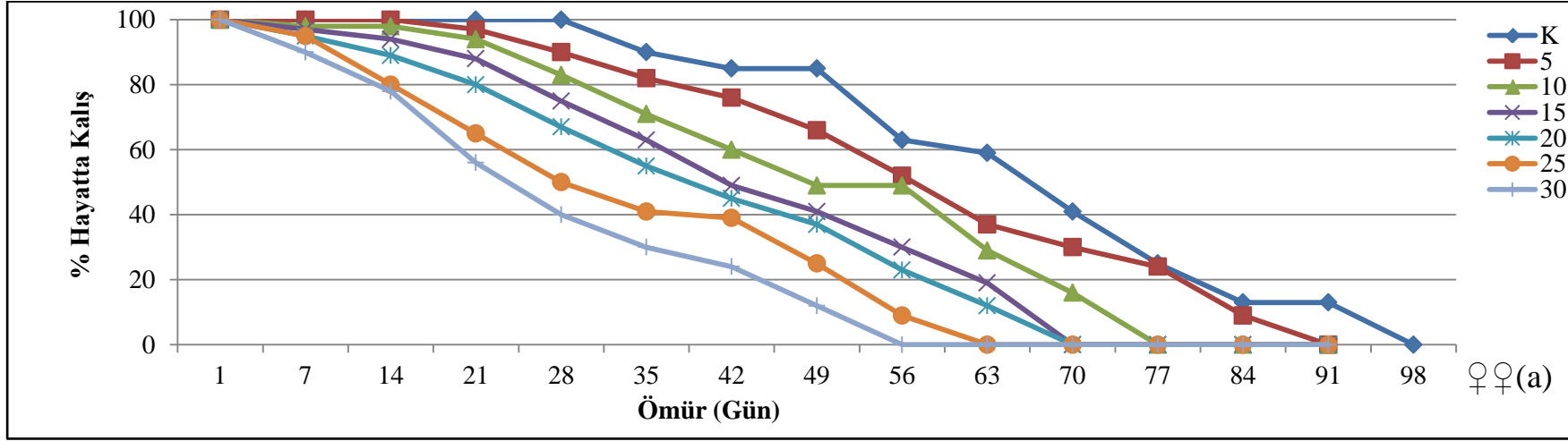
Çizelge 4.3 (devam)

c-AMARANT									
Deney Grubu (mg mL ⁻¹)	Birey Sayısı	♀♀ Popülasyonu				♂♂ Popülasyonu			
		Max. Ömür	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)± SH	Standart Sapma	<i>p</i>	Max. Ömür	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)± SH	Standart Sapma	<i>p</i>
K	100	98	66,42±1,89	18,98	3-4* 4-5* 5-6*	91	62,04±1,65	16,45	4-5* 5-6*
5 (1)	100	74	50,41±1,97	19,67		67	45,20±1,81	18,09	
10 (2)	100	67	43,10±1,72	17,24		56	35,62±1,61	16,07	
15 (3)	100	60	39,51±1,55	15,47		53	27,68±1,46	14,61	
20 (4)	100	60	34,92±1,59	15,94		46	23,82±1,31	13,11	
25 (5)	100	53	30,69±1,39	13,98		46	21,09±1,27	12,68	
30 (6)	100	39	22,50±1,17	11,65		35	15,14±0,96	9,61	

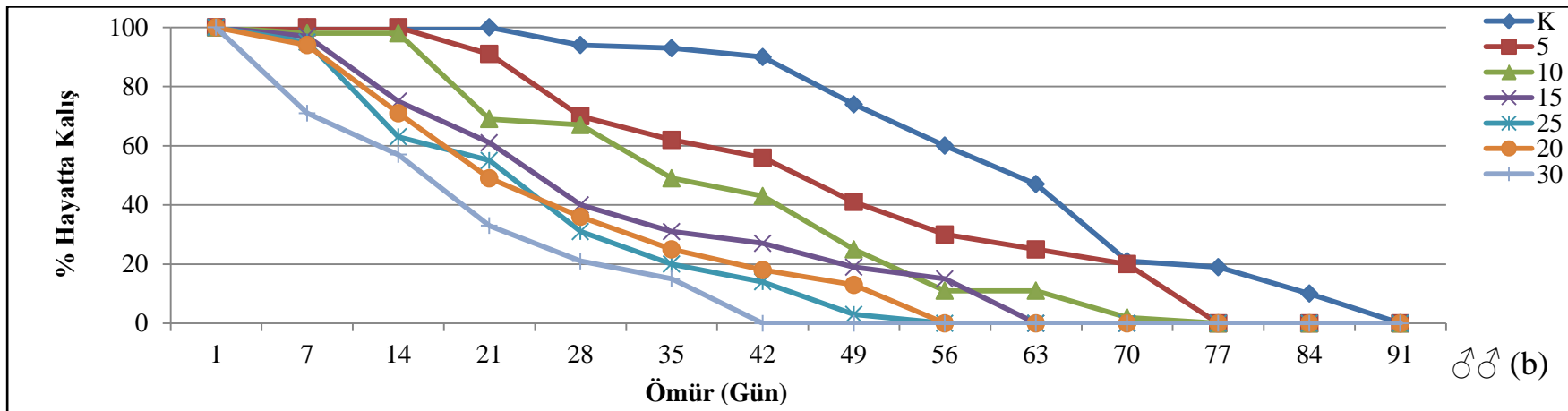
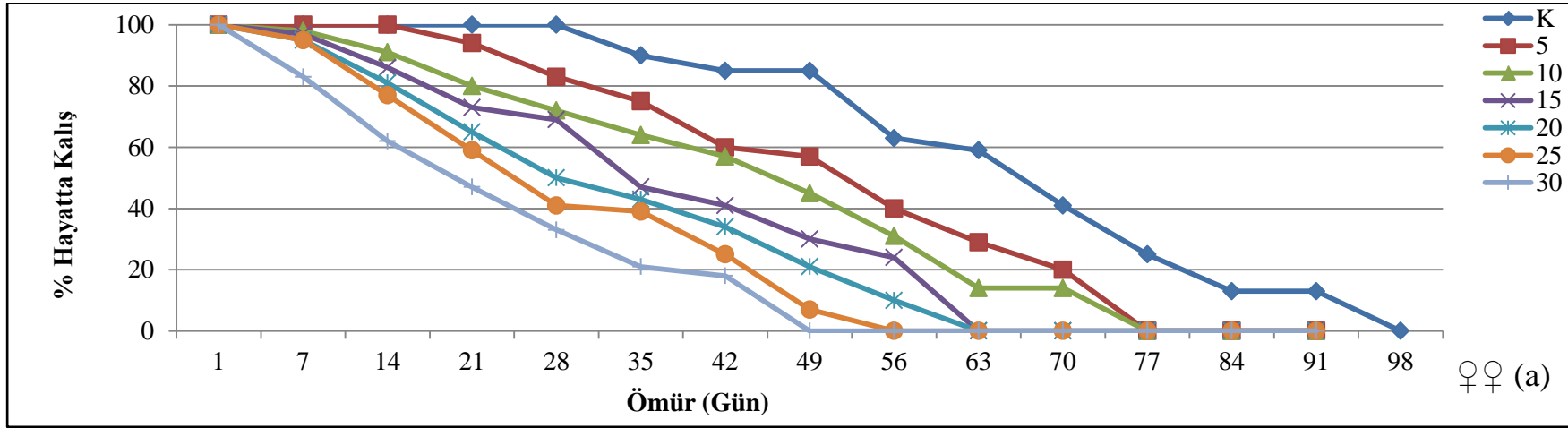
Çizelge 4.3 (devam)

d-TARTRAZİN									
Deney Grubu (mg mL ⁻¹)	Birey Sayısı	♀♀ Popülasyonu				♂♂ Popülasyonu			
		Max. Ömür	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)± SH	Standart Sapma	P	Max. Ömür	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)± SH	Standart Sapma	p
K	100	98	66,42±1,89	18,98	2-3* 3-4*	91	62,04±1,65	16,45	2-3* 3-4* 4-5*
2,5 (1)	100	70	47,39±1,84	18,40		74	46,20±1,87	18,72	
5 (2)	100	63	42,24±1,64	16,37		63	41,08±1,75	17,49	
7,5 (3)	100	60	39,28±1,59	15,93		63	38,52±1,73	17,32	
10(4)	100	53	32,48±1,42	14,16		56	33,55±1,76	17,60	
12,5 (5)	100	46	24,02±1,13	11,33		42	23,06±1,16	11,55	
15 (6)	100	39	17,40±1,01	10,08		39	15,97±1,05	10,51	

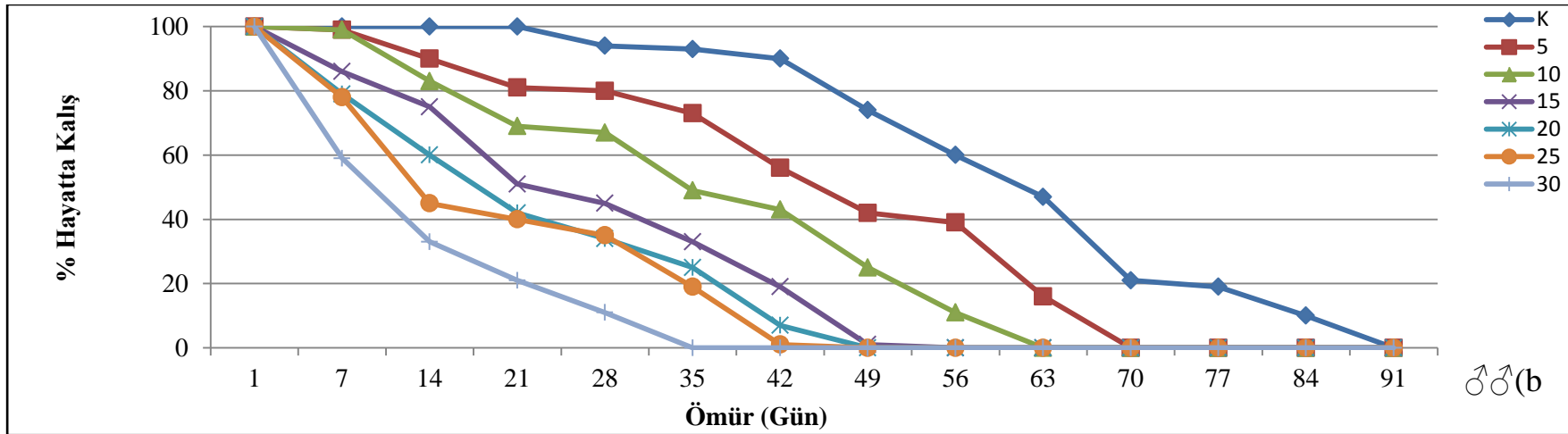
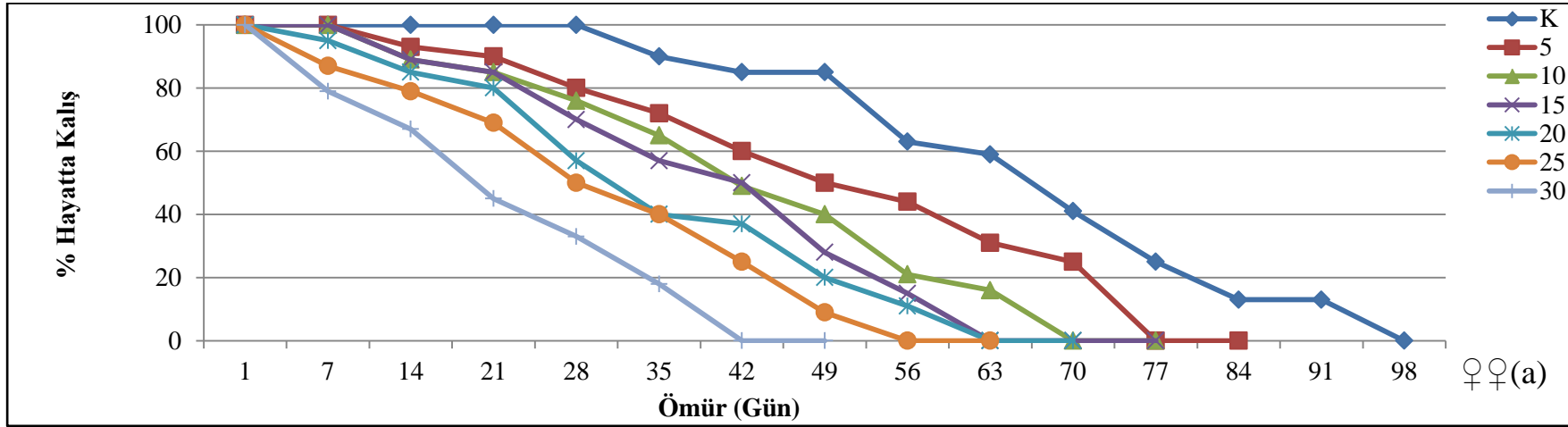
K: Kontrol, Max.:Maksimum, S.H.: Standart hata , *: Gruplar arasındaki fark p<0,01 düzeyinde önemsizdir.



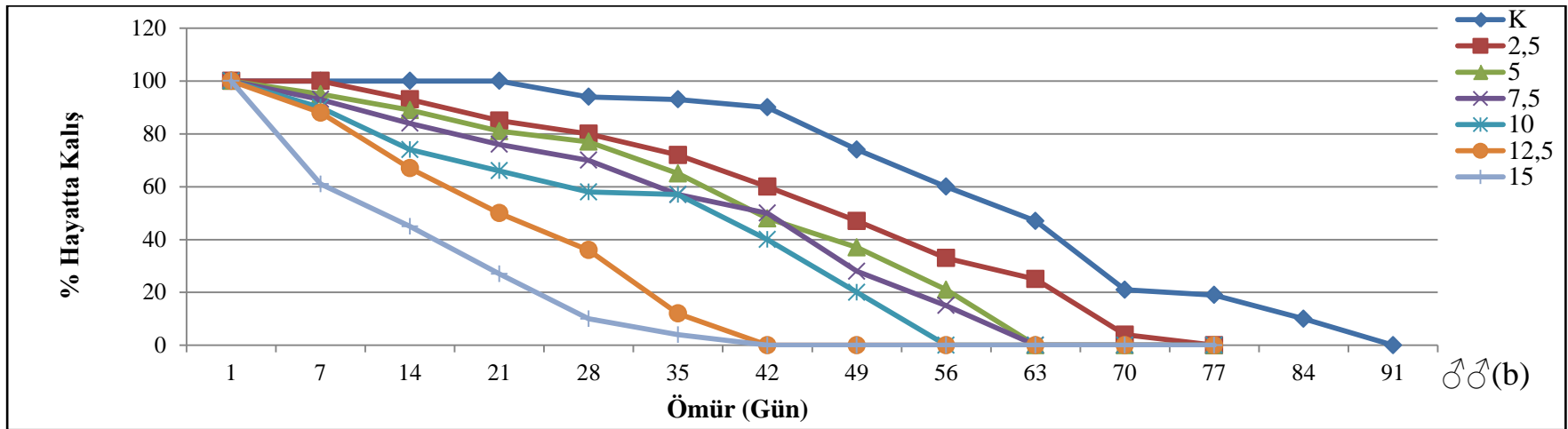
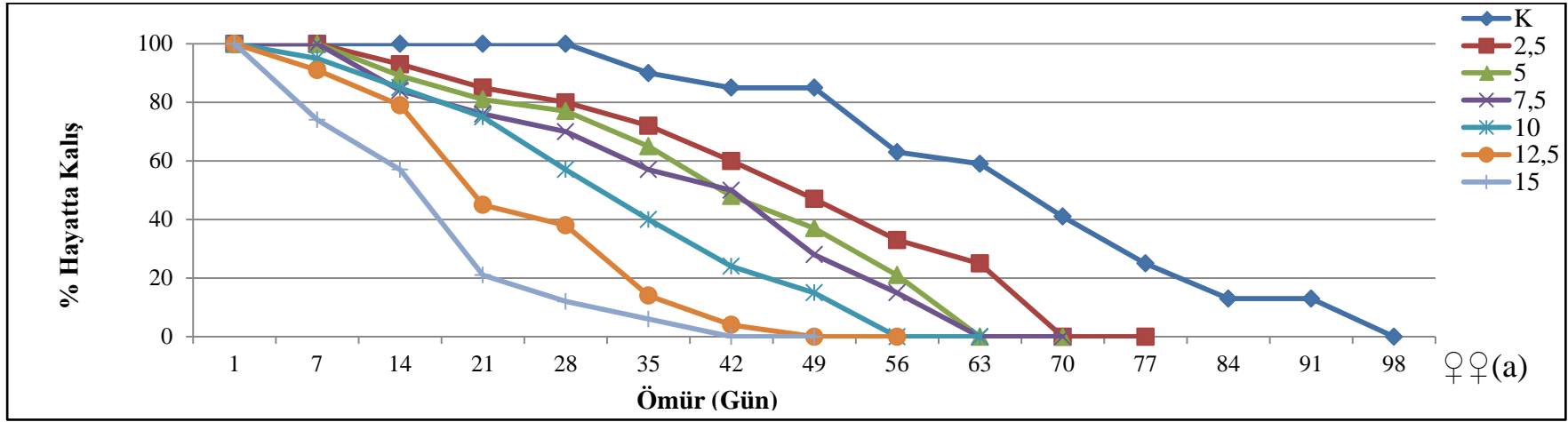
Şekil 4.4. *D. melanogaster*'in Oregon R yabancıl soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Poncu 4R uygulamasına ait hayatta kalış eğrileri



Şekil 4.5. *D. melanogaster*'in Oregon R yabancıl soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Sunset Yellow uygulamasına ait hayatta kalış eğrileri



Şekil 4.6. *D. melanogaster*'in Oregon R yabanıl soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Amaranth uygulamasına ait hayatta kalış eğrileri



Şekil 4.7. *D. melanogaster*'in Oregon R yabancı soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Tartrazin uygulamasına ait hayatta kalış eğrileri

4.2.2. Azo gıda boyalarının Vestigial mutant soyuna ait ergin bireylerinde ömür uzunluğu üzerine etkisi

Yine Oregon R yabanıl soyunda olduğu gibi Tartrazin'de LD₁₀₀ değerleri 15 mg mL⁻¹ e kadar düşmüştür ve bu değer üzerinde yaşayabilen larva ve buna bağlı olarak ergin birey bulunmadığı için ömür uzunluğu deneylerinde daha düşük dozlar (2,5, 5, 7,5, 10, 12,5 ve 15 mg mL⁻¹) seçilmiştir.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre, kontrol grubunda maksimum ömür uzunluğunun ♀♀ için 69, ♂♂ için 67 gün olduğu bulunmuştur. Uygulama gruplarında ise bu değerler ♀♀ de en düşük ve en yüksek konsantrasyonlar da (5-30 mg mL⁻¹) Ponceu 4R için 69-49 gün (Çizelge 4.4a, Şekil 4.8a), Sunset Yellow için 65-46 gün (Çizelge 4.4b, Şekil 4.9a) ve Amarant için 63-39 gündür (Çizelge 4.4c, Şekil 4.10a). ♂♂ için de maksimum ömür uzunluğu Ponceu 4R için 67-46 gün (Çizelge 4.3a, Şekil 4.8b), Sunset Yellow için 62-43 gün (Çizelge 4.4b, Şekil 4.9b) ve Amarant için 63-35 gün (Çizelge 4.4c, Şekil 4.10b) olarak bulunmuştur.

Ortalama ömür uzunluğu kontrol grubunda ♀♀ için 45,85±1,71, ♂♂ için 39,98±1,67 gün olduğu bulunmuştur. Uygulama gruplarında bu değerler ♀♀ de en düşük ve en yüksek konsantrasyonlar da (5-30 mg mL⁻¹) Ponceu 4R için 42,21±1,72-26,42±1,37 gün (Çizelge 4.4a), Sunset Yellow için 40,68±1,69-22,81±1,30 gün (Çizelge 4.4b) ve Amarant için 40,72±1,76-18,25±1,17 gündür (Çizelge 4.4c). Ortalama ömür uzunluğu ♂♂ için ise Ponceu 4R için 35,00±1,64-23,52±1,30 gün (Çizelge 4.4a), Sunset Yellow için 39,86±1,80-18,46±1,27 gün (Çizelge 4.4b) ve Amarant için 34,28±1,79-14,48±0,91 gün (Çizelge 4.4c) olarak bulunmuştur.

Tartrazin ile yapılan uygulamalar sonucunda en düşük (2,5 mg mL⁻¹) ve en yüksek (15 mg mL⁻¹) uygulama gruplarında sırasıyla ♀♀'de maksimum ömür uzunluğu 67-38 gün (Çizelge 4.4d, Şekil 4.11a), ♂♂'de 63-35 gün (Çizelge 4.4d, Şekil 4.11b) olarak bulunmuştur.

Ortalama ömür uzunluğu ise ♀♀ için $45,85 \pm 1,70$ - $17,13 \pm 1,10$, ♂♂ için de $39,98 \pm 1,66$ - $14,85 \pm 0,90$ olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda dişi ve erkek popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunluğu arasındaki fark $P > 0,01$ düzeyinde önemsizken hem tüm uygulama grupları arasında hem de kontrol grubu ile uygulama arasındaki bu fark önemli bulunmuştur ($P < 0,01$).

Ayrıca, bu değerlere göre, konsantrasyon artışına bağlı olarak hem dişi hem erkek bireylerde ömür uzunluğu azaldığı için negatif korelasyon tespit edilmiştir. Negatif korelasyona ait değerler sırasıyla, Ponceu 4R için ♀♀ $R = -0,365$, ♂♂ $R = -0,325$; Sunset Yellow için ♀♀ $R = -0,430$, ♂♂ $R = -0,457$; Amaran için ♀♀ $R = -0,513$, ♂♂ $R = -0,501$ Tartrazin için ♀♀ $R = -0,550$ ♂♂ $R = -0,523$ olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. *D. melanogaster*'in *Vestigial* mutant soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunlukları ve gruplar arası önem kontrolleri

a-PONCEU 4R									
Deney Grubu (mg mL ⁻¹)	Birey Sayısı	♀♀ Popülasyonu				♂♂ Popülasyonu			
		Max. Ömür	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)± SH	Standart Sapma	<i>p</i>	Max. Ömür	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)± SH	Standart Sapma	<i>p</i>
K	100	69	45,85±1,71	17,07	1-2* 2-3* 2-4* 3-4* 4-5* 5-6*	67	39,98±1,67	16,69	1-2* 2-3* 2-4* 3-4* 3-5* 4-5* 5-6*
5 (1)	100	69	42,21±1,72	17,15		67	35,00±1,64	16,36	
10 (2)	100	67	39,04±1,64	16,41		63	33,32±1,62	16,19	
15 (3)	100	63	36,40±1,63	16,63		60	30,45±1,48	14,78	
20 (4)	100	63	33,46±1,62	16,23		56	28,29±1,40	14,02	
25 (5)	100	56	30,16±1,52	15,24		53	26,07±1,47	14,07	
30 (6)	100	49	26,42±1,37	13,71		46	23,52±1,30	12,91	

Çizelge 4.4 (devam)

b-SUNSET YELLOW									
Deney Grubu (mg mL ⁻¹)	Birey Sayısı	♀♀ Popülasyonu				♂♂ Popülasyonu			
		Max. Ömür	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)± SH	Standart Sapma	<i>p</i>	Max. Ömür	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)± SH	Standart Sapma	<i>p</i>
K	100	69	45,85±1,71	17,07		67	39,98±1,67	16,69	
5 (1)	100	65	40,68±1,69	16,88	1-2*	62	39,86±1,80	17,97	2-3* 4-5* 5-6*
10 (2)	100	60	37,26±1,58	15,83	2-3*	57	34,07±1,56	15,59	
15 (3)	100	53	32,61±1,43	14,32	3-4*	58	30,25±1,69	16,86	
20 (4)	100	53	31,52±1,40	13,99	3-5*	49	25,36±1,39	13,90	
25 (5)	100	49	28,13±1,37	13,72	4-5*	49	21,41±1,30	13,04	
30 (6)	100	46	22,81±1,30	13,02	5-6*	43	18,46±1,27	12,70	

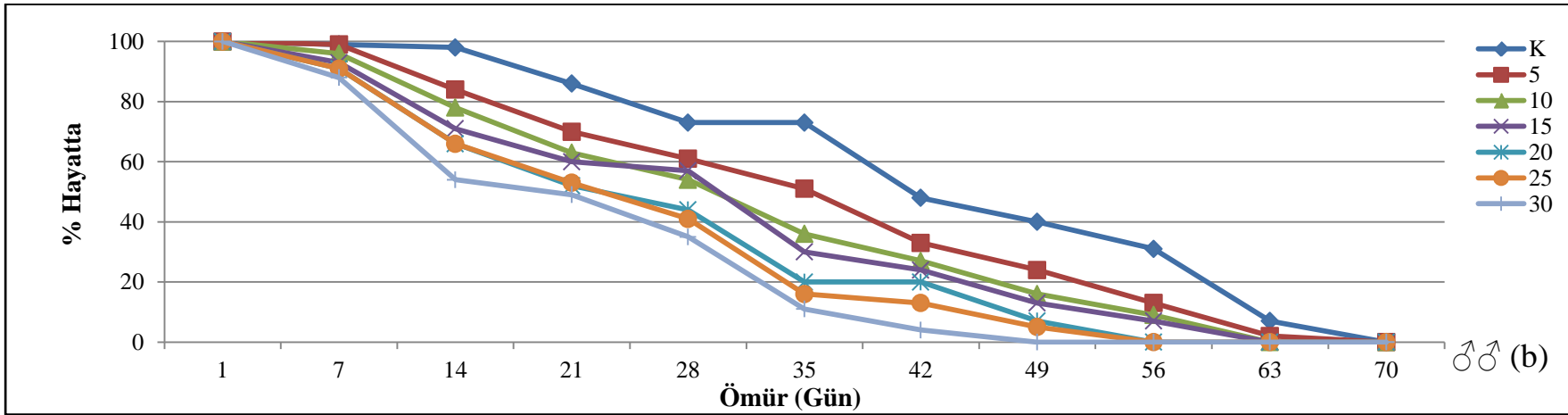
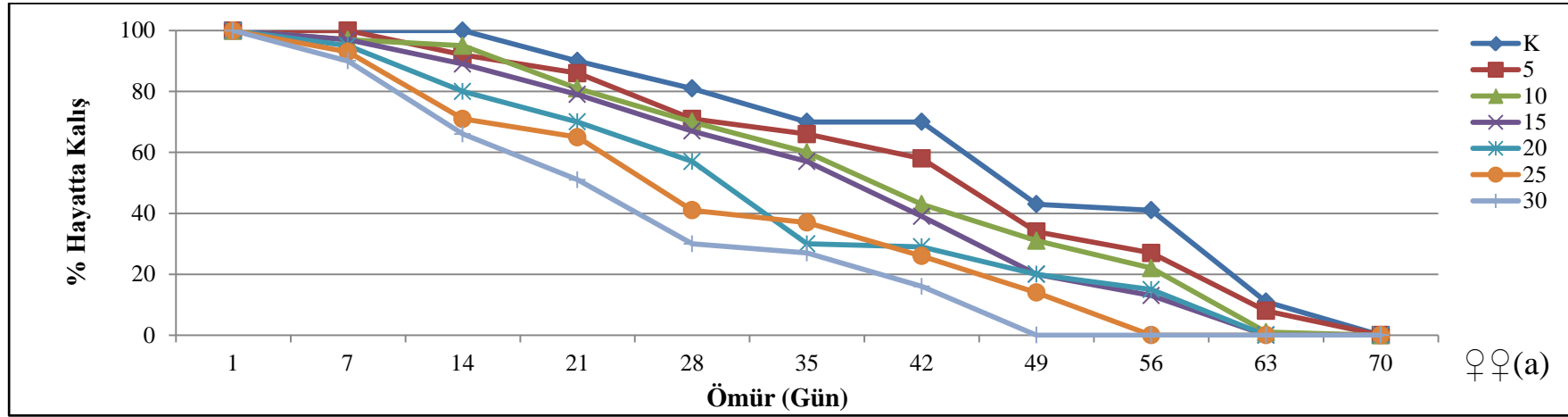
Çizelge 4.4 (devam)

c-AMARANT									
Deney Grubu (mg mL ⁻¹)	Birey Sayısı	♀♀ Popülasyonu				♂♂ Popülasyonu			
		Max. Ömür	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)± SH	Standart Sapma	<i>p</i>	Max. Ömür	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)± SH	Standart Sapma	<i>p</i>
K (0)	100	69	45,85±1,71	17,07	2-3* 3-4* 5-6*	67	39,98±1,67	16,69	1-2* 2-3* 3-4* 4-5* 5-6*
5 (1)	100	63	40,72±1,76	17,59		63	34,28±1,79	17,89	
10 (2)	100	60	35,08±1,63	16,32		58	29,45±1,67	16,69	
15 (3)	100	53	31,22±1,56	15,55		46	24,29±1,28	12,75	
20 (4)	100	49	28,32±1,39	13,90		40	22,90±1,19	11,90	
25 (5)	100	45	22,57±1,27	12,70		38	18,58±1,15	11,58	
30 (6)	100	39	18,25±1,17	11,71		35	14,48±0,91	9,13	

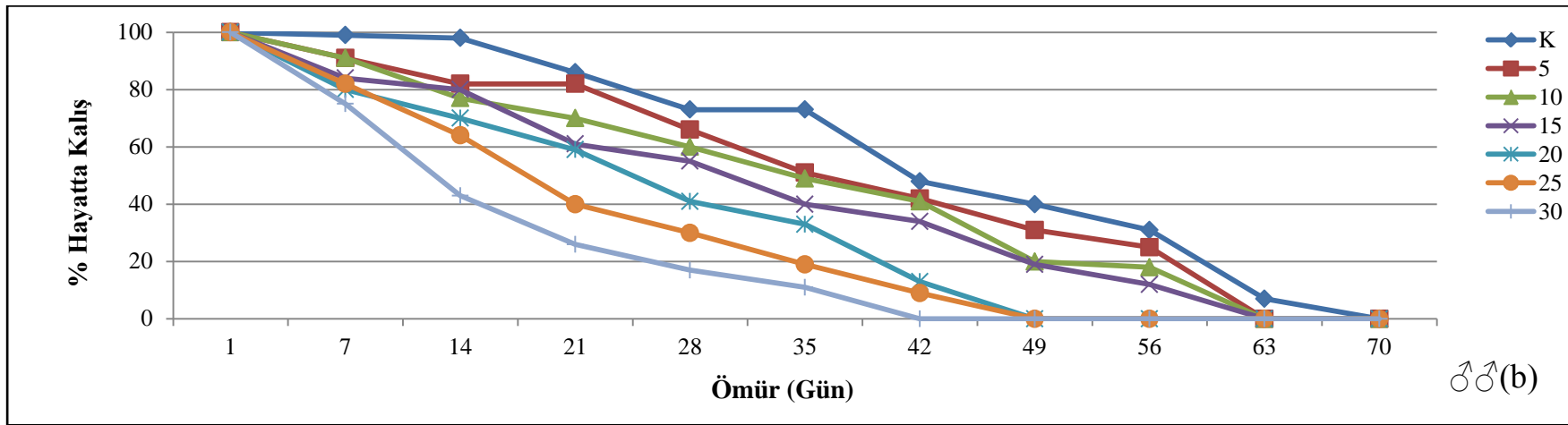
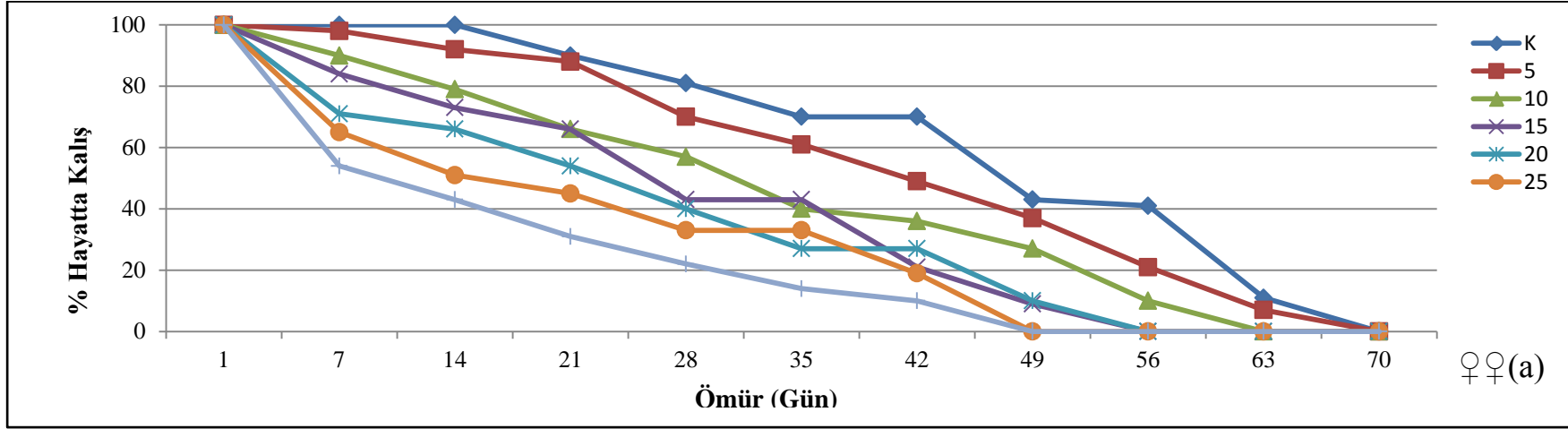
Çizelge 4.4 (devam)

d-TARTRAZİN									
Deney Grubu (mg mL ⁻¹)	Birey Sayısı	♀♀ Popülasyonu				♂♂ Popülasyonu			
		Max. Ömür	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)± SH	Standart Sapma	<i>p</i>	Max. Ömür	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün)± SH	Standart Sapma	<i>p</i>
K	100	69	45,85±1,70	17,07	1-2* 2-3* 4-5* 5-6*	67	39,98±1,66	16,69	3-4* 5-6*
2,5 (1)	100	67	41,36±1,80	18,01		63	38,80±1,74	17,48	
5 (2)	100	63	34,35±1,82	18,26		59	33,76±1,64	16,41	
7,5 (3)	100	56	28,17±1,49	14,95		53	29,43±1,47	14,78	
10 (4)	100	51	25,39±1,37	13,73		47	24,15±1,28	12,82	
12,5 (5)	100	42	18,76±1,18	11,85		38	19,92±1,09	10,98	
15 (6)	100	38	17,13±1,10	11,04		35	14,85±0,90	9,06	

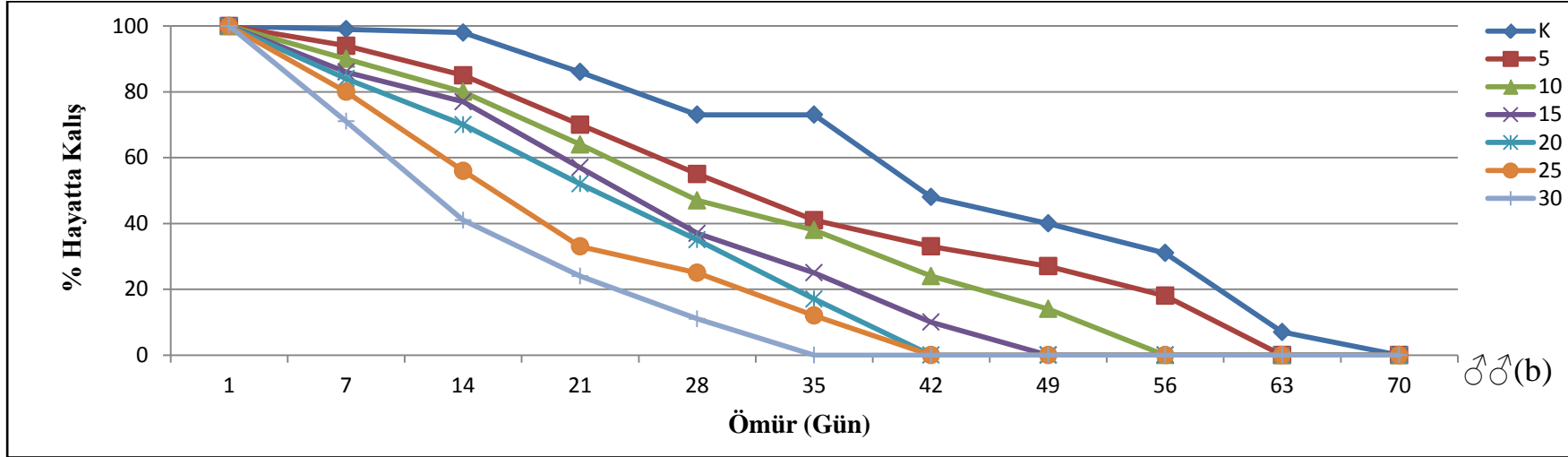
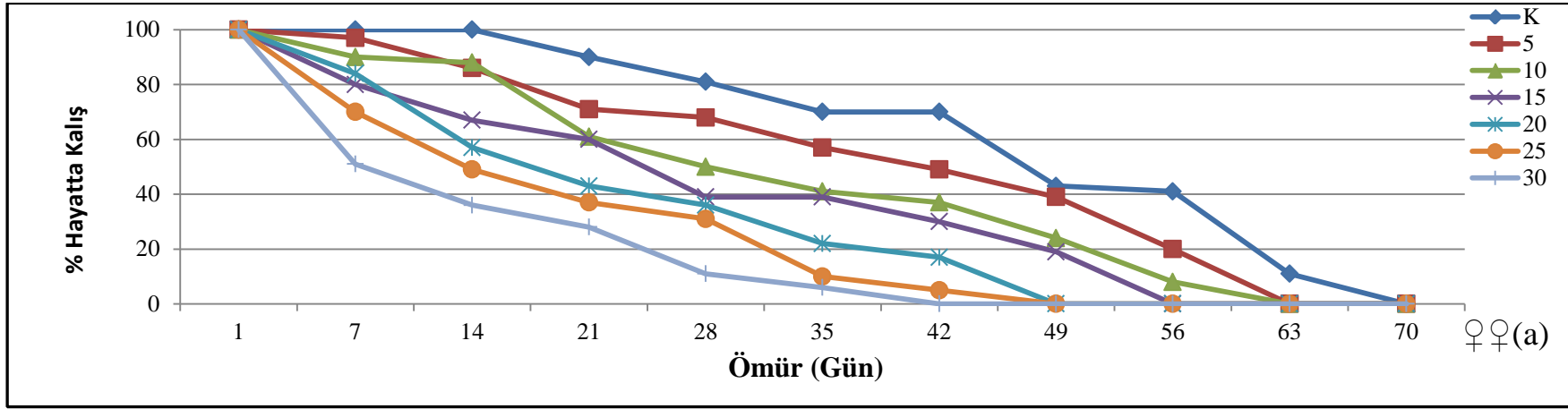
K: Kontrol, Max.:Maksimum, S.H.: Standart hata , *: Gruplar arasındaki fark $p<0,01$ düzeyinde önemsizdir.



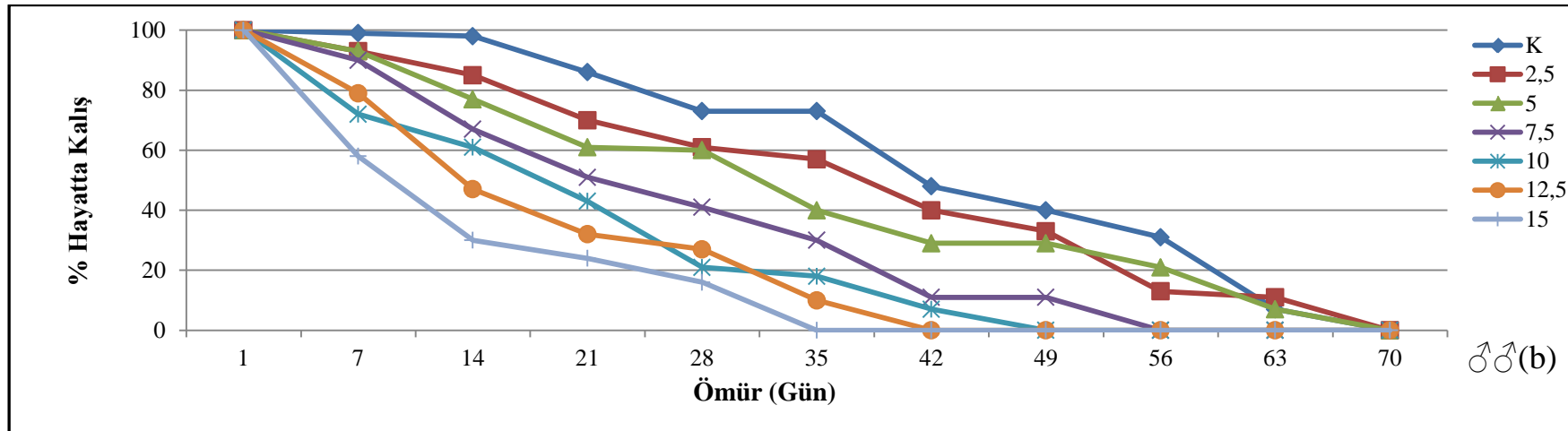
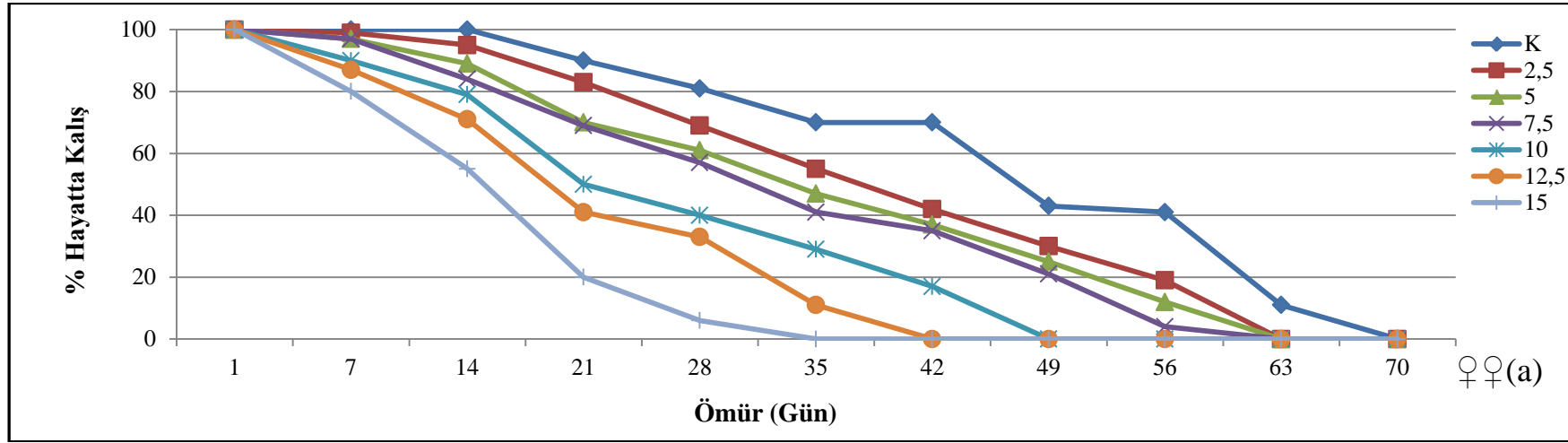
Şekil 4.8. *D. melanogaster*'in *Vestigial* mutant soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Ponceu 4R uygulamasına ait hayatta kalış eğrileri



Şekil 4.9. *D. melanogaster*'in *Vestigial* mutant soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Sunset Yellow uygulamasına ait hayatta kalış eğrileri



Şekil 4.10. *D. melanogaster*'in *Vestigial* mutant soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Amaranth uygulamasına ait hayatta kalış eğrileri



Şekil 4.11. *D. melanogaster*'in *Vestigial* mutant soyu ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarının farklı konsantrasyonlarda Tartrazin uygulamasına ait hayatta kalış eğrileri

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Gıda katkı maddelerinin çeşitli canlılar üzerinde olumsuz etkilere sebep olduğu bilinmektedir. Ancak *D. melanogaster* üzerine GKM'nin etkisi ile ilgili yapılmış çalışma sayısı oldukça azdır. Bu çalışmamızda, gıda sanayinde kullanılan dört farklı azo gıda boyasının *D. melanogaster*'in Oregon R yabanıl soyu ve *Vestigial* mutant soyu larvalarında mortalite ve ergin bireylerinde de ömür uzunluğu üzerine etkisi incelenmiştir.

Çalışma, larval mortalite ve ergin bireyler için ömür uzunluğu uygulaması olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Larval mortalite uygulamasında Oregon R yabanıl soyu için sonuçlar incelendiğinde, kontrol grubunda yalnızca SDB ile beslenen larvalarda hayatta kalış oranı ortalama $96 \pm 1,15$ bulunmuştur. Deney gruplarında bu değerler en düşük ve en yüksek konsantrasyonlarda ($5-30 \text{ mg mL}^{-1}$) Ponceu 4R için $86 \pm 1,15-35 \pm 2,88$, Sunset Yellow için $82 \pm 1,15-32 \pm 1,15$, Amarant için $80 \pm 2,88-18 \pm 3,46$ olarak tespit edilmiştir. (Çizelge 4.1a-c). Tartrazin de ise Çizelge 4.1d'de görüldüğü gibi yalnızca ilk üç uygulama grubunda ($5,10$ ve 15 mg mL^{-1}) larval gelişim gözlenmiş, son 3 uygulama grubunda ($20, 25$ ve 30 mg mL^{-1}) ise hayatta kalan birey olmamıştır (Şekil 4.2). En düşük uygulama grubu olan 5 mg mL^{-1} 'de hayatta kalış oranı $52 \pm 2,31$ iken 15 mg mL^{-1} uygulama grubunda bu değer $10 \pm 1,15$ olarak tespit edilmiştir. (Çizelge 4.1d). Larval mortalite bakımından kontrol grubu ve uygulama grupları arasındaki bu fark $P < 0,01$ düzeyinde anlamlıdır.

Larval mortalite uygulamasında *Vestigial* mutant soyu için elde ettiğimiz sonuçlar incelendiği zaman kontrol grubunda hayatta kalış oranı ortalama $89 \pm 0,97$ olarak belirlenmiştir. Deney gruplarında ise bu değerler en düşük ve en yüksek konsantrasyonlar da ($5-30 \text{ mg mL}^{-1}$) Ponceu 4R için $78 \pm 81,81-28 \pm 2,28$, Sunset Yellow için $71 \pm 2,06-21 \pm 1,45$ Amarant için $77 \pm 1,81-12 \pm 1,22$ olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2a-c). Tartrazin için larvalarda hayatta kalış oranı en düşük uygulama grubu olan 5 mg mL^{-1} 'de ortalama $41 \pm 2,88$ iken 15 mg mL^{-1} 'de bu değer $8 \pm 0,99$ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.2d). Çizelge 4.1a-d ve 4.2a-d dikkatle incelendiği

zaman, elde edilen sonuçlar gıda boyalarında doz artışı ve toksik etki arasında tıpkı yabancı soyda olduğu gibi mutant soyda da pozitif bir korelasyon olduğunu göstermektedir. İstatistiksel değerlendirmeye göre de *Vestigial* mutant soyu için kontrol ve deney grupları arasındaki bu fark $P < 0,01$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur.

Bu sonuçlardan anlaşılacağı gibi kullandığımız tüm gıda boyları için, gıda boyası uygulama dozu arttıkça larvadan ergine dönüşebilme oranı azalmaktadır. *D. melanogaster* 3. evre larvaları üzerine gıda boylarının etkilerinin araştırıldığı çeşitli çalışmalarda da benzeri sonuçlar bulunmuştur. Sarıkaya vd (2010), farklı konsantrasyonlarda beş gıda boyasının (Patent Blue, Karminik Asit, İndigokarmin, Eritrosin ve Amarant) *D. melanogaster*'in 3. evre larvalarına ait yaşama yüzdesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre, gıda boyası konsantrasyonu arttıkça larvalarda yaşama yüzdesi önemli ölçüde azalmaktadır. 50 mg/ml boya uygulamasında Patent Blue ve İndigokarmin; 100 mg/ml uygulamasında Karminik Asit ve Amarant; 25 mg/ml uygulamasında ise Eritrosin letal etki göstermiştir.

Benzer bir çalışmada da sentetik gıda boylarından Black Pn, Brilliant Blue, Pea Green, Ponceu 4R, Kinolin Yellow'un *D. melanogaster* Oregon R soyuna ait larvalar üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada gıda boylarının konsantrasyon artışına bağlı olarak larval toksisiteyi artırdığı ve ergine dönüşebilen birey sayısını azalttığı görülmüştür. Kontrol grubunda larvalar için hayatta kalış oranı %98 iken gıda boyları için bu değer %5-25 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Uysal ve Semerdöken 2011).

Mpountoukas *et al.* (2010)'e göre, Amarant, Eritrosin ve Tartrazin gibi boylar *in vitro* ortamda insan periferik kan hücrelerinde genotoksik, sitotoksik ve sitostatik etkili olup kardeş kromatit değişimini artırmakta ve doğrudan DNA'ya bağlanma etkisi göstermektedir. Masannat *et al.* (2009)'e göre de Metilen Blue, Patent Blue ve İndigo Karmin gibi gıda boyları insan meme epitel hücrelerinde DNA hasarına sebep olmaktadır. Ayrıca çeşitli araştırmacılar, Amarant, Allura Red ve Sunset Yellow (Combes and Haveland 1982) ve Tartrazin (Niraj *et al.* 1989) gibi boyların

çeşitli deney hayvanları üzerinde genotoksik etkili olduğunu göstermişlerdir. Gıda boyalarının etkileri, bitkilerde de hayvansal organizmalara benzer sonuçlar vermiştir. Örneğin *Vicia faba* kök meristem hücrelerinde Black PN ve Kinolin Yellow mutajenik ve klastojenik etkilidir (Agarwal *et al.* 1993a).

Literatür bilgilerine göre klastojenik ve genotoksik olan gıda boyaları hücrede doğrudan DNA'ya bağlanmaktadır. Hücre siklusunun S fazında replikasyonda meydana gelebilecek hasarlara bağlı olarak genotoksik etki ortaya çıkabilmektedir. Muhtemelen DNA hasarlarının tamir edilememesi de kromozomlarda yapısal/ sayısal hatalara sebep olur ki bu durumda özellikle kısa sürede gelişim döngüsünü tamamlayan hayvansal organizmalarda örneğin *D. melanogaster*'de hatalı hücre bölünmeleri ile sonuçlanır. Larval döneme ait imaginal disk hücrelerinde (imaginal diskler ergin bireyde ergin organları / sistemleri meydana getirir) meydana gelen bu tip hasarlar larval toksisiteyi uyarmaktadır. Kanaatimizce holometabol başkalaşım geçiren *Drosophila*'da üç ayrı larval evrede meydana gelebilecek genotoksik ve klastojenik etkiler larval mortaliteye sebep olabilmektedir. Buna bağlı olarak da larvadan ergine gelişebilen birey sayısı azalmakta (Çizelge 4.1, Çizelge 4.2) ve gelişebilen az sayıdaki ergin bireylerde de çeşitli malformasyonlar gözlenmektedir (Şekil 4.1a-c)

Deneilerin ikinci kısmında ömür uzunluğu uygulamasında elde ettiğimiz sonuçlara göre, kontrol grubunda maksimum ömür uzunluğunun ♀♀ için 98, ♂♂ için 91 gün olduğu bulunmuştur. Yabani soya ait uygulama gruplarında bu değerler ♀♀ de en düşük ve en yüksek konsantrasyonlar da ($5-30 \text{ mg mL}^{-1}$) Ponceu 4R için 87-53 gün (Çizelge 4.3a, Şekil 4.4a), Sunset Yellow için 74-46 gün (Çizelge 4.3b, Şekil 4.5a) ve Amarant için 74-39 gündür (Çizelge 4.3c, Şekil 4.6a). ♂♂ için de maksimum ömür uzunluğu Ponceu 4R için 74-42 gün (Çizelge 4.3a, Şekil 4.4b), Sunset Yellow için 77-42 gün (Çizelge 4.3b, Şekil 4.5b) ve Amarant için 67-35 gün (Çizelge 4.3c, Şekil 4.6b) olarak bulunmuştur.

Yabani soya ait ortalama ömür uzunluğu ise kontrol grubunda ♀♀ için $66,42 \pm 1,89$, ♂♂ için $62,04 \pm 1,65$ gün; uygulama gruplarında bu değerler ♀♀ de en düşük ve en

yüksek konsantrasyonlar da ($5-30 \text{ mg mL}^{-1}$) Ponceu 4R için $58,43 \pm 1,95-28 \pm 1,48$ gün (Çizelge 4.3a), Sunset Yellow için $51,69 \pm 1,79-24,01 \pm 1,41$ gün (Çizelge 4.3b) ve Amarant için $50,41 \pm 1,97-22,50 \pm 1,17$ gün olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3c). Ortalama ömür uzunluğu ♂♂ de ise Ponceu 4R için $42,76 \pm 1,91-21,66 \pm 1,06$ gün (Çizelge 4.3a), Sunset Yellow için $46,91 \pm 1,93-19,12 \pm 1,27$ gün (Çizelge 4.3b) ve Amarant için $45,20 \pm 1,81-15,14 \pm 0,96$ gün olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.3c).

Tartrazin için seçilen dozlarla ($2,5, 5, 7,5, 10, 12,5, 15 \text{ mg mL}^{-1}$) yapılan uygulamalar sonucunda en düşük ($2,5 \text{ mg mL}^{-1}$) ve en yüksek (15 mg mL^{-1}) uygulama gruplarında maksimum ömür uzunluğu sırasıyla ♀♀ de $70-39$ gün (Çizelge 4.3d, Şekil 4.7a), ♂♂ de $74-39$ gün (Çizelge 4.3d, Şekil 4.7b) olarak bulunmuştur. Ortalama ömür uzunluğu ise ♀♀ için $47,39 \pm 1,84-17,40 \pm 1,01$, ♂♂ için de $46,20 \pm 1,87- 15,97 \pm 1,05$ olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda dişi ve erkek popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunluğu arasındaki fark $P > 0,01$ düzeyinde önemsizken tüm uygulama grupları arasındaki bu fark önemlidir ($P < 0,01$).

Vestigial mutant soyuna ait elde ettiğimiz sonuçlara göre, kontrol grubunda maksimum ömür uzunluğunun ♀♀ için 69 , ♂♂ için 67 gün olduğu bulunmuştur. Uygulama gruplarında ise bu değerler ♀♀ de en düşük ve en yüksek konsantrasyonlar da ($5-30 \text{ mg mL}^{-1}$) Ponceu 4R için $69-49$ gün (Çizelge 4.4a, Şekil 4.8a), Sunset Yellow için $65-46$ gün (Çizelge 4.4b, Şekil 4.9a) ve Amarant için $63-39$ gündür (Çizelge 4.4c, Şekil 4.10a). ♂♂ için de maksimum ömür uzunluğu Ponceu 4R için $67-46$ gün (Çizelge 4.3a, Şekil 4.8b), Sunset Yellow için $62-43$ gün (Çizelge 4.4b, Şekil 4.9b) ve Amarant için $63-35$ gün (Çizelge 4.4c, Şekil 4.10b) olarak bulunmuştur.

Mutant soy için, ortalama ömür uzunluğu kontrol grubunda ♀♀ için $45,85 \pm 1,71$, ♂♂ için $39,98 \pm 1,67$ gün; uygulama gruplarında bu değerler ♀♀ de en düşük ve en yüksek konsantrasyonlarda ($5-30 \text{ mg mL}^{-1}$) Ponceu 4R için $42,21 \pm 1,72-26,42 \pm 1,37$ gün (Çizelge 4.4a), Sunset Yellow için $40,68 \pm 1,69-22,81 \pm 1,30$ gün (Çizelge 4.4b) ve Amarant için $40,72 \pm 1,76-18,25 \pm 1,17$ gündür (Çizelge 4.4c). Ortalama ömür uzunluğu ♂♂ için ise Ponceu 4R için $35,00 \pm 1,64-23,52 \pm 1,30$ gün (Çizelge 4.4a),

Sunset Yellow için $39,86 \pm 1,80 - 18,46 \pm 1,27$ gün (Çizelge 4.4b) ve Amaranat için $34,28 \pm 1,79 - 14,48 \pm 0,91$ gün (Çizelge 4.4c) olarak bulunmuştur.

Tartrazin ile yapılan uygulamalar sonucunda en düşük ($2,5 \text{ mg mL}^{-1}$) ve en yüksek (15 mg mL^{-1}) uygulama gruplarında sırasıyla ♀♀'de maksimum ömür uzunluğu 67-38 gün (Çizelge 4.4d, Şekil 4.11a), ♂♂'de 63 -35 gün (Çizelge 4.4d, Şekil 4.11b) olarak bulunmuştur. Yine Tartrazin için ortalama ömür uzunluğu ise ♀♀ için yine en düşük ve en yüksek uygulama gruplarında ($2,5 - 15 \text{ mg mL}^{-1}$) $41,36 \pm 1,80 - 17,13 \pm 1,10$, ♂♂ için de $38,80 \pm 1,74 - 14,85 \pm 0,90$ olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda dişi ve erkek popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunluğu arasındaki fark $P > 0,01$ düzeyinde önemsizken tüm uygulama grupları arasındaki bu fark önemlidir ($P < 0,01$).

Şekil 4.4-4.11'de verilen hayatta kalış eğrileri ayrı ayrı incelendiğinde, ömür eğrilerinin dikdörtgensel olduğu görülmektedir. Hayat tablosu verilerine göre çizilen hayatta kalış eğrisi dikdörtgensel ise, belirli bir süre içinde ölen birey sayısının, o sürenin başlangıcındaki birey sayısına oranı, kronolojik zamana bağlı olarak artıyorsa o popülasyon yaşlanmaktadır (Pearl *et al.* 1927; Maynard-Smith 1958).

Yapılan literatür taramalarında, gıda boyalarının *D. melanogaster*'in ömür uzunluğu üzerine olan etkisiyle ilgili doğrudan sonuçlara rastlanılmamıştır. Bu nedenle bulgularımız, farklı organizmalardan elde edilen çalışma sonuçları ışığında değerlendirilmiştir.

D. melanogaster'de bazı iç ve dış faktörler, ömür uzunluğunu kontrol grubuna göre daha uzatarak yada kısaltarak değişikliklere sebep olabilmektedir. Bu faktörlerden birisi olan fotoperiyodun *D. melanogaster*'in yumurta ve pupadan çıkış süresinde (Qiu and Hardin 1996), metabolik hızında (Lanciani *et al.* 1991) ve ömür uzunluğunda (Sheeba *et al.* 2000) etkili olduğu tespit edilmiştir. Farklı *Drosophila* türleri ile yapılan çalışmalarda, sürekli ışık bulunan ortamda ergin bireylerin ömür uzunluğunun kısaldığı (Allemand *et al.* 1973; Klarsfeld and Rouyer 1998), aksine sürekli karanlık ortamda yaşatılan *D. melanogaster* bireylerinin ömür uzunluğunda

artış olduğu gözlenmiştir (Allemand *et al.* 1973; Bağcı ve Bozcuk 1991). Yaptığımız çalışmada, kontrol ve deney gruplarına ait bireyler, Bölüm 3.3.1’de anlatıldığı gibi sadece besin değişimi sırasında şişeden şişeye transfer edilirken, sıcaklık kabinlerinden çıkarılmış ve böylece aydınlanmanın ömür uzunluğu üzerine etkisi giderilmiştir.

Yapılan çalışmalar, besin çeşidinin *D. melanogaster*’in ömür uzunluğunu önemli ölçüde etkilediğini göstermektedir. *Drosophila*’da çok düşük oranlarda (%1) agar içeren besin ortamlarında gelişimin normal ve ölüm hızının düşük olduğu, ancak erginlerin hemen hemen hiç yumurta bırakmadıkları ve uzun yaşamadıkları bildirilmektedir. Buna karşın, %8’lik agar içeren besin ortamında erkeklerin en uzun ömre sahip oldukları ve eşeyler arasındaki ömür uzunluğu farklılığının en az oranda olduğu gözlenmiştir (David *et al.* 1975). Daha önce yapılan çeşitli çalışmalarda, standart *Drosophila* besiyerine katılan *Usnea longissima* Ach. ve *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. gibi likenlerin *D. melanogaster*’in Oregon R yabanıl soyunda maksimum ömür uzunluğunu artırdığı belirlenmiştir (Uysal vd 2008, Uysal *et al.* 2009a, 2009b). Çalışmamızda, besin çeşidi ve oranlarından doğabilecek farklılıkları önlemek için deney süresince 3.3.2’de anlatılan şekilde hazırlanan Lewis besi ortamı (Standart *Drosophila* Besiyeri: SDB) kullanılmıştır (Lewis 1960).

Fred and Timothy (1997), *Drosophila* popülasyonu ile yaptıkları çalışmada, besin ortamında metabolik artıkların olmaması halinde ömür uzunluğunun arttığını tespit etmişlerdir. Bu etkiyi gidermek için, çalışmalarımız süresince besin ortamı üç günde bir yenilenmiş ve artık maddelerin ömür uzunluğu üzerindeki negatif etkisi de giderilmiştir.

Ayrıca yapılan aktarmalar sırasında anestezi işleminden oluşabilecek olumsuz etkenleri gidermek için de ergin bireyler bayıltılmadan taze besi yerlerine aktarılmıştır.

Anasal yaşın yavru dölün ömür uzunluğunda önemli bir iç etken olduğu bilinmektedir (Lansing 1952). Daha önce yapılan deneylerde, çiftleşmiş dişilerin, bakire (virjin) dişilerden daha kısa ömürlü oldukları görülmüştür (Gowen and Johanson 1946). Bu nedenle deneylerimizde daha önce çiftleşmemiş ve aynı yaştaki dişi ve erkek bireylerin eşleştirilmesi sonucu elde edilen stoklar kullanılmıştır. Dişi bireylerin virjin olması için, pupadan çıkan bireyler çiftleşme yeteneği kazanmadan dört saatlik periyotlarla dişi ve erkek olmak üzere ayrı ayrı şişelerde toplanmışlardır.

Bölüm 1.4.1 ve 1.4.2’de detaylı olarak anlatılan bu gibi iç ve dış faktörler, çalışmalarımız sırasında uygulama gruplarında ya sabit tutulmuş ya da minimum seviyeye düşürülmüştür. Böylece çeşitli faktörlerin etkileri ortadan kaldırılarak eşit koşullarda tutulan aynı genotipli ve aynı yaştaki sineklerin ömür uzunluğunda meydana gelebilecek sapmaların tek kaynağının farklı gıda boyaları olması sağlanmıştır.

Japonya’da gıda sektöründe yaygın olarak kullanılan Benzil Violet 4B isimli gıda boyası, 12 ay boyunca ratların günlük diyetine %5 oranında katılmıştır. Kronik beslenmeyi takiben bu bireylerde büyümenin önemli ölçüde gerilediği görülmüştür. Ayrıca bu boya ile beslenen dişi ratlarda meme kanseri gözlenirken kontrol gruplarında kanser vakasına rastlanmamıştır (Sudhic and Khanna 1991). Yine Sunset Yellow ve Tartrazin gibi boyaların gıdalarda kullanımıyla birlikte kolon kanseri riskini artırdığı (Chung 1983), yüksek dozda Eritrosin’in de karaciğerde (Hallström 1987) ve tiroit bezinde tümör oluşumuna sebep olduğu bildirilmektedir (Hiasa *et al.* 1988). Ayrıca Amin *et al.* (2010) ratlar üzerine yaptığı bir araştırmada Tartrazin ve Karmoizin’in sadece yüksek dozda değil aynı zamanda düşük dozda da akciğer, böbrek gibi hayati organlara zarar vereceğini belirtmiştir.

Mittal *et al.* (2007)’e göre, yüksek dozlarda Amarant ve Sunset Yellow gibi boyalar karaciğer ve iskelet anomalilerine sebep olduğu için hamilelik sırasında bu boyaları içeren gıdalardan kaçınılması gerekmektedir. Fareler üzerinde yapılan bir diğer teratojenik çalışmada, gebe farelere gebeliğin ilk gününden itibaren 7 gün boyunca Ponceu 4R gıda boyası içeren besi yeri verilmiş ve gebeliğinin 8. gününden sonra

%12,7 fetal ölüm tespit edilmiştir (Larson 1975). Ratlar üzerinde yapılan bir başka çalışmada, 10 ay boyunca içme sularına ilave edilen Tartrazin'in lenfosit ve eozinofil sayısını artırdığı tespit edilmiştir (Moutinho *et al.* 2007). Gıda boyalarının toksik etkileri üzerine yapılan araştırmalarda yüksek dozlarda kullanılan Ponceu 4R, Sunset Yellow, Tartrazin, Fast Green, Brilliant Blue ve Black Pn gibi sentetik boyaların ratlarda karaciğer, böbrek hasarına sebep olduğu ve kronik uygulamalarda karaciğerde tümör oluşturduğu görülmüştür (Mekkawy *et al.* 1998). Farelerde yapılan bir başka çalışmada da Amarant, Allura Red, New Kolsişin ve Tartrazin sentetik boyalarının 10 ppm düzeyinde özellikle gastrointestinal organlarda etkili olduğu tespit edilmiştir (Sasaki and Kawaguchi 2002). Daha önce yapılan bu çalışmalarda gözlenen büyümede gerileme ve fetal ölümler bizim çalışmalarımızın sonuçlarını destekler niteliktedir.

Yine Mittal *et al.* (2007)'e göre; Tartrazin'e maruz kalma sonucunda astım, migren, egzama, tiroid kanseri ve lupus meydana gelebilir. Yine aynı yazara göre Tartrazin yüksek derecede toksisiteye sahip olduğu gibi hiperaktivite ve diğer davranışsal bozuklukların katalizörü de olabilmektedir. Başka bir çalışmada ise Tartrazin'in farelerde nesiller boyunca nörodavranışsal parametreler üzerine birçok olumsuz etkilere ve üreme toksisite testleri ile yapılan araştırmada eşeyssel davranışlarının gelişimi üzerinde olumsuz bazı etkilere sebep olduğu gösterilmiştir (Tanaka *et al.* 2008).

Sasaki *et al.* (2002) tarafından yapılan bir başka araştırmada Comet test yöntemi kullanılarak Amarant, Tartrazin ve Eritrosin gibi gıda boyalarının bu kez genotoksitesisi araştırılmış ve uygulanan en düşük dozda bile kolon, idrar kesesi, mide ve gastrointestinal organlarda DNA hasarının meydana geldiği gözlenmiştir. Benzeri sonuçlar Shimada *et al.* (2010) tarafından yapılan çalışmada da görülmüştür. $10\text{mg}^{-1}\text{kg}$ azo gıda boyasının uygulanmasından üç saat sonra fare kolonunda DNA hasarı oluşmuştur. Oral yolla Amarant, Allura Red ve New Kolsişin gibi kırmızı gıda boyaları ile beslenen gebe dişi ve erkek farelerde de DNA hasarının uyarıldığı gösterilmiştir (Tsuda *et al.* 2001).

Farelerde Ponceu 4R boyasının kemik iliği hücrelerinde kromozomal anormallikler meydana getirdiği (Agarwal *et al.* 1993a), Black Pn ve Kinolin Yellow'un hem insan lenfosit hücrelerinde hem de *Vicia faba* kök meristem hücrelerinde mutajenik ve klastojenik olduğu gösterilmiştir (Agarwal *et al.* 1993b).

Yine Masannat *et al.* (2009) Metilen Blue, Patent Blue ve İndigo Karmin gibi gıda boyalarının insan meme epitel hücrelerinde DNA hasarına sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Mpountoukas *et al.* (2010) Amarant, Eritrosin ve Tartrazin'in *in vitro* ortamda insan periferal kan hücrelerindeki genotoksik, sitotoksik ve sitostatik potansiyelini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre gıda boyalarının insan lenfosit hücrelerinde toksik etkiye sahip olduğu, kardeş kromatit değişimini (sister chromatit exchange: SCE) kontrol grubuna göre 1,7 kez arttırdığı ve doğrudan DNA'ya bağlanma etkisi gösterdiği tespit edilmiştir.

Gıda boyalarından Tartrazin'nin genotoksik etkileri *Drosophila*'da somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) ile araştırılmış ve %0.03- 0.06'lık uygulamaların mutajenite ve rekombinojeniteyi uyardığı gözlenmiştir (Niraj *et al.* 1989). Rhodamin ve Amarant'ın *D. melanogaster* üzerindeki etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada, Rhodamin'in hem somatik hem de üreme hücrelerinde genotoksik olduğu ancak Amarant'ın böyle bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Tripathy *et al.* 1995). Yine, Sarıkaya *et al.* (2012) Amarant, Patent Blue, Karminik Asit, İndigotin ve Eritrosin gıda boyalarının genotoksik etkisini SMART ile araştırmışlardır. Karminik Asit ve İndigotin'in mutajen ve rekombinojen olmadığını tespit etmişlerdir. Ancak yüksek konsantrasyonda ($25 \text{ mg}^{-1} \text{ mL}$) Patent Blue boyasının ve en düşük konsantrasyonu ($1 \text{ mg}^{-1} \text{ mL}$) dışındaki tüm konsantrasyonlarda ($12,5$, 25 ve $50 \text{ mg}^{-1} \text{ mL}$) Amarant gıda boyasının genotoksik etkisinin olduğu gözlenmiştir.

İngiltere'nin Southampton kentinde çeşitli cips, şekerleme ve gazozlarda sıklıkla kullanılan Ponceu 4R boyasının 3 yaşındaki çocukların davranışları üzerindeki etkilerini belirlemek için bir araştırma düzenlenmiştir. Bu gıdaları tüketen 277 çocuğun 75'inde hiperaktivite, 79'unda alerji ve 36'sında hem hiperaktivite hem de

alerji görülmüştür. Yapılan araştırmanın devamında bu gıdaların kesilmesiyle birlikte çocuklarda görülen davranış bozukluklarının düzeldiği, yeniden alınmaları durumunda ise tekrarlandığı tespit edilmiştir (Yaman 1996). Benzeri sonuçlar Tartrazin ile yapılan çalışmalarda da gözlenmiş ve hiperaktivite gibi davranışsal bozukluklarda katalizör olarak hareket ettiği belirtilmiştir (Rowe and Rowe 1994; Ward 1997). Stevenson *et al.* (2010) tarafından gıda boyalarına bağlı olarak çocuklarda görülen hiperaktivitenin nedenlerini belirlemek için yapılan bir başka çalışmada, gıda boyalarının histamin-N-metil transferaz (HNMT) enzimini inhibe ettiği buna bağlı olarak beyine geçen histaminin ve onun miktarındaki artışın hiperaktiviteyi artırdığı bildirilmektedir. Moutinho *et al.* (2007)'a göre Tartrazin gastrointestinal mikroflorada metabolize edildikten sonra aromatik amin gruplarına dönüştürülmektedir. Nitrit ve nitrat içeren gıda boyaları, amin gruplarıyla etkileşerek lipit peroksidaz ve reaktif oksijen türlerinin üretimini artırmakta bu da hafıza ve öğrenme eksikliklerine, nörotoksositeye ve beyin hücrelerinde histopatolojik hasara sebep olmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin artması da oksidatif strese yol açmakta ve nörodejeneratif hasarlar gözlenmektedir. (Bansal and Goyal 2005). Gao *et al.* (2011) farelerde Tartrazin'in katalaz, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) miktarlarını azalttığını buna karşılık beyin dokusunda metabolik bir ürün olan malondialdehit (MDA) seviyesinin artırdığını, bu artışın da beyin hücrelerinde membran yapısının bozulmasına yol açtığını tespit etmişlerdir.

Yaptığımız literatür çalışmalarında, gıda boyalarının *D. melanogaster*'in larvaları üzerine etkisi ile ilgili çalışmalara ulaşabilmemize rağmen ergin bireylerinde ömür uzunluğu üzerindeki etkileriyle ilgili sonuçlara rastlanılmamıştır. Bu nedenle ömür uzunluğu deneylerimizin sonuçlarını literatür bilgisi doğrultusunda kıyaslayamamaktayız. Ancak çeşitli gıda boyalarının farklı canlılar üzerindeki mutajenik ve klastojenik etkileri (Ito 2000; Tsuda *et al.* 2001) ve bunların yansıması olarak fenotipte gözlenen teratojenik etkilerin ömür uzunluğunu normalden daha da kısaltması kuvvetle muhtemeldir. Ayrıca, oksidatif stresin ömür uzunluğunu kısıtlayıcı bir faktör olması da gözden uzak tutulmamalıdır. Oksidatif streste genetik ve metabolik bozukluklara, nörodejeneratif bozukluklara, kardiyovasküler hastalıklara, otoimmün hastalıklara, enfeksiyöz hastalıklara, alerjik patolojilere ve

kansere yol aarak yaşlanma sürecini hızlandırmaktadır (Droge 2002). Şekil 4.4-4.11'de görüldüğü gibi kullandığımız tüm gıda boyaları kronik beslenmeye bağlı olarak *D. melanogaster*'de ömür uzunluğunu kontrol grubuna göre oldukça kısaltmıştır ($P<0,01$). Bu nedenle her türlü GKM'lerin yasalara uygun olarak kullanılması ve gıda yönetmeliğine göre belirlenmiş dozların üzerinde ve amaç dışı olarak kullanılmaması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Agarwal, K., Mukherjee, A. and Sharma, A., 1993a. Configurational changes in rat liver nuclear chromatin caused by azo dyes. *Food and Chemical Toxicology*, 22, 337-344.
- Agarwal, K., Mukherjee, A. and Sharma, A., 1993b. In vivo cytogenetic studies on male mice exposed to Ponceau 4R and beta-carotene. *Cytobios*, 4 (296), 23-28.
- Alem, N., 2007. Askorbik asidin hücre yaşlanması üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Allemand, R., Cohet, Y. and David, J., 1973. Increase in the longevity of dult *D. melanogaster* kept in permanent darkness. *Experimental Gerontology*, 8, 279-283.
- Altuğ, T., 2001. Gıda Katkı Maddeleri, Meta Basım, İzmir.
- Altun, D., 2007. *Usnea longissima* Ach. Likenin *Drosophila melanogaster*'in çeşitli gelişim parametreleri ve ömür uzunluğu üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Ames, B.N., Shigenaga, M.K. and Hagen, T.M., 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of ageing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90, 7915-7922.
- Amin, K.A., Hameid II, H.A. and Abd Elstar, A.H., 2010. Effect of food azo dyes Tartrazine and Carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2994-2999.
- An, Y., Jiang, L., Cao, J., Geng, C. and Zhong L., 2007. Sudan I induces genotoxic effects and oxidative DNA damage in HepG2 cells. *Mutation Research*, 627, 164-170.
- Anonim, 2002. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Gıdalarda kullanılan renklendiriciler tebliği, yetki kanunu, tebliğ no: 2002/55", Resmi Gazete.
- Anonim, 2003. Türk Gıda Mevzuatı. Dünya Yayıncılık, İstanbul, 904-917.
- Anonim, 2012a. <http://www.flickr.com/photos/11304375@N07/2993342324/>
- Anonim, 2012b. <http://www.biolib.cz/en/taxonimage/id101955/?taxonid=116555>
- Ashburner, M. and Wright, T.R.F., 1978. The genetics and biology of *Drosophila*. Volume 2c, Academic Press Limited, London, 617 p.
- Ashburner, M., 1989. *Drosophila*, A laboratory handbook, Department of Genetics, University of Cambridge, Cambridge, UK, 1331pp.
- Ayar A., 2008. *Drosophila melanogaster*'in Oregon R yabanıl ve *Vestigial* mutant soylarında ekstrem sıcaklık şartlarının ömür uzunluğu üzerine etkilerinin araştırılması, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Bağcı, G. ve Bozcuk, A.N., 1991. Ergin *Drosophila*'nın ömür uzunluğuna sıcaklık ve ışığın etkisi. *Doğa- Turkish Journal of Biology*, 15,124-131.
- Bansal, R.C. and Goyal, M., 2005. Activated carbon adsorption, Taylor and Francis Group, Boca Raton.
- Barrou, Z., Charru, P. and Lidy, C., 1997. Dehydroepiandrosterone (DHEA) and ageing. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 24, 233-241.

- Batu, A. ve Molla, E., 2008. Lokum üretiminde kullanılan katkı maddeleri. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 1, 33-36.
- Bhatia, M.S., 2000. Allergy to Tartrazine in psychotropic drugs. Journal of Clinical Psychiatry, 61, 4736.
- Borzelleca, J.F. and Hallagan, J.B., 1987. A chronic toxicity/ carcinogenicity study of FD&C yellow no.5 (Tartrazine) in mice. Food Chemistry Toxicology, 26 (3), 189-194.
- Bozcuk, A.N., 1981. Genetics of longevity in *Drosophila*. The specific and hybridised effects of rolled, sepia, ebony and eyeless autosomal mutants. Experimental Gerontology, 16, 415- 427.
- Bozcuk, A.N., 1983. Ageing and the life span of various *Drosophila* mutants. Hacettepe Bulletin of Natural Sciences and Engineering, 12, 1-13.
- Charlesworth, B., 1994. Evolution in age-structured populations, Cambridge University Press, 320 pp, Cambridge, England.
- Chung, K.T., Fulk, G.E. and Egan, M., 1978. Reduction of azo dyes by intertestinal anaerobes. Applied and Environmental Microbiology, 35, 558-562.
- Chung, K.T., 1983. The significance of azo reduction in the mutagenesis of azo dyes. Mutation Research, 114, 269-281.
- Combes R.D. and Haveland-Smith R.B., 1982. A review of the genotoxicity of food, drug and cosmetic colours and other azo, Triphenylmethane and Xanthene dyes. Mutation Research, 98, 101.
- Coultate, T.P., 1993. Artificial Food Colorants, Food the chemistry of its components 2nd ed., Food Research Institute, 152-158.
- Crosby, N.T., 1981, Food packaging requirements. In Food packaging materials- aspects of analysis and migration of contaminants, pp. 9-18.
- Curtis, B.A., 1966. Ca fluxes in single twitch muscle fibers. Journal of General Physiology, 50, 255.
- Çalışır, Z. ve Çalışkan, D., 2003. Gıda katkı maddeleri ve insan sağlığı üzerine etkileri. Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi, 32, 207-206.
- Dalgıç, B.Ş., Koçak, B., Özsoy-Emecen, G., Bozcuk, A.N., Ünlü, H. ve Saka, B., 2002. Elektromanyetik radyasyonun ergin *Drosophila melanogaster* mutantlarında ömür uzunluğuna etkisi. XVI. Ulusal Biyoloji Kongresi, 2002, Özetler, Malatya.
- David, J., Cohet, Y. and Fovillet, P., 1975. The variability between individuals as a measure of senescence: A study of the number of eggs laid and the percentage of hatched eggs in the case of *Drosophila melanogaster*. Experimental Gerontology, 10, 17-25.
- Demirağ, K. ve Altuğ, T., 1990. İzmir ve çevresinde satılan bazı gıdalardaki sentetik organik boyaların saptanması, Gıda, 19, 31-36.
- Demirsoy, A. ve Bozcuk, A.N., 1997. Ölümün evrimsel öyküsü, Ed.: Gökçe-Kutsal, Y., Çakmakçı, M., Ünal, S., Geriatri, Hekimler Yayın Birliği, Ankara, 1-6.
- Doane, W.W., 1967. Quantitation of amylases in *Drosophila* separated by acrylamide gel electrophoresis, Journal of Experimental Zoology, 164 (3), 363-377.
- Droge, W., 2002. Free radicals in physiological control of cell functions. Physiological Reviews, 82, 47-95.
- Ekşi, A., 1996, Ankara piyasasından sağlanan pasta süsleri ve bazı şekerlerde sentetik boya miktarlarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, Ankara.

- Erkmen, O., 2010. Gıda kaynaklı tehlikeler ve güvenli gıda üretimi. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, 53, 220-235.
- Erdoğan Y., 2008. Çeşitli gıda katkı maddelerinden *Allium cepa* L.'de mitoz bölünme, kromozomlar ve DNA miktarı üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sivas.
- Fışkın, K., Kandemir, S., Hamamcı, D., Yeşilada, E. and Bozcuk, A.N., 1994. Age-Related changes in catalase, glutathione reductase activities, the amount of glutathione in total body of Oregon and *Vestigial Drosophila melanogaster*. Archives of Gerontology and Geriatrics, 4, 85-90.
- Finch, C.E., 1990. Longevity, senescence and the genome. University of Chicago Pres, Chicago.
- Fred, H. and Timothy, J.B., 1997. An analysis of resource allocation in response to dietary yeast in *Drosophila melanogaster*. Journal of Insect Physiology, 43, 779-788.
- Gao, Y., Li, C., Shen, J., Yin, H., An, X. and Jin, H., 2011. Effect of food azo dye Tartrazine on learning and memory functions in mice and rats, and the possible mechanisms involved. Journal of Food Science, 76, 125-129.
- Gonzales, B.M., 1923. Experimental studies on the duration of life. VIII. The influence upon duration of life of certain mutant genes of *Drosophila melanogaster*. The American Naturalist, 57, 289-325.
- Gowen, J.W. and Johanson L.E., 1946. On the mechanism of heterosis. I. Metabolic capacity of different races of *Drosophila melanogaster* for egg production. The American Naturalist, 80, 149-179.
- Gürcan T., 1993. Gıda maddelerinin toksikolojik açıdan değerlendirilmesi. Gıda Sanayii, 7, 29.
- Haldane, J.B.S., 1941. New Paths in Genetics, Allen and Unwin, London.
- Hallström, H., 1987. Colours in food stuffs. Toxicological Aspects Vâr Föda, 39, 415-419.
- Harman, D., 1956. Ageing: A theory based in free radical and radiation chemistry. Journals of Gerontology, 2, 298-300.
- Harman, D., 1981. The ageing process. Proceedings of the National Academy of Sciences. USA, 78, 7124-7128.
- Hemann, M.T., Strong M.A., Hao, L.Y. and Greider, C.W., 2001. The shortest telomere, not average telomere length, is critical for cell viability and chromosome stability. Cell, 107, 67-77.
- Hiasa, Y., Ohshima, M., Kitahori, Y., Konishi, N., Shimoyama, T., Sakaguchi, Y., Hashimoto, H., Minami S. and Kato, Y., 1988. The promoting effects of food dyes Erythrosine (Red 3) and Rose Bengal B (Red 105) on thyroid tumors. Japanese Journal of Cancer Research, 79, 314-319.
- Hughes, K.A., and Charlesworth, B., 1994. A genetic analysis of senescence in *Drosophila*. Nature, 367, 64-66.
- Ito, Y. 2000. Recent state and the investigation of daily intake of food additives in Japan-21 years (1976-1996). Food Sanitation Research, 50, 89-125.
- Jazwinski, S.M., 1996. Longevity, genes, and aging. Science, 273, 54-59.

- Jordens, R.G., Berry, M.D., Gillott, C. and Boulton, A.A., 1999. Prolongation of life in an experimental model of ageing in *Drosophila melanogaster*. *Neurochemical Research*, 24 (2), 227-233.
- Karaali A. ve Özçelik B., 1993. Gıda katkı maddeleri, Gıda katkısı olarak doğal ve sentetik boyalar. *Gıda*, 18, 389-396.
- Keskin H., 1999. Gıda Kimyası, İstanbul Üniversitesi Yayınları, Kimya Fakültesi, No:3, Osman Yalçın Matbaası, (II. Baskı). İstanbul 1525.
- Kılınç, A. ve Kılınç, K., 2003. Nitrik oksitin biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri. *Palme Yayıncılık*, Ankara, 1-9.
- Kirkwood, T.B.L., 2002. Evolution of ageing. *Mechanisms of Ageing and Development*, 123, 737-745.
- Klarsfeld, A. and Rouyer, F., 1998. Effects of circadian mutations and LD periodicity on the lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Biological Rhythms*, 13, 471-478.
- Lanciani, C.A., Anderson, J.F., Giesel, J.T., 1991. Effect of photoperiod on metabolic rate in a subtropical population of *Drosophila melanogaster*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2, 347-348.
- Lansing, A.I., 1952. *Crowdry's problems of ageing* Williams and Wilking Ed: Baltimore, Maryland.
- Larson, K.S., 1975. A teratologic study with the dyes Amaranth and Ponceau 4R in mice. *Toxicology*, 4, 75-82.
- Larsson, A.C. and Nilsson I., 1987. *Faktablad om Fargamnen Var Föda*, 39,43373.
- Lewis, E.B., 1960. A new Standard food medium. *Drosophila Information Service*, 34, 117-118.
- Lints, F.A., 1963. Size in relation to development time and egg density in *Drosophila melanogaster*. *Nature*, 197, 1128-1130.
- Lints, F.A. and Lints, L.V., 1971. Influence of preimaginal environment on fecundity and ageing in *Drosophila melanogaster* hybrids. III. Developmental speed and life span. *Experimental Gerontology*, 6, 427-445.
- Maier, E., Kurz, K., Jenny, M. and Schennach, H., 2010. Food preservatives Sodium Benzoate and Propionic Acid and colorant Curcumin suppress Th1-type immune response *in vitro*. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1950-1956.
- Mamur, S., Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F. ve Yılmaz, S., 2008. Potasyum sorbatın kardeş kromatit değişimi, kromozomal anormallik ve Comet testleri ile genotoksik etkilerinin belirlenmesi. XIX. Ulusal Biyoloji Kongresi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon.
- Masannat, Y.A., Hanby, A., Horgan, K. and Hardie, L.J., 2009. DNA damaging effects of the dyes used in sentinel node biopsy: possible implications for clinical practice. *The Journal of Surgical Research*, 154, 234-238.
- Maynard-Smith, J., 1958. The effects of temperature and of egg- laying on the longevity of *Drosophila subobscura*. *The Journal of Experimental Biology*, 35, 832-842.
- Maynard-Smith, J., 1966. *Theories of ageing*, Ed: P.L. Krohn, Topics in the biology of ageing, New York.
- Medawar, P.B., 1952. An unsolved problem of biology. H.K. Lewis, London, 1-55.
- Mekkawy, H.A., Ali, M.O. and El-Zawahry, A.M., 1998. Toxic effect of synthetic and natural food dyes on renal and hepatic functions in rats. *Toxicology Letters*, 95,155-155.

- Miller, R.S. and Thomas, J.L., 1958. The effects of larval crowding and body size on the longevity of adult *Drosophila melanogaster*. *Ecology*, 39, 118-125.
- Mittal, A., Kurup, L. and Mittal, J., 2007. Freundlich and Langmuir adsorption isotherms and kinetics for the removal of tartrazine from aqueous solutions using hen feathers. *Journal of Hazardous Materials*, 146, 243-248.
- Mobbs, C.V., 1996. Neuroendocrinology of ageing. Ed: Schneider EL, Rowe JW, Handbook of the biology of aging, San Diego (CA), Academic Press, 234-82.
- Moutinho, II D., Bertges, L.C. and Assis, R.V.C., 2007. Prolonged use of the food dye tartrazine (FD&C Yellow No: 5) and its effects on the gastric mucosa of Wistar rats. *Brazilian Journal of Biology*, 67,141-145.
- Mpountoukas, P., Pantazaki, A., Kostareli, E., Christodoulou, P., Kareli, Dimitra., Poliliou, S., Mourelatos, C., Lambropoulou, V. and Lialiaris, T., 2010. Cytogenetic evaluation and DNA interaction studies of the food colorants Amaranth, Erythrosine and Tartrazine. *Food and Chemical Toxicology*, 48,2934-2944.
- Newsome, L., 1986. Food colours. *Food Technology*, 40, 49-56.
- Niraj, K.T., Kalyani, K.P., Nabi, M.J., 1989. Genotoxicity of Tartrazine studied in two somatic assays of *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research*, 224, 479-483.
- Noonan, J.E., Meggos, H. and Furia, T.E., 1980. Synthetic Food Colors, CRC Handbook of Food Additives, Ed: Furia, T.E., CRC Press, 339-383.
- Novoseltsev, V.N., Novoseltseva, J.A., and Yashin, A.I., 2003. What does a Fly's individual fecundity pattern look like? The Dynamics of Resource Allocation in Reproduction and Ageing, *Mechanisms of Ageing and Development*, 124, 605-617.
- Orr, W.C., and Sohal, R.S., 1992. Extension of life- span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*. *Science*, 263, 1128-1130.
- Özcan, M. ve Akgül, A., 1995. Gıdalar için doğal renk maddeleri I, *Gıda*, 20 (4), 209-213.
- Partridge, L. and Fowler, K., 1992. Direct and correlated responses to selection on age at reproduction in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 46, 76-91.
- Partridge, L. and Barton, N.H., 1993. Optimally, mutation and the evolution of ageing. *Nature*, 362, 305-311.
- Partridge, L., 2001. Evolutionary theories of ageing applied to long-lived organisms. *Experimental Gerontology*, 36, 641-650.
- Pearl, R., Parker, S.L. and Gonzales, B.M., 1923. Experimental studies on the duration of life. VII. The Mendelian inheritance of duration of life in crosses of wild type and quinuple stocks of *Drosophila melanogaster*. *American Naturalist*, 57, 153-192.
- Pearl, R., Minner, J.R., and Parker, S.L., 1927. Experimental studies on the duration of life. XI. Density of population and the life duration in *Drosophila*. *American Naturalist*, 61, 289-318.
- Poula, M., Jarrya, G., Elhkim, M.O. and Poula, J.M., 2009. Lack of genotoxic effect of food dyes Amaranth, Sunset Yellow and Tartrazine and their metabolites in the gut micronucleus assay in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 443-448.

- Qui, J. and Hardin, P.E., 1996. Developmental state and the circadian clock interact to influence the timing of eclosion in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Biological Rhythms*, 11, 75-86, 209-214.
- Quirce, S., Cuevas, M., Olaguibel, J.M. and Tabar, A.I., 1994. Occupational asthma and immunologic responses induced by inhaled Carmine among employees at a factory making natural dyes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 93, 44-52.
- Reiter, R.J., 1994. Pineal function during ageing; attenuation of the melatonin rhythm and its neurobiological consequences. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 54, 31-39.
- Renwick A.G., 1995, The use of an additional safety or uncertainty factor for nature of toxicity in the estimation of acceptable daily intake and tolerable daily intake values. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 22, 250.
- Richard, B., Lipton, M.D., 2000. Risk factors and triggers of migraine. *Neurology*, 54, 30278.
- Rose, M.R., 1985. Life-history evolution with antagonistic pleiotropy and overlapping generations. *Theoretical Population Biology*, 28, 342-358.
- Rose, M.R., 1999. Genetics of ageing in *Drosophila*. *Experimental Gerontology*, 34, 577-585.
- Rowe, K.S. and Rowe, K.J., 1994. Synthetic food coloring and behavior: a dose response effect in a double-blind, placebo-controlled, repeated-measures study. *Journal of Pediatrics*, 125,691-698.
- Sadecka, J. and Polonsky, J., 2000. Electrophoretic methods in the analysis of beverages. *Journal of Chromatography A*, 880 243-279.
- Samis, H.V., Erk, F.C. and Baird, M.B., 1971. Senescence in *Drosophila*. *Experimental Gerontology*, 6, 9-18.
- Sarikaya, R. ve Solak, K. 2003. Benzoik Asit'in *Drosophila melanogaster*'de somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile genotoksisitesinin araştırılması. *Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 23,19-32.
- Sarikaya, R., Selvi, M., Akkaya, N., Acar, M. ve Erkoç, F., 2010. Farklı konsantrasyonlardaki gıda boyalarının *Drosophila melanogaster (mwh x flr)*'de yaşama yüzdesi üzerine etkisi. *SDÜ Fen Dergisi*, 5 (1), 38-46.
- Sarikaya, R., Mahmut, S., and Erkoç, F., 2012. Evaluation of potential genotoxicity of five food dyes using the somatic mutation and recombination test. *Chemosphere*, 88, 974-979.
- Sasaki, Y.F. and Kawaguchi, S., 2002. The comet assay with 8 mouse organs result with 39 currently used food additives. *Mutation Research*, 519,103-119.
- Sasaki, Y.F., Kawaguchi, S., Kamaya, A., Ohshita, M., Kabasawa, K., Iwama, K., Taniguchi, K. and Tsuda, S., 2002. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutation Research*, 519,103-119.
- Setsini, E.A., Carlson, J.C. and Allsopp, R., 1991. The effects of ambient temperature on life span, lipid peroxidation, superoxide dismutase, and phospholipase A2 activity in *Drosophila melanogaster*. *Experimental Gerontology*, 26, 385-395.
- Sheeba, V., Sharma, V.K., Shubha, K., Chandrashekar, M.K. and Joshi, A., 2000. The effect of different light regimes on adult life span in *Drosophila*

- melanogaster* is partly mediated through reproductive output. *Journal of Biological Rhythms*, 15 (5), 380-392.
- Shimada, C., Kano, K., Sasaki, Y.F., Sato, I. and Tsuda, S., 2010. Differential colon DNA damage induced by azo food additives between rats and mice. *The Journal of Toxicological Sciences*, 35, 547-554.
- Sokal, R. and Rohlf, F.J., 1995, *Biometry*, 3rd Ed: W.H. Freeman and Company, New York, 887 p.
- Sowbhagya, H.B., Smitha, S., Sampathu, S.R., Krishnamurthy, N. and Bhattachary, S., 2005 Stability of water-soluble turmeric colourant in an extruded food product during storage. *Journal of Food Engineering*, 67, 367-371.
- Stevenson, J., Sonuga-Barke, E., McCann, D., Grimshaw, K., Parker, K.M., Rose-Zerilli, M.J., Holloway, J.W. and Warner, J.O., 2010. The role of histamine degradation gene polymorphisms in moderating the effects of food additives on children's ADHD symptoms. *American Journal of Psychiatry*, 167, 1108-1115.
- Strehler, B.L., 1962. *Time, Cells and Ageing*. Academic Press. New York and London.
- Sudhic, S. and Khanna, S.K., 1991. Toxicological evaluation of permitted food colours. *India Dairy*, 43, 501-550.
- Tanaka, T., Takahashi, O. and Oishi, S., 2008. Effects of Tartrazine on exploratory behavior in a three-generation toxicity study in mice. *Reproductive Toxicology*, 26, 156-63.
- Tatar, M., Promislow, D.E.L., Khazaeli, A.A. and Curtsinger, J.W., 1996. Age specific patterns of genetic variance in *Drosophila melanogaster*. II. covariance with age-specific mortality. *Genetics*, 143, 849-858.
- Taylor, A.J. and Clydesdale, F.M., 1986. Assesment of tinctorial power of food colourants. *Food Chemistry*, 26, 1-10.
- Thakur, B.R. and Arya, S.S., 1993. Stability of Sunset Yellow F.C.F. and Tartrazine in liquid model food system. *Die Nahrung*, 37 (1), 15-19.
- Thorley, G., 1984, Pilot study to assess behavioral and cognitive effects of artificial food colors in a group of retarded children. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 26, 56-61.
- Tower, J., 1996. Ageing mechanisms in fruit flies. *Bioessays*, 18, 799-807.
- Tripathy, N.K., Nabi, M.J., Sahu, G.P. and Kumar, A.A., 1995. Genotoxicity testing of two red dyes in the somatic and germ line cells of *Drosophila*. *Food and Chemical Toxicology*, 33, 923-927.
- Tsuda, S., Murakami, M., Matsusaka, N., Kano, K., Taniguchi, K. and Sasaki, Y.F., 2001. DNA damage induced by red food dyes orally administered to pregnant and male mice. *Toxicological Sciences*, 61, 92-99.
- Uesugi, N., Furumiya, K. and Mizutani, T., 2006. Inhibition mechanism of UDP-Glucuronosyltransferase 1A6 by Xanthene food dyes. *Journal of Health Science*, 52 (5), 549-557.
- Uysal, K.O. and Aral, E., 1998. Teratogenic effects and the role in the etiology of atopic diseases of Erythrosine (FD&C Red No.3). *Turkish Journal of Medical Sciences*, 28, 363-368.
- Uysal, H., Şişman, T. ve Aşkın, H., 2006. *Drosophila* Biyolojisi ve Çaprazlama Yöntemleri (Genişletilmiş 2. Baskı), Atatürk Üniversitesi Yayın No.941,

- Fen-Edebiyat Fakültesi Yayın No:103, Ders Kitapları Serisi No:30, ISBN:975-442-111-0, Fen-Edebiyat Fakültesi Ofset Tesisleri, Erzurum.
- Uysal, H., Altun, D., Aşkın, H. ve Aslan, A., 2008. *Drosophila melanogaster*'de *Usnea longissima* Ach. likeninin su ektresinin ömür uzunluğu üzerine etkisinin araştırılması. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum.
- Uysal, H., Altun, D., Aşkın, H. and Aslan, A., 2009a. Effects of water extract of *Usnea longissima* Ach. on some development stages of *Drosophila melanogaster*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 18, 450-455.
- Uysal, H., Altun, D., Aşkın, H., Aslan, A., 2009b. Effects of water extract of *Usnea longissima* Ach. on the longevity of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Fresenius Environmental Bulletin*, 18, 699-703.
- Uysal, H. ve Semerdöken, S., 2011. Sentetik gıda boyalarının *Drosophila melanogaster*'in Oregon R soyunda larval toksisite ve ergin ömür uzunluğu üzerine etkilerinin belirlenmesi. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 4(1), 71-87.
- Ünlü, H. and Bozcuk, A.N., 1979. Genetics of longevity in *Drosophila* I: The Effects of *w*, *mwh* and *flr* mutant genes in various genotype combinations. *Experimental Gerontology*, 14, 117-124.
- Ünlü, H., 1991. *Drosophila melanogaster* ömür uzunluğunda yellow alellerinin heterozis etkisinin farklı backgroundlarda incelenmesi. *Doğa- Turkish Journal of Biology*, 15, 98-109.
- Veien, N.K. and Krogdahl, A. 1991. Cutaneous vasculitis induced by food additives. *Acta Dermato Venereologica*, 71, 734.
- Vincent, T. and Behbehani, M.M., 2001. Toward a rational understanding of migraine trigger factors. *Medical Clinics of North America*, 85 (4), 911-941.
- Walford, J., 1980. Historical development of food colouration. *Developments in food colours*, Ed: Applied Science publishers, London, 1-25.
- Ward, N.I. 1997. Assessment of chemical factors in relation to child hyperactivity. *Journal of Nutritional & Environmental Medicine*, 7, 333-342.
- Williams, G.C., 1957. Pleiotropy, natural selection and the evolution of senescence. *Evolution*, 11, 398-411.
- Woodhams, C.A. and Hollingsworth, M.J., 1971. The longevity of first and second generation *Drosophila* hybrids. *Experimental Gerontology*, 6, 43-48.
- Yaman, M., 1996. Bazı gıda maddelerine katılan sentetik boyaların miktarlarının araştırılması, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Zou, S., Meadows, S., Sharp, L., Jan, L.Y., and Jon, Y.N., 2000. Genome-wide study of ageing and oxidative stress response in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97 (25), 13726-13731.
- Zwaan, B.J., 1999. The evolutionary genetics of ageing and longevity. *Heredity*, 82, 589-597.

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Erzurum'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Erzurum'da tamamladı. 2005 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nden 2009 yılında mezun oldu. Aynı yıl, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Zooloji Bilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen aynı bölümde öğrenimine devam etmektedir.