

BAZI ÇEVRESEL ÖSTROJENLERİN
***Drosophila melanogaster*'de GELİŞİM BİYOLOJİSİ VE**
ÖMÜR UZUNLUĞU ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF SOME
ENVIRONMENTAL ESTROGENS ON THE DEVELOPMENT
AND LONGEVITY IN
Drosophila melanogaster

EMEL ATLI

Hacettepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
BİYOLOJİ Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

DOKTORA TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

2010

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **BİYOLOJİ ANABİLİM DALI'** nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan :.....
Prof. Dr. A. Nihat BOZCUK

Üye (Danışman) :.....
Prof. Dr. Hacer ÜNLÜ

Üye :.....
Prof. Dr. Sibel SÜMER

Üye :.....
Prof. Dr. Nurhayat BARLAS

Üye :.....
Prof. Dr. Bülent KAYA

ONAY

Bu tez 25 / 06 / 2010 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından tarihinde kabul edilmiştir.

...../...../.....

Prof. Dr. Adil DENİZLİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

BAZI ÇEVRESEL ÖSTROJENLERİN *Drosophila melanogaster*'de GELİŞİM BİYOLOJİSİ VE ÖMÜR UZUNLUĞU ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Emel Atlı

ÖZ

Bu çalışmada, en önemli çevresel östrojenler (endokrin bozucular) olan bisfenol A (BPA), 4-nonilfenol (4-NP) ve 4-tert-oktilfenol (4-tert-OP)'ün *Drosophila melanogaster*'in gelişim biyolojisi (gelişim dönemleri, ortalama yavrudöl sayısı, eşey oranı, yumurta verimi) ve ömür uzunluğuna etkileri araştırılmıştır. *Drosophila melanogaster* larvalarına söz konusu maddeler 0.1mg/l, 1mg/l ve 10mg/l'lik dozlarda uygulanmış ve sonuçlar kontrol gruplarıyla karşılaştırılmıştır.

Gelişim dönemlerinin izlenmesi deneyinde, *Drosophila* larvalarına belirlenen dozlarda BPA, 4-NP ve 4-tert-OP uygulanmış ve larvadan pupaya, pupadan ergine geçiş süreleri ve sayıları tespit edilerek kontrol gruplarıyla karşılaştırılmıştır. Uygulanan maddelerin tüm dozlarında larvadan pupaya, pupadan ergine geçiş yüzdelerinde istatistiksel olarak fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). Bisfenol A'nın uygulanan tüm dozlarında ortalama pupalaşma ve erginleşme süreleri kontrol gruplarına göre uzamıştır ($p<0.05$). Nonilfenolün 1mg/l ve 10mg/l'lik dozları ortalama pupalaşma süresini uzatırken, 0.1mg/l ve 1mg/l'lik dozları ortalama erginleşme süresini kısaltmıştır ($p<0.05$). Oktilfenolün uygulanan tüm dozları ortalama pupalaşma süresini geciktirmiştir ($p<0.05$). 0.1mg/l ve 10mg/l oktilfenol uygulaması ortalama erginleşme zamanını uzatırken, 1mg/l'lik uygulama bu süreyi kısaltmıştır ($p<0.05$). Çevresel östrojenler olarak bilinen bu kimyasalların *Drosophila*'nın ortalama yavrudöl sayısına ve eşey oranına etkisi, uygulama görmüş larvalardan gelişen dişilerin yavruları incelenerek araştırılmıştır. Kontrol gruplarına göre 0.1mg/l ve 1mg/l BPA uygulama gruplarının yavrudöl sayılarında anlamlı bir azalma ($p<0.05$) gözlenmiştir. Nonilfenol ve oktilfenol uygulamaları yavrudöl sayısında anlamlı bir değişime neden olmamıştır ($p>0.05$). Uygulanan maddelerin tüm dozları eşey oranında anlamlı bir değişime yol açmamıştır ($p>0.05$). BPA, 4-NP ve 4-tert-OP'nin günlük ortalama yumurta verimine etkileri, uygulama görmüş larvalardan gelişen *Drosophila* dişilerinde araştırılmış ve bu

maddelerin tüm dozlarının yumurta verimini kontrole göre azalttığı ($p<0.05$) saptanmıştır. Çevresel östrojenlerin ömür uzunluğuna etkisi uygulama görmüş larvalardan gelişen *Drosophila* dişi ve erkeklerinde araştırılmıştır. 1mg/l ve 10 mg/l BPA uygulaması dişilerin, 1mg/l uygulaması erkeklerin ömrünü kontrole göre kısaltırken, 0.1mg/l BPA uygulaması erkeklerin ömrünü uzatmıştır ($p<0.05$). 10mg/l NP uygulaması dişilerin ömrünü kısaltırken ($p<0.05$), uygulanan tüm dozlarda erkeklerin ömür uzunluğunda anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0.05$). Oktifenol uygulamaları ise dişilerin ömür uzunluğunda anlamlı bir fark ortaya çıkarmamış ($p>0.05$), ancak 0.1mg/l'lik uygulama erkeklerin ömrünü kısaltmıştır ($p<0.05$). Böylece, çevresel östrojenler olarak bilinen bu kimyasalların *Drosophila melanogaster*'in gelişim biyolojisini, yumurta verimini ve ömür uzunluğunu çeşitli şekillerde etkileyebileceği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Drosophila melanogaster*, çevresel östrojenler, bisfenol A, 4-nonilfenol, 4-tert-oktilfenol, gelişim biyolojisi, yavru döl sayısı, eşey oranı, yumurta verimi, ömür uzunluğu.

Danışman: Prof. Dr. Hacer ÜNLÜ, Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF SOME ENVIRONMENTAL ESTROGENS ON THE DEVELOPMENT AND LONGEVITY IN *Drosophila melanogaster*

Emel Atlı

ABSTRACT

In this study, the effects of bisphenol A (BPA), 4-nonylphenol (4-NP) and 4-tert-octylphenol (4-tert-OP), which are the most important environmental estrogens (endocrine disrupters), on the development (developmental stages, mean offspring numbers, sex ratios, fecundity) and life span of *Drosophila melanogaster* have been investigated. Larvae of *D. melanogaster* were exposed to 0.1mg/l, 1mg/l and 10mg/l of BPA, 4-NP and 4-tert-OP. The results were compared with the control groups.

In the experiments regarding developmental stages, *Drosophila* larvae were exposed to BPA, 4-NP and 4-tert-OP, then amount and duration of transition to pupae and pupae to adults were determined. Comparisons were made with the control groups. No differences were found in the percentage of pupation and maturation in all doses of these chemicals ($p>0.05$). It was found that the mean pupation and maturation durations were increased in all BPA exposed groups ($p<0.05$). In addition, it was determined that there was a delay in the mean pupation time of 1mg/l and 10mg/l 4-NP exposure groups, but a decrease in the mean maturation time of 0.1mg/l and 1mg/l 4-NP exposure groups ($p<0.05$). The mean pupation time was delayed with the treatment of 4-tert-OP exposures in all doses ($p<0.05$). The mean maturation time was increased in the groups of 0.1mg/l and 10mg/l octylphenol exposures but it was decreased with 1mg/l octylphenol exposure ($p<0.05$). The effects of these environmental estrogens upon the mean offspring number and the sex ratio of *Drosophila* were examined by using the offsprings of females which had been exposed as larvae. In the 0.1mg/l and 1mg/l BPA exposure groups, the mean offspring numbers were significantly less than that of the control groups ($p<0.05$). Nonylphenol and octylphenol exposures were

not caused statistically significant differences from the control groups in the mean offspring numbers ($p < 0.05$). No differences were found in relation to the sex ratios of all doses of all these chemicals ($p < 0.05$). The effects of BPA, 4-NP and 4-tert-OP on the daily fecundity were searched by using the females which had been exposed to mentioned chemicals as larvae. It was found that all these environmental estrogens were caused to a decrease the mean fecundity as compared to the control groups of all exposed doses ($p < 0.05$). The effects of these chemicals on the life span were also investigated by usage of *D. melanogaster* females and males which had been exposed as larvae. 1mg/l and 10mg/l BPA exposures were caused a decrease in the life span of females ($p < 0.05$). However the life span of males were increased with 1mg/l BPA exposure, but it was decreased with 0.1mg/l BPA exposure ($p < 0.05$). Although 10mg/l 4-NP exposure were caused a decrease in the life span of females ($p < 0.05$), no differences were found the life span of males in all 4-NP exposure groups ($p > 0.05$). It was also found that 4-tert-OP exposures didn't have any effect on the life span of females ($p > 0.05$), but 0.1mg/l 4-tert-OP exposure was decreased the life span of males ($p < 0.05$).

Thus, it was found that these environmental estrogens affected to some extend developmental biology, fecundity and life span of *Drosophila melanogaster* in various ways.

Keywords: *Drosophila melanogaster*, environmental estrogens, bisphenol A, 4-nonylphenol, 4-tert-octylphenol, developmental biology, offspring number, sex ratio, fecundity, life span.

Advisor: Prof. Dr. Hacer ÜNLÜ, Hacettepe University, Department of Biology, General Biology Section

TEŞEKKÜR

Çalışmamın gerçekleşmesi esnasında bilgi, öneri ve deneyiminden yararlandığım tez danışmanım sayın Prof. Dr. Hacer Ünlü'ye,

Tecrübe ve önerilerinden faydalandığım sayın Prof. Dr. A. Nihat Bozcuk ve sayın Prof. Dr. Sibel Sümer'e,

Pratik çalışmalardaki yoğun desteğinden ve tezimin her aşamasında gösterdiği özveri ve hoşgöründen dolayı sevgili eşim Kurtuluş Atlı'ya

Sevgileri ve destekleriyle her zaman yanımda olan, beni bugünlere getiren sevgili anne ve babama,

Doktora öğrenciliğim sırasında beni Yurt İçi Doktora Bursu ile desteklemiş olan TÜBİTAK Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı'na,

Tez çalışmamı 106T631 nolu hızlı destek projesi ile maddi olarak destekleyen TÜBİTAK Temel Bilimler Araştırma Grubu'na,

Tezin basımı sırasında verdiği maddi katkı nedeniyle Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi'ne,

Çalışmalarım sırasındaki hoşgörülü yaklaşımlarından dolayı tüm akademik ve idari personele,

Teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZ	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2. 1. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in Yaşam Döngüsü.....	3
2. 1. 1. Yumurta	3
2. 1. 1. 1. Yumurta oluşumu	4
2. 1. 2. Larva	6
2. 1. 3. Pupa.....	7
2. 1. 4. Ergin.....	7
2. 1. 4. 1. Eşey tarağı	8
2. 1. 4. 2. Abdomen şekli ve rengi	8
2. 2. Gelişim Dönemleri ve Yumurta Verimini Etkileyen Faktörler	9
2. 2. 1. Dış (çevresel) etkenler.....	9
2. 2. 1. 1. Sıcaklık.....	9
2. 2. 1. 2. Beslenme.....	10
2. 2. 1. 3. Populasyon yoğunluğu	11
2. 2. 1. 4. Nem oranı.....	11
2. 2. 2. İç etkenler	12
2. 2. 2. 1. Genetik yapı	12
2. 2. 2. 2. Yaş	12
2. 3. Yaşlanmanın Tanımı ve Yaşlanma Teorileri	13
2. 3. 1. Mutasyon birikimi teorisi	13
2. 3. 2. Antagonistik pleiotropi teorisi	14
2. 4. Ömür Uzunluğunu Etkileyen Faktörler	14
2. 4. 1. Dış (çevresel) etkenler	14
2. 4. 1. 1. Sıcaklık	14
2. 4. 1. 2. Beslenme	15
2. 4. 1. 3. Populasyon yoğunluğu	16
2. 4. 1. 4. Radyasyon	16
2. 4. 2. İç etkenler	17
2. 4. 2. 1. Anasal yaş	17
2. 4. 2. 2. Çiftleşme ve Yumurta üretimi (fekundite)	17
2. 4. 2. 3. Eşeylik	18
2. 4. 2. 4. Genetik yapı	18
2. 5. Böceklerde Endokrin Sistem ve Hormonların Görevleri	20
2. 5. 1. Endokrin (Hormon) Merkezleri	20
2. 5. 2. Böcek Hormonları	22
2. 5. 2. 1. Ektisteroidler	22
2. 5. 2. 2. Jüvenil hormonlar (JH)	24
2. 5. 2. 3. Nörohormonlar	25
2. 6. Endokrin Bozucular (Çevresel Östrojenler)	25

2. 6. 1. Bisfenol A (BPA)	26
2. 6. 1. 1. Bisfenol A'nın yapısı ve kullanım alanları	26
2. 6. 1. 2. Bisfenol A'nın omurgasızlar üzerine biyolojik etkileri	27
2. 6. 2. Nonilfenol (NP)	32
2. 6. 2. 1. Nonilfenolün yapısı ve kullanım alanları	32
2. 6. 2. 2. Nonilfenolün omurgasızlar üzerine biyolojik etkileri	33
2. 7. 3. Oktilfenol (OP)	36
2. 7. 3. 1. Oktilfenolün yapısı ve kullanım alanları	36
2. 4. 3. 2. Oktilfenolün omurgasızlar üzerine biyolojik etkileri	37
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	40
3. 1. Kullanılan Organizma.....	40
3. 2. Deney Koşulları	40
3. 2. 1. Çevre koşulları	40
3. 2. 2. Besiyerinin hazırlanması.....	41
3. 2. 3. Bayıltma yöntemi.....	42
3. 3. Larva Toplama	42
3. 4. Bisfenol A, 4-Nonilfenol ve 4-tert-Oktilfenol Çözeltilerinin Hazırlanışı ve Uygulamaların Yapılışı	43
3. 5. Gelişim Dönemlerinin İzlenmesi	43
3. 6. Günlük Ortalama Yavru Döl Sayısının ve Eşey Oranının Saptanması	43
3. 7. Günlük Ortalama Yumurta Veriminin Saptanması	44
3. 8. Ömür Uzunluğunun Saptanması	44
3. 9. İstatistiksel Yöntemler	45
4. BULGULAR	46
4. 1. Bisfenol A'nın <i>Drosophila melanogaster</i> Gelişimine Etkileri	46
4. 1. 1. Bisfenol A'nın Pupa Oluşumuna Etkisi	46
4. 1. 1. 1. Larvadan pupaya geçiş oranları	46
4. 1. 1. 2. Larvadan pupaya geçiş süreleri	47
4. 1. 2. Bisfenol A'nın Ergin Oluşumuna Etkisi	48
4. 1. 2. 1. Pupadan ergine geçiş oranları	48
4. 1. 2. 2. Pupadan ergine geçiş süreleri	49
4. 1. 3. Bisfenol A'nın Günlük Yavru Döl Sayısı Ortalamasına ve Eşey Oranına Etkisi	51
4. 1. 4. Bisfenol A'nın Günlük Yumurta Verimi Ortalamasına Etkisi	52
4. 1. 5. Bisfenol A'nın Ömür Uzunluğuna Etkisi	54
4. 2. 4-Nonilfenolün <i>Drosophila melanogaster</i> Gelişimine Etkileri	58
4. 2. 1. 4-Nonilfenolün Pupa Oluşumuna Etkisi	58
4. 2. 1. 1. Larvadan pupaya geçiş oranları	58
4. 2. 1. 2. Larvadan pupaya geçiş süreleri	59
4. 2. 2. 4-Nonilfenolün Ergin Oluşumuna Etkisi	60
4. 2. 2. 1. Pupadan ergine geçiş oranları	60
4. 2. 2. 2. Pupadan ergine geçiş süreleri	61
4. 2. 3. 4-Nonilfenolün Günlük Yavru Döl Sayısı Ortalamasına ve Eşey Oranına Etkisi	62
4. 2. 4. 4-Nonilfenolün Günlük Yumurta Verimi Ortalamasına Etkisi	64
4. 2. 5. 4-Nonilfenolün Ömür Uzunluğuna Etkisi	66
4. 3. 4-tert-Oktilfenolün <i>Drosophila melanogaster</i> Gelişimine Etkileri	69
4. 3. 1. 4-tert-Oktilfenolün Pupa Oluşumuna Etkisi	69
4. 3. 1. 1. Larvadan pupaya geçiş oranları	69

4. 3. 1. 2. Larvadan pupaya geçiş süreleri	70
4. 3. 2. 4-tert-Oktilfenolün Ergin Oluşumuna Etkisi	71
4. 3. 2. 1. Pupadan ergine geçiş oranları	71
4. 3. 2. 2. Pupadan ergine geçiş süreleri	72
4. 3. 3. 4-tert-Oktilfenolün Günlük Yavru Dl Sayısı Ortalamasına ve Eşey Oranına Etkisi	74
4. 3. 4. 4-tert-Oktilfenolün Günlük Yumurta Verimi Ortalamasına Etkisi	75
4. 3. 5. 4-tert-Oktilfenolün mr Uzunluğuna Etkisi	77
5. TARTIşMA.....	81
KAYNAKLAR.....	96

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2. 1. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in yaşam döngüsü	3
Şekil 2. 2. <i>Drosophila melanogaster</i> yumurtaları	4
Şekil 2. 3. Yumurta çemberinin şematik gösterimi	5
Şekil 2. 4. Yumurta çemberi.....	5
Şekil 2. 5. <i>Drosophila melanogaster</i> 3. evre larvaları	6
Şekil 2. 6. <i>Drosophila melanogaster</i> pupaları	7
Şekil 2. 7. <i>Drosophila melanogaster</i> ergin bireyleri	8
Şekil 2. 8. Eşey tarağı	8
Şekil 2. 9. Erkek ve dişi birey	9
Şekil 2. 10. Böceklerde endokrin system	21
Şekil 2. 11. Böceklerde hormon salgılanması	22
Şekil 2. 12. Ektizon hormonun sentez basamakları	23
Şekil 2. 13. Gelişim basamakları üzerine ektizonun etkisi	24
Şekil 2. 14. Bisfenol A'nın moleküler yapısı	27
Şekil 2. 15. Nonilfenolün moleküler yapısı	32
Şekil 2. 16. Oktilfenolün moleküler yapısı	37
Şekil 4. 1. Kontrol (K), Aseton kontrol (AK), 0.1 mg/l (B1), 1 mg/l (B2) ve 10 mg/l (B3) BPA uygulama gruplarında pupalaşma süresinin değişimi	48
Şekil 4. 2. Kontrol (K), Aseton kontrol (AK), 0.1 mg/l (B1), 1 mg/l (B2) ve 10 mg/l (B3) BPA uygulama gruplarında erginleşme süresinin değişimi	50
Şekil 4. 3. Farklı dozlarda BPA uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyunda bir dişinin günlük ortalama yumurta veriminin zamana bağlı değişimi	54
Şekil 4. 4. BPA uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyu dişilerinin ortalama ömür uzunluğu eğrileri	56

Şekil 4. 5. BPA uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyu erkeklerinin ortalama ömür uzunluğu eğrileri	57
Şekil 4. 6. Kontrol (K), Aseton kontrol (AK), 0.1 mg/l (N1), 1 mg/l (N2) ve 10 mg/l (N3) 4-NP uygulama gruplarında pupalaşma süresinin değişimi	60
Şekil 4. 7. Kontrol (K), aseton kontrol (AK), 0.1 mg/l (N1), 1 mg/l (N2) ve 10 mg/l (N3) 4-NP uygulama gruplarında erginleşme süresinin değişimi	62
Şekil 4. 8. Farklı dozlarda 4-NP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyunda bir dişinin günlük ortalama yumurta veriminin zamana bağlı değişimi	65
Şekil 4. 9. 4-NP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyu dişilerinin ortalama ömür uzunluğu eğrileri	67
Şekil 4. 10. 4-NP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyu erkeklerinin ortalama ömür uzunluğu eğrileri	68
Şekil 4. 11. Kontrol (K), aseton kontrol (AK), 0.1 mg/l (O1), 1 mg/l (O2) ve 10 mg/l (O3) 4-tert-OP uygulama gruplarında pupalaşma süresinin değişimi	71
Şekil 4. 12. Kontrol (K), aseton kontrol (AK), 0.1 mg/l (O1), 1 mg/l (O2) ve 10 mg/l (O3) 4-tert-OP uygulama gruplarında erginleşme süresinin değişimi	73
Şekil 4. 13. Farklı dozlarda 4-NP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyunda bir dişinin günlük ortalama yumurta veriminin zamana bağlı değişimi	76
Şekil 4. 14. 4-tert-OP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyu dişilerinin ortalama ömür uzunluğu eğrileri	78
Şekil 4. 15. 4-tert-OP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyu erkeklerinin ortalama ömür uzunluğu eğrileri	80

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2. 1. Bisfenol A'nın bazı kimyasal özellikleri	27
Çizelge 2. 2. Nonilfenolün bazı kimyasal özellikleri	33
Çizelge 2. 3. Oktilfenol'ün bazı kimyasal özellikleri	37
Çizelge 3. 1. <i>Drosophila</i> besiyeri içeriği	41
Çizelge 3. 2. <i>Drosophila</i> besiyerinde kullanılan asit karışımı	41
Çizelge 4. 1. Larvadan pupaya geçiş oranlarının BPA uygulama dozlarına göre değişimi	46
Çizelge 4. 2. Larvadan pupaya geçiş değerlerinin varyans analizine göre önem dereceleri ($p>0.05$).....	47
Çizelge 4. 4. Pupadan ergine geçiş oranlarının BPA uygulama dozlarına göre değişimi	49
Çizelge 4. 5. Pupadan ergine geçiş değerlerinin varyans analizine göre önem dereceleri ($p>0.05$).....	49
Çizelge 4. 6. Kontrol ve BPA uygulama gruplarında ortalama erginleşme süreleri	50
Çizelge 4. 7. BPA uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyunda bir dişinin günlük ortalama yavru döl sayısı	51
Çizelge 4. 8. BPA uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyunda eşey oranları	52
Çizelge 4. 9. BPA uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyunda bir dişinin günlük ortalama yumurta verimi	53
Çizelge 4. 10. BPA uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyu dişilerinin ortalama ömür uzunlukları	55
Çizelge 4. 11. BPA uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyu erkeklerinin ortalama ömür uzunlukları	56
Çizelge 4. 12. Larvadan pupaya geçiş oranlarının 4-NP uygulama dozlarına göre değişimi	58

Çizelge 4. 13. Larvadan pupaya geçiş değerlerinin varyans analizine göre önem dereceleri ($p>0.05$)	58
Çizelge 4. 14. Kontrol ve 4-NP uygulama gruplarında ortalama pupalaşma süreleri.....	59
Çizelge 4. 15. Pupadan ergine geçiş oranlarının 4-NP uygulama dozlarına göre değişimi	61
Çizelge 4. 16. Pupadan ergine geçiş değerlerinin varyans analizine göre önem dereceleri ($p>0.05$)	61
Çizelge 4. 17. Kontrol ve 4-NP uygulama gruplarında ortalama erginleşme süreleri	61
Çizelge 4. 18. 4-NP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyunda bir dişinin günlük ortalama yavru döl sayısı	63
Çizelge 4. 19. 4-NP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyunda eşey oranları	64
Çizelge 4. 20. 4-NP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyunda bir dişinin günlük ortalama yumurta verimi	65
Çizelge 4. 21. 4-NP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyu dişilerinin ortalama ömür uzunlukları	66
Çizelge 4. 22. 4-NP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyu erkeklerinin ortalama ömür uzunlukları	68
Çizelge 4. 23. Larvadan pupaya geçiş oranlarının 4-tert-OP uygulama dozlarına göre değişimi	69
Çizelge 4. 24. Larvadan pupaya geçiş değerlerinin varyans analizine göre önem dereceleri ($p>0.05$)	70
Çizelge 4. 25. Kontrol ve 4-tert-OP uygulama gruplarında ortalama pupalaşma süreleri	70
Çizelge 4. 26. Pupadan ergine geçiş oranlarının 4-tert-OP uygulama dozlarına göre değişimi	72
Çizelge 4. 27. Pupadan ergine geçiş değerlerinin varyans analizine göre önem dereceleri ($p>0.05$)	72

Çizelge 4. 28. Kontrol ve 4-tert-OP uygulama gruplarında ortalama erginleşme süreleri	73
Çizelge 4. 29. 4-tert-OP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyunda bir dişinin günlük ortalama yavru döl sayısı	74
Çizelge 4. 30. 4-tert-OP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyunda eşey oranları	75
Çizelge 4. 31. 4-tert-OP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyunda bir dişinin günlük ortalama yumurta verimi	76
Çizelge 4. 32. 4-tert-OP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyu dişilerinin ortalama ömür uzunlukları	77
Çizelge 4. 33. 4-tert-OP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) <i>D. melanogaster</i> Oregon soyu erkeklerinin ortalama ömür uzunlukları	79

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

20-E	20-hidroksiiektizon
BPA	Bisfenol A
EC ₁₀	%10 Effective Concentration (%10 Etkili Konsantrasyon)
g/cm ³	Gram/santimetreküp
g/mol	Gram/mol
LC ₅₀	%50 Lethal Concentration (%50 Öldürücü Konsantrasyon)
mg/L	Miligram/Litre
µg/L	Mikrogram/Litre
µg/kg	Mikrogram/kilogram
µM	Mikromolar
ng/L	Nanogram/Litre
NaCl	Sodyum klorür
NP	Nonilfenol
OP	Oktilfenol
ppm	Parts per million (Milyonda bir birim)
p-t-OP	p-tert-oktilfenol
SOD	Süperoksit dismutaz
Vtg	Vitellogenin
WWF	World Wildlife Fund (Dünya Doğal Hayatı Koruma Vakfı)

1. GİRİŞ

Gelişim, genel anlamda, döllenmiş bir yumurtanın bölünme ve farklılaşma ile zaman içindeki biyolojik değişimi sonucu, oldukça karmaşık ve bağımsız organlar sistemine dönüşmesini içine alan bir olgudur. Diğer bir deyişle gelişim, bir organizmanın büyümesi sırasında artan kompleksliğe yol açan düzenli değişimler dizilimidir.

Gelişim biyolojisi, uzun yıllardan beri çeşitli organizmalar kullanılarak araştırılmaktadır. *Drosophila melanogaster*, çok sayıda yavru döl vermesi, kısa ömürlü olması, kullanım kolaylığı ve küçük yapılı olması gibi nedenlerden dolayı biyolojik çalışmalarda en sık kullanılan organizmalardan biridir.

D. melanogaster, yaşam döngüsünde, yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere dört farklı evreye sahip holometabol bir böcektir. Sıcaklık, nem, beslenme, populasyon yoğunluğu gibi dış etkenler ile genetik yapı, yaş gibi iç etkenler *D. melanogaster*'in biyolojik özelliklerini farklı şekillerde etkileyebilmektedir (Lints and Lints, 1971a; David et al., 1975; Economos and Lints, 1984; Yonemura et al., 1991; Foley and Luckinbill, 2001).

Modern üretim tekniklerinin sonucu olarak geçmiş elli yıl boyunca çeşitli kimyasallar üretilip çevreye salınmışlardır. Çevresel östrojenler (ksenoöstrojenler) de bu zararlı kimyasal gruplarından biridir. Genel olarak endokrin bozucular olarak da isimlendirilen çevresel östrojenler, hayvanlarda ve insanlarda östrojen hormonu gibi davranabilen sentetik kimyasallardan ve doğal bitki bileşiklerinden oluşmaktadır. Östrojenik bileşiklerin çoğu, özel bir amaç için üretilmekte ya da bir yan ürün olarak ortaya çıkmaktadır veya pestisit, plastik, boya, temizlik malzemelerinin yapımında kullanılmaktadır. İnsanlar, hava, su, toprak, yiyecekler, birçok tüketim maddesi (deterjanlar, boyalar vb.) ve ev araç gereçleri yoluyla bu maddelere maruz kalabilmektedir. Bu bileşiklerin yaygın kullanımının ve çeşitliliğinin sonucu olarak başta insan olmak üzere balık, kuş vb. hayvanlarda pek çok istenmeyen etki ortaya çıkmaktadır.

Son yıllardaki raporlar, doğada bulunan çok sayıdaki endokrin bozucu kimyasalın, birçok hayvandaki normal hormon fonksiyonunu bozma yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir. Hormon taklitçisi bu kimyasalların etkilerini tespit etmek için yapılan çalışmaların çoğu omurgalılar üzerine yoğunlaşmıştır. Omurgasızlar üzerine olan etkiler ve etki mekanizmaları hakkındaki bilgiler sınırlıdır ve ancak son 10 yıllık süre zarfında araştırılmaya başlanmıştır. Oysa ki omurgasızlar, hayvanlar alemindeki bilinen türlerin %95'inden daha fazlasını temsil eder ve ekosistemin yapısı ve fonksiyonu için çok önemlidir (Hutchinson, 2002; Oetken et al., 2004).

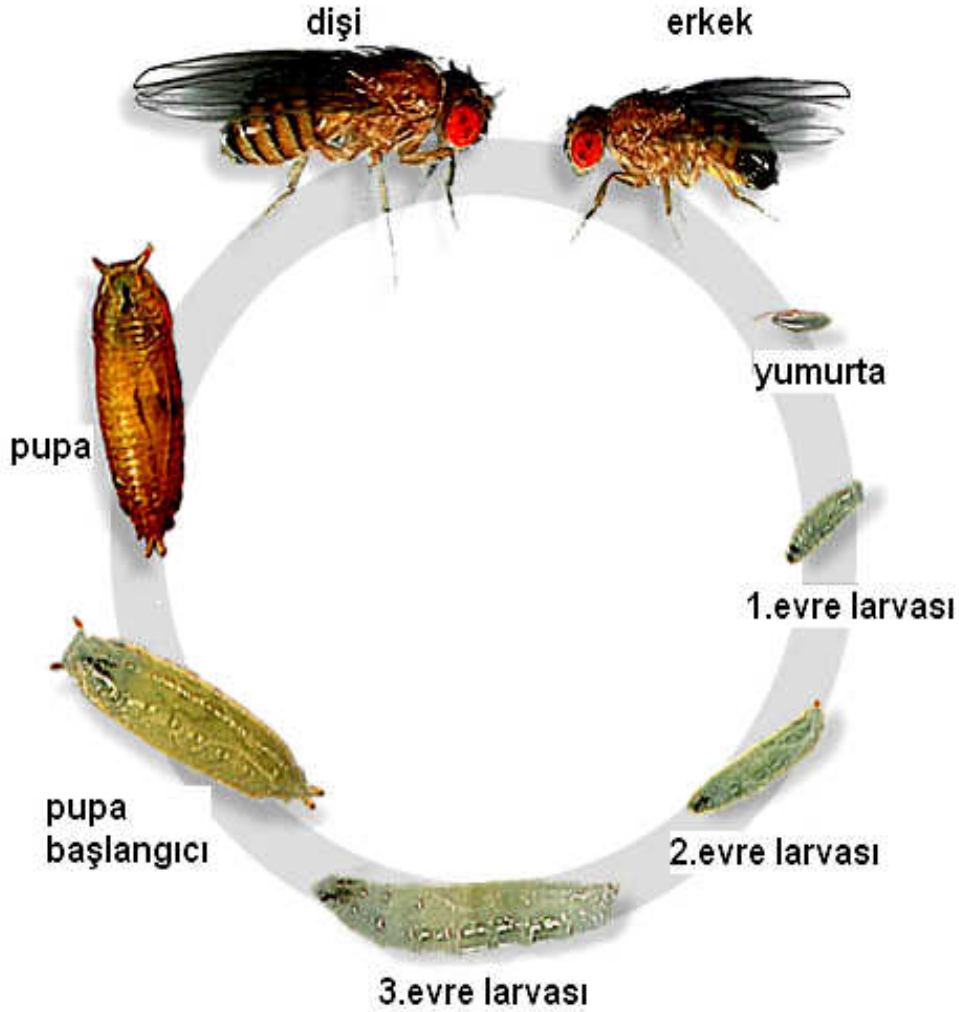
Bisfenol A (BPA) ve alkilfenoller, yüksek seviyedeki üretimleri ve yaygın kullanımları nedeniyle dikkatleri üzerine toplayan en önemli endokrin bozucu kimyasallardır. Bisfenol A, plastik üretiminde, yiyecek kutularındaki koruyucu kaplamalarda, diş dolgularında kullanılan bir kimyasaldır. Alkilfenoller ise plastikler, deterjanlar gibi endüstriyel ve evsel tüketim maddelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Xu et al., 2005).

Bu çalışmada, bisfenol A ve en önemli alkilfenoller olan 4-tert-oktilfenol ve 4-nonilfenol *Drosophila melanogaster*'e 0.1mg/L, 1mg/L ve 10mg/L'lik dozlarda uygulanmış ve bu maddelerin *Drosophila*'nın gelişim biyolojisi (gelişim zamanı, viabilite, eşey oranı, yavru döl sayısı, yumurta verimi) ve ömür uzunluğu üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Birinci deney grubunda *D. melanogaster*'in yabanıl Oregon soyu larvalarına 0.1mg/L, 1mg/L ve 10mg/L'lik dozlarda bisfenol A, 4-tert-oktilfenol ve 4-nonilfenol uygulanmıştır. Larvadan pupaya, pupadan ergine geçiş süreleri ve sayıları 4 saatlik periyotlarla takip edilmiştir. Birinci deney grubundaki larvalardan gelişen virjin dişiler ile ikinci deney grubu kurulmuş bisfenol A, 4-tert-oktilfenol ve 4-nonilfenolün ortalama yavru döl sayısına ve eşey oranına etkisi araştırılmıştır. Üçüncü deney grubunda, yabanıl Oregon soyu larvalarına bisfenol A, 4-tert-oktilfenol ve 4-nonilfenol uygulanmış ve bu larvalardan gelişen erginlerde günlük ortalama yumurta verimindeki farklar araştırılmıştır. Dördüncü deney grubunda ise, yabanıl Oregon soyu larvalarına bisfenol A, 4-tert-oktilfenol ve 4-nonilfenol uygulanmış ve bu larvalardan gelişen ergin bireyler kullanılarak söz konusu kimyasalların *Drosophila melanogaster*'in ömür uzunluğuna olan etkileri saptanmaya çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2. 1. *Drosophila melanogaster*'in Yaşam Döngüsü

Drosophila melanogaster, yaşam döngüsünde yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere dört farklı evreye sahip holometabol bir böcektir (Şekil 2. 1).

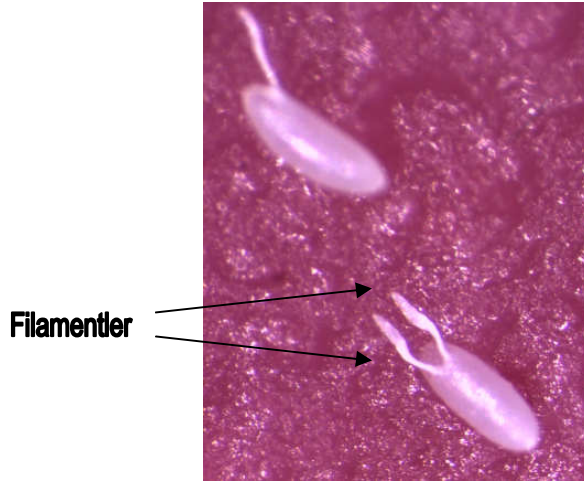


Şekil 2. 1. *Drosophila melanogaster*'in yaşam döngüsü (<http://flymove.uni-muenster.de>).

2. 1. 1. Yumurta

Drosophila melanogaster yumurtaları, ventral yüzü yuvarlak, dorsal yüzü ise daha düz olmak üzere yaklaşık 0.5 mm boyunda, 0.2 mm eninde oval şekillidir. Dorsal bölgenin ön ucunda yumurtaların ıslak besiyerine batmasını engelleyen ve

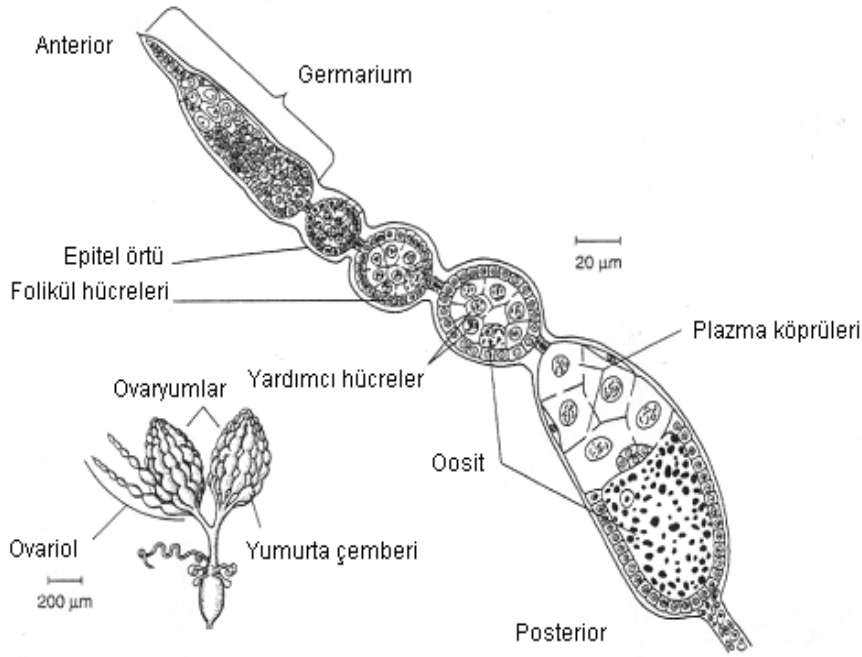
yaşamsal öneme sahip oksijenin alınmasından sorumlu iki adet filament bulunur (Şekil 2. 2). Filamentler, tüm yumurtayı çevreleyen koruyucu kabuk, koryonun uzantılarıdır. Koryonun içinde, yumurtaya süt beyazı görüntüsünü veren ışık yansımalarına neden olan hava ile dolu süngerimsi bir tabaka vardır (Graf et al., 1992). Döllenmiş yumurtalar, çiftleşmeden hemen sonra bırakılır. *Drosophila melanogaster*'de yumurtalar 25°C'de 22 – 24 saat içinde açılır ve larva çıkar (Graf et al., 1992).



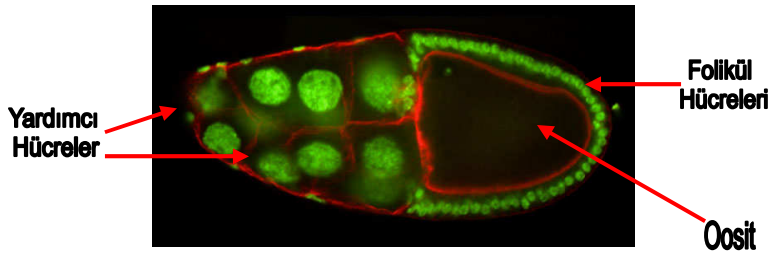
Şekil 2. 2. *Drosophila melanogaster* yumurtaları

2. 1. 1. 1. Yumurta oluşumu

Yumurta oluşumu (oogenez), ovaryumların ovarioelleri içinde gerçekleşir. Normal bir dişi, toplam 40 ovarioelden oluşan 2 tane ovaryuma sahiptir. Oogenez, diploid bir oogonium ile başlar. Oogonium, 16 hücrelik bir yığın oluşturacak şekilde mitotik olarak bölünür (Şekil 2. 3). Yığın içindeki bireysel hücreler birbirlerine plazma köprüleri ile bağlanmıştır (Graf et al., 1992; Kalthoff, 1996). Yığın büyürken yumurta çemberi adı verilen yapı meydana gelir (Şekil 2. 4). Yumurta çemberi, bir oosit, 15 yardımcı hücre ve folikül hücre tabakasından oluşur. Yardımcı hücreler, besin sağlayarak oositin büyümesine yardım eder (Browder et al., 1991; Fulga and Rorth, 2002). Büyüme fazının sonunda oosit, başlangıç hacminin yaklaşık 100.000 katına ulaşır. Daha sonra yardımcı hücreler dejenere olur ve folikül hücreleri koryonu salgılar. Birkaç gün içinde oosit olgunlaşır. Mayoz başlar fakat metafaz I'de kalır. Mayoz ancak döllenme gerçekleşirse tamamlanır.



Şekil 2. 3. Yumurta çemberinin şematik gösterimi (Kalthoff, 1996).



Şekil 2. 4. Yumurta çemberi (Pokrywka, 2008)

Döllenme sırasında, dişinin uterusu içine transfer edilen spermmler, reseptakulum seminalis (seminal havuz) ve spermateka (sperm deposu)'ya aktarılarak depolanırlar (Tyler, 2000). Yumurta, uterusu ilerlerken döllenir ve döllenmiş yumurta hemen besiyerine bırakılır. Döllenme mayozun devamını sağlar ve yaklaşık 15 dakika içinde mayoz tamamlanır. Mayotik bölünme sonucu meydana gelen dişi pronükleusu, erkeğe ait pronükleus ile birleşerek zigotu oluşturur. Embriyonik gelişim, zigotun arka arkaya mitotik bölünmesi ile yumurtadan larva çıkana kadar sürer (Graf et al., 1992).

2. 1. 2. Larva

Larvalar, yumurtadan yaklaşık 22 – 24 saat sonra çıkarlar ve hemen beslenmeye başlarlar. Larva, 1 baş, 3 toraks ve 8 abdomen olmak üzere 12 segmentten oluşur. Larvaların vücut duvarı oldukça yumuşak ve esnektir (Şekil 2. 5). Vücut duvarı, dışta ince bir ekzokutikula ve kalın bir endokutikula, içte ise bir epidermis tabakasından oluşur (Graf et al., 1992). 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 1gün, 2. evre 1 gün, 3. evre ise 2 gün sürer. Birinci dönemdeki larva (L1), besiyeri yüzeyinde beslenir ve yalnızca L2 aşamasına geçtikten sonra besiyerinin içine girmeye başlar. Larvalar besiyeri içinde tüneller kazarak beslenirler, bu sırada sadece posterior bölge yüzeydedir. *Drosophila melanogaster* larvaları, normal gelişimleri boyunca, ağırlıklarının yaklaşık 3-5 katı kadar beslenirler. Larvaların pupalaşmaya geçebilmeleri için belirli bir ağırlığa (eşik ağırlık) ulaşmaları gerekmektedir. Larvalar beslenmelerini tamamlayıp yaklaşık 0.3 mg'lık eşik ağırlığa ulaştıklarında besiyerini terkederler ve pupalaşma için kuru bir yere (kültür şişesinin duvarına) geçerler. *D. melanogaster*'de bu aşamadan 24 saat sonra (25°C), pupalaşma başlar (Ashburner, 1989).



Şekil 2. 5. *Drosophila melanogaster* 3. evre larvaları

2. 1. 3. Pupa

Besiyerini terk ederek kültür şişesinin duvarına tırmanan larvalar, ağız kısımları aşağıya doğru gelecek şekilde yerleşerek pupalaşmaya başlarlar (Graf et al., 1992). Ergin çıkana kadar hareketsiz hayvanı çevreleyen sertleşmiş kütikülden oluşan larval örtüye “puparium” denir. Puparium oluşumu, larval gelişimin son birkaç saatinde meydana gelen ektisteroid hormon miktarındaki artış ile başlar. Puparium ilk oluştuğunda, yumuşak ve beyazdır (Ashburner, 1989). Yaklaşık iki saat sonra sarıya, sonra da kahverengine dönüşür (Şekil 2. 6). Kahverengileşme sürerken puparium sertleşir (Graf et al., 1992). Pupalaşma, puparium oluşumundan yaklaşık 12 saat, yumurta bırakıldıktan 120 saat sonra meydana gelir (Ashburner, 1989). Sinekler metamorfoz evrelerini pupa içinde geçirirler. Larval doku ve organlar parçalanır, tükrük bezleri, yağ doku, bağırsak ve kaslar tamamen ayrışır. Beyin ve malpigi tüpleri ayrışmaz, fakat yapısal olarak değişikliğe uğrar. Farklılaşmamış hücre grupları (histoblastlar) ve imajinal disklerden ergin vücut yapıları oluşur. (Graf et al., 1992).



Şekil 2. 6. *Drosophila melanogaster* pupaları

2. 1. 4. Ergin

Pupadan ergin çıkması için yaklaşık 4-5 gün gereklidir. Pupadan yeni çıkmış erginlerin kanatları açılmamıştır, uzun, ince ve kısmen pigmentsiz vücutları vardır. Kanatların açılması pupadan çıktıktan sonra bir saat içinde, pigmentasyon ise 2-3

saat içinde gerçekleşir. *Drosophila melanogaster*'in dişileri pupadan çıktıklarında eşeysel olgunluğa erişmemiştir, 5-6 saat sonra eşeysel olgunluğa erişir ve çiftleşme yeteneğini kazanırlar (Ashburner, 1989; Graf et al., 1992). Dişi ve erkekler, eşey tarağı, abdomen şekli ve rengi gibi morfolojik farklılıklara sahiptir (Şekil 2. 7).



Şekil 2. 7. *Drosophila melanogaster* ergin bireyleri

2. 1. 4. 1. Eşey tarağı

Erkek bireylerde, birinci çift bacağın ilk tarsal segmenti üzerinde 10 adet kısa kalın kıldan oluşan ve “eşey tarağı” adı verilen bir yapı vardır (Şekil 2. 8). Bu yapı, çiftleşme sırasında erkeğin dişiye kavraması için gereklidir ve dişilerde yoktur.



Şekil 2. 8. Eşey tarağı (<http://flymove.uni-muenster.de>).

2. 1. 4. 2. Abdomen şekli ve rengi

Dişiler 7 abdominal segmente sahipken, erkeklerde yalnızca 5 abdominal segment mevcuttur. Erkeklerde abdomenin posterior kısmı siyah renklidir (Şekil 2. 9).

Bunun nedeni sondaki segmentlerde pigment miktarının fazla olmasıdır. Diğer taraftan, erkeklerde abdomenin posterior sonu yuvarlakken, dişilerde anal plakanın yaptığı çıkıntı nedeniyle sivridir (Graf et al., 1992).



Şekil 2. 9. Erkek ve dişi birey

2. 2. Gelişim Dönemleri ve Yumurta Verimini Etkileyen Faktörler

Drosophila'nın yaşam döngüsü, yumurta verimi ve ömür uzunluğunu sıcaklık, beslenme, populasyon yoğunluğu, nem oranı gibi dış etkenler ile genetik yapı ve yaş gibi iç etkenlerden etkilenmektedir.

2. 2. 1. Dış (çevresel) etkenler

2. 2. 1. 1. Sıcaklık

Böcekler soğukkanlı (poikilothermal) olduklarından metabolik hızları çevresel sıcaklıklardan büyük oranda etkilenmektedir. Belli sıcaklık sınırları içerisinde yaşayabilen soğukkanlı hayvanların metabolik ısıları çevresel sıcaklığın yükselmesi ile artmakta, düşmesi ile azalmaktadır (Bağcı, 1983).

Gelişim sıcaklığının birinci etkisi gelişim süresi üzerinedir. *Drosophila melanogaster*'de 25°C'de zigotun ergine dönüşmesi 9-10 gün sürer. Daha yüksek sıcaklıklar bu süreyi kısaltırken daha düşük sıcaklıklarda gelişim süresinin uzadığı görülmüştür (Lints and Lints, 1971a,b; Economos and Lints, 1984; Ashburner, 1989).

Al-Saffar ve arkadaşları (1995, 1996), düşük sıcaklıklarda embriyonik, larval ve pupal gelişimin uzadığını rapor etmişlerdir. Bu durum, gelişim ile ilgili çeşitli biyokimyasal aşamaların hızı üzerine sıcaklığın etkisinin bir sonucudur. Sıcaklık azaldığında canlılardaki biyosentez reaksiyonları yavaşlar ve gelişim süreleri uzar. Bununla beraber düşük sıcaklıklarda larvaların beslenme periyodu uzar. Bunun nedeni besinin etkili bir şekilde kullanılamamasıdır (Economos and Lints, 1984).

Gelişim sıcaklığının, günlük ortalama yumurta verimi üzerine olan etkileri araştırıldığında en yüksek yumurta veriminin 25°C'de olduğu gözlenmiştir. Daha yüksek ve daha düşük sıcaklıklarda günlük ortalama yumurta veriminin azaldığı belirtilmektedir (Lints and Lints, 1971b). Huey ve arkadaşları (1995), *D. melanogaster*'in yumurta veriminin, sıcaklıktan nasıl etkilendiğini araştırmış ve 25°C'de tutulan sineklerin 18°C'de tutulanlara göre daha erken ve daha fazla yumurta bıraktığını gözlemişlerdir.

Sıcaklığın diğer bir etkisi, ergin büyüklüğü üzerinedir. Lints ve Lints (1971c) tarafından yapılan çalışmada, gelişim sıcaklığındaki düşüşün ergin büyüklüğünde artışa neden olduğu kaydedilmiştir.

2. 2. 1. 2. Beslenme

Böceklerde beslenme gelişimi etkileyebilmektedir. Uygun olmayan besiyeri gelişim süresini uzatır ve vücut büyüklüğünü azaltır (Ashburner, 1989). Özellikle larval yoğunluğun fazla olduğu ortamlarda, nitrojenli artıkların özellikle de amonyağın birikimi ile ortam koşulları fizyolojik stres yaratır ve beslenme azalır. Böylece yeteri kadar beslenemeyen larvaların pupalaşma için gerekli eşik ağırlığa ulaşması gecikir ve gelişim süresi uzar (Foley and Luckinbill, 2001).

Beslenmenin yumurta verimi üzerine de etkisi vardır. Protein bulunmayan ortamlarda, örneğin sükrözlu besiyerinde, uzun süre tutulan *Drosophila*'larda yumurta veriminin azaldığı ya da durduğu rapor edilmiştir (Ashburner, 1989). Acosta ve Goni (2000), dişilerin fekunditesinin besin ortamından etkilendiğini ve yumurtlama süreci boyunca dişileri iyi beslemenin çok önemli olduğunu belirtmişlerdir. Good ve Tatar (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, şeker/maya

diyetinden mayanın çıkarılmasının *Drosophila*'nın yumurta bırakmasını engellediği rapor edilmiştir. Benzer şekilde, Chippindale ve arkadaşları (1993) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, beslenme ortamındaki maya azaltıldığında fekunditenin de azaldığı belirlenmiştir.

2. 2. 1. 3. Populasyon yoğunluğu

Gelişim üzerine larval yoğunluğunun etkisini araştıran çalışmalarda, yoğunluğun rekabeti arttırarak gelişimi yavaşlattığı ve vücut büyüklüğünü azalttığı rapor edilmektedir (Lints and Lints, 1969, 1971b; Economos and Lints, 1984; Yonemura et al., 1991; Foley and Luckinbill, 2001).

Artan populasyon yoğunluğu *Drosophila* ve *Musca*'da larval ve pupal yaşayabilirliği (viabilite) de azaltmaktadır. Populasyon yoğunluğunun fazla olduğu ortamlarda larvalar, pupalaşma için gereken eşik ağırlığa ulaşamazlar ve larval ölümler gerçekleşir. Bununla beraber, kalabalık ortamlarda gelişen larvalar pupalaşsalar bile yeteri kadar besin depo edemedikleri için pupal ölümler de meydana gelebilmektedir (Ashburner, 1989; McIntyre and Gooding, 2000).

Larval populasyon yoğunluğuna bağlı olarak günlük ortalama yumurta verimi de değişmektedir. Larval yoğunluk arttığında, bu larvalardan gelişen erginlerin yumurta verimi azalmaktadır (Lints and Lints, 1969, 1971b).

2. 2. 1. 4. Nem oranı

Drosophila larva ve pupalarının neme olan duyarlılığı soylar ve türler arasında çeşitlilik göstermesine karşın birçok *Drosophila* türünün normal gelişimi için yüksek nem oranı gereklidir (Ashburner, 1989).

Al-Saffar ve arkadaşları (1995, 1996) yaptıkları çalışmalarda, pupaların yaşayabilmesi ve normal olarak gelişebilmesi için nemin % 55'in altına inmemesi ve en uygun nem oranının % 60 – 100 arasında olması gerektiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca kademeli olarak değişen nemin *D. melanogaster*'in gelişim süresi üzerine bir etkiye sahip olmadığını bildirmişlerdir.

Larvaların beslendiği ortamın nem içeriği, ergin *D. melanogaster* ve *D. hydei*'nin vücut büyüklüğünü, pupal yaşayabilirliği ve bireylerin gelişim süresini etkilemektedir (Hodge, 2001). Bu çalışmada, çok kuru ve çok nemli ortamlarda pupaların yaşayabilirliğinin azaldığı ve larvaların gelişim süresinin kısaldığı tespit edilmiştir.

2. 2. 2. İç etkenler

2. 2. 2. 1. Genetik yapı

Bir organizmanın yaşam periyodu ve toplam yumurta verimi onun sahip olduğu genetik özellikler ve organizmanın etrafını çeviren çevresel etkenlerin etkileşimi ile belirlenir. Çevre kontrol edildiğinde, organizmanın değişik soylarında görülen gelişim periyotları ve yumurta verimlerindeki çok belirgin farklar genetik etmenlere bağlanır (Keller, 1964; McMillan et al., 1970; Lints and Lints, 1971b; Yeşilada, 1988).

Yapılan çalışmalarda, farklı *Drosophila* türlerinin gelişim dönemleri, yavru döl sayıları ve yumurta verimleri incelenmiş ve incelenen türler arasında ölçülen özellikler bakımından farklılıklar gözlenmiştir. Bu sonuçlar türlerin farklı genetik özelliklerine bağlanmıştır (Yeşilada, 1988; Yeşilada ve Bozcuk, 1991). Gelişim hızı ve yumurta verimi üzerine genetik özelliklerin etkisini araştıran bir çalışmada, heterozigotluk arttığında gelişimin hızlandığı ve yumurta veriminin arttığı tespit edilmiştir (Keller and Mitchell, 1964).

2. 2. 2. 2. Yaş

Drosophila'nın günlük yumurta üretimi yaşam boyu sabit kalmaz. David ve arkadaşları (1975), *D. melanogaster*'de yumurta üretiminin yaşa bağlı olarak düşüş gösterdiğini ve bu düşüşün yaşlanmaya bağlı olarak hücre bölünmesinin yavaşlaması nedeniyle ortaya çıktığını bildirmişlerdir.

Yapılan başka bir araştırmada, yaşlı dişi sineklerin yavrularının genç dişilerinkilere oranla daha düşük bir yaşayabilirlik oranına sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, genç dişilere ait yumurtaların %88.3'ünün açıldığı ancak yaşlı dişilere ait olanlarda bu oranın %76.6 olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca yaşlı bireylerden

meydana gelen larvaların gelişim hızının genç bireylerden meydana gelenlere göre daha yavaş olduğu da belirtilmiştir (Mcintyre and Gooding, 2000).

2. 3. Yaşlanmanın Tanımı ve Yaşlanma Teorileri

Yaşlanma tüm hayvan türlerini etkileyen evrimsel bir süreçtir. Bir organizmanın genetiği, çevresi ve yaşam biçimi arasındaki etkileşimler yaşlanmaya neden olur (Bozcuk ve Özsoy, 2002). Yaşlanmanın kesin bir tanımı olmasa da bu terim farklı araştırmacılar tarafından değişik açılardan ele alınarak tanımlanmaya çalışılmıştır. Comfort (1959)'a göre yaşlanma (senesens) bozulan bir süreçtir. Ölçülen şey, yaşayabilirlikteki azalma ve zarar görülebilirlikteki artmadır. Yaşlanma hızı, farklı türlerde ve aynı türün farklı soylarında farklıdır. Başka bir tanıma göre yaşlanma, “genetik bir programla düzenlenen ve organizmayı yapısal ve fonksiyonel değişimlerle ölüme götüren olaylar toplamıdır” şeklinde tanımlanabilir (Bozcuk, 1981). Rose'un tanımına göre (1991) ise yaşlanma, “ içsel fizyolojik bozukluklar nedeniyle organizmanın yaşa bağlı uyum (fitness) bileşenlerindeki (hayatta kalma olasılığı ya da reproduktif verimlilik) devamlı bir azalmadır” (Avisé, 1993).

Bilimsel olarak yaşlanmayı anlayabilmek için birçok teori ortaya atılmıştır. Bugün bilim çevrelerinde en çok benimsenen teoriler, mutasyon birikimi ve antagonistik pleiotropi teorileridir (Tower, 1996).

2. 3. 1. Mutasyon birikimi teorisi

Medawar (1952) tarafından ortaya atılan bu teorinin merkezindeki fikir, doğal seleksiyon baskısının yaşla birlikte azalmasıdır. Bir popülasyonda etkisini erken yaşta gösteren bir mutasyon varsa bu mutasyon, popülasyonun büyük bir çoğunluğunu etkileyeceğinden yok edilmesi için güçlü bir seleksiyon baskısı oluşacak ve popülasyondan hızla elimine edilecektir. Ancak bu mutasyon etkisini geç yaşlara kadar göstermezse, bu mutasyonu taşıyan birçok birey daha mutasyon ifade edilmeden çoğalmış ve bu mutasyonu yavrularına aktarmış olacaktır. Böylece bu mutasyonlar için seleksiyon baskısı daha düşük olacaktır. Evrim sürecinde bu geç etkili mutasyonlar bir nesilden diğerine geçerek birikebilecek ve bu geç mutasyonların kümülatif etkisi yaşlanmaya yol açabilecektir

(Partridge and Barton, 1993; Tower, 1996; Rose, 1999; Zwaan, 1999; Partridge, 2001; Bozcuk ve Özsoy, 2002; Gavrilov and Gavrilova, 2002).

2. 3. 2. Antagonistik pleiotropi teorisi

Williams (1957) tarafından ortaya atılan bu teoriye göre, yaşamın erken dönemlerinde yararlı etkileri olan genler, geç dönemlerde zararlı etkiler gösterebilmektedir. Böylece, yaşamın erken dönemlerinde üreme başarısı ya da hayatta kalma gibi uyum (fitness) karakterleri üzerine olumlu etkileri olan, ancak ilerleyen yaşla beraber olumsuz etkiler sergileyen genler pozitif olarak seçilecek ve yaşlanmaya neden olacaktır (Luckinbill et al., 1984; Tower, 1996; Rose, 1999; Zwaan, 1999; Bozcuk ve Özsoy, 2002; Gavrilov and Gavrilova, 2002). Örneğin, erken fekundite gösteren *Drosophila* soylarında ömür uzunluğunda azalma gözlenirken (Luckinbill et al., 1984; Zwaan, 1999; Partridge, 2001), erken fekunditesi bastırılmış soylarda yaşlanmanın ertelendiği ve dolayısıyla ömrün uzadığı saptanmıştır (Rose and Charlesworth, 1980, 1981; Rose, 1984). Sokal (1970) tarafından *Tribolium castaneum* (un biti) ile yapılan bir çalışmada, *Drosophila* ile benzer sonuçlar ortaya çıkmış ve erken yaşlardaki üremenin *Tribolium*'un ömrünü kısalttığı bulunmuştur. Tüm bu sonuçlar, azalmış erken fekundite ile ertelenmiş yaşlanma arasında pleiotropik bir etkileşim olduğunu ortaya koymakta ve bu teoriyi desteklemektedir.

2. 4. Ömür Uzunluğunu Etkileyen Faktörler

Drosophila'nın ömür uzunluğu, sıcaklık, beslenme, radyasyon, populasyon yoğunluğu gibi dış etkenler ile anasal yaş, fekundite, eşeylik ve genetik yapı gibi iç etkenlerden etkilenmektedir (Ünlü and Bozcuk, 1979a, 1979b; Ünlü, 1991a, 1991b, 1991c; Bağcı ve Bozcuk, 1991; Memmi and Ünlü, 2007).

2. 4. 1. Dış (çevresel) etkenler

2. 4. 1. 1. Sıcaklık

Poikilotermik (soğukkanlı) canlıların, özellikle de böceklerin metabolik hızları çevresel sıcaklıktan büyük ölçüde etkilenir. Bu canlıların ömür uzunlukları, çevresel sıcaklığın yükselmesiyle kısalmaktadır. Diğer bir deyişle, ömür

uzunluğuyla sıcaklık ters orantılıdır (Bağcı vd., 1990; Bağcı ve Bozcuk, 1991; Sestini et al., 1991).

Maynard Smith (1958) tarafından yapılan bir çalışmada, farklı sıcaklıkların (20, 25, 30.5 ve 33°C) *Drosophila subobscura*'nın ömür uzunluğu üzerine etkileri araştırılmış ve sıcaklık arttıkça ömür uzunluğunun azaldığı saptanmıştır. Lints ve Lints (1971a), 16, 19, 22, 25, 28 ve 31°C'lerde gelişimlerini tamamlayan bireylerin ömür uzunluklarını 25°C'de ölçmüş ve düşük sıcaklıklarda gelişimini tamamlayan bireylerin ömür uzunluğunun yüksek sıcaklıklarda gelişenlere göre daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Sestini ve arkadaşları (1991) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, *D. melanogaster*'in ömür uzunluğu 19, 24 ve 29°C'lerde ölçülmüş ve ömür uzunluğunun sıcaklıkla ters orantılı olduğu saptanmıştır.

Bağcı ve arkadaşları (1990) tarafından *D. melanogaster* ile yapılan bir çalışmada, minimum sıcaklık dalgalanmalarının ömür uzunluğu üzerine etkisi araştırılmıştır. Yeni besiyerine transfer sırasında etüvde tutulan ve dışarı çıkarılan bireylerin ömür uzunlukları karşılaştırıldığında, transfer sırasında 28°C'deki etüvden 10 dakik a için 20-22°C'ye çıkarılan bireylerin daha uzun yaşadığı saptanmıştır. Bu bulgu sıcaklığın ömür uzunluğu üzerinde oldukça etkili olduğunu göstermesi açısından önemlidir.

2. 4. 1. 2. Beslenme

Maya, nematod, *Drosophila* ve kemirgenleri içeren birçok organizmanın ömür uzunluğu besinsel kısıtlama ile artabilmektedir (Min and Tatar, 2006). Organizmanın besinsel durumu ve bunun üreme üzerine etkisi ömür uzunluğunun belirlenmesinde anahtar bir rol oynamaktadır (Piper et al., 2005). Yapılan çeşitli çalışmalarda, besinsel kısıtlamanın ömür uzunluğuna etkisi araştırılmıştır. Chippindale ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (1993), *Drosophila* besiyerinde maya miktarını azaltarak besinsel kısıtlama uygulamış ve besinsel kısıtlamaya maruz kalan bireylerin kontrol gruplarına göre daha uzun ömürlü olduğunu belirlemiştir. Bununla beraber, besinsel kısıtlama altındaki bireylerin kontrole göre açlık stresine daha dayanıklı olduğu saptanmıştır. Benzer bir çalışmada, *Drosophila*'nın besi ortamındaki maya miktarı değiştirilmiş (%1, %2,

%4, %8, %16) ve bireylerin ömür uzunlukları belirlenmiştir. Besi ortamındaki maya miktarı %2'den %16 doğru arttıkça ortalama ömür uzunluğunun azaldığı bulunmuştur. %1 maya eksik beslenmeye (açlık) neden olduğu için değerlendirilmeye alınmamıştır (Min and Tatar, 2006). Mair ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada (2003), yüksek besin içerikli kontrol besiyerinde gelişen bireyler düşük besin içerikli besiyerine, düşük besin içerikli ortamda gelişenler ise kontrol besiyerine aktarılmıştır. 48 saat sonra sinekler bulundukları yeni ortamlara adapte olmuş ve kontrol sineklerinin ölüm oranı azalırken, düşük besin içerikli ortamda gelişen sineklerin ölüm oranı artmıştır.

2. 4. 1. 3. Populasyon yoğunluğu

Ömür uzunluğunu etkileyen faktörlerden biri de populasyon yoğunluğudur. *Drosophila*'da populasyon yoğunluğunun etkilerini incelemek için yapılan çalışmalarda özellikle larval yoğunluğun erginlerin ömür uzunluğu üzerine etkileri araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda, ergin öncesi evredeki larval yoğunluğun erginlerin geç ve küçük çıkmasına yol açtığı ve küçük bireylerin normallere göre daha uzun yaşamasına neden olduğu saptanmıştır. Böylece, larval yoğunluk artışı ile ergin vücut büyüklüğünün azaldığı ve ömür uzunluğunun arttığı bildirilmiştir (Miller and Thomas, 1958; Lints and Lints, 1969; Luckinbill and Clare, 1986). Bu çalışmaların aksine Graves ve Mueller (1993) artan populasyon yoğunluğunun besin kaynaklarında azalma, fiziksel çevrenin değişimi ve hastalık gibi birçok mekanizma ile ömür uzunluğunu azaltacağını belirtmişlerdir.

2. 4. 1. 4. Radyasyon

Ergin sineklerin somatik hücrelerinin bölünerek yenilenmemesi (Bozcuk, 1972) radyasyona dayanıklılık nedenlerinden birisidir. Düşük radyasyon dozunun bazı durumlarda ömür uzunluğunu arttırabildiğini gösterilmiştir (Lamb, 1964). Yüksek dozdeki radyasyon ise somatik mutasyon birikimine neden olarak ve canlı vücudundaki birçok yapı ve molekülü bozarak ömür uzunluğunu azaltır (Ashburner and Wright, 1978).

2. 4. 2. İç etkenler

2. 4. 2. 1. Anasal yaş

Anasal yaş ömür uzunluğunu belirleyici bir rol oynar. Lansing (1947, 1948) tarafından rotiferlerle yapılan çalışmalarda yaşlı analardan gelişen kuşakların gelişim hızının dölden döle giderek birikimli bir etki göstererek arttığı ve ömür uzunluğunun giderek azaldığı gösterilmiştir. Anasal yaş arttıkça yavru dölün ömür uzunluğunun azalması “Lansing etkisi” olarak bilinmektedir ve bu etki pek çok araştırmacı tarafından test edilmiştir. Örneğin, Hercus ve Hoffman (2000) tarafından yapılan bir çalışmada, anasal yaşın yaşayabilirlik üzerine olan etkisi *Drosophila serrata*’da araştırılmıştır. Yavru dölün yaşayabilirliğinin artan anasal yaş ile azaldığı saptanmıştır. Bu çalışmada, farklı çevrelerin ömür uzunluğuna etkisi de incelenmiş ve genç annelerin yavru dölllerinin çevresel strese (besinsel kısıtlama ve soğuk uygulaması) yaşlı annelerinkinden daha dayanıklı olduğu ve daha uzun yaşadığı belirlenmiştir. Kern ve arkadaşları (2001), anasal yaş arttıkça yavru döl ömür uzunluğunun azalmasını, annede geç yaşlarda etkili olan zararlı mutasyonların etkisine bağlamışlardır. Bu çalışmaların aksine Yılmaz ve arkadaşları (2008) tarafından *D. melanogaster* ile yapılan bir çalışmada, annenin yaşı ile yavru dölün ömür uzunluğu arasında bir ilişki olmadığı ve tipik bir Lansing etkisinin bulunmadığı saptanmıştır.

2. 4. 2. 2. Çiftleşme ve Yumurta üretimi (fekundite)

Çiftleşme ve yumurta üretimi yaşlanmayı etkileyen faktörlerdendir. Genel olarak, çiftleşme ve yüksek seviyelerdeki yumurta üretiminin dişilerin hayatta kalış oranını düşürdüğü belirtilmektedir (Tatar and Promislow, 1997). Bu konuda yapılan çalışmaların birinde Tatar ve arkadaşları (1993), çiftleşme ve yumurta üretiminin bir arı türü olan *Callosobruchus maculatus* dişilerinde yaşa özgü mortalite oranını artırdığını ve senesensi hızlandırdığını belirlemişlerdir. *Drosophila melanogaster* ile yapılan bir çalışmada, erken yumurta üretiminde düşüş meydana geldiğinde dişilerin mortalite hızının ve erken mortalite oranının azaldığı saptanmıştır (Sgro and Partridge, 1999).

Drosophila melanogaster erkekleriyle yapılan bir çalışmada, üremenin mortalite oranını etkilediği bulunmuştur. Bu çalışmaya göre üreyen erkeklerin mortalite oranı

üremeyen erkeklerinkine göre daha fazladır (Miyo and Charlesworth, 2004). Benzer bir çalışmada, çiftleşmenin erkek *Drosophila*'ların ömrünü kısalttığı saptanmıştır (Prowse and Partridge, 1997). Diğer bir çalışmada ise çiftleşmenin *D. melanogaster*'in yabanıl tip Oregon (OR) ve Canton S (CS) soylarının ömür uzunluğu üzerine etkisi araştırılmıştır. Çiftleşmiş CS erkekleri çiftleşmemiş olanlara göre daha uzun yaşarken, çiftleşmiş dişiler virjin olanlara göre daha kısa ömürlü olarak belirlenmiştir. Benzer sonuçlar OR dişileri için de saptanırken erkeklerde herhangi bir fark bulunmamıştır (Iliadi et al., 2009).

2. 4. 2. 3. Eşeylik

Eşey ile ömür uzunluğunun etkileşimini araştıran çalışmalarda genellikle *Drosophila* erkeklerinin dişilere göre daha kısa ömürlü oldukları görülür. Lints ve arkadaşlarının (1983) yaptığı araştırma sonucunda, dişilerin genelde erkeklerden daha uzun yaşadığı sonucuna varılmıştır. Ancak çeşitli *Drosophila* soylarıyla yapılan araştırmaların bu genellemeyi zayıflattığı görülmüştür. Örneğin, Iliadi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (2009), *D. melanogaster*'in Oregon soyu dişilerinin erkeklerine göre daha uzun ömürlü olduğu saptanmıştır. Ancak araştırılan Canton S soyunda böyle bir fark gözlenmemiştir. Ünlü (1991c) tarafından yapılan bir çalışmada ise, Oregon soyu erkekler dişilerden daha uzun yaşarken *vermillion* ve *miniature* mutantlarının dişileri erkeklerden daha uzun yaşamıştır.

2. 4. 2. 4. Genetik yapı

Hücreyi ve dolayısıyla organizmayı yöneten molekül olan DNA üzerindeki genler ve bu genlerdeki bazı değişimler ömür uzunluğunda etkili olmaktadır. Genlerin ömür uzunluğu üzerindeki etkisini araştırmaya yönelik birçok çalışma bulunmaktadır. Örneğin, Lin ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (1998) ömür uzunluğu arttırılmış ve çeşitli streslere dayanıklı hale getirilmiş *methuselah* (*mth*) isimli *Drosophila* mutantında ömür uzunluğunun %35 oranında arttığı gözlenmiştir. Benzer bir çalışmada, *Drosophila melanogaster*'in, P elementi insersiyon soyunda, *mth* geninin ömür uzunluğunu arttırdığı tespit edilmiştir. Ancak, yabanıl tip *mth* geninin ömür uzunluğunu azaltan etkisinin de olduğu ve bu etkinin genin negatif pleiotropik etkisinden kaynaklandığı belirtilmiştir (Partridge, 2001). Rogina ve

arkadaşları tarafından *Drosophila melanogaster* kullanılarak yapılan bir başka çalışmada (2000) ise, tek bir gendeki bağımsız beş P-elementi insersiyon mutasyonunun, fertilité ve fiziksel aktivitede herhangi bir azalma olmaksızın ortalama ergin ömür uzunluğunu %40-80 oranında artırdığı bulunmuştur. Bu genin ürünü “*Indy*” (I’m not dead yet) olarak isimlendirilmiştir. *Drosophila* ile yapılan başka bir çalışmada, bir P elementi olan EF-1α’nın yerleştirildiği transgenik soylarda ömür uzunluğunun arttığı gözlenmiştir (Kaiser et al., 1997; Rose, 1999). Clancy ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (2001) ise “*chico*” geninde meydana gelen bir mutasyonun *Drosophila*’nın ortalama ömür uzunluğunu %48, maksimum ömür uzunluğunu ise %41 oranında arttırdığı saptanmıştır.

Orr ve Sohal (1994) tarafından *Drosophila* ile yapılan bir çalışmada, reaktif oksijen türevlerini (ROS) ortadan kaldıran süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz enzimlerini kodlayan genlerin aktarıldığı transgenik bireylerde ömür uzunluğunun arttığı saptanmıştır. Yine bu çalışmada, Cu-Zn SOD veya katalazın tek başına overekspresyonunun ortalama ömrü %10 oranında artırdığı gösterilmiştir. Yapılan benzer bir çalışmada, Cu-Zn SOD overekspresyonu *Drosophila*’nın ömür uzunluğunu %48 oranında artırmıştır (Sun and Tower, 1999). Parkes ve arkadaşları (1998) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise, ergin insan motor nöronlarından elde edilen SOD 1 (Cu-Zn SOD)’in aktarılması ile elde edilen transgenik *Drosophila*’larda, SOD 1’in overekspresyonunun ömür uzunluğunu %40’ın üzerinde arttırdığı görülmüştür.

Bozcuk ve arkadaşları (2004) tarafından *D. melanogaster* ile yapılan bir çalışmada, alkol dehidrogenaz (*Adh*) polimorfizminin ömür uzunluğuna etkileri araştırılmıştır. *Adh*^{FS} genotipindeki bireylerin *Adh*^{FF} ve *Adh*^{SS} bireylerden daha uzun yaşadığı ve *Adh* lokusundaki varyasyonun ömür uzunluğu ile ilişkili olduğu saptanmıştır.

Bir nematod olan *Caenorhabditis elegans* üzerinde yapılan araştırmalarda, *age-1*, *age-2*, *gro-1*, *daf-23*, *daf-2*, *clk-1* gibi bazı genlerin, ömür uzunluğunu önemli oranda değiştirdiği bulunmuştur. Örneğin, *age-2* mutasyonunun ortalama ömür uzunluğunu %17, maksimum ömür uzunluğunu ise %21 oranında artırdığı, *age-1* ve *age-2* mutasyonunu aynı anda taşıyan bireylerin ise normal bireylere göre iki

kat daha uzun yaşadıkları belirlenmiştir (Yang and Wilson, 1999). Larsen ve arkadaşları (1995) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise, *daf-2* ve *daf-23* gen mutasyonlarını taşıyan bireylerin ömür uzunluklarının yabanıl bireylere göre iki kat arttığı saptanmıştır.

Drosophila'da mutantlar, yabanıl tip ve hibridler (melezler) arasında yapılan ömür uzunluğu çalışmalarında, ömür uzunluğu hibrid bireylerde en fazla iken, mutantlarda en az olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar ışığında, hibridizasyonun ömür uzunluğunda önemli bir artışa neden olduğunu ve birbirinden farklı genetik altyapıya sahip bireylerin daha uzun yaşadığı belirtilmiştir (Bozcuk, 1977, 1978, 1981; Ünlü and Bozcuk, 1979a, 1979b; Ünlü, 1991a, 1991b).

2. 5. Böceklerde Endokrin Sistem ve Hormonların Görevleri

Çok küçük miktarlarda bulunmalarına rağmen hormonlar, organizma tarafından belli merkezlerde üretilen ve etkiledikleri bölgelere vücut sıvıları ile iletilen kimyasallardır. Böcek hormonları yalnızca elde edilmesi kolay türlerde çalışılmış olmasına rağmen üretimleri ve görevleri tüm böceklerle uygulanabilir derecede benzerlik göstermektedir.

2. 5. 1. Endokrin (Hormon) Merkezleri

Böcek vücudundaki hormonlar, nöronal, nöroglandular ya da glandular merkezler tarafından üretilir. Ovaryum gibi bazı organlar da hormon üretimini gerçekleştirir ancak böcek vücudundaki bazı doku ve organlar bu iş için özelleşmiştir (Şekil 2. 10) (Gullan and Cranston, 2005).

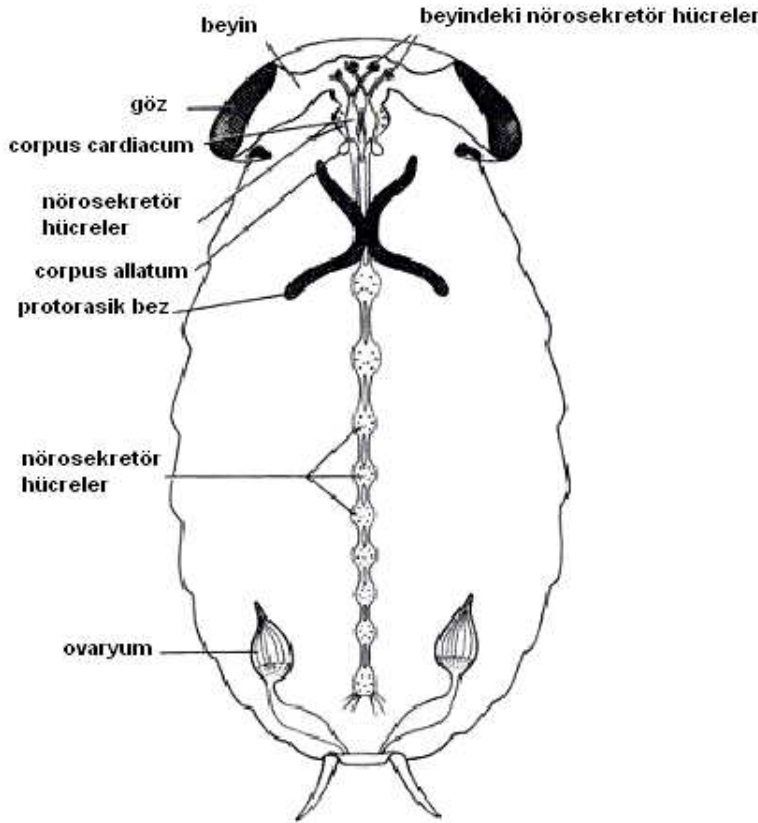
Böcek vücudundaki en büyük endokrin bezler başın hemen yanındaki protoraks bölgesinde bulunur. Protorasik bezler olarak isimlendirilen bu bölgeden, en önemli hormon gruplarından biri olan ektisteroidler salgılanır. Ektisteroidler steroid hormonlardır ve gömlek değiştirme ile sonuçlanan bir dizi fizyolojik olayı başlatmaktan sorumludurlar (Meyer, 2005).

Böcek vücudundaki diğer bir hormon merkezi corpora cardiaca'dır. Bu yapı beynin hemen yanında bulunan aort duvarına yerleşmiş bir nöroglandular yapıdır. Bu bez,

böceklerde kolesterolün ektizona dönüşümünde önemli bir hormon olan protorasikotropik hormonu (PTTH) salgılar (Gullan and Cranston, 2005).

Önemli hormon merkezlerinden biri olan corpus allata ise epitelden köken alan ve corpora cardiaca'nın hemen yakınında bulunan bir çift glandular yapıdır. Bu yapıdan, metamorfozu ve üremeyi kontrol etmekle görevli önemli bir hormon olan juvenil hormon salgılanmaktadır (Gullan and Cranston, 2005).

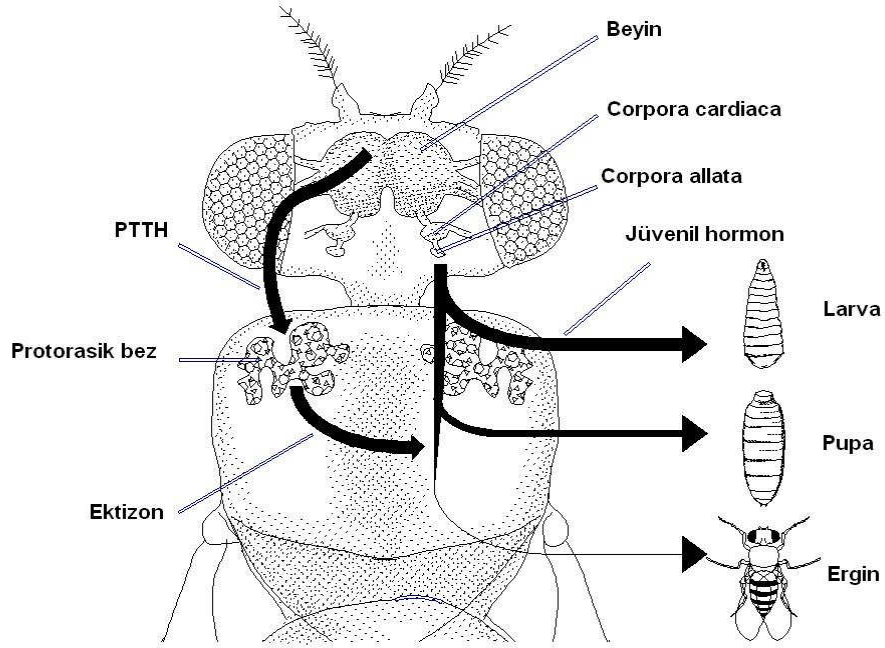
Hormon merkezlerinden bir diğeri ise nörosekretör (nöroendokrin) hücrelerdir. Bu hücreler böceklerin sinir sistemi boyunca yığınlar halinde bulunan modifiye sinir hücreleridir. Bunlar birçok hormonun salgılanması için gereklidirler (Gullan and Cranston, 2005; Meyer, 2005).



Şekil 2. 10. Böceklerde endokrin sistem (Gullan and Cranston, 2005)

Böceklerdeki bu yapılar birbirleriyle etkileşim halinde bulunurlar. Örneğin, protorasik bezlerden ektisteroidlerin salgılanması için bu bezlerin corpora cardiaca tarafından salgılanan PTTH ile uyarılması gereklidir. Corpora cardiaca ise

yalnızca beyindeki nörosekretör hücrelerden bir sinyal aldıktan sonra PTTH salgılar. Beyindeki nörosekretör hücreler aynı zamanda corpora allata'nın da aktivitesini düzenleyerek juvenil hormon salgılanmasını sağlar (Şekil 2. 11) (Meyer, 2005).



Şekil 2. 11. Böceklerde hormon salgılanması
(http://cas.bellarmine.edu/tietjen/Laboratories/BioPix_4U/Image140.gif)

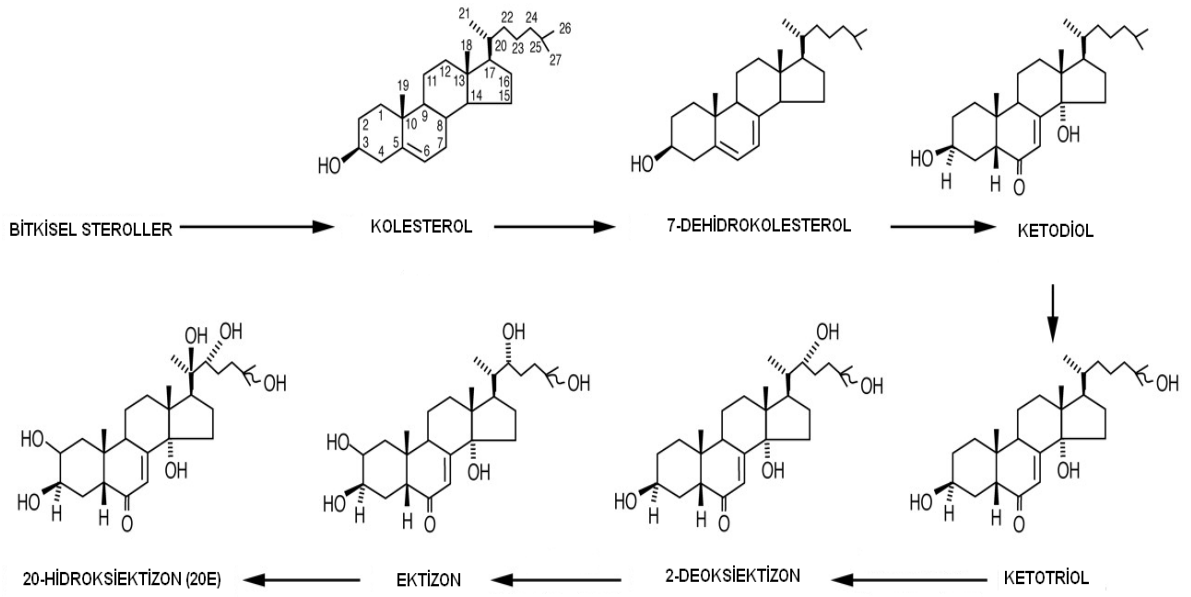
2. 5. 2. Böcek Hormonları

Böceklerde birçok farklı hormon olmasına karşın büyüme ve üreme fonksiyonları için temel öneme sahip üç hormon tipi bulunmaktadır. Bunlar, ektisteroidler, juvenil hormonlar ve nörohormonlar (nöropeptidler) dir.

2. 5. 2. 1. Ektisteroidler

Ektisteroidler böceklerin sentezleyemediği ve beslenme yolu ile dışarıdan almaları gereken kolesterol gibi sterollerden oluşmaktadır. Ektizon ve 20-hidroksiectizon (20E) bu grubun en bilinen üyeleridir (Gullan and Cranston, 2005).

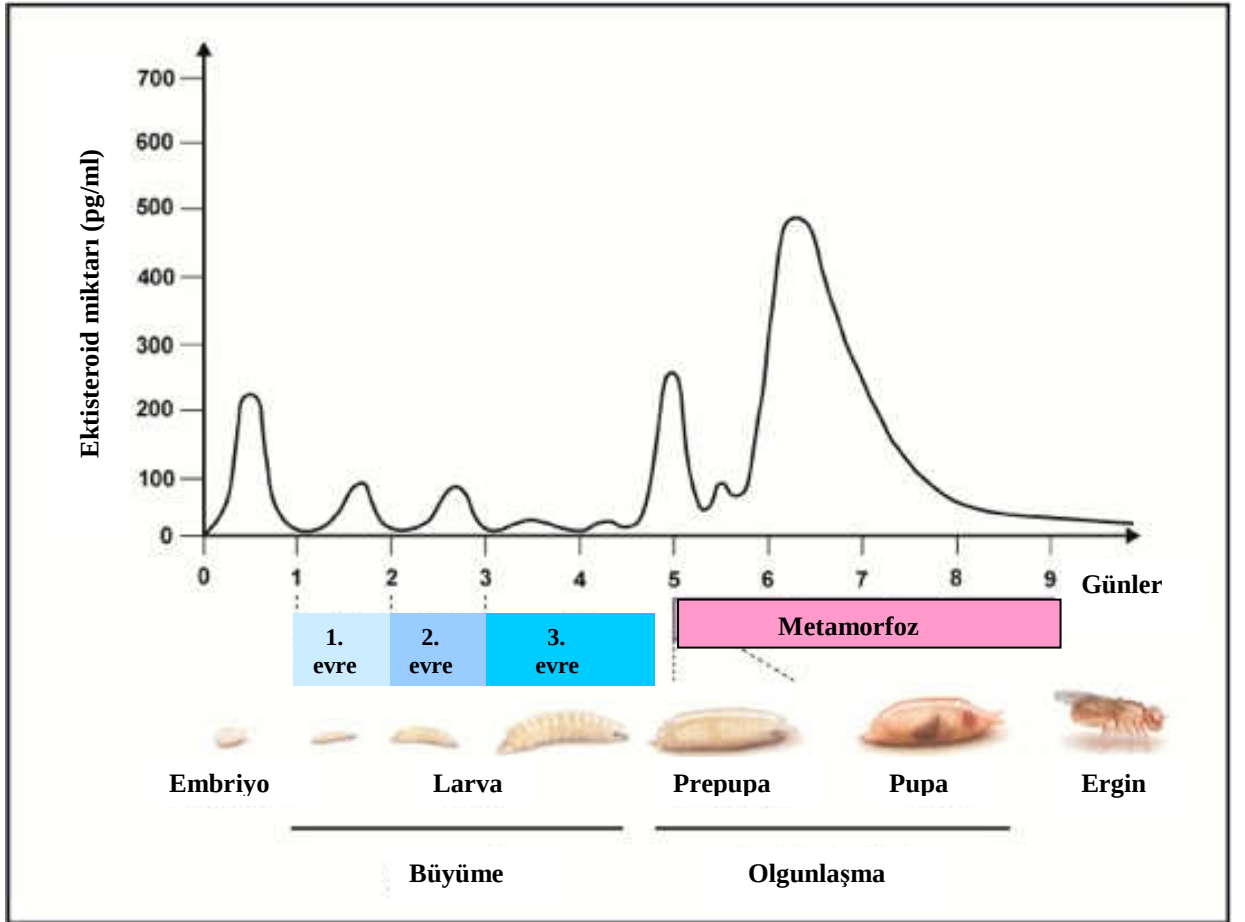
Ektizon hormonu, diğer tüm steroid hormonlar gibi bir kolesterol türevidir (Şekil 2. 12). Kolesterolün ektizona dönüşümü bir seri enzimatik yolla protorasik bezde gerçekleşir (Thummel and Chory, 2002). Protorasik bezden ektizonun salgılanması için merkezi sinir sisteminden protorasikotropik hormonun (PTTH) salgılanması gereklidir. Ektizon, böceklerde protorasik bezden salgılanan temel ektisteroid olmasına karşın periferel dokularda biyolojik olarak daha aktif bir form olan 20-hidroksiektizona (20E) çevrilir (Baker et al., 2000).



Şekil 2. 12. Ektizon hormonun sentez basamakları (Warren et al., 2002).

Ektizon miktarındaki değişimler gömlek değiştirme ve metamorfozu içeren bir dizi gelişimsel cevabı başlatarak böcek yaşam döngüsünü kontrol eden geçici sinyaller olarak iş görür ve temel gelişimsel değişimleri başlatır (Şekil 2. 13). Embriyonik gelişim sırasında meydana gelen hormonal değişim 1. evre larvanın vücut planını ortaya koyan morfogenetik hareketleri koordine ederken, 1. ve 2. larval evreler sırasında gerçekleşen değişimler gömlek değiştirme sinyalini verir. 3. larval evrenin sonunda meydana gelen ektizon miktarındaki değişim ise prepupal basamağı başlatarak pupal kılıfın oluşumuna ve metamorfozun başlamasına neden olur. Bu aşamada, larva beslenmesini sonlandırır ve salgıladığı yapışkan bir madde ile pupalaşmak için uygun bir yere kendini sabitler. Bu sırada larval kılıf sertleşerek metamorfoz boyunca organizmayı çevreleyecek olan pupal kılıfa

dönüşür. Larval dokular programlı hücre ölümü ile yıkılırken imajinal diskler ergin kanat ve bacak taslaklarını oluşturmak üzere değişime uğrarlar ve ergin yapıların taslaklarını oluşturmayı sürdürürler. Larvadan pupaya geçiş sırasında meydana gelen ektizon miktarındaki değişim ile baş dönüşüme uğrar (evajinasyon), kanatlar ve bacaklar uzar ve larval tükrük bezleri yıkılır. Pupal evrede gerçekleşen ektizon miktarındaki değişim ise pupanın ergine farklılaşmasına neden olur. Ektizon hormonunun miktarındaki bu değişimler larvadan ergine geçişi sağlar (Kozlova and Thummel, 2000; Thummel, 2001; Gilbert, 2006).



Şekil 2. 13. Gelişim basamakları üzerine ektizonun etkisi
(http://www.biology.ualberta.ca/king-jones_lab/KKJ_lab/steroids_files/Lifecycle.jpg)

2. 5. 2. 2. Jüvenil hormonlar (JH)

Jüvenil hormonlar, corpora allata tarafından üretilir ve bir sesquiterpenoid ailesinden oluşur. JH sembolü, JH-I, JH-II, JH-III ve JH-O içeren bir hormon ya da hormon karışımı anlamına gelmektedir. Bu hormonların metamorfozu kontrol

etmek ve reprodüktif gelişimin düzenlenmesi olmak üzere iki temel görevi vardır (Gullan and Cranston, 2005). JH üretimi, larval evreler boyunca devam eder, erginliğe geçişte inhibe edilir ve ergin birey üreme için hazır olduğunda yeniden aktive edilerek dişi bireylerin ovaryumlarında yumurta üretimini düzenler (Meyer, 2005).

2. 5. 2. 3. Nörohormonlar

Nörohormonlar, böcek hormonlarının üçüncü ve en geniş sınıfını oluşturur. Bunlar genellikle peptid yapısındadırlar ve bu nedenle nöropeptidler olarak da isimlendirilirler. Bu protein mesajcılar, ektisteroidlerin ve JH'ların salgılanmasını sağlayarak böcek gelişimi, homeostasis, metabolizma ve üremenin birçok aşamasında etkili bir rol oynarlar (Gullan and Cranston, 2005).

2. 6. Endokrin Bozucular (Çevresel Östrojenler)

Son yıllarda, pestisitler ve endüstriyel kimyasallar gibi maddelerin canlılar üzerine olan hormon benzeri etkilerine ait önemli kanıtlar elde edilmiştir (Sonnenschein and Soto, 1998). Bu bileşikler endokrin bozucular olarak isimlendirilmişlerdir. Endokrin bozucular, hayvanlarda ve insanlarda doğal hormonlar gibi davranabilen veya bunlara zıt etki gösterebilen sentetik kimyasallardan ve doğal bitki bileşiklerinden oluşmaktadır (White et al, 1994).

Endokrin sistem ile endokrin bozucuların nasıl etkileştiğine dair birçok teori vardır. Bu teorilere göre endokrin bozucular:

- ➡ Bir hücrenin çekirdeğindeki spesifik reseptör bölgelerine bağlanarak doğal hormon cevabını taklit edebilirler. Bu etkileşim agonistik etki olarak isimlendirilmektedir.
- ➡ Hücre çekirdeğindeki reseptör bölgelerine bağlanarak doğal hormon cevabını bloke edebilirler. Bu etkileşim antagonistik etki olarak isimlendirilmektedir.
- ➡ Hem antagonistik hem de agonistik etki gösterebilirler.

- ☛ Doğal hormonların ve hormon reseptörlerinin üretimini ya da yıkımını değiştirebilirler (Sonnenschein and Soto, 1998; e. hormone, 2004; Roepke et al., 2005).

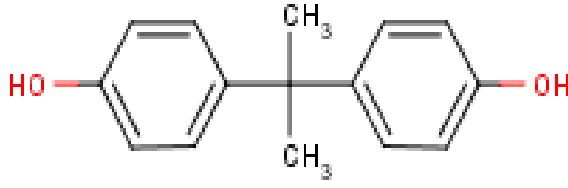
Endokrin bozucu endüstriyel kimyasalların etkilerini araştırmak için yapılan çalışmaların çoğu omurgalılar üzerine yoğunlaşmıştır. Oysa ki omurgasızlar, hayvanlar alemindeki bilinen türlerin %95'inden daha fazlasını temsil eder ve ekosistemin yapısı ve fonksiyonu için çok önemlidir. Omurgasızlarda endokrin fonksiyonunun bozulmasına ait örneklerin sınırlı oluşu, bunların hormonal sistemlerinin omurgalılara göre kısmen daha az bilinmesindendir. Birçok çalışmada, bu bileşiklerin endokrin bozulmasına neden olabileceği belirtilmesine karşın, bu zararlı etkiler kolaylıkla gözden kaçabilmekte ya da kolaylıkla ölçülememektedir (Hutchinson, 2002; Oehlmann and Schulte-Oehlmann, 2003).

Bu çalışmada kullanılan üç ayrı endokrin bozucu bisfenol A (BPA), 4-nonilfenol (4-NP) ve 4-tert-oktilfenol (4-tert-OP) yüksek seviyedeki üretimleri ve yaygın kullanımları nedeniyle dikkatleri üzerine toplayan en önemli kimyasallardır (Xu et al., 2005).

2. 6. 1. Bisfenol A (BPA)

2. 6. 1. 1. Bisfenol A'nın yapısı ve kullanım alanları

Bisfenol A (BPA), polikarbonat plastik ve epoksi reçinesinin üretiminde kullanılan önemli bir endüstriyel kimyasaldır. Bu maddeler gözlük lenslerinde, medikal malzemelerde, CD ve DVD'lerde, yiyecek ve içecek kutularının iç kaplamalarında, cep telefonlarında, bilgisayarlarda, termal faks kağıtlarında, güvenlik kasklarında, kurşun geçirmez malzemelerde, PVC pencerelerde, otomobil parçalarında, koruyucu giysilerde, toz boyalarda, polikarbonat şişeler ve kaplarda (süt ve su şişeleri, bebek biberonları), elektrik malzemeleri ve elektronik parçaların kaplamalarında, diş dolgu malzemelerinde ve yapışkanlar gibi pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Adachi et al., 2005; BPA INFO, 2002; WWF European Toxics Programme Report, 2000). Bisfenol A'nın moleküler yapısı Şekil 2. 14'te, kimyasal özellikleri ise Çizelge 2. 1'de verilmektedir.



Şekil 2. 14. Bisfenol A'nın moleküler yapısı

Çizelge 2. 1. Bisfenol A'nın bazı kimyasal özellikleri

Molekül Formülü	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
Molekül Ağırlığı	228,29 g/mol
Yoğunluğu	1,20 g/cm ³
Erime Noktası	150-159°C
Kaynama Noktası	220 °C

Son yıllardaki çalışmalar, BPA'nın yiyecek ve içecek kutularından, polikarbonat şişelerden yiyecek ve içeceklere, diş dolgularından da tükürüğe sızdığını göstermiştir. İçme suları su borularında kullanılan maddeler, kaynak suları ise depolama sırasında kullanılan plastik şişeler aracılığıyla BPA ile kirlenmektedir (Sonnenschein and Soto, 1998; Çok ve Öztok, 2003).

2. 6. 1. 2. Bisfenol A'nın omurgasızlar üzerine biyolojik etkileri

Bisfenol A'nın biyolojik etkilere sahip olduğu ve dişi cinsiyet hormonu östrojeni taklit ederek canlıları etkilediği tespit edilmiştir. Bu nedenle BPA, “endokrin (hormon) bozucu” ya da “çevresel östrojen” olarak tanımlanmıştır (WWF European Toxics Programme Report, 2000).

Pek çok endokrin bozucu gibi BPA'nın etkileri, omurgalı canlılar kullanılarak belirlenmeye çalışılmıştır. Omurgasız canlılarla özellikle de böceklerle yapılmış çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. BPA'nın ektisteroidlerle ilişkisini araştıran bir çalışmada, BII biyoanalizi adı verilen in vitro bir test ile bu bileşiğin *Drosophila melanogaster*'de ektisteroid hormonlarla antagonistik etkileşim içinde olduğu

belirlenmiştir (Dinan et al., 2001). Bisfenol A'nın sucul bir böcek olan *Chironomus riparius*'un (Diptera) gelişimi ve üremesi üzerine olan etkilerini araştıran bir çalışmada, 78 ng/L ile 0.75 mg/L arasındaki dozlarda uygulanan maddenin pupadan çıkış zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir gecikmeye neden olduğu ve ergin çıkış yüzdesini azalttığı saptanmıştır (Watts et al., 2001). Aynı araştırmacıların yaptığı başka bir çalışmada (Watts et al., 2003), 10 ng/L ile 1 mg/L arasındaki dozlarda uygulanan BPA'nın ağız parçalarında deformasyona neden olduğu, 1 mg/L BPA uygulamasının ise larval gömlek değiştirmeleri geciktirdiği ve larval ağırlığı azalttığı tespit edilmiştir. Benzer bir çalışmada, *C. riparius*'un yumurta ve larvalarına uygulanan BPA'nın gelişim üzerine etkileri olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada, 2. evre *C. riparius* larvaları için LC₅₀ dozu 11.51 mg/L olarak belirlenmiştir. Ayrıca *C. riparius*'un 1. evre larvalarına 78 ng/L ile 0.75 mg/L arasındaki dozlarda BPA uygulandığında gelişimde gecikmeler ortaya çıkmıştır (Segner et al., 2003). Bu çalışmalarda düzenli bir doz-cevap ilişkisine rastlanmamıştır. *C. riparius* ile yapılan başka bir çalışmada, 4. evre larva için LC₅₀ değeri 6.03 mg/L olarak saptanmış ve bu değerden yola çıkarak larvalara 0.001-100 µg/L arasındaki dozlarda BPA uygulanmıştır. Büyüme üzerine olan etkiler için larvaların yaş ve kuru ağırlıklarındaki değişimler incelenmiş ve 0.001, 0.01 ve 0.1 µg/L BPA uygulamasının kuru ağırlıkları arttırdığı belirlenmiştir. Yaş ağırlıkta ise anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Uygulanan dozlar pupalaşma ve pupadan çıkış üzerine etkili olmamıştır (Lee and Choi, 2007).

Izumi ve arkadaşlarının (2008) karasinek *Musca domestica* ile yaptıkları bir çalışmada, BPA'nın gelişim, büyüme ve eşey oranı üzerine etkileri araştırılmıştır. 100 µg/kg ve 1000 µg/kg'lık BPA uygulamaları yumurtadan larvaya, larvadan pupaya geçiş oranını azaltmış ve pupadan çıkış zamanını ilk nesilde 23 saat, 2. ve 3. nesillerde 34 saat geciktirmiştir. Bununla beraber, eşey oranı erkek bireylerden yana artış göstermiştir. Ayrıca, 100 µg/kg BPA uygulaması pupal ağırlıkta artışa, 1000 µg/kg'lık uygulama ise azalmaya neden olmuştur.

Bisfenol A'nın omurgasızlara etkileri, Lemos ve arkadaşları (2009) tarafından karasal bir omurgasız olan *Porcellio scaber* (Crustacea: Isopoda) kullanılarak araştırılmıştır. BPA toprağa karıştırılarak ergin erkek isopodlara 10 hafta boyunca

10, 30, 100, 300 ve 1000 mg BPA/kg toprak dozlarında uygulanmış ve bu maddenin gömlek değıştirme ve toplam ektisteroid (20E) konsantrasyonu üzerine etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Birer haftalık zaman aralıklarında gömlek değıştirme izlenmiş ve BPA uygulamasının gömlek değıştirmeyi hızlandırdığı saptanmıştır. Kontrol grubunda bireylerin %25'i ilk haftada, %50'si ise ikinci haftada gömlek değıştirirken BPA uygulanan gruptaki bireylerin %87.5'i ancak 3. haftada gömlek değıştirmeye başlamıştır. 28 günlük uygulama sonucunda 10, 300 ve 1000 mg BPA/kg toprak dozlarında 20E konsantrasyonunda artış ortaya çıktığı görülmüştür. Çalışmanın diğeri bir bölümünde ise jüvenillere 10 hafta boyunca 10, 25, 50, 150 ve 300 mg BPA /kg toprak uygulanmış ve eşey oranları araştırılmıştır. 10 mg/kg toprak BPA uygulaması sonucunda 2 dişiye karşılık 1 erkek birey (2:1) oluşurken daha yüksek dozlardaki uygulamalar kontrolden farklı bir oran (1:1) vermemiştir. Lemos ve arkadaşlarının (2010) yaptığı benzer bir çalışmada, BPA'nın *P. scaber*'in büyümesi üzerine etkileri erkek ergin bireyler ve eşeyssel olarak farklılaşmamış jüveniller kullanılarak araştırılmıştır. BPA toprağı karıştırılarak erginlere 10, 30, 100, 300 ve 1000 mg BPA/kg toprak, jüvenillere ise 10, 25, 50, 150 ve 300 mg BPA/kg toprak dozlarında uygulandığında hem ergin hem de jüvenillerde ağırlık ve boyut artışlarını başka bir deyişle büyüme azaltarak gelişimsel toksisiteye yol açmıştır. Aynı araştırmacıların yaptığı başka bir çalışmada (2010), BPA'nın *P. scaber*'in üremesi üzerine etkileri araştırılmış ve BPA uygulamalarının (10, 30, 100, 300 ve 1000 mg BPA/kg toprak) üreme isteğini azalttığı ve yavru oluşumunu %30 oranında düşürdüğü saptanarak üreme toksisitesine neden olduğu belirlenmiştir.

Endokrin bozucu kimyasalların sucul bir omurgasız olan *Tigriopus japonicus* (Copepoda) üzerine etkilerini araştıran bir çalışmada, 0.01, 0.1, 1, 10 µg/L BPA uygulanan bireylerde gelişim ve üreme olayları incelenmiştir. 24 saatlik atasal bireylere 21 gün boyunca uygulama yapılmış ve 2 nesil boyunca etkiler gözlenmiştir. Hayatta kalış, fekundite ve eşey oranında herhangi bir değışime rastlanmamıştır. Ancak 0.1 – 10 µg/L BPA uygulamaları gelişimde gecikmelere yol açmıştır. 1 ve 10 µg/L BPA uygulanan bireyler kontrole göre daha geç eşeyssel olgunluğı ulaşmıştır. Ortaya çıkan etkiler F1 neslinde daha belirgin olarak izlenmiştir (Marcial et al., 2003).

Roepke ve arkadaşları (2005) tarafından yapılan bir çalışmada, deniz kestanesi embriyolarına 121.6 – 323.5 ng/L arasındaki dozlarda BPA uygulanmıştır. Bu çalışmanın sonunda, 226.5 ng/L'lik dozun en etkili doz olduğunu ve embriyoların gelişimini geciktirdiğini saptamışlardır. Deniz kestanesi *Paracentrotus lividus*'un sperm ve embriyolarında BPA'nın spermiotoksik ve embriyotoksik etkilerini araştıran başka bir çalışmada, bu canlının sperm ve döllenmiş yumurtalarına 300 – 3500 µg/L BPA uygulanmıştır. Spermlere BPA uygulandığında, spermlerin dölleme başarısında doza bağlı bir azalma ve iskelet malformasyonlu larvaların sayısında artma ortaya çıkmıştır. Döllenmiş yumurtalara yapılan uygulamalar ise benzer şekilde büyümede azalmaya ve iskelet deformasyonları olarak ortaya çıkan larval deformasyonlarda artışa yol açmıştır (Cakal Arslan and Parlak, 2008). Deniz kestaneleri ile yapılan başka bir çalışmada, BPA'nın iki farklı kestane türünün (*Hemicentrotus pulcherrimus*, *Strongylocentrotus nudus*) gelişimi üzerine olan etkileri araştırılmıştır. 0.1 – 2.5 µM arasındaki BPA uygulamaları embriyogenez üzerine etkili olmazken, yumurtadan çıkan juvenillerin büyümesini baskılamıştır (Kiyomoto et al., 2006).

Omurgasız canlılarla yapılan diğer bir çalışmada, 1µg/L BPA uygulaması, tatlı su salyangozu *Marisa cornuarietis* dişilerinde fazladan dişilik organı oluşumu, eşey bezlerinde büyüme, artan dişi ölümleriyle sonuçlanan oviduct malformasyonlarına yol açarken, deniz salyangozu *Nucella lapillus* dişilerinde benzer şekilde eşey bezlerinde büyüme ve oosit üretiminde artışa, *N. lapillus* erkeklerinde ise kontrole göre penis ve prostat bezi büyüklüğünde azalmaya neden olmuştur (Oehlmann et al., 2000). *M. cornuarietis* ile yapılan başka bir çalışmada, 50 ve 100 µg/L BPA uygulanmış ve bazı gelişim parametreleri üzerine etkiler araştırılmıştır. Her iki doz yumurtadan çıkış süresini geciktirirken, 100 µg/L uygulaması kalp atım hızını azaltmış, yeni çıkan bireylerin ağırlığını artırmıştır (Schirling et al., 2006). BPA'nın *M. cornuarietis*'in fekunditesi, yumurtadan çıkışı ve büyümesine olan etkilerini araştıran diğer bir çalışmada ise, 0.1 – 640 µg/L arasında değişen BPA uygulamalarının bu parametreler üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etki ortaya çıkarmadığı belirlenmiştir (Forbes et al., 2008).

Evrimsel olarak ilkel bir omurgasız olan *Hydra oligactis*'in eşeyli ve eşeysiz üremesine BPA'nın toksik etkisini araştıran bir çalışmada, 0.5 – 4 mg/L BPA

uygulamalarının her iki üreme üzerine de olumsuz etkileri olduğu saptanmıştır. BPA'nın eşeyli üreme üzerine etkileri testis ve yumurta oluşumu incelenerek araştırılmıştır. 1 – 4 mg/L BPA uygulamaları testis oluşumunu inhibe etmiş ve ortalama yumurta sayısını azaltmıştır. 0.5 mg/L BPA uygulaması ise etkili olmamıştır. Eşeysiz üreme üzerine etkiler ise tomurcuklanma incelenerek saptanmıştır. 1mg/L BPA uygulaması tomurcuklanmayı uyarırken 2 ve 3 mg/L'lik uygulama tomurcuklanmayı baskılamış, 4 mg/L ise tomurcuklanma hızını yarı yarıya azaltmıştır. 0.5 mg/L'lik uygulama ise etkili olmamıştır (Fukuhori et al., 2005).

Bisfenol A'nın sucul bir omurgasız olan tatlı su karidesi *Hyaella azteca*'ya olan etkilerini araştıran bir çalışmada 1.1 mg/L BPA uygulaması, büyüme (uzunluk ve ağırlık) üzerine etkili olmazken dişi başına ortalama yavru döl sayısını anlamlı derecede azaltmıştır (Mihaich et al., 2009). Başka bir çalışmada, BPA'nın tatlısu süngeri *Heteromyenia*'nın büyümesi ve gelişimi üzerine etkileri incelenmiş ve 16 ppm BPA uygulamasının gelişimsel anormalliklere ve büyüme hızında yavaşlamaya neden olduğu saptanmıştır (Hill et al., 2002).

Endokrin bozucu kimyasalların etkilerini araştıran bir çalışmada, biyolojik etki belirleyici olarak, vitellogenez kullanılmıştır. Böceklerde vitellogenez hormonal kontrol altındadır ve yolk protein düzeyindeki değişimler hormonal bir bozulmayı göstermektedir. Bu çalışmada, *Chironomus riparius*'un 24 saatlik erkek ve dişi bireylerindeki yolk protein içeriği ELİSA ile belirlenmiştir. *C. riparius* erkeklerinde 1, 100 ve 3000 µg/L BPA uygulaması yolk konsantrasyonunu kontrole göre %20-25 azaltmıştır. Dişilerde ise yalnızca en yüksek uygulama dozu olan 3000 µg/L'de yolk konsantrasyonunda kontrole göre %10 azalma görülmüştür (Hahn et al., 2002). Bir başka çalışmada ise, 50 µg/L BPA uygulamasının midye *Mytilus edulis*'un vitellogenin miktarında artışa yol açtığı saptanmıştır (Aarab et al., 2006).

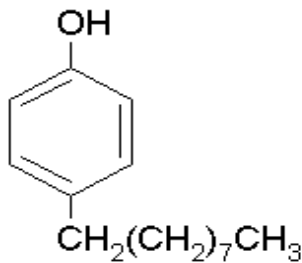
Literatürde bisfenol A'nın omurgasızların ömür uzunluğuna etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

2. 6. 2. Nonilfenol (NP)

2. 6. 2. 1. Nonilfenolün yapısı ve kullanım alanları

Nonilfenol alkilfenoller ailesine ait bir bileşiktir. Endüstride yaygın olarak kullanılan bir alkilfenol etoksilat olan nonilfenol etoksilatların yıkım ürünüdür. Bir alkilfenol etoksilat molekülü, alkilfenol ve etoksilat olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Bu yapı, alkilfenol etoksilatları suda çözünür hale getirerek kirli yüzeylerden kirin uzaklaştırılmasına yardım etmektedir. Nonilfenoller, deterjanların yapımında, lastik ve plastik endüstrisinde kullanılmaktadırlar (Bechmann, 1999; Ying et al., 2002). Bununla beraber, pestisit ve herbisitlerde, boyalarda, kişisel bakım ürünlerinde (Grisolia, 2004; Adachi et al., 2005), bebek biberonlarında, oyuncaklarda (Cakal Arslan and Parlak, 2007) ve kondomlarda kullanılmaktadırlar (Routledge and Sumpter, 1996).

Alkilfenol etoksilatlar, atık su işleme merkezlerinin son ürünü olarak çevreye salınan bileşiklerdir. Nonilfenol etoksilatların atık su işleme merkezlerindeki yıkımı, nonilfenol oluşumuna neden olmaktadır (Bechmann, 1999). Nonilfenol etoksilatlar, kağıt endüstrisinde, kağıt yapım aşamaları boyunca kullanılmaktadır (Latorre et al., 2005; Cakal Arslan and Parlak, 2007). Bu fabrikaların atıkları yoluyla nonilfenol çevreye salınmaktadır. Bunlar, çevrede bulunan nonilfenollerin ve nonilfenol etoksilatların en önemli kaynaklarından birini oluşturmaktadır (Ying et al., 2002). Nonilfenolün moleküler yapısı Şekil 2. 15'te, kimyasal özellikleri ise Çizelge 2. 2'de verilmektedir.



Şekil 2. 15. Nonilfenolün moleküler yapısı

Çizelge 2. 2. Nonilfenolün bazı kimyasal özellikleri

Molekül Formülü	C ₁₅ H ₂₄ O
Molekül Ağırlığı	220,25 g/mol
Yoğunluğu	0,94 g/cm ³
Erime Noktası	44-45°C
Kaynama Noktası	180-181 °C

2. 6. 2. 2. Nonilfenolün omurgasızlar üzerine biyolojik etkileri

Nonilfenoller, çeşitli endüstri kollarında en çok kullanılan alkilfenollerdir. Bu derece yüksek kullanımı bu madde üzerine olan ilgiyi arttırmıştır. Yapılan araştırmalar sonucunda, nonilfenolün östrojenik aktiviteye sahip olduğu ve organizmaların normal hormonal siklusunu bozduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle bu bileşik “endokrin bozucu” olarak sınıflandırılmıştır (Soto et al., 1991; Bettinetti and Provini, 2002).

Nonilfenolün (NP) gelişim ve ömür uzunluğu üzerine olan etkileri farklı sucul omurgasızlar kullanılarak test edilmiştir. Kahl ve arkadaşları (1997) tarafından yapılan bir çalışmada, 4-NP uygulaması, *Chironomus tentans*’ın pupadan çıkışını, eşey oranını, üreme ve yumurta yaşayabilirliğini etkilememiştir. Ancak yüksek konsantrasyonlarda bazı yumurtalarda deformasyon gözlenmiştir. Benzer bir şekilde, 31 µg/L 4-NP uygulanan sucul plankton *Tisbe battagliai*’de fekundite, ömür uzunluğu, eşey oranı ya da gelişim zamanı uygulamadan etkilenmemiştir (Bechmann, 1999). Bu çalışmaların aksine, Meregalli ve arkadaşları (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, *Chironomus riparius* larvalarına uygulanan 4-NP’nin ağız parçalarının deformasyonuna neden olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada da belirtildiği gibi, ağız parçalarındaki deformasyonun hormonal bir bozukluk sonucu olduğu düşünülmektedir.

Brown ve arkadaşlarının (1999) yaptığı bir çalışmada, 10µg/L’lik 4-NP uygulamasının sucul bir omurgasız olan çamur karidesi *Corophium volutator*’un büyümesinde ve hayatta kalma oranında azalmaya neden olurken, dişilerin üretkenliğinde ve erkeklerin anten uzunluğunda ise artmaya neden olduğu

saptanmıştır. Sucul bir omurgasız olan *Eurytemora affinis* (Crustacea: Copepoda) ile yapılan diğer bir çalışmada, larvalara 4 - 44 µg/L arasındaki konsantrasyonlarda 4-NP uygulandığında bu larvaların bir larval basamaktan diğerine geçemediği ve gömlek değiştirmenin geciktiği belirlenmiştir. Ancak fekundite ve yavru döl sayısı uygulamalardan etkilenmemiştir (Forget-Leray et al., 2005). Nonilfenolün etkilerini araştıran diğer bir çalışmada, karides *Americamysis bahaia* (Crustacea: Mysidacea) juvenillerine 1, 3, 10 ve 30 µg/L NP uygulanmış ve bu maddenin hayatta kalış, büyüme, eşeysel gelişim ve gömlek değiştirme üzerine etkileri araştırılmıştır. 7 günlük juvenillere 14 gün boyunca uygulanan NP ortalama vücut büyüklüğünde ve hayatta kalma oranında azalmaya, gömlek değiştirmede gecikmeye neden olmuştur. Eşey oranında ise herhangi bir değişim belirlenmemiştir (Hirano et al., 2009).

Nice ve arkadaşları (2000) tarafından yapılan bir çalışmada, sucul bir omurgasız olan istiridye *Crassostrea gigas*'a (Mollusca: Ostreidae) farklı konsantrasyonlarda (0.1, 1, 10, 100, 1000 ve 10.000 µg/L) 4-NP uygulanmış ve bu canlının özel bir larval basamağa (D-şekline) gelişimi 8 saatlik aralıklarla 72 saatlik bir zaman periyodunda izlenmiştir. Kontrol gruplarında embriyoların çoğunluğu 40. saatte D-şekline ulaşırken bu süre en düşük 3 konsantrasyonda 48. saat, 100 µg/L uygulamada 56. saatte uzamıştır. En yüksek 2 konsantrasyonda ise tüm embriyolar bu evreye ulaşmadan ölmüştür. Gelişim süresinde oluşan gecikmenin yanı sıra D-şekilli larvaya ulaşan birey sayısında da azalmalar ortaya çıkmıştır. Bununla beraber, 100 µg/L 4-NP uygulama grubunda larvaların %73'ünde deformasyonlar görülmüştür. Bir başka çalışmada ise, 11 ppm ve 22 ppm NP uygulaması tatlı su sünger *Heteromyenia*'da gelişimsel anormalliklere yol açmış, 22 ppm'lik uygulama ise büyüme hızında istatistiksel olarak anlamlı azalmalara neden olmuştur (Hill et al., 2002).

Östrojenik kimyasalların sucul bir omurgasız olan *Tigriopus japonicus* (Copepoda) üzerine etkilerini araştıran bir çalışmada, 0.01, 0.1, 1, 10 µg/L 4-NP uygulanan bireylerde gelişim ve üreme incelenmiştir. 24 saatlik atasal bireylere 21 gün boyunca uygulama yapılmış ve 2 nesil boyunca etkiler gözlenmiştir. Hayatta kalış, fekundite ve eşey oranında herhangi bir değişime rastlanmamıştır. Ancak 1 ve 10

$\mu\text{g/L}$ 4-NP uygulamaları gelişimde gecikmelere neden olurken, $10 \mu\text{g/L}$ 4-NP uygulanan bireyler kontrole göre daha geç eşeyssel olgunluğa ulaşmıştır. Ortaya çıkan etkiler F1 neslinde daha belirgin olarak izlenmiştir (Marcial et al., 2003).

Zhang ve arkadaşlarının (2003) yaptığı bir çalışmada, *Daphnia magna* (Crustacea) erginlerine uygulanan $50 \mu\text{g/L}$ 4-NP'nin yenidoğanlarda gelişimsel anormalliklere yol açtığı belirlenirken, fekundite ve eşey oranında herhangi bir değişime rastlanmamıştır. $800-1000 \mu\text{g/L}$ 4-NP uygulaması ise embriyoların gelişimini tamamen durdurmuştur. Benzer bir çalışmada, *D. magna* dişilerine 3 hafta boyunca $0.46 \mu\text{M}$ ve $0.91 \mu\text{M}$ 4-NP uygulandığında yavru dölde gelişimsel anormallikler ortaya çıkmıştır. Kıvrılmış ya da uzamamış kabuk dikenleri ve gelişmemiş ilk antenler şeklinde ortaya çıkan bu anormalliklerin doza bağlı olarak arttığı saptanmıştır. Uygulamalar yavru döl sayısını etkilememiş ancak $0.91 \mu\text{M}$ NP uygulaması anne bireylerde %50 oranında letaliteye neden olmuştur (LeBlanc et al., 2000). Başka bir çalışmada, *Daphnia galeata* erginlerine $10-100 \mu\text{g/L}$ NP uygulanmış ve fekunditede azalma ve gelişimsel anormallikler tespit edilmiştir (Shurin and Dodson, 1997). Comber ve arkadaşlarının (1993) yaptığı bir çalışmada 0.13 mg/L NP uygulaması, *D. magna*'nın ortalama yavru döl sayısında kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma meydana getirmiştir. *D. magna* ile yapılan başka bir çalışmada, $100 \mu\text{g/L}$ NP uygulaması fekunditede anlamlı bir azalmaya yol açarken, hayatta kalış ve yavru döl sayısı üzerine etkili olmamıştır (Baldwin et al., 1997). Diğer bir çalışmada, $50 \mu\text{g/L}$ NP uygulaması tatlı su rotatoru *Brachionus calyciflorus* dişilerinin verimliğinde azalmaya neden olmuştur (Preston et al., 2000).

Nonilfenolün deniz kestanesi *Arbacia lixula* embriyoları üzerine embriyotoksik etkilerini belirlemek için yapılan bir çalışmada, $0.937 - 18.74 \mu\text{g/L}$ arasında değişen konsantrasyonlarda NP uygulamasının bir takım gelişimsel bozukluklara yol açtığı saptanmıştır. Düşük konsantrasyonlardaki uygulamalar iskelet sisteminde bozukluklara yol açarken, yüksek konsantrasyonlar mitozu engelleyerek erken yaşam basamaklarında embriyoların büyümesini inhibe etmiştir (Cakal Arslan and Parlak, 2007). Billingham ve arkadaşları (2001), kaya midyesi *Elminius modestus* larvalarına $0.01 - 10 \mu\text{g/L}$ 4-NP uygulamış ve bu

maddenin gelişim üzerine etkilerini araştırmışlardır. NP uygulaması ergin büyüklüğünde azalmaya neden olurken, larval gelişimi hızlandırmıştır.

Nonilfenolün ekstteroidlerle ilişkisini araştıran bir çalışmada, *Drosophila melanogaster*'de BII biyoanalizi adı verilen in vitro bir test ile bu bileşiğin ekstteroidlerle antagonistik etkileşim içinde olduğu belirlenmiştir (Dinan et al., 2001).

Karasal bir omurgasız olan *Folsomia fimetaria* (Collembola: Isotomidea) ile yapılan bir çalışmada, NP'nin toksisitesi birçok farklı özellik incelenerek araştırılmıştır. Toprak ve atık su ile yapılan uygulamalarda %10 etki konsantrasyonları (EC10) saptanmıştır. NP-toprak uygulamalarında EC10 değerleri mortalite için 55 mg NP/kg toprak, ergin büyüklüğü için 32 mg NP/kg toprak, üreme için 23 mg NP/kg toprak olarak belirlenmiştir. Jüvenil büyüklüğü ise bu uygulamadan etkilenmemiştir. NP-atık su uygulamalarında ise EC10 değerleri mortalite için 45 mg NP/kg toprak, ergin büyüklüğü için 91 mg NP/kg toprak, üreme için 6 mg NP/kg toprak, jüvenil büyüklüğü için 23 mg NP/kg toprak olarak belirlenmiştir (Scott-Fordsmand and Krogh, 2004).

Endokrin bozucu kimyasalların etkilerini araştıran bir çalışmada, hormonal bozulma için biyolojik belirleyici olarak kullanılan yolk protein içeriği *Chironomus riparius*'un 24 saatlik erkek ve dişi bireylerinde ELİSA yöntemi ile saptanmıştır. *C. riparius* erkeklerinde 1.9 – 30 µg/L NP uygulaması yolk konsantrasyonunu kontrole göre %15 – 20 azaltırken, 2000 µg/L %7 artırmıştır. Dişilerde ise anlamlı bir etki gözlenmemiştir (Hahn et al., 2002).

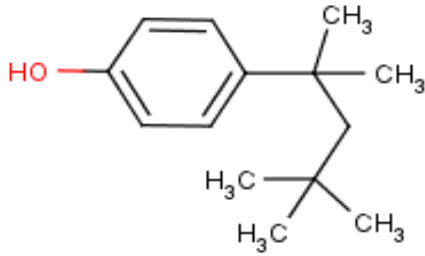
2. 7. 3. Oktilfenol (OP)

2. 7. 3. 1. Oktilfenolün yapısı ve kullanım alanları

Oktilfenol de tıpkı nonilfenol gibi alkilfenoller ailesine ait bir bileşiktir. Oktilfenoller, deterjanların yapımında, plastik endüstrisinde (Bechmann, 1999; Ying et al., 2002), kağıt (Latorre et al., 2005), tekstil, deri ve metal (BAFU, 2007) endüstrilerinde, pestisitler, herbisitler, boyalar, antioksidanların sentezinde, kişisel

bakım ürünlerinde (Grisolia, 2004; Adachi et al., 2005), oyuncaklarda, bebek biberonlarında, kontakt lenslerde (Cakal Arslan and Parlak, 2007), kondomda ve vajinal gebelik önleyici ilaçlarda spermisidal ajan olarak (Leung and Ballantyne, 1999) kullanılmaktadırlar.

Oktilfenol etoksilatların yıkımı sonucunda oktilfenoller oluşmaktadır (Warhurst, 1995). Oktilfenolleri kullanan fabrikaların atıkları yoluyla oktilfenol çevreye salınmaktadır. Bunlar, çevrede bulunan oktilfenollerin en önemli kaynaklarından birini oluşturmaktadır (Ying et al., 2002). Oktilfenolün moleküler yapısı Şekil 2.16'da, kimyasal özellikleri ise Çizelge 2. 3'te verilmektedir.



Şekil 2. 16. Oktilfenolün moleküler yapısı

Çizelge 2. 3. Oktilfenolün bazı kimyasal özellikleri

Molekül Formülü	C ₁₄ H ₂₂ O
Molekül Ağırlığı	206,36 g/mol
Yoğunluğu	0,89 g/cm ³
Erime Noktası	81-84 °C
Kaynama Noktası	175 °C

2. 4. 3. 2. Oktilfenolün omurgasızlar üzerine biyolojik etkileri

Oktilfenol çok çeşitli alanlarda sıklıkla kullanılan en önemli alkilfenollerden biridir. Yapılan araştırmalar sonucunda, oktilfenolün balıklar, amfibiler ve memelilerde östrojen hormonunu taklit ettiği ve organizmaların normal hormonal siklusunu bozduğu belirlenmiştir. Bu nedenle bu bileşik “endokrin bozucu” olarak sınıflandırılmıştır (Soto et al., 1991; White, 1994; Zou and Fingerman, 1997).

Oktilfenolün omurgasız canlılar üzerine olan etkilerini araştıran çok az çalışma bulunmaktadır. Çalışmalar çoğunlukla omurgalı canlılar kullanılarak yapılmıştır. Oktilfenolün (OP) omurgasız canlılar üzerine etkilerini araştıran çalışmalardan birinde, sucul bir omurgasız olan *Daphnia magna*'ya uygulanan 0.01, 0.02 ve 0.04 mg/L OP'nin gömlek değiştirme üzerine hiçbir etkisi bulunamamıştır. Ancak 0.09 mg/L'lik dozun *Daphnia* için toksik olduğu tespit edilmiştir (Zou and Fingerman, 1997). Andersen ve arkadaşları (2001) tarafından yapılan diğer bir çalışmada, OP uygulaması deniz omurgasız *Acartia tonsa* (Copepoda) larvalarının gelişimini inhibe etmiştir. Bir başka çalışmada, Roepke ve arkadaşları (2005), deniz kestanesi (*Strongylocentrotus purpuratus* ve *Lytechinus anamesus*) embriyolarına 0.035 - 0.489 ng/L arasında değişen dozlarda OP uygulamıştır. Bu çalışmanın sonunda, 0.174 ng/L'lik dozun en etkili doz olduğunu ve embriyoların gelişimini geciktirdiğini saptamışlardır.

Endokrin bozucu kimyasalların sucul bir omurgasız olan *Tigriopus japonicus* (Copepoda) üzerine etkilerini araştıran bir çalışmada, 0.01, 0.1, 1, 10 µg/L p-tert-oktilfenol (p-t-OP) uygulanan bireylerde gelişim ve üreme incelenmiştir. 24 saatlik atasal bireylere 21 gün boyunca uygulama yapılmış ve 2 nesil boyunca etkiler gözlenmiştir. Hayatta kalış ve eşey oranında herhangi bir değişime rastlanmamıştır. Ancak 0.1 ve 1 µg/L p-t-OP uygulamaları gelişimde gecikmelere yol açmıştır. Ortaya çıkan etkiler F1 neslinde daha belirgin olarak izlenmiştir. 1 µg/L p-t-OP uygulaması fekundite üzerinde etkili olmuş ve kontrole göre dişi başına yavru sayısını artırmıştır (Marcial et al., 2003).

Omurgasız canlılarla yapılan diğer bir çalışmada, tatlı su salyangozu *Marisa cornuarietis* ve deniz salyangozu *Nucella lapillus*'a 1 ile 100 µg/L arasında değişen konsantrasyonlarda OP uygulanmış ve 1µg/L uygulamasında bir takım değişimler gözlenmiştir. *M. cornuarietis* dişilerinde fazladan dişilik organı oluşumu, eşey bezlerinde büyüme, artan dişi ölümleriyle sonuçlanan yumurta kanalı (oviduct) malformasyonları ortaya çıkarken, *N. lapillus* dişilerinin eşey bezlerinde büyüme ve oosit üretiminde artış ortaya çıkmıştır. *N. lapillus* erkeklerinde ise kontrole göre penis ve prostat bezi büyüklüğünde azalma tespit edilmiştir (Oehlmann et al., 2000).

Deniz kestanesi *Arbacia lixula* embriyoları üzerine oktilfenolün embriyotoksik etkilerini belirlemek için yapılan bir çalışmada, embriyolara 5 – 160 µg/L arasında değişen konsantrasyonlarda OP uygulanmış ve düşük konsantrasyonlardaki uygulamaların iskelet sisteminde bozukluklara yol açtığı, yüksek konsantrasyonların ise mitozu engelleyerek erken yaşam basamaklarında embriyoların büyümesini inhibe ettiği bulunmuştur (Cakal Arslan and Parlak, 2007).

Oktilfenolün ekstteroidlerle ilişkisini araştıran bir çalışmada, *Drosophila melanogaster*'de B_{II} biyoanalizi adı verilen in vitro bir test ile bu bileşiğin herhangi bir agonistik ya da antagonistik etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir (Dinan et al., 2001).

Oktilfenolün ömür uzunluğu üzerine olan etkisi konusunda ise omurgasızlarda yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Yukarıda örneklenmiş çalışmalarda olduğu gibi pek çok çalışmada, bu maddelerin zararlı etkilerini araştırmak için sucül omurgasızlar kullanılmıştır ve bunlar temel omurgasız gruplarının tamamını temsil etmemektedir (Hutchinson, 2002). Ayrıca, çok çeşitli omurgasız türlerini endokrin bozucular olarak bilinen maddelere maruz bırakarak yapılan değişik laboratuvar çalışmaları, bu maddelerin biyolojik etkilerini tanımlamakta yetersiz kalmıştır (Watts et al., 2001). Bu nedenle, bu tezde endokrin bozucu olarak tanımlanan bu maddelerin gelişim biyolojisi ve ömür uzunluğu üzerine olan etkilerine açıklık getirmek için biyolojik deneylerde çok kullanışlı bir organizma olan *Drosophila melanogaster* ile kapsamlı bir çalışma yapılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3. 1. Kullanılan Organizma

Bu çalışmada, *Drosophila melanogaster*'in (*Diptera, Drosophilidae*) yabanıl tipi (wild type) Oregon soyuna ait larva ve erginler kullanılmıştır.

Meyve (sirke) sineği *Drosophila melanogaster*, 1900'lerden beri genetik çalışmalarda kullanılan deneysel bir organizmadır. *Drosophila*'nın deney hayvanı olarak kullanılmasını kolaylaştıran bazı özellikleri;

- Kültürünün kolay olması,
- Çok sayıda yavru vermeleri,
- Yaşam döngülerinin kısa olması,
- Genetik arı döl olarak saklanabilmeleri,
- Küçük yapılı oluşları,
- Az sayıda kromozoma sahip olmaları,
- Üçüncü evre larvalarında dev tükrük bezi kromozomlarının bulunması,
- Ekonomik oluşu,

şeklinde sıralanabilir (Graf et al., 1992, Rubin, 1988).

Deneyimizde kullanılan *Drosophila melanogaster* 'in Oregon soyu, yuvarlak-kırmızı gözlü, normal kanat yapısına sahip ve herhangi bir mutant karakter taşımayan yabanıl tip bir soydur. ABD Oregon eyaletinden köken alarak 1920'lerden beri kullanılmaktadır. Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Genetik laboratuvarında 1970 yılından bu yana kendileştirilmiş ve böylece genetik anlamda ileri derecede homojen hale gelmiş bir laboratuvar stoğudur (Bozcuk, 1978; Ünlü and Bozcuk, 1979a, b).

3. 2. Deney Koşulları

3. 2. 1. Çevre koşulları

Deneyler sırasında kullanılan bütün stok kültürler ve kurulan deney sistemleri %50 – 60 bağıl nem, 25±1°C sıcaklık ile 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık koşullarına

sahip kültür odasında tutuldu. Sadece deneylerin kurulması aşamasında stoklar kültür odasından çıkarıldı.

3. 2. 2. Besiyerinin hazırlanması

Laboratuvar stok kültürleri, standart *Drosophila* besiyerinde (Ünlü, 1978) tutulmaktadır. Standart *Drosophila* besiyerini hazırlamak için gerekli maddeler, mısır unu, toz şeker, bira mayası, agar, distile su ve asit karışımıdır (Çizelge 3. 1). Asit karışımı anti – fungal amaçlı olarak, ortofosforik asit, propionik asit ve distile su ile hazırlanır (Çizelge 3. 2). Asit karışımı dışında, diğer maddeler belirli ölçülerde karıştırılarak kaynatılır ve kısık ateşte 5 – 10 dakika pişirilir. Bu sürenin sonunda ateşten alınır ve asit karışımı ilave edilerek iyice karıştırılır. Hazırlanan besiyeri sıcakken 250 mL'lik kültür şişelerine 4 – 5 cm ya da 2.5 × 7.5 cm boyutlarındaki cam tüplere 1 – 2 cm yükseklikte olacak şekilde dökülür. Şişelerin ve tüplerin üstü temiz kurutma kağıtları ile kapatılarak kurumaya bırakılır. Besiyerleri soğuyup katılaştığında, şişelerin ya da tüplerin ağızları hidrofob pamuk ve gazlı bezden yapılmış tıpalarla kapatılır.

Çizelge 3. 1. *Drosophila* besiyeri içeriği (Ünlü, 1978).

Kullanılan Madde	Miktar
Mısır Unu (g)	156 g
Şeker (g)	141 g
Maya (g)	28,5 g
Agar (g)	9 g
Asit (mL) (Çizelge 3. 2'ye bakınız)	9 mL
Distile su (mL)	1530 mL

Çizelge 3. 2. *Drosophila* besiyerinde kullanılan asit karışımı (Ünlü, 1978).

Kullanılan Madde	Miktar (mL)
Ortophosphorik Asit	83
Propionik Asit	836
Distile Su	1081
Toplam	2000

Larva toplamak için kullanılacak besiyerlerinin üzerine, yumurtlamayı arttırmak ve larvaların daha iyi beslenmelerini sağlamak için bira mayası ve distile sudan oluşan bir karışım, besiyerinin üzerini tamamen kaplamayacak şekilde ilave edilir. Burada bu karışımın besiyerinin yüzeyini tamamen kaplamaması çok önemlidir; kapladığı takdirde larvalar gerekli oksijeni alamaz ve hayatta kalamazlar (Roberts, 1986; Ashburner, 1989).

3. 2. 3. Bayıltma yöntemi

Deneyler sırasında, çalışma kolaylığı açısından *Drosophila* erginleri eterize edilir. Deneylerimizde ekonomik oluşu nedeniyle eter yerine dietileter kullanılmıştır. Bayıltma, 250 mL'lik bayıltma şişelerine eter damlatılmış mantar tıpa kapatılarak yapılmıştır.

Deneyimizde bayıltma (eterizasyon) işlemi, deney stoklarının kurulması, kontrol ve uygulama gruplarını oluşturacak bireylerin toplanması ve yavru döl sayısının belirlenmesi sırasında kullanılmıştır.

3. 3. Larva Toplama

“Gelişim Dönemlerinin İzlenmesi” deneyinde 72 ± 4 saatlik *Drosophila melanogaster*'in yabanıl tip Oregon soyu larvaları kullanılmıştır. Bu larvaları elde etmek için laboratuvarımızdaki Oregon soyu stoklardan aynı yaşta, virjin dişi ve erkekler toplandı. Bireyler üç günlük olduğunda 5 dişi 10 erkek olacak şekilde çaprazlar yapıldı. Burada bireylerin üç günlük olmasının nedeni, eşeysel olarak olgunlaşmasını sağlamaktır. Çaprazda alınan bireyler, sekiz saat sonra kültür şişelerinden uzaklaştırıldı. Bu kültürlerden 72 ± 4 saatlik L3 larvaları NaCl yöntemi ile elde edildi (Idaomar et al., 2002; Atlı and Ünlü, 2006). Bunun için, kültür şişeleri içine %20'lik NaCl çözeltisi eklenir. Böylece larvalar, hipertonic ortamın etkisiyle sıvının yüzeyinde toplanır. İçinde larvaları barındıran sıvı, tabanı tıkanan bir cam huni içine boşaltılır. Larvaların tamamı tuzlu suyun üstünde kaldığı için huninin tabanı biraz açılarak hunideki sıvının fazlası atılır. Tabanı yeniden kapatılan huninin içine bu kez yıkama amaçlı olarak distile su konur. İnce delikli bir bez ile kapatıldıktan sonra huninin tabanı açılır. Böylece larvalar bezin yüzeyinde toplanmış olur. Elde edilen bu larvalar, içersine %5'lik süktroz çözeltisi emdirilmiş

kurutma kağıtları yerleştirilmiş $2,5 \times 7,5$ cm ebatlarındaki cam tüplere, her tüpe 80-100 larva olacak şekilde itina ile yerleştirildi ve deneysel gruplar (kontrol grubu ve uygulama grupları) oluşturuldu.

3. 4. Bisfenol A, 4-Nonilfenol ve 4-tert-Oktilfenol Çözeltilerinin Hazırlanışı ve Uygulamaların Yapılışı

Çalışma kapsamında Bisfenol A, 4-tert-oktilfenol ve 4-nonilfenol'ün 0.1 mg/L, 1 mg/L ve 10 mg/L'lik dozları kullanılmıştır. Kullanılan bu dozlar doz tarama çalışmalarının sonuçlarına ve bu konudaki mevcut literatüre uygun olarak seçilmiştir.

Uygulamada kullanılacak çözeltiler hazırlanırken kimyasal maddeler 1 mL aseton içinde çözülmüş ve daha sonra %5'lik sükroz çözeltisi ile istenilen miktara (1 litre) tamamlanmıştır. Bu nedenle %5'lik sükroz kontrol grubunun yanısıra aseton kontrol grubu da çalışmalara eklenmiştir. Uygulanan maddeler için 10 mg/L'lik stok çözeltiler hazırlanmış ve diğer dozlar (1 mg/L ve 0.1 mg/L) seri sulandırma yöntemi ile elde edilmiştir.

3. 5. Gelişim Dönemlerinin İzlenmesi

Uygulama, $2,5 \times 7,5$ cm boyutlarındaki boş steril tüplerin tabanına 2.5 cm çapında 10 kat filtre kağıdı yerleştirilerek gerçekleştirilmiştir. Bu tüplere belirlenen konsantrasyonlardaki maddelerden 1'er mL emdirilerek 72 ± 4 saatlik 3. evre larvalar bu ortamda 6 saat süreyle tutulmuş ve bu sürenin sonunda standart besiyeri içeren 250 mL'lik kültür şişelerine her şişeye 25 larva olacak şekilde aktarılmıştır. Tüm deneysel gruplar, gelişimleri takip edilmek üzere kültür odasına alınmış ve larvadan pupaya, pupadan ergine geçiş süreleri ve sayıları 4 saatlik aralıklarla kaydedilmiştir. Çıkan erginlerden "günlük ortalama yavru döl sayısının saptanması" deneyinde kullanılmak üzere virjin dişiler toplanmıştır.

3. 6. Günlük Ortalama Yavru Döl Sayısının ve Eşey Oranının Saptanması

Bir dişinin günlük ortalama yavru döl sayısının saptanması için, endokrin bozucu kimyasallar (BPA, 4-NP ve 4-tert-OP) uygulanan larvalardan gelişen virjin dişiler kullanıldı. Kontrol ve uygulama larvalarından gelişen ve 3 günlük olan dişilerle,

başka bir Oregon stoğundan toplanan, uygulama görmemiş aynı yaştaki erkekler, 1 dişi 3 erkek olacak şekilde çapraza alındı. İlk pupa görüldüğünde ergin bireyler (ana – baba) atıldı. İlk erginler çıkmaya başladıktan sonra 10 gün boyunca 24 saat ara ile yavru döl sayımı yapıldı. Yavru döl sayımı sırasında erkek ve dişi sayıları ayrı ayrı kaydedildi ve eşey oranları belirlendi.

3. 7. Günlük Ortalama Yumurta Veriminin Saptanması

Günlük ortalama yumurta veriminin saptanması deneyinde *Drosophila melanogaster* Oregon soyuna ait 3. evre larvaları kullanılmıştır. Uygulama, 2.5 x 7.5 cm boyutlarındaki boş steril tüplerin tabanına 2.5 cm çapında 10 kat filtre kağıdı yerleştirilerek gerçekleştirilmiştir. Bu tüplere belirlenen konsantrasyonlardaki maddelerden 1'er ml emdirilerek 72 ± 4 saatlik 3. evre larvalar bu ortamda 6 saat süreyle tutulmuş ve bu sürenin sonunda standart besiyeri içeren 250 mL'lik kültür şişelerine her şişeye 25 larva olacak şekilde aktarılmıştır. Tüm deneysel gruplar kültür odasına alınmış ve bu larvalardan çıkan virjin dişiler toplanmıştır. Kontrol ve uygulama dişileri ile uygulama görmemiş başka bir Oregon stoğundan toplanan aynı yaştaki erkekler 1 dişi 3 erkek olacak şekilde boş kültür şişelerinde çapraza alındı. Yumurta sayımını kolaylıkla yapabilmek için bu kültür şişelerine besiyeri içeren plastik tatlı kaşıkları yerleştirildi. Böylece dişilerin kaşıklara yumurta bırakması sağlandı. Bu şekilde her grup için 25 şişe ile deneylere başlandı. Kazasal nedenlerle ölen dişilerin bulunduğu şişeler iptal edildi. Ölen erkeklerin yerine ise yenileri konuldu.

Bu deneyde tüm gruplar 25°C ve %50-60 bağıl neme sahip kültür odasına alındı. Kaşıklar 24 saatlik aralıklarla yenileri ile değiştirildi ve diseksiyon mikroskopunda incelenerek yumurta sayımı yapıldı. Bu işlem 10 gün boyunca sürdürüldü.

Yumurta sayımının 10 gün süre ile yapılması bu dönemde üretilen yumurta sayısının yaşam boyu üretilen yumurta sayısı ile yakın ilişkili olması nedeniyledir (Yeşilada ve Bozcuk, 1995; Yeşilada, 1999).

3. 8. Ömür Uzunluğunun Saptanması

Endokrin bozucu kimyasalların (BPA, 4-NP ve 4-tert-OP) *Drosophila melanogaster*'in ömür uzunluğuna olan etkisinin incelenmesi deneyinde *Drosophila melanogaster* Oregon soyuna ait 3. evre larvaları kullanıldı. Uygulama, 2.5 x 7.5 cm boyutlarındaki boş steril tüplerin tabanına 2.5 cm çapında 10 kat filtre kağıdı yerleştirilerek gerçekleştirildi. Bu tüplere belirlenen konsantrasyonlardaki maddelerden 1'er ml emdirilerek 72 ± 4 saatlik 3. evre larvalar bu ortamda 6 saat süreyle tutuldu ve bu sürenin sonunda standart besiyeri içeren 250 mL'lik kültür şişelerine her şişeye 25 larva olacak şekilde aktarıldı. Tüm deneysel gruplar kültür odasına alındı ve bu larvalardan çıkan virjin dişi ve erkekler toplandı. Toplanan ergin bireylerden 110 dişi ve 110 erkek ile deney grupları oluşturuldu. Erkek ve dişi bireyler, içinde standart besiyeri bulunan tüplere 10'arlı gruplar halinde yerleştirildi. Haftada iki kez taze besiyerine aktarımlar sırasında ölü sinekler (varsa) kaydedilerek ortamdan uzaklaştırıldı. Aktarım sırasında kaçan bireyler toplam sayıdan düşüldü. Aktarımlar son birey ölene kadar sürdürüldü (Ünlü and Bozcuk, 1979).

3. 9. İstatistiksel Yöntemler

Gerçekleştirilen deneylerin istatistikleri, SPSS 11.5 istatistik programı kullanılarak yapıldı. Gelişim dönemlerinin izlenmesi deneyinde larvadan pupaya, pupadan ergine geçiş yüzdelerinin önem kontrolü varyans analizi, larvadan pupaya geçiş sürelerinin karşılaştırılması ise iki değişkenli t – testi ile belirlendi. Günlük ortalama yavru döl sayısı, günlük ortalama yumurta sayısı ve ömür uzunluklarının tespit edilmesinde ise ANOVA testi kullanıldı. Eşey oranının saptanmasında khi-kare testinden yararlanıldı. Grafiklerin çiziminde SPSS 11.5 istatistik programı ve Windows Excel programından faydalanıldı.

4. BULGULAR

4. 1. Bisfenol A'nın *Drosophila melanogaster* Gelişimine Etkileri

4. 1. 1. Bisfenol A'nın Pupa Oluşumuna Etkisi

4. 1. 1. 1. Larvadan pupaya geçiş oranları

Drosophila melanogaster'in yabanıl Oregon soyunun bisfenol A (BPA) uygulanan ve uygulanmayan larvalarından pupalaşanlar sayılarak larvadan pupaya geçiş yüzdeleri saptandı (Çizelge 4. 1). Kontrol ve aseton kontrol gruplarında larvaların %96'sının, 0.1 mg/L uygulama grubunda (B1) %98'inin, 1 mg/L uygulama grubunda (B2) %95'inin, 10 mg/L uygulama grubunda (B3) ise %92'sinin pupalaştığı saptandı.

Pupalaşan larva sayısında kontrol gruplarına göre B1'de artma, B2 ve B3'te azalma olduğu Çizelge 4. 1'de gözlenmektedir. Ancak, Çizelge 4. 2'de görüldüğü gibi tek değişkenli varyans analizinin sonuçları, pupalaşan larva sayısı açısından BPA uygulamalarının etkisinin istatistiksel olarak anlamsız olduğunu göstermiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4. 1. Larvadan pupaya geçiş oranlarının BPA uygulama dozlarına göre değişimi.

Grup	Larva Sayısı	Pupa Sayısı	Oran $\pm$ S.H.	S.S.
Kontrol	100	96	96 $\pm$ 1,63	3,266
Aseton Kontrol	100	96	96 $\pm$ 2,31	4,619
0.1 mg/L (B1)	100	98	98 $\pm$ 2,00	4,000
1 mg/L (B2)	100	95	95 $\pm$ 1,92	3,830
10 mg/L (B3)	100	92	92 $\pm$ 2,83	5,657

B: Bisfenol A uygulama grubu, S.H.: Standart hata, S.S.: Standart Sapma

Çizelge 4. 2. Larvadan pupaya geçiş değerlerinin varyans analizine göre önem dereceleri ($p>0.05$).

	Kareler Toplamı	sd	Ortalama Kare	F	Önemlilik
Gruplar arası	7,680	4	0,00192	1,014	0,431
Gruplar içi	2,840	15	1,893		
Toplam	3,608	19			

sd: serbestlik derecesi

4. 1. 1. 2. Larvadan pupaya geçiş süreleri

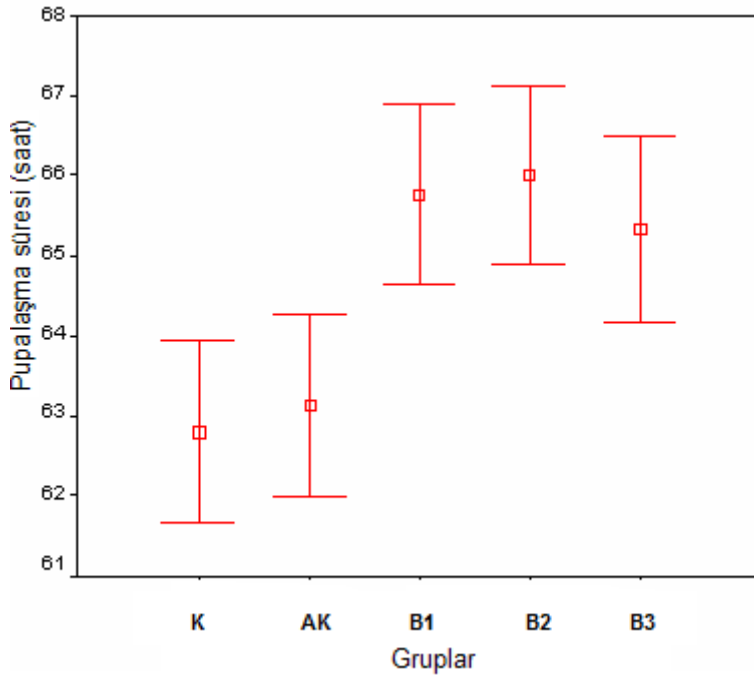
Drosophila melanogaster'in yabanıl tip Oregon soyunda larvadan pupaya geçiş sürelerine bisfenol A'nın etkisini araştırmak için, 4'er saatlik aralıklarla yapılan sayımların sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırıldı (Çizelge 4. 3). Ayrıca ortalama pupalaşma sürelerini karşılaştıran bir grafik oluşturuldu (Şekil 4. 1).

Çizelge 4. 3. Kontrol ve BPA uygulama gruplarında ortalama pupalaşma süreleri.

Grup No	Grup İsmi	Ortalama Pupalaşma Süresi (saat)	S. S.	Gruplar Arası Önem Kontrolü (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	62,8	25,63	1-3* 1-4* 1-5* 2-3* 2-4* 2-5*
2	Aseton Kontrol	63,1	25,82	
3	0.1 mg/L (B1)	65,8	24,78	
4	1 mg/L (B2)	66,0	24,15	
5	10 mg/L (B3)	65,3	24,93	

B: Bisfenol A uygulama grubu, S.S.: Standart Sapma

* : $p<0.05$ seviyede anlamlıdır.



Şekil 4. 1. Kontrol (K), Aseton kontrol (AK), 0.1 mg/L (B1), 1 mg/L (B2) ve 10 mg/L (B3) BPA uygulama gruplarında pupalaşma süresinin değişimi.

Kontrol grubunda larvalarda ortalama pupalaşma zamanı 62,8 saatken bu süre, aseton kontrol grubunda 63,1 saat, 0.1 mg/L uygulama grubunda 65,8 saat, 1 mg/L uygulama grubunda 66,0 saat, 10 mg/L uygulama grubunda ise 65,3 saattir. Bu veriler karşılaştırıldığında uygulama gruplarında, kontrol ve aseton kontrole göre ortalama pupalaşma süresinin arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p < 0.05$) görülmektedir.

4. 1. 2. Bisfenol A'nın Ergin Oluşumuna Etkisi

4. 1. 2. 1. Pupadan ergine geçiş oranları

Drosophila melanogaster'in bisfenol A (BPA) uygulanan ve uygulanmayan gruplarında, yabanıl tip Oregon soyunun pupadan ergine geçiş yüzdeleri saptandı ve istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Çizelge 4. 4'te görüldüğü gibi, kontrol ve aseton kontrol gruplarında pupaların % 93,75'i, 0.1 mg/L uygulama grubunda (B1) % 89,80'i, 1 mg/L uygulama grubunda (B2) % 85,26'sı ve 10 mg/L uygulama grubunda (B3) % 92,39'u erginleşmiştir.

Çizelge 4. 4 incelendiğinde, erginleşen pupa sayısında kontrol ve aseton kontrole göre tüm uygulama gruplarında azalma gözlenmektedir. Ancak bu azalışlar

istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). Çizelge 4. 5'te verilen varyans analizi sonuçlarına göre, %95 güven aralığında, erginleşen pupa sayısının BPA uygulamalarından etkilenmediği görülmektedir ($p>0.05$).

Çizelge 4. 4. Pupadan ergine geçiş oranlarının BPA uygulama dozlarına göre değişimi.

Grup	Pupa Sayısı	Ergin Sayısı	Oran $\pm$ S.H.	S. S.
Kontrol	96	90	93,75 $\pm$ 2,12	4,242
Aseton Kontrol	96	90	93,75 $\pm$ 2,18	4,359
0.1 mg/L (B1)	98	88	89,80 $\pm$ 1,32	2,630
1 mg/L (B2)	95	81	85,26 $\pm$ 5,12	0,102
10 mg/L (B3)	92	85	92,39 $\pm$ 3,15	6,292

B: Bisfenol A uygulama grubu, S. H.: Standart hata, S.S.: Standart Sapma

Çizelge 4. 5. Pupadan ergine geçiş değerlerinin varyans analizine göre önem dereceleri ($p>0.05$).

	Kareler Toplamı	sd	Ortalama Kare	F	Önemlilik
Gruplar arası	2,159	4	5,397	1,434	0,271
Gruplar içi	5,645	15	3,763		
Toplam	7,804	19			

sd: serbestlik derecesi

4. 1. 2. 2. Pupadan ergine geçiş süreleri

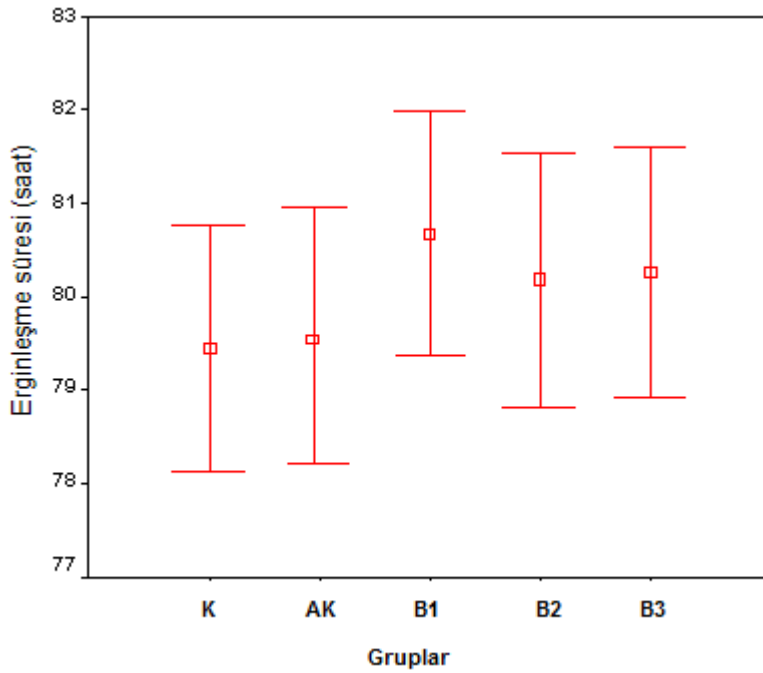
Drosophila melanogaster'in yabanıl tip Oregon soyunda pupadan ergine geçiş sürelerine bisfenol A'nın etkisini araştırmak için, 4'er saatlik aralıklarla yapılan sayımların sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Kontrol ve aseton kontrol grubu pupalarında ortalama erginleşme zamanı 79,4 saat iken bu süre, 0.1 mg/L uygulama grubunda 80,7 saat, 1 mg/L uygulama grubunda 80,2 saat, 10 mg/L uygulama grubunda ise 80,3 saattir (Çizelge 4. 6). Bu veriler karşılaştırıldığında uygulama gruplarında, kontrol ve aseton kontrole göre ortalama erginleşme süresinin arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0.05$) görülmektedir. Ortalama erginleşme sürelerine ait grafikler Şekil 4. 2'de gözlenmektedir.

Çizelge 4. 6. Kontrol ve BPA uygulama gruplarında ortalama erginleşme süreleri.

Grup No	Grup İsmi	Ortalama Erginleşme Süresi (saat)	S. S.	Gruplar Arası Önem Kontrolü (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	79,4	32,17	1-3* 1-4* 1-5* 2-3* 2-4* 2-5*
2	Aseton Kontrol	79,4	31,67	
3	0.1 mg/L (B1)	80,7	31,67	
4	1 mg/L (B2)	80,2	31,97	
5	10 mg/L (B3)	80,3	32,17	

B: Bisfenol A uygulama grubu, S.S.: Standart Sapma

* : $p < 0.05$ seviyede anlamlıdır.



Şekil 4. 2. Kontrol (K), Aseton kontrol (AK), 0.1 mg/L (B1), 1 mg/L (B2) ve 10 mg/L (B3) BPA uygulama gruplarında erginleşme süresinin değişimi.

4. 1. 3. Bisfenol A'nın Günlük Yavru Döl Sayısı Ortalamasına ve Eşey Oranına Etkisi

Günlük ortalama yavru döl sayısı ortalamasını ve eşey oranını saptamak için, “gelişim dönemlerinin izlenmesi” deneyinde kontrol, aseton kontrol, 0.1mg/L BPA, 1mg/L BPA ve 10mg/L BPA uygulama gruplarına ait larvaların gelişimiyle elde edilen virjin dişiler kullanıldı. Bu dişilerle, muamele görmemiş başka bir Oregon stoğundan toplanan aynı yaştaki erkekler 1♀ X 3♂ olacak şekilde çapraza alındı. İlk pupa görüldüğünde ergin bireyler (ana – baba) morga atıldı. 10 gün boyunca 24 saat ara ile yavru döl (erkek ve dişi) sayımı yapıldı. Bundan sonra uygulama gruplarının ortalama yavru döl sayıları, kontrol ve aseton kontrol gruplarındaki ortalama yavru döl sayıları ile karşılaştırıldı.

Günlük ortalama yavru döl sayısı kontrol grubunda $5,72 \pm 0,24$, aseton kontrol grubunda $5,68 \pm 0,24$, 0.1mg/L uygulama grubunda (B1) $4,85 \pm 0,33$, 1mg/L uygulama grubunda (B2) $4,62 \pm 0,30$, 10mg/L uygulama grubunda (B3) $5,51 \pm 0,35$ olarak saptandı (Çizelge 4. 7).

Çizelge 4. 7. BPA uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyunda bir dişinin günlük ortalama yavru döl sayısı.

Grup No.	Grup İsmi	Dişi Sayısı	Yavru Döl Sayısı	Günlük Ortalama Yavru Döl Sayısı $\pm$ S.H.	S. S.	Gruplar Arası Önem Kontrolü (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	64	3659	$5,72 \pm 0,24$	6,073	1-3*
2	Aseton Kontrol	54	3070	$5,68 \pm 0,24$	5,495	1-4*
3	0.1 mg/L (B1)	30	1457	$4,85 \pm 0,32$	5,683	2-3*
4	1 mg/L (B2)	33	1526	$4,62 \pm 0,30$	5,399	2-4*
5	10 mg/L (B3)	32	1762	$5,51 \pm 0,35$	6,347	

B: Bisfenol A uygulama grubu, S.H.: Standart Hata, S.S.: Standart Sapma
* : $p < 0.05$ seviyede anlamlıdır.

Çizelge 4. 7’de görüldüğü gibi, 0.1mg/L (B1) ve 1mg/L (B2) uygulama gruplarında kontrol ve aseton kontrol grubuna göre ortalama yavru döl sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ($p<0.05$) gözlenmiştir. Diğer gruplarda gözlenen ufak sapmalar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$).

Yavru döl sayımı sırasında dişi ve erkek birey sayıları ayrı ayrı kaydedilmiş ve BPA’nın eşey oranı üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Yapılan khi-kare testi sonucunda %95 güven aralığında BPA’nın *D. melanogaster*’in eşey oranı üzerine etkisi olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4. 8).

Çizelge 4. 8. BPA uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyunda eşey oranları.

Grup No.	Grup İsmi	Dişi Yavru Döl Sayısı	Erkek Yavru Döl Sayısı	Toplam Yavru Döl Sayısı	Erkek ve Dişi Eşey Oranındaki Farklar (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	1861	1798	3659	
2	Aseton Kontrol	1533	1537	3070	
3	0.1 mg/L (B1)	733	724	1457	
4	1 mg/L (B2)	758	768	1526	
5	10 mg/L (B3)	872	890	1762	

B: Bisfenol A uygulama grubu

4. 1. 4. Bisfenol A’nın Günlük Yumurta Verimi Ortalamasına Etkisi

Drosophila melanogaster Oregon soyuna ait 3. evre larvalarına 0.1mg/L, 1mg/L ve 10mg/L BPA uygulandı ve bu larvalardan gelişen virjin dişiler toplandı. Bu dişiler, muamele görmemiş erkekler ile 1 dişi 3 erkek olacak şekilde çaprazlandı. Tüm gruplar 25°C ve %50 – 60 bağıl neme sahip kültür odasına alınarak 24 saatlik sürelerle yumurta sayımı yapıldı. Bu işlem 10 gün boyunca sürdürüldü. Günlük ortalama yumurta sayıları ve ortalamalar arası önem kontrolleri Çizelge 4. 9’da verilmektedir.

Çizelge 4. 9. BPA uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyunda bir dişinin günlük ortalama yumurta verimi.

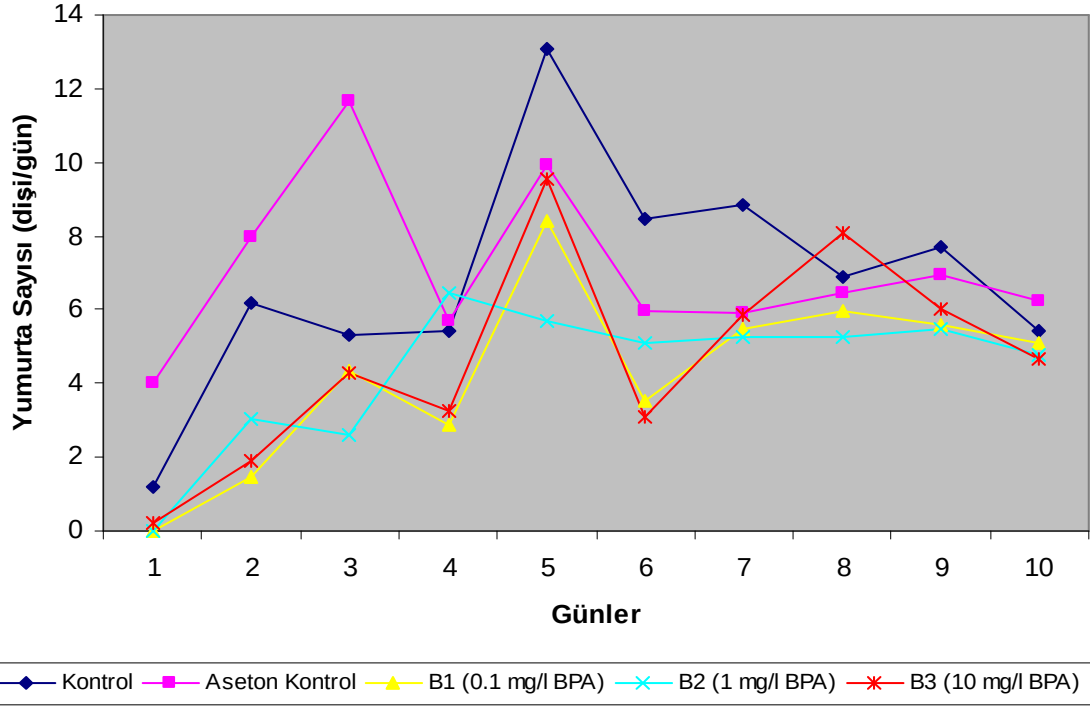
Grup No.	Grup İsmi	Dişi Sayısı	Yumurta Sayısı	Günlük Ortalama Yumurta Sayısı $\pm$ S.H.	S. S.	Gruplar Arası Önem Kontrolü (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	25	1712	6,85 $\pm$ 0,52	8,147	1-3* 2-3* 1-4* 2-4* 1-5* 2-5*
2	Aseton Kontrol	25	1770	7,08 $\pm$ 0,52	8,163	
3	0.1 mg/L (B1)	25	1068	4,27 $\pm$ 0,25	4,007	
4	1 mg/L (B2)	25	1093	4,37 $\pm$ 0,27	4,344	
5	10 mg/L (B3)	25	1175	4,70 $\pm$ 0,31	4,861	

B: Bisfenol A uygulama grubu, S.H.: Standart Hata, S.S.: Standart Sapma

* :p<0.05 seviyede anlamlıdır.

Yapılan sayımlar sonucunda günlük ortalama yumurta sayısı, kontrol grubunda 6,85 $\pm$ 0,52, aseton kontrol grubunda 7,08 $\pm$ 0,52, 0.1mg/L uygulama grubunda (B1) 4,27 $\pm$ 0,25, 1mg/L uygulama grubunda (B2) 4,37 $\pm$ 0,27, 10mg/L uygulama grubunda (B3) ise 4,70 $\pm$ 0,31 olarak bulundu (Çizelge 4. 9).

Tüm gruplar için dişi başına günlük ortalama yumurta veriminin zamana bağlı değişimi Şekil 4. 3'te verilmektedir. Grafik incelendiğinde, tüm BPA uygulama gruplarında yumurta veriminin kontrol gruplarına göre azaldığı göze çarpmaktadır.



Şekil 4. 3. Farklı dozlarda BPA uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyunda bir dişinin günlük ortalama yumurta veriminin zamana bağlı değişimi.

Yapılan istatistiksel analizler, tüm uygulama gruplarında ortalama yumurta veriminin kontrol ve aseton kontrol gruplarına göre anlamlı bir şekilde azaldığını ($p < 0.05$) göstermiştir. Ancak doza bağlı olarak kademeli bir azalma gözlenmemiştir.

4. 1. 5. Bisfenol A'nın Ömür Uzunluğuna Etkisi

Drosophila melanogaster Oregon soyuna ait 3. evre larvalarına 0.1mg/L, 1mg/L ve 10mg/L BPA uygulandı ve bu larvalardan gelişen virjin dişi ve erkekler toplandı. Toplanan ergin bireylerden 110 dişi ve 110 erkek ile deney grupları oluşturuldu. Erkek ve dişi bireyler, içinde standart besiyeri bulunan tüplere 10'arlı gruplar halinde yerleştirildi. Her doz için ölen dişi ve erkek bireylerin sayısı kaydedildi. Ortalama ömür uzunlukları ve ortalamalar arası önem kontrolleri Çizelge 4. 10 ve Çizelge 4. 11'de verilmektedir.

Yapılan hesaplamalar sonucunda dişilerin ortalama ömür uzunluğu, kontrol grubunda $74,77 \pm 1,13$ gün, aseton kontrol grubunda $75,12 \pm 1,18$ gün, 0.1mg/L

uygulama grubunda (B1) $75,19 \pm 1,18$ gün, 1mg/L uygulama grubunda (B2) $71,58 \pm 1,06$ gün, 10mg/L uygulama grubunda (B3) ise $71,58 \pm 1,07$ gün olarak bulundu (Çizelge 4. 10).

Çizelge 4. 10. BPA uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyu dişilerinin ortalama ömür uzunlukları.

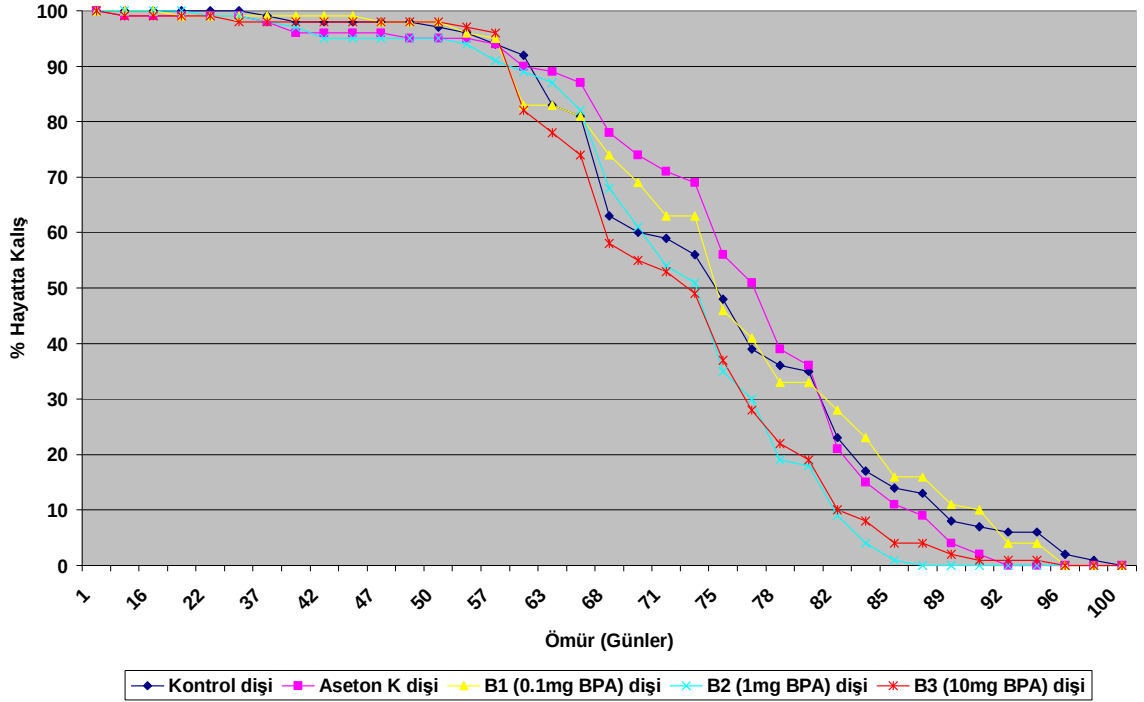
Grup No.	Grup İsmi	Dişi Sayısı	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün) $\pm$ S.H.	S.S.	Gruplar Arası Önem Kontrolü (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	103	$74,77 \pm 1,13$	11,52	2-4* 2-5*
2	Aseton Kontrol	105	$75,12 \pm 1,18$	12,06	
3	0.1 mg/L (B1)	103	$75,19 \pm 1,18$	12,03	
4	1 mg/L (B2)	103	$71,58 \pm 1,06$	10,72	
5	10 mg/L (B3)	106	$71,58 \pm 1,07$	10,98	

B: Bisfenol A uygulama grubu, S.H.: Standart Hata, S.S.: Standart Sapma

* : $p < 0.05$ seviyede anlamlıdır.

Kontrol grupları arasında istatistiksel olarak fark yoktur ($p > 0.05$). Çizelge 4.10'da görüldüğü gibi, 1mg/L (B2) ve 10mg/L (B3) uygulama gruplarında aseton kontrol grubuna göre ortalama ömür uzunluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ($p < 0.05$) gözlenmiştir. Diğer gruplarda gözlenen ufak sapmalar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$).

Oregon dişileri için, kontrol, aseton kontrol ve uygulama grupları için çizilen ömür eğrileri Şekil 4. 4'te görülmektedir. Ömür eğrileri incelendiğinde de B2 ve B3 uygulama gruplarının ömür uzunluğundaki azalma göze çarpmaktadır.



Şekil 4. 4. BPA uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyu dişilerinin ortalama ömür uzunluğu eğrileri.

D. melanogaster erkeklerinin ortalama ömür uzunluğu, kontrol grubunda $68,20 \pm 1,20$ gün, aseton kontrol grubunda $70,06 \pm 1,18$ gün, 0.1mg/L uygulama grubunda (B1) $72,73 \pm 1,33$ gün, 1mg/L uygulama grubunda (B2) $66,47 \pm 1,28$ gün, 10mg/L uygulama grubunda (B3) ise $69,51 \pm 1,10$ gün olarak bulundu (Çizelge 4. 11).

Çizelge 4. 11. BPA uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyu erkeklerinin ortalama ömür uzunlukları.

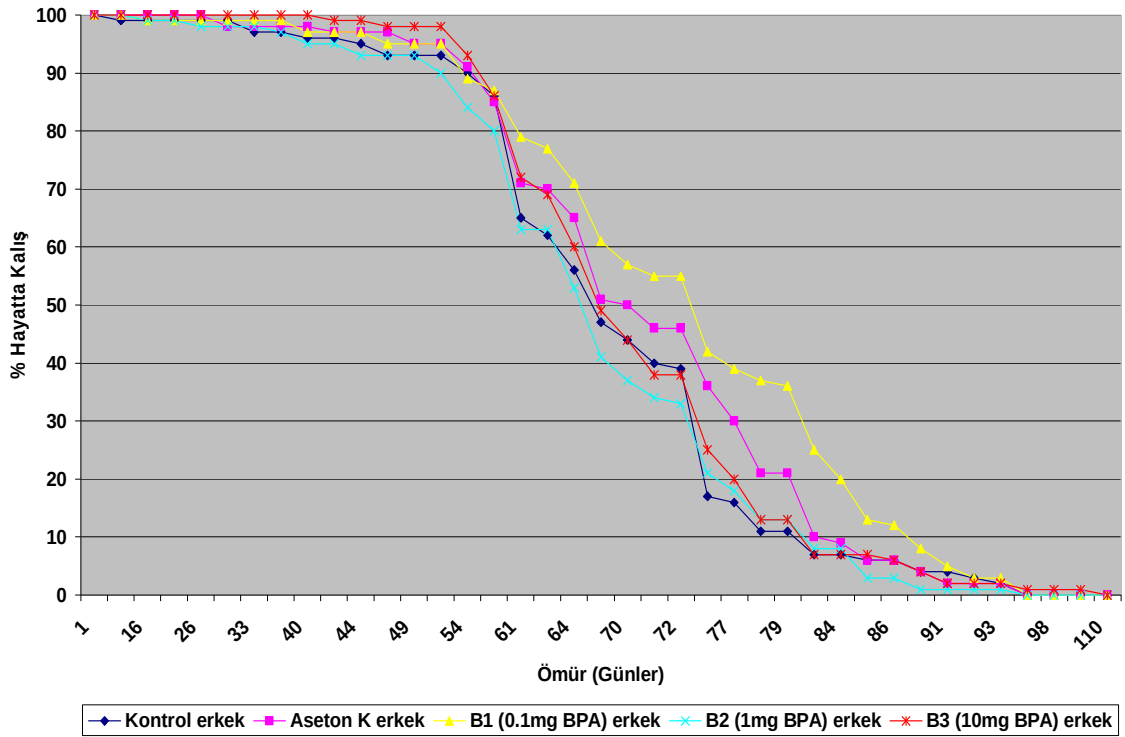
Grup No.	Grup İsmi	Erkek Sayısı	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün) $\pm$ S.H.	S.S.	Gruplar Arası Önem Kontrolü (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	97	$68,20 \pm 1,20$	11,77	1-3* 2-3* 2-4*
2	Aseton Kontrol	105	$70,06 \pm 1,18$	12,11	
3	0.1 mg/L (B1)	106	$72,73 \pm 1,33$	13,66	
4	1 mg/L (B2)	103	$66,47 \pm 1,28$	13,03	
5	10 mg/L (B3)	96	$69,51 \pm 1,10$	10,79	

B: Bisfenol A uygulama grubu, S.H.: Standart Hata, S.S.: Standart Sapma

* : $p < 0.05$ seviyede anlamlıdır.

İstatistiksel karşılaştırmalarda, kontrol ve aseton kontrol grubu erkeklerinin ömür uzunlukları arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur ($p>0.05$). 1mg/L (B2) uygulama grubunun ömür uzunluğunda ise aseton kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ($p<0.05$) vardır. 0.1mg/L (B1) uygulama grubunun ömür uzunluğu, kontrol ve aseton kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı olarak uzamıştır ($p<0.05$). Diğer gruplarda gözlenen ufak sapmalar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$).

Oregon erkekleri için, kontrol, aseton kontrol ve uygulama grupları için çizilen ömür eğrileri Şekil 4. 5'te görülmektedir. Ömür eğrileri incelendiğinde de B1 uygulama grubunun ömür uzunluğundaki artma, B2 uygulama grubunun ömür uzunluğundaki azalma göze çarpmaktadır.



Şekil 4. 5. BPA uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyu erkeklerinin ortalama ömür uzunluğu eğrileri.

4. 2. 4-Nonilfenolün *Drosophila melanogaster* Gelişimine Etkileri

4. 2. 1. 4-Nonilfenolün Pupa Oluşumuna Etkisi

4. 2. 1. 1. Larvadan pupaya geçiş oranları

Drosophila melanogaster'in yabanıl Oregon soyunun 4-nonilfenol (4-NP) uygulanan ve uygulanmayan larvalarından pupalaşanlar sayılarak larvadan pupaya geçiş yüzdeleri saptandı (Çizelge 4. 12). Kontrol ve aseton kontrol gruplarında larvaların %96'sının, 0.1 mg/L uygulama grubunda (N1) %98'inin, 1 mg/L uygulama grubunda (N2) %99'unun, 10 mg/L uygulama grubunda (N3) ise %93'ünün pupalaştığı saptandı.

Çizelge 4. 12. Larvadan pupaya geçiş oranlarının 4-NP uygulama dozlarına göre değişimi.

Grup	Larva Sayısı	Pupa Sayısı	Oran $\pm$ S.H	S.S.
Kontrol	100	96	96 $\pm$ 1,63	3,266
Aseton Kontrol	100	96	96 $\pm$ 2,31	4,619
0.1 mg/L (N1)	100	98	98 $\pm$ 2,00	4,000
1 mg/L (N2)	100	99	99 $\pm$ 1,00	2,000
10 mg/L (N3)	100	93	93 $\pm$ 1,92	3,830

N: Nonilfenol uygulama grubu, S. H. : Standart hata, S.S.: Standart Sapma

Pupalaşan larva sayısında kontrol gruplarına göre N1 ve N2'de artma, N3'te ise azalma olduğu Çizelge 4. 12'de gözlenmektedir. Ancak, Çizelge 4. 13'te görüldüğü gibi tek değişkenli varyans analizinin sonuçları, pupalaşan larva sayısı açısından 4-NP uygulamalarının etkisinin istatistiksel olarak anlamsız olduğunu göstermiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4. 13. Larvadan pupaya geçiş değerlerinin varyans analizine göre önem dereceleri ($p>0.05$).

	Kareler Toplamı	sd	Ortalama Kare	F	Önemlilik
Gruplar arası	8,480	4	2,120	1,590	0,228
Gruplar içi	2,000	15	1,333		
Toplam	2,848	19			

sd: serbestlik derecesi

4. 2. 1. 2. Larvadan pupaya geçiş süreleri

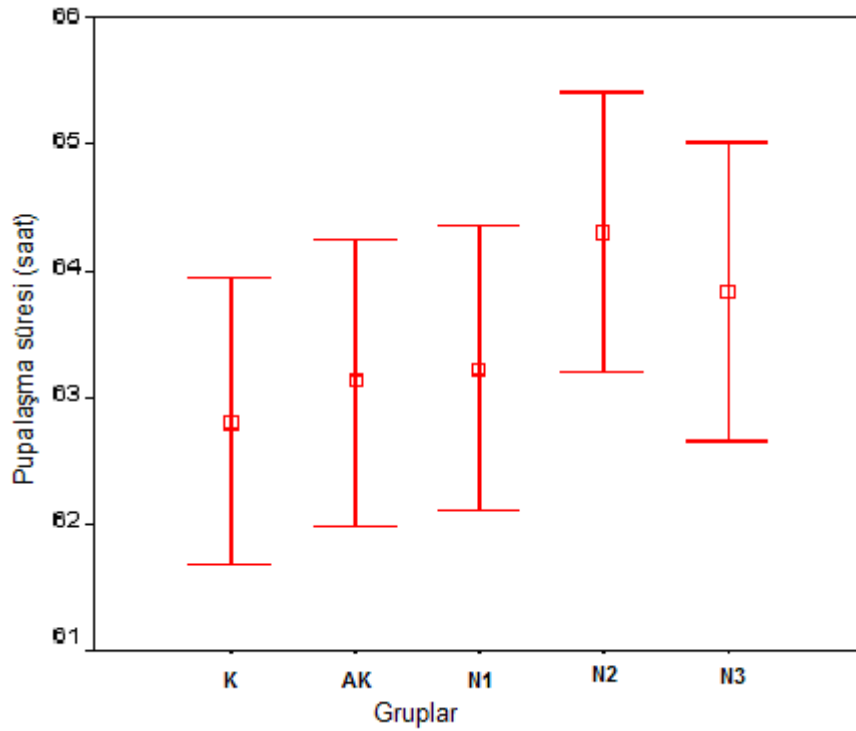
Drosophila melanogaster'in yabanıl tip Oregon soyunda larvadan pupaya geçiş sürelerine 4-nonilfenolün etkisini araştırmak için, 4'er saatlik aralıklarla yapılan sayımların sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Kontrol grubunda larvalarda ortalama pupalaşma zamanı 62,8 saatken bu süre, aseton kontrol grubunda 63,1 saat, 0.1 mg/L uygulama grubunda 63,2 saat, 1 mg/L uygulama grubunda 64,3 saat, 10 mg/L uygulama grubunda ise 63,7 saattir (Çizelge 4. 14). Bu veriler karşılaştırıldığında uygulama gruplarında, kontrol ve aseton kontrole göre 1 mg/L ve 10 mg/L uygulama gruplarında ortalama pupalaşma süresinin arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0.05$) görölmektedir. Ortalama pupalaşma sürelerine ait grafikler Şekil 4. 6'da gözlenmektedir.

Çizelge 4. 14. Kontrol ve 4-NP uygulama gruplarında ortalama pupalaşma süreleri.

Grup No	Grup İsmi	Ortalama Pupalaşma Süresi (saat)	S.S.	Gruplar Arası Önem Kontrolü (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	62,8	25,63	1-4* 1-5* 2-4* 2-5*
2	Aseton Kontrol	63,1	25,82	
3	0.1 mg/L (N1)	63,2	25,87	
4	1 mg/L (N2)	64,3	25,11	
5	10 mg/L (N3)	63,7	25,85	

N: Nonilfenol uygulama grubu, S.S.: Standart Sapma

* : $p<0.05$ seviyede anlamlıdır.



Şekil 4. 6. Kontrol (K), Aseton kontrol (AK), 0.1 mg/L (N1), 1 mg/L (N2) ve 10 mg/L (N3) 4-NP uygulama gruplarında pupalaşma süresinin değişimi.

4. 2. 2. 4-Nonilfenolün Ergin Oluşumuna Etkisi

4. 2. 2. 1. Pupadan ergine geçiş oranları

Drosophila melanogaster'in 4-nonilfenol (4-NP) uygulanan ve uygulanmayan gruplarında, yabanıl tip Oregon soyunun pupadan ergine geçiş yüzdeleri saptandı ve istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Çizelge 4. 15'te görüldüğü gibi, kontrol ve aseton kontrol gruplarında pupaların %93,75'i, 0.1 mg/L uygulama grubunda (N1) %90,82'si, 1 mg/L uygulama grubunda (N2) %94,95'i ve 10 mg/L uygulama grubunda (N3) ise %93,55'i erginleşmiştir.

Çizelge 4. 15 incelendiğinde, erginleşen pupa sayısında kontrol ve aseton kontrole göre N1 ve N3'te azalma, N2'de ise artma gözlenmektedir. Ancak bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). Çizelge 4. 16'da verilen varyans analizi sonuçlarına göre, %95 güven aralığında, erginleşen pupa sayısının 4-NP uygulamalarından etkilenmediği görülmektedir ($p>0.05$).

Çizelge 4. 15. Pupadan ergine geçiş oranlarının 4-NP uygulama dozlarına göre değişimi.

Grup	Pupa Sayısı	Ergin Sayısı	Oran $\pm$ S.H	S.S.
Kontrol	96	90	93,75 $\pm$ 2,12	4,242
Aseton Kontrol	96	90	93,75 $\pm$ 2,18	4,359
0.1 mg/L (N1)	98	89	90,82 $\pm$ 6,61	0,132
1 mg/L (N2)	99	94	94,95 $\pm$ 1,92	3,830
10 mg/L (N3)	93	87	93,55 $\pm$ 2,61	5,227

N: Nonilfenol uygulama grubu, S. H. : Standart hata, S.S.: Standart Sapma

Çizelge 4. 16. Pupadan ergine geçiş değerlerinin varyans analizine göre önem dereceleri ($p>0.05$).

	Kareler Toplamı	sd	Ortalama Kare	F	Önemlilik
Gruplar arası	3,557	4	8,894	0,175	0,948
Gruplar içi	7,609	15	5,073		
Toplam	7,965	19			

sd: serbestlik derecesi.

4. 2. 2. 2. Pupadan ergine geçiş süreleri

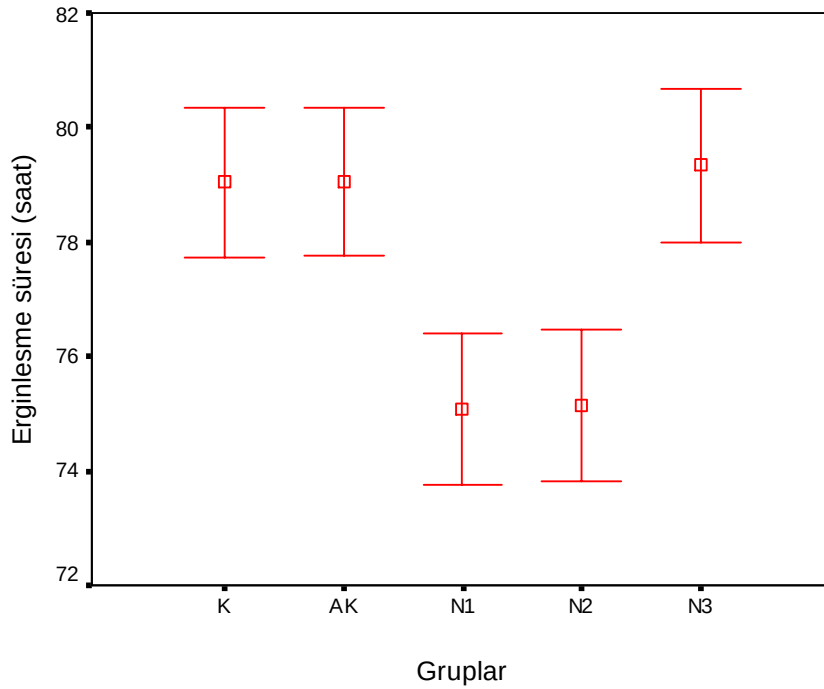
Drosophila melanogaster'in yabanıl tip Oregon soyunda pupadan ergine geçiş sürelerine 4-nonilfenolün etkisini araştırmak için, 4'er saatlik aralıklarla yapılan sayımların sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırıldı (Çizelge 4. 17, Şekil 4. 7).

Çizelge 4. 17. Kontrol ve 4-NP uygulama gruplarında ortalama erginleşme süreleri.

Grup No	Grup İsmi	Ortalama Erginleşme Süresi (saat)	S. S.	Gruplar Arası Önem Kontrolü (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	79,4	32,17	1-3* 1-4* 2-3* 2-4*
2	Aseton Kontrol	79,4	31,67	
3	0.1 mg/L (N1)	75,2	33,08	
4	1 mg/L (N2)	75,2	32,59	
5	10 mg/L (N3)	79,3	32,88	

N: Nonilfenol uygulama grubu, S.S.: Standart Sapma

* : $p<0.05$ seviyede anlamlıdır.



Şekil 4. 7. Kontrol (K), aseton kontrol (AK), 0.1 mg/L (N1), 1 mg/L (N2) ve 10 mg/L (N3) 4-NP uygulama gruplarında erginleşme süresinin değişimi.

Kontrol ve aseton kontrol grubu pupalarında ortalama erginleşme zamanı 79,4 saat iken bu süre, 0.1 mg/L ve 1 mg/L uygulama gruplarında 75,2 saat, 10 mg/L uygulama grubunda ise 79,3 saattir (Çizelge 4. 17). Bu veriler karşılaştırıldığında uygulama gruplarında, kontrol ve aseton kontrole göre 0.1 mg/L ve 1 mg/L uygulama gruplarında ortalama erginleşme süresinin kısaldığı ve bu kısılmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p < 0.05$) görülmektedir. Ortalama erginleşme sürelerine ait grafikler Şekil 4. 7’de gözlenmektedir.

4. 2. 3. 4-Nonilfenolün Günlük Yavru Döl Sayısı Ortalamasına ve Eşey Oranına Etkisi

Günlük ortalama yavru döl sayısı ortalamasını ve eşey oranını saptamak için, “gelişim dönemlerinin izlenmesi” deneyinde kontrol, aseton kontrol, 0.1mg/L NP, 1mg/L NP ve 10mg/L NP uygulama gruplarına ait larvaların gelişimiyle elde edilen virjin dişiler kullanıldı. Bu dişilerle, muamele görmemiş başka bir Oregon stoğundan toplanan aynı yaştaki erkekler $1\text{♀} \times 3\text{♂}$ olacak şekilde çapraza alındı. İlk pupa görüldüğünde ergin bireyler (ana – baba) morga atıldı. 10 gün boyunca

24 saat ara ile yavru döl (dişi ve erkek) sayımı yapıldı. Bundan sonra uygulama gruplarının ortalama yavru döl sayıları, kontrol ve aseton kontrol gruplarındaki ortalama yavru döl sayıları ile karşılaştırıldı.

Günlük ortalama yavru döl sayısı kontrol grubunda $5,72 \pm 0,24$, aseton kontrol grubunda $5,68 \pm 0,24$, 0.1mg/L uygulama grubunda (N1) $5,23 \pm 0,40$, 1mg/L uygulama grubunda (N2) $6,53 \pm 0,31$, 10mg/L uygulama grubunda (N3) $6,82 \pm 0,37$ olarak saptandı (Çizelge 4. 18).

Çizelge 4. 18. 4-NP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyunda bir dişinin günlük ortalama yavru döl sayısı.

Grup No.	Grup İsmi	Dişi Sayısı	Yavru Döl Sayısı	Günlük Ortalama Yavru Döl Sayısı $\pm$ S.H.	S.S.	Gruplar Arası Önem Kontrolü (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	64	3659	$5,72 \pm 0,24$	6,073	
2	Aseton Kontrol	54	3070	$5,68 \pm 0,24$	5,495	
3	0.1 mg/L (N1)	28	1464	$5,23 \pm 0,40$	6,651	
4	1 mg/L (N2)	43	2807	$6,53 \pm 0,31$	6,512	
5	10 mg/L (N3)	36	2452	$6,82 \pm 0,37$	7,092	

N: Nonilfenol uygulama grubu, S.H.: Standart Hata, S.S.: Standart Sapma

Çizelge 4. 18'de görüldüğü gibi, 0.1mg/L uygulama grubunda (N1) kontrol ve aseton kontrol grubuna göre ortalama yavru döl sayısında azalış, 1mg/L (N2) ve 1mg/L (N3) uygulama gruplarında ise artış gözlenmiştir. Ancak bu azalış ve artışlar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$).

Yavru döl sayımı sırasında dişi ve erkek birey sayıları ayrı ayrı kaydedilmiş ve 4-NP'nin eşey oranı üzerine olan etkisi araştırılmıştır (Çizelge 4. 19).

Çizelge 4. 19. 4-NP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyunda eşey oranları.

Grup No.	Grup İsmi	Dişi Yavru Döl Sayısı	Erkek Yavru Döl Sayısı	Toplam Yavru Döl Sayısı	Erkek ve Dişi Eşey Oranındaki Farklar (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	1861	1798	3659	
2	Aseton Kontrol	1533	1537	3070	
3	0.1 mg/L (N1)	735	729	1464	
4	1 mg/L (N2)	1439	1368	2807	
5	10 mg/L (N3)	1251	1201	2452	

N: Nonilfenol uygulama grubu

Yapılan khi-kare testi sonucunda %95 güven aralığında 4-NP'nin *D. melanogaster*'in eşey oranı üzerine etkisi olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4. 19).

4. 2. 4. 4-Nonilfenolün Günlük Yumurta Verimi Ortalamasına Etkisi

Drosophila melanogaster Oregon soyuna ait 3. evre larvalarına 0.1mg/L, 1mg/L ve 10mg/L 4-NP uygulandı ve bu larvalardan gelişen virjin dişiler toplandı. Bu dişiler, muamele görmemiş erkekler ile 1 dişi 3 erkek olacak şekilde çaprazlandı. Tüm gruplar 25°C ve %50 – 60 bağıl neme sahip kültür odasına alınarak 24 saatlik sürelerle yumurta sayımı yapıldı. Bu işlem 10 gün boyunca sürdürüldü.

Yapılan sayımlar sonucunda günlük ortalama yumurta sayısı, kontrol grubunda $6,85 \pm 0,52$, aseton kontrol grubunda $7,08 \pm 0,52$, 0.1mg/L uygulama grubunda (N1) $3,72 \pm 0,19$, 1mg/L uygulama grubunda (N2) $3,55 \pm 0,19$, 10mg/L uygulama grubunda (N3) ise $3,72 \pm 0,19$ olarak bulundu (Çizelge 4. 20).

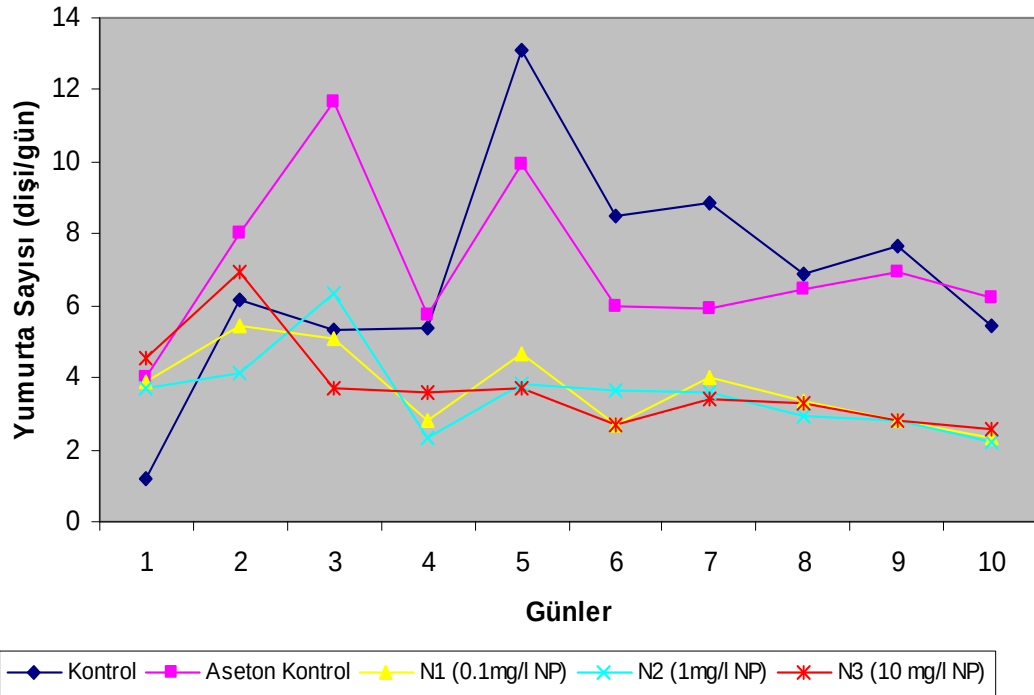
Tüm gruplar için dişi başına günlük ortalama yumurta veriminin zamana bağlı değişimi Şekil 4. 8'de verilmektedir. Grafik incelendiğinde, tüm 4-NP uygulama gruplarında yumurta veriminin kontrol gruplarına göre azaldığı göze çarpmaktadır.

Çizelge 4. 20. 4-NP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyunda bir dişinin günlük ortalama yumurta verimi.

Grup No.	Grup İsmi	Dişi Sayısı	Yumurta Sayısı	Günlük Ortalama Yumurta Sayısı $\pm$ S.H.	S. S.	Gruplar Arası Önem Kontrolü (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	25	1712	$6,85 \pm 0,52$	8,147	1-3* 2-3*
2	Aseton Kontrol	25	1770	$7,08 \pm 0,52$	8,163	1-4* 2-4*
3	0.1 mg/L (N1)	25	929	$3,72 \pm 0,19$	3,050	1-5* 2-5*
4	1 mg/L (N2)	25	887	$3,55 \pm 0,19$	3,069	
5	10 mg/L (N3)	25	931	$3,72 \pm 0,19$	3,055	

N: Nonilfenol uygulama grubu, S.H.: Standart Hata, S.S.: Standart Sapma

* : $p < 0.05$ seviyede anlamlıdır.



Şekil 4. 8. Farklı dozlarda 4-NP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyunda bir dişinin günlük ortalama yumurta veriminin zamana bağlı değişimi.

Yapılan istatistiksel analizler, tüm uygulama gruplarında ortalama yumurta veriminin kontrol ve aseton kontrol gruplarına göre anlamlı bir şekilde azaldığını ($p < 0.05$) göstermiştir. Ancak doza bağlı olarak kademeli bir azalma gözlenmemiştir.

4. 2. 5. 4-Nonilfenolün Ömür Uzunluğuna Etkisi

Drosophila melanogaster Oregon soyuna ait 3. evre larvalarına 0.1mg/L, 1mg/L ve 10mg/L 4-NP uygulandı ve bu larvalardan gelişen virjin dişi ve erkekler toplandı. Toplanan ergin bireylerden 110 dişi ve 110 erkek ile deney grupları oluşturuldu. Erkek ve dişi bireyler, içinde standart besiyeri bulunan tüplere 10'arlı gruplar halinde yerleştirildi. Her doz için ölen dişi ve erkek bireylerin sayısı kaydedildi. Ortalama ömür uzunlukları ve ortalamalar arası önem kontrolleri Çizelge 4. 21. ve Çizelge 4. 22'de verilmektedir.

Yapılan hesaplamalar sonucunda dişilerin ortalama ömür uzunluğu, kontrol grubunda $74,77 \pm 1,13$ gün, aseton kontrol grubunda $75,12 \pm 1,18$ gün, 0.1mg/L uygulama grubunda (N1) $71,77 \pm 0,97$ gün, 1mg/L uygulama grubunda (N2) $73,61 \pm 1,34$ gün, 10mg/L uygulama grubunda (N3) ise $70,40 \pm 1,25$ gün olarak bulundu (Çizelge 4. 21).

Çizelge 4. 21. 4-NP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyu dişilerinin ortalama ömür uzunlukları.

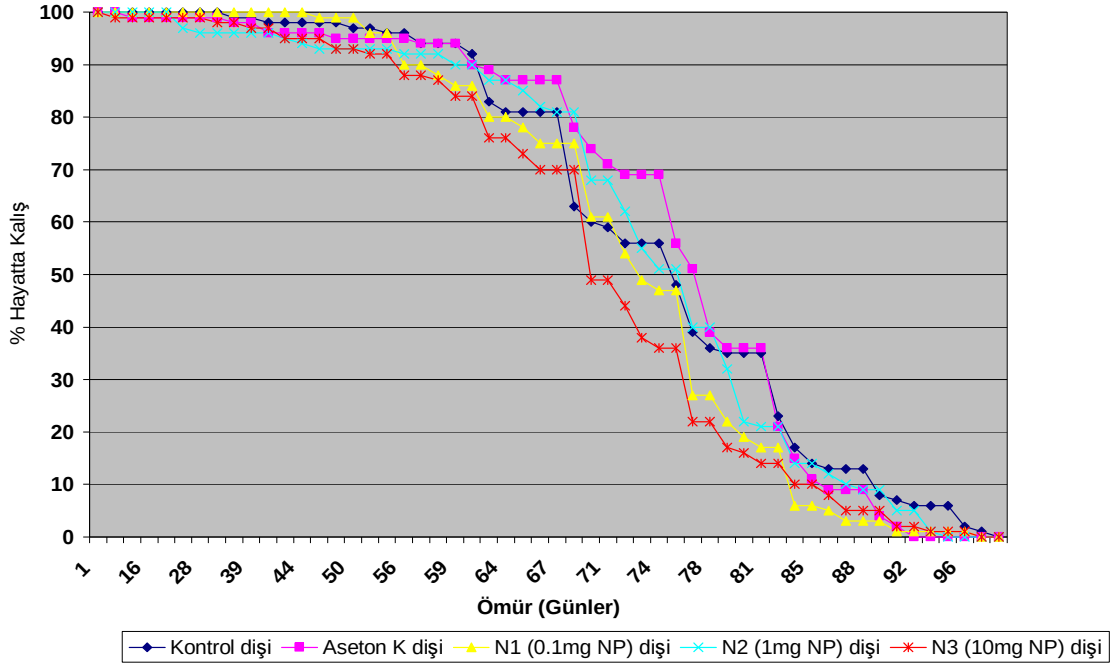
Grup No.	Grup İsmi	Dişi Sayısı	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün) $\pm$ S.H.	S. S.	Gruplar Arası Önem Kontrolü (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	103	$74,77 \pm 1,13$	11,52	1-5* 2-5*
2	Aseton Kontrol	105	$75,12 \pm 1,18$	12,06	
3	0.1 mg/L (N1)	103	$72,77 \pm 0,97$	9,83	
4	1 mg/L (N2)	107	$73,61 \pm 1,34$	13,89	
5	10 mg/L (N3)	105	$70,40 \pm 1,25$	12,79	

N: Nonilfenol uygulama grubu, S.H.: Standart Hata, S.S.: Standart Sapma

* : $p < 0.05$ seviyede anlamlıdır.

Kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p > 0.05$). Çizelge 4. 21'de görüldüğü gibi, 10mg/L (N3) uygulama grubunda kontrol ve aseton kontrol gruplarına göre ortalama ömür uzunluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu ($p < 0.05$) gözlenmiştir. Diğer gruplarda gözlenen azalmalar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$).

Oregon dişileri için, kontrol, aseton kontrol ve uygulama grupları için çizilen ömür eğrileri Şekil 4. 9'da görülmektedir. Ömür eğrileri incelendiğinde de kontrol gruplarına göre N3 uygulama grubunun ömür uzunluğundaki azalma göze çarpmaktadır.



Şekil 4. 9. 4-NP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyu dişilerinin ortalama ömür uzunluğu eğrileri.

D. melanogaster erkeklerinin ortalama ömür uzunluğu, kontrol grubunda $68,20 \pm 1,20$ gün, aseton kontrol grubunda $70,06 \pm 1,18$ gün, 0.1mg/L uygulama grubunda (N1) $66,85 \pm 1,21$ gün, 1mg/L uygulama grubunda (N2) $70,55 \pm 1,11$ gün, 10mg/L uygulama grubunda (N3) ise $67,79 \pm 1,23$ gün olarak bulundu (Çizelge 4. 22).

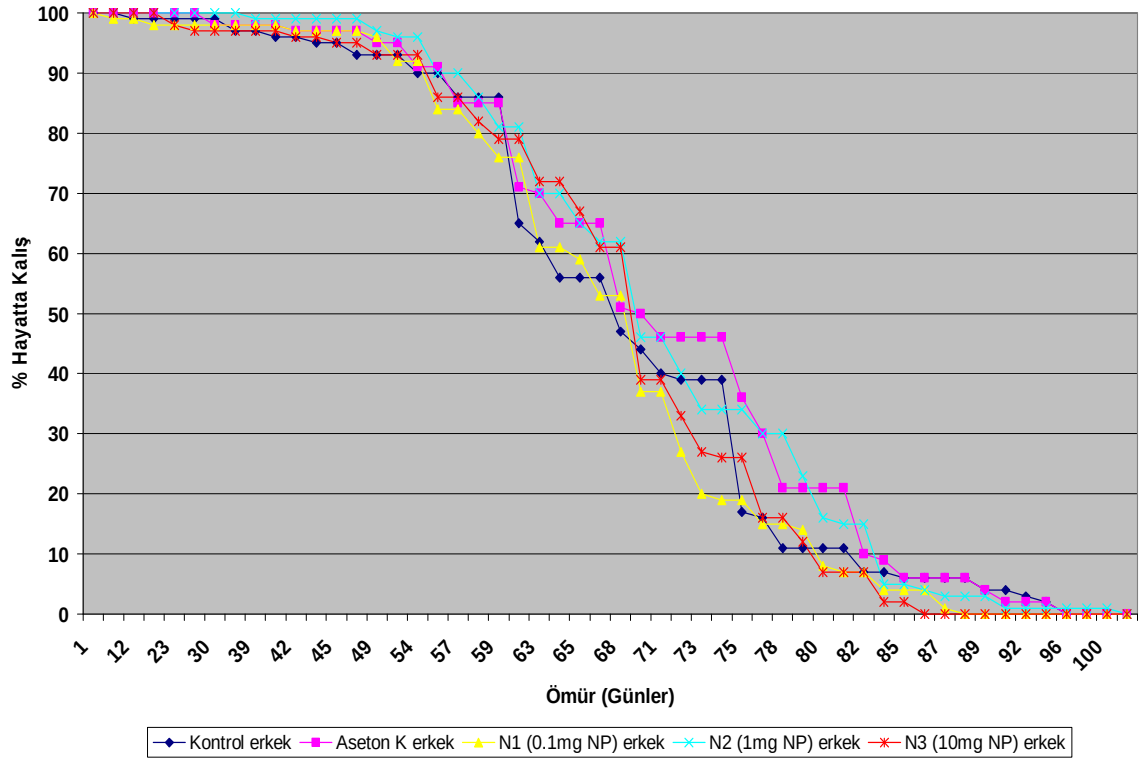
Çizelge 4. 22. 4-NP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyu erkeklerinin ortalama ömür uzunlukları.

Grup No.	Grup İsmi	Erkek Sayısı	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün) $\pm$ S.H.	S. S.	Gruplar Arası Önem Kontrolü (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	97	68,20 $\pm$ 1,20	11,77	
2	Aseton Kontrol	105	70,06 $\pm$ 1,18	12,11	
3	0.1 mg/L (N1)	100	66,85 $\pm$ 1,21	12,12	
4	1 mg/L (N2)	94	70,55 $\pm$ 1,11	10,72	
5	10 mg/L (N3)	95	67,79 $\pm$ 1,23	11,96	

N: Nonilfenol uygulama grubu, S.H.: Standart Hata, S.S.: Standart Sapma

* : $p < 0.05$ seviyede anlamlıdır.

İstatistiksel karşılaştırmalarda, kontrol ve aseton kontrol grubu erkeklerinin ömür uzunlukları arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur ($p > 0.05$). Çizelge 4. 22’de görüldüğü gibi, uygulama gruplarının ömür uzunluğunda da kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ($p > 0.05$).



Şekil 4. 10. 4-NP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyu erkeklerinin ortalama ömür uzunluğu eğrileri.

Oregon erkekleri için, kontrol, aseton kontrol ve uygulama grupları için çizilen ömür eğrileri Şekil 4. 10'da görülmektedir. Ömür eğrileri incelendiğinde grupların ömür uzunlukları arasında belirgin bir fark olmadığı görülmektedir.

4. 3. 4-tert-Oktilfenolün *Drosophila melanogaster* Gelişimine Etkileri

4. 3. 1. 4-tert-Oktilfenolün Pupa Oluşumuna Etkisi

4. 3. 1. 1. Larvadan pupaya geçiş oranları

Drosophila melanogaster'in yabanıl Oregon soyunun 4-tert-oktilfenol (4-tert-OP) uygulanan ve uygulanmayan larvalarından pupalaşanlar sayılarak larvadan pupaya geçiş yüzdeleri saptandı (Çizelge 4. 23). Kontrol ve aseton kontrol gruplarında larvaların %96'sının, 0.1 mg/L uygulama grubunda (O1) % 94'ünün, 1 mg/L uygulama grubunda (O2) % 98'inin, 10 mg/L uygulama grubunda (O3) ise % 92'sinin pupalaştığı saptandı.

Pupalaşan larva sayısında kontrol gruplarına göre O1 ve O3'te azalma, O2'de ise artma olduğu Çizelge 4. 23'de gözlenmektedir. Ancak, Çizelge 4. 24'te görüldüğü gibi tek değişkenli varyans analizinin sonuçları, pupalaşan larva sayısı açısından 4-OP uygulamalarının etkisinin istatistiksel olarak anlamsız olduğunu göstermiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4. 23. Larvadan pupaya geçiş oranlarının 4-tert-OP uygulama dozlarına göre değişimi.

Grup	Larva Sayısı	Pupa Sayısı	Oran $\pm$ S.H	S. S.
Kontrol	100	96	96 $\pm$ 1,63	3,266
Aseton Kontrol	100	96	96 $\pm$ 2,31	4,619
0.1 mg/L (O1)	100	94	94 $\pm$ 3,46	6,928
1 mg/L (O2)	100	98	98 $\pm$ 1,16	2,309
10 mg/L (O3)	100	92	92 $\pm$ 3,65	7,303

O: Oktilfenol uygulama grubu, S. H. : Standart Hata, S.S.: Standart Sapma

Çizelge 4. 24. Larvadan pupaya geçiş değerlerinin varyans analizine göre önem dereceleri ($p>0.05$).

	Kareler Toplamı	sd	Ortalama Kare	F	Önemlilik
Gruplar arası	8,320	4	2,080	0,750	0,573
Gruplar içi	4,160	15	2,773		
Toplam	4,992	19			

sd: serbestlik derecesi

4. 3. 1. 2. Larvadan pupaya geçiş süreleri

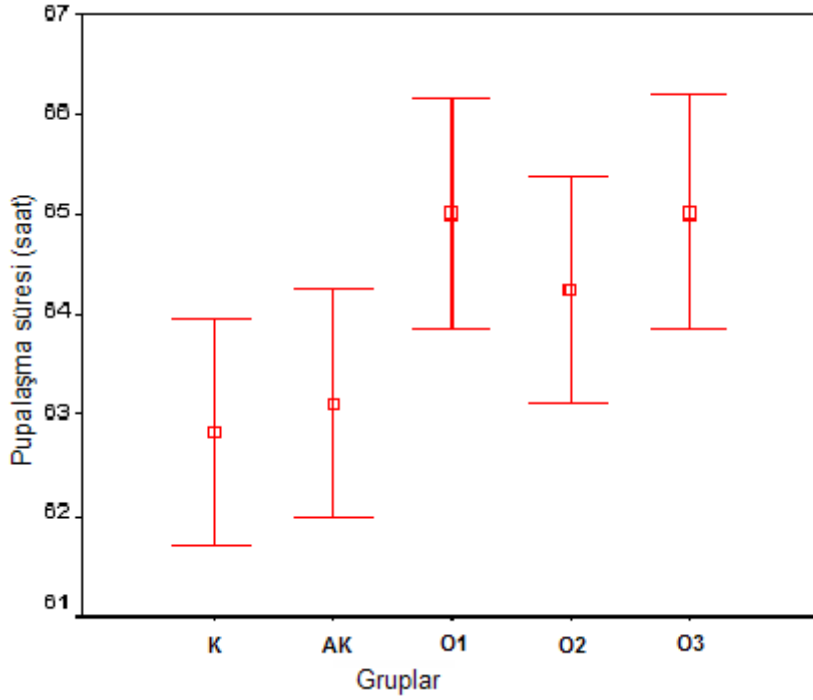
Drosophila melanogaster'in yabanıl tip Oregon soyunda larvadan pupaya geçiş sürelerine 4-tert-oktilfenolün etkisini araştırmak için, dört saat aralıklarla yapılan sayımların sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Kontrol grubunda larvalarda ortalama pupalaşma zamanı 62,8 saatken bu süre, aseton kontrol grubunda 63,1 saat, 0.1 mg/L uygulama grubunda 65 saat, 1 mg/L uygulama grubunda 64,3 saat, 10 mg/L uygulama grubunda ise 65 saattir (Çizelge 4. 25). Bu veriler karşılaştırıldığında uygulama gruplarında, kontrol ve aseton kontrole göre tüm uygulama gruplarında ortalama pupalaşma süresinin arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0.05$) görülmektedir. Ortalama pupalaşma sürelerine ait grafikler Şekil 4. 11'de verilmektedir.

Çizelge 4. 25. Kontrol ve 4-tert-OP uygulama gruplarında ortalama pupalaşma süreleri.

Grup No	Grup İsmi	Ortalama Pupalaşma Süresi (saat)	S. S.	Gruplar Arası Önem Kontrolü (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	62,8	25,63	1-3* 1-4* 1-5* 2-3* 2-4* 2-5*
2	Aseton Kontrol	63,1	25,82	
3	0.1 mg/L (O1)	65,0	25,04	
4	1 mg/L (O2)	64,3	25,37	
5	10 mg/L (O3)	65,0	25,11	

O: Oktilfenol uygulama grubu, S.S.: Standart Sapma

* : $p<0.05$ seviyede anlamlıdır.



Şekil 4. 11. Kontrol (K), aseton kontrol (AK), 0.1 mg/L (O1), 1 mg/L (O2) ve 10 mg/L (O3) 4-tert-OP uygulama gruplarında pupalaşma süresinin değişimi.

4. 3. 2. 4-tert-Oktilfenolün Ergin Oluşumuna Etkisi

4. 3. 2. 1. Pupadan ergine geçiş oranları

Drosophila melanogaster'in 4-tert-oktilfenol (4-tert-OP) uygulanan ve uygulanmayan gruplarında, yabanıl tip Oregon soyunun pupadan ergine geçiş yüzdeleri saptandı ve istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Çizelge 4. 26'da görüldüğü gibi, kontrol ve aseton kontrol gruplarında pupaların % 93,75'i, 0.1mg/L uygulama grubunda (O1) % 87,23'ü, 1 mg/L uygulama grubunda (O2) % 89,80'i ve 10 mg/L uygulama grubunda (O3) ise % 82,61'i erginleşmiştir.

Çizelge 4. 26 incelendiğinde, erginleşen pupa sayısında kontrol ve aseton kontrole göre tüm uygulama gruplarında azalma gözlenmektedir. Ancak bu azalışlar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). Çizelge 4. 27'de verilen varyans analizi sonuçlarına göre, %95 güven aralığında, erginleşen pupa sayısının 4-tert-OP uygulamalarından etkilenmediği görülmektedir ($p>0.05$).

Çizelge 4. 26. Pupadan ergine geçiş oranlarının 4-tert-OP uygulama dozlarına göre değişimi.

Grup	Pupa Sayısı	Ergin Sayısı	Oran $\pm$ S.H	S. S.
Kontrol	96	90	93,75 $\pm$ 2,12	4,242
Aseton Kontrol	96	90	93,75 $\pm$ 2,18	4,359
0.1 mg/L (O1)	94	82	87,23 $\pm$ 2,72	5,447
1 mg/L (O2)	98	88	89,80 $\pm$ 5,29	0,106
10 mg/L (O3)	92	76	82,61 $\pm$ 6,04	0,121

O: Oktilfenol uygulama grubu, S. H. : Standart Hata, S.S.: Standart Sapma

Çizelge 4. 27. Pupadan ergine geçiş değerlerinin varyans analizine göre önem dereceleri ($p>0.05$).

	Kareler Toplamı	sd	Ortalama Kare	F	Önemlilik
Gruplar arası	3,402	4	8,505	1,311	0,311
Gruplar içi	9,733	15	6,489		
Toplam	0,131	19			

sd: serbestlik derecesi.

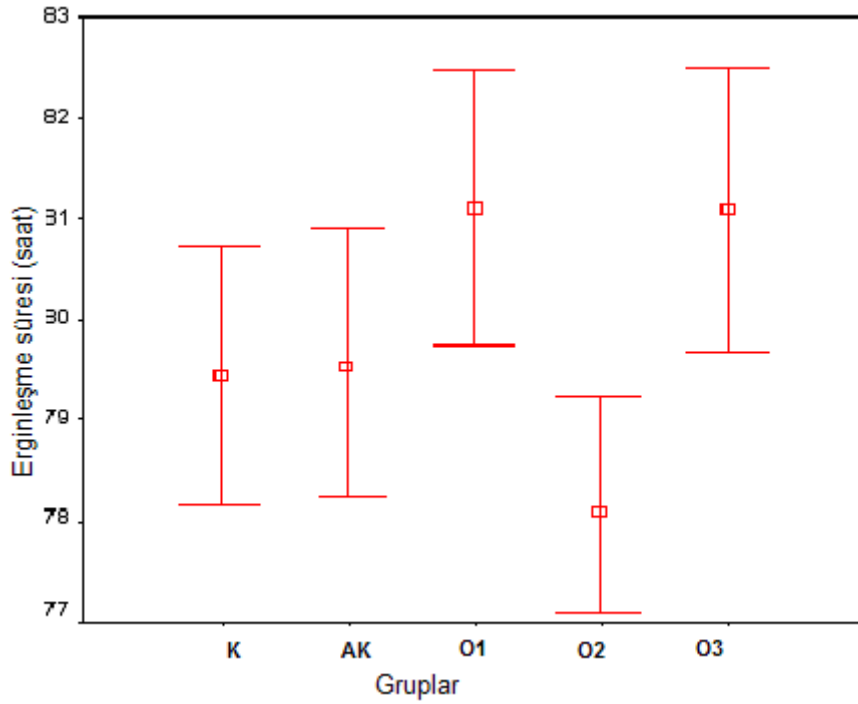
4. 3. 2. 2. Pupadan ergine geçiş süreleri

Drosophila melanogaster'in yabanıl tip Oregon soyunda pupadan ergine geçiş sürelerine 4-tert-oktilfenolün etkisini araştırmak için, 4'er saatlik aralıklarla yapılan sayımların sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Kontrol ve aseton kontrol grubu pupalarında ortalama erginleşme zamanı 79,4 saat iken bu süre, 0.1 mg/L ve 10 mg/L uygulama gruplarında 81,1 saat, 1 mg/L uygulama grubunda 77,5 saattir (Çizelge 4. 28). Bu veriler karşılaştırıldığında uygulama gruplarında, kontrol ve aseton kontrole göre 0.1 mg/L ve 10 mg/L uygulama gruplarında ortalama erginleşme süresinin uzadığı, 1 mg/L uygulama grubunda ise kısaldığı saptanmıştır. Bu değişimler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). Ortalama erginleşme sürelerine ait grafikler Şekil 4. 12'de gözlenmektedir.

Çizelge 4. 28. Kontrol ve 4-tert-OP uygulama gruplarında ortalama erginleşme süreleri.

Grup No	Grup İsmi	Ortalama Erginleşme Süresi (saat)	S. S.	Gruplar Arası Önem Kontrolü (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	79,4	32,17	1-3* 1-4* 1-5* 2-3* 2-4* 2-5*
2	Aseton Kontrol	79,4	31,67	
3	0.1 mg/L (O1)	81,1	31,89	
4	1 mg/L (O2)	77,5	32,88	
5	10 mg/L (O3)	81,1	31,75	

O: Oktifenol uygulama grubu, * : $p < 0.05$ seviyede anlamlıdır.



Şekil 4. 12. Kontrol (K), aseton kontrol (AK), 0.1 mg/L (O1), 1 mg/L (O2) ve 10 mg/L (O3) 4-tert-OP uygulama gruplarında erginleşme süresinin değişimi.

4. 3. 3. 4-tert-Oktilfenolün Günlük Yavru Döl Sayısı Ortalamasına ve Eşey Oranına Etkisi

Günlük ortalama yavru döl sayısı ortalamasını saptamak için, “gelişim dönemlerinin izlenmesi” deneyinde kontrol, aseton kontrol, 0.1mg/L OP, 1mg/L OP ve 10mg/L OP uygulama gruplarına ait larvaların gelişimiyle elde edilen virjin dişiler kullanıldı. Bu dişilerle, muamele görmemiş başka bir Oregon stoğundan toplanan aynı yaştaki erkekler 1♀ X 3♂ olacak şekilde çapraza alındı. İlk pupa görüldüğünde ergin bireyler (ana – baba) morga atıldı. 10 gün boyunca 24 saat ara ile yavru döl sayımı yapıldı. Bundan sonra uygulama gruplarının ortalama yavru döl sayıları, kontrol ve aseton kontrol gruplarındaki ortalama yavru döl sayıları ile karşılaştırıldı.

Günlük ortalama yavru döl sayısı kontrol grubunda $5,72 \pm 0,24$, aseton kontrol grubunda $5,68 \pm 0,24$, 0.1mg/L uygulama grubunda (O1) $5,11 \pm 0,37$, 1mg/L uygulama grubunda (O2) $5,81 \pm 0,37$, 10mg/L uygulama grubunda (O3) $6,30 \pm 0,38$ olarak saptandı (Çizelge 4. 29).

Çizelge 4. 29. 4-tert-OP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyunda bir dişinin günlük ortalama yavru döl sayısı.

Grup No.	Grup İsmi	Dişi Sayısı	Yavru Döl Sayısı	Günlük Ortalama Yavru Döl Sayısı $\pm$ S.H.	S. S.	Gruplar Arası Önem Kontrolü (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	64	3659	$5,72 \pm 0,24$	6,073	
2	Aseton Kontrol	54	3070	$5,68 \pm 0,24$	5,495	
3	0.1 mg/L (O1)	28	1432	$5,11 \pm 0,37$	6,651	
4	1 mg/L (O2)	34	1974	$5,81 \pm 0,37$	6,784	
5	10 mg/L (O3)	28	1765	$6,30 \pm 0,38$	7,092	

O: Oktilfenol uygulama grubu, S.H.: Standart Hata, S.S.: Standart Sapma

Çizelge 4. 29’da görüldüğü gibi, 0.1mg/L uygulama grubunda (O1) kontrol ve aseton kontrol grubuna göre ortalama yavru döl sayısında azalış, 1mg/L (O2) ve

1mg/L (O3) uygulama gruplarında ise artış gözlenmiştir. Ancak bu azalış ve artışlar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$).

Yavru döl sayımı sırasında dişi ve erkek birey sayıları ayrı ayrı kaydedilmiş ve 4-tert-OP'nin eşey oranı üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Yapılan khi-kare testi sonucunda %95 güven aralığında 4-tert-OP'nin *D. melanogaster*'in eşey oranı üzerine etkisi olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4. 30).

Çizelge 4. 30. 4-tert-OP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyunda eşey oranları.

Grup No.	Grup İsmi	Dişi Yavru Döl Sayısı	Erkek Yavru Döl Sayısı	Toplam Yavru Döl Sayısı	Erkek ve Dişi Eşey Oranındaki Farklar (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	1861	1798	3659	
2	Aseton Kontrol	1533	1537	3070	
3	0.1 mg/L (O1)	701	731	1432	
4	1 mg/L (O2)	1011	963	1974	
5	10 mg/L (O3)	885	880	1765	

O: Oktilfenol uygulama grubu

4. 3. 4. 4-tert-Oktilfenolün Günlük Yumurta Verimi Ortalamasına Etkisi

Drosophila melanogaster Oregon soyuna ait 3. evre larvalarına 0.1mg/L, 1mg/L ve 10mg/L OP uygulandı ve bu larvalardan gelişen virjin dişiler toplandı. Bu dişiler, muamele görmemiş erkekler ile 1 dişi 3 erkek olacak şekilde çaprazlandı. Tüm gruplar 25°C ve %50 – 60 bağıl neme sahip kültür odasına alınarak 24 saatlik sürelerle yumurta sayımı yapıldı. Bu işlem 10 gün boyunca sürdürüldü.

Yapılan sayımlar sonucunda günlük ortalama yumurta sayısı, kontrol grubunda $6,85 \pm 0,52$, aseton kontrol grubunda $7,08 \pm 0,52$, 0.1mg/L uygulama grubunda (O1) $3,72 \pm 0,19$, 1mg/L uygulama grubunda (O2) $3,55 \pm 0,19$, 10mg/L uygulama grubunda (O3) ise $3,72 \pm 0,19$ olarak bulundu (Çizelge 4. 31).

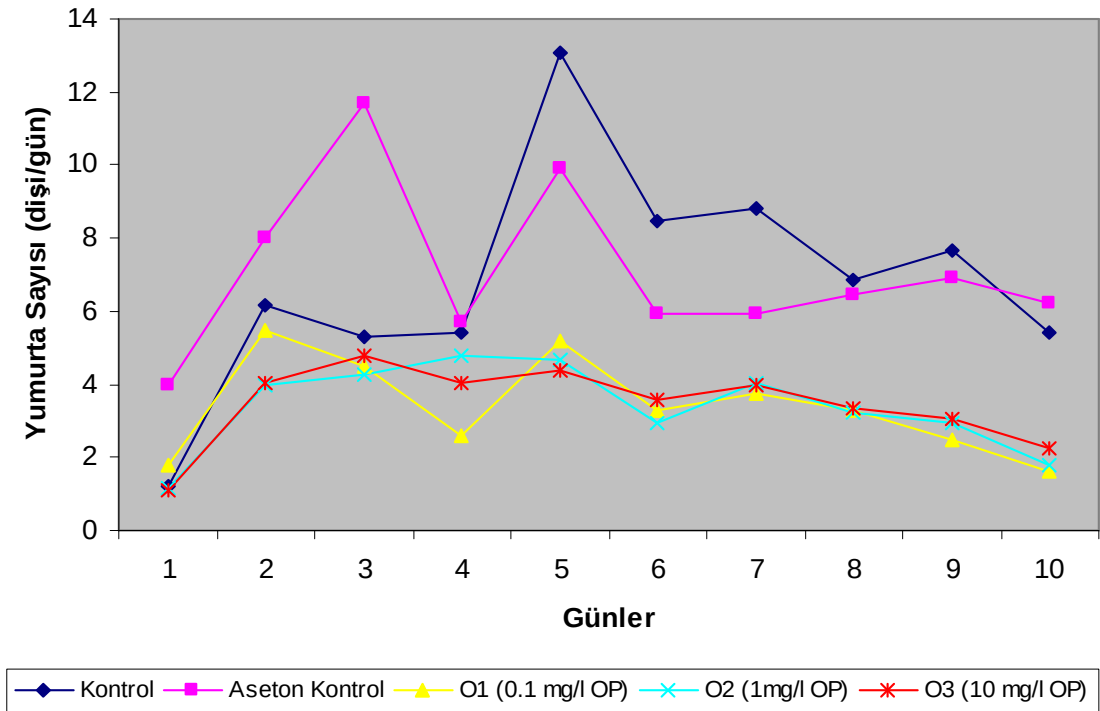
Çizelge 4. 31. 4-tert-OP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyunda bir dişinin günlük ortalama yumurta verimi.

Grup No.	Grup İsmi	Dişi Sayısı	Yumurta Sayısı	Günlük Ortalama Yumurta Sayısı $\pm$ S.H.	S. S.	Gruplar Arası Önem Kontrolü (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	25	1712	6,85 $\pm$ 0,52	8,147	1-3* 2-3*
2	Aseton Kontrol	25	1770	7,08 $\pm$ 0,52	8,163	1-4* 2-4*
3	0.1 mg/L (O1)	25	848	3,39 $\pm$ 0,19	3,000	1-5* 2-5*
4	1 mg/L (O2)	25	846	3,38 $\pm$ 0,21	3,384	
5	10 mg/L (O3)	25	865	3,46 $\pm$ 0,18	2,813	

O: Oktifenol uygulama grubu, S.H.: Standart Hata, S.S.: Standart Sapma

* :p<0.05 seviyede anlamlıdır.

Tüm gruplar için dişi başına günlük ortalama yumurta veriminin zamana bağlı değişimi Şekil 4. 13'te verilmektedir. Grafik incelendiğinde, tüm 4-tert-OP uygulama gruplarında yumurta veriminin kontrol gruplarına göre azaldığı gözle çarpılmaktadır.



Şekil 4. 13. Farklı dozlarda 4-NP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyunda bir dişinin günlük ortalama yumurta veriminin zamana bağlı değişimi.

Yapılan istatistiksel analizler, tüm uygulama gruplarında ortalama yumurta veriminin kontrol ve aseton kontrol gruplarına göre anlamlı bir şekilde azaldığını ($p<0.05$) göstermiştir. Ancak doza bağlı olarak kademeli bir azalma gözlenmemiştir.

4. 3. 5. 4-tert-Oktilfenolün Ömür Uzunluğuna Etkisi

Drosophila melanogaster Oregon soyuna ait 3. evre larvalarına 0.1mg/L, 1mg/L ve 10mg/L 4-NP uygulandı ve bu larvalardan gelişen virjin dişi ve erkekler toplandı. Toplanan ergin bireylerden 110 dişi ve 110 erkek ile deney grupları oluşturuldu. Erkek ve dişi bireyler, içinde standart besiyeri bulunan tüplere 10'arlı gruplar halinde yerleştirildi. Her doz için ölen dişi ve erkek bireylerin sayısı kaydedildi. Ortalama ömür uzunlukları ve ortalamalar arası önem kontrolleri Çizelge 4. 32 ve Çizelge 4. 33'te verilmektedir.

Yapılan hesaplamalar sonucunda dişilerin ortalama ömür uzunluğu, kontrol grubunda $74,77 \pm 1,13$ gün, aseton kontrol grubunda $75,12 \pm 1,18$ gün, 0.1mg/L uygulama grubunda (O1) $76,02 \pm 1,02$ gün, 1mg/L uygulama grubunda (O2) $77,17 \pm 0,96$ gün, 10mg/L uygulama grubunda (O3) ise $73,13 \pm 1,78$ gün olarak bulundu (Çizelge 4. 32).

Çizelge 4. 32. 4-tert-OP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyu dişilerinin ortalama ömür uzunlukları.

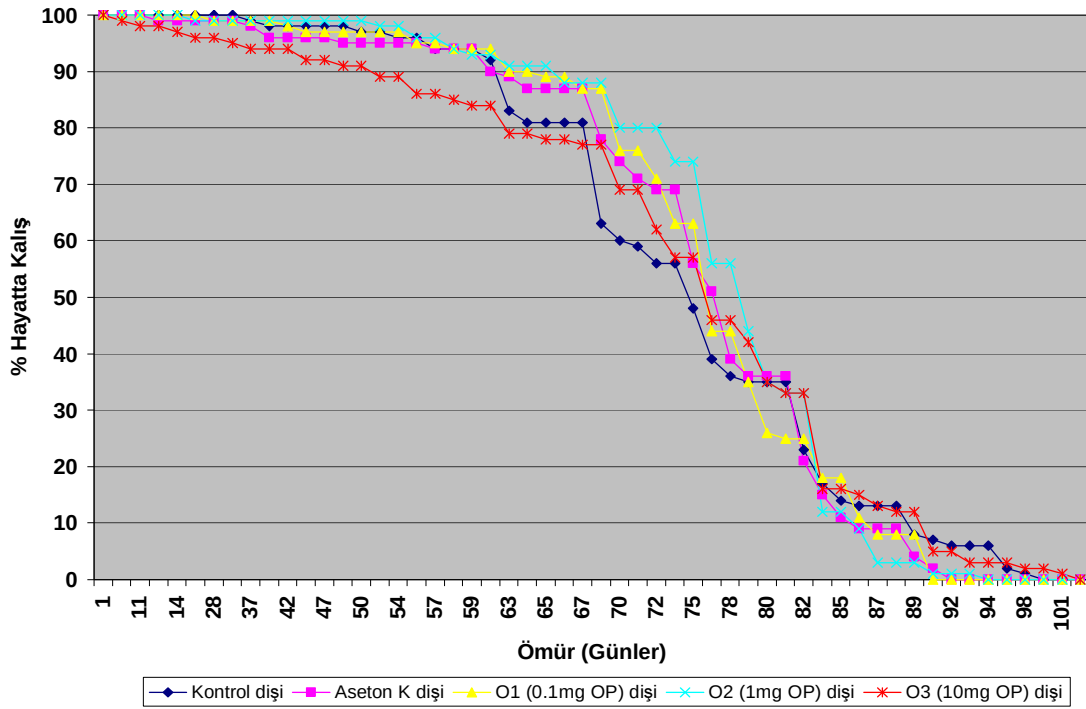
Grup No.	Grup İsmi	Dişi Sayısı	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün) $\pm$ S.H.	S. S.	Gruplar Arası Önem Kontrolü (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	103	$74,77 \pm 1,13$	11,52	
2	Aseton Kontrol	105	$75,12 \pm 1,18$	12,06	
3	0.1 mg/L (O1)	102	$76,02 \pm 1,02$	10,28	
4	1 mg/L (O2)	102	$77,17 \pm 0,96$	9,70	
5	10 mg/L (O3)	101	$73,13 \pm 1,78$	17,84	

O: Oktilfenol uygulama grubu, S.H.: Standart Hata, S.S.: Standart Sapma

* : $p<0.05$ seviyede anlamlıdır.

Kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0.05$). Çizelge 4. 32'de görüldüğü gibi, uygulama gruplarının ömür uzunluklarında kontrol gruplarının ömür uzunluklarından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Oregon dişileri için, kontrol, aseton kontrol ve uygulama grupları için çizilen ömür eğrileri Şekil 4. 14'te görülmektedir. Ömür eğrileri incelendiğinde grupların ömür uzunlukları arasında fark olmadığı görülmektedir.



Şekil 4. 14. 4-tert-OP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyu dişilerinin ortalama ömür uzunluğu eğrileri.

D. melanogaster erkeklerinin ortalama ömür uzunluğu, kontrol grubunda $68,20 \pm 1,20$ gün, aseton kontrol grubunda $70,06 \pm 1,18$ gün, 0.1mg/L uygulama grubunda (O1) $63,28 \pm 1,53$ gün, 1mg/L uygulama grubunda (O2) $71,65 \pm 1,35$ gün, 10mg/L uygulama grubunda (O3) ise $66,79 \pm 1,34$ gün olarak bulundu (Çizelge 4. 33).

Çizelge 4. 33. 4-tert-OP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyu erkeklerinin ortalama ömür uzunlukları.

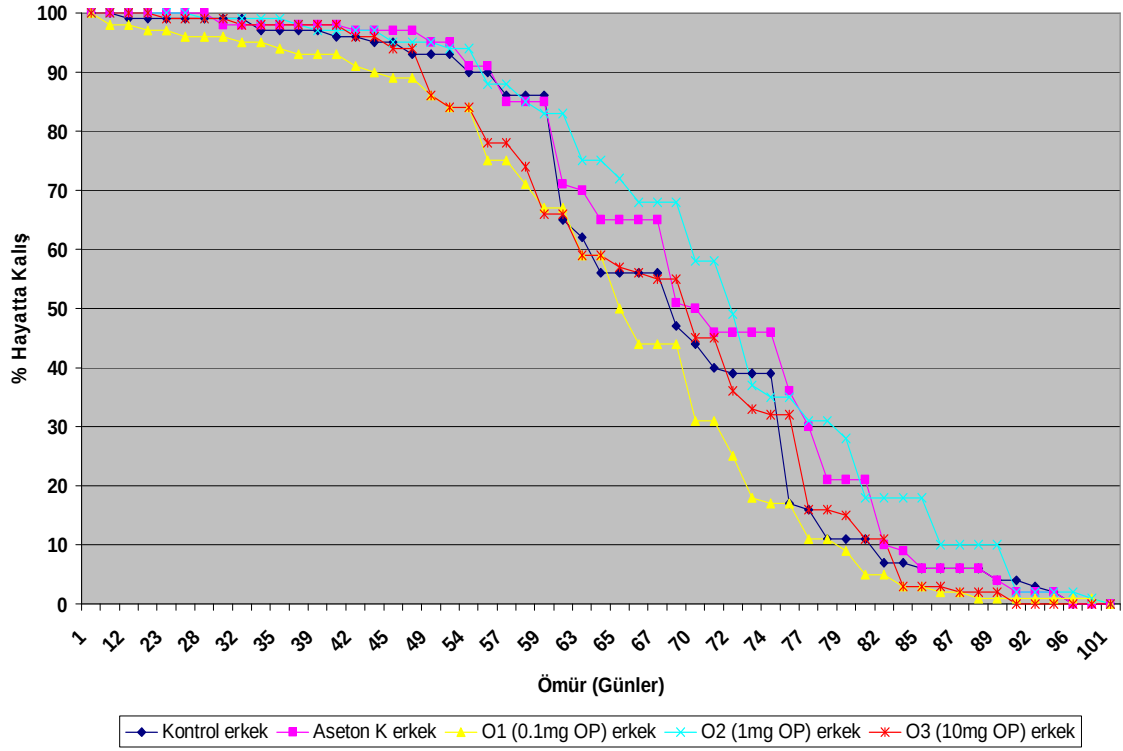
Grup No.	Grup İsmi	Erkek Sayısı	Ortalama Ömür Uzunluğu (Gün) $\pm$ S.H.	S. S.	Gruplar Arası Önem Kontrolü (Sadece anlamlı farklar)
1	Kontrol	97	68,20 $\pm$ 1,20	11,70	1-3* 2-3*
2	Aseton Kontrol	105	70,06 $\pm$ 1,18	12,11	
3	0.1 mg/L (O1)	102	63,28 $\pm$ 1,53	15,42	
4	1 mg/L (O2)	93	71,65 $\pm$ 1,35	13,04	
5	10 mg/L (O3)	97	66,79 $\pm$ 1,34	13,16	

O: Oktifenol uygulama grubu, S.H.: Standart Hata, S.S.: Standart Sapma

* : $p < 0.05$ seviyede anlamlıdır.

İstatistiksel karşılaştırmalarda kontrol ve aseton kontrol grubu erkeklerinin ömür uzunlukları arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur ($p > 0.05$). 0.1mg/L uygulama grubunun (O1) ömür uzunluğunda kontrol ve aseton kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0.05$). Diğer gruplarda gözlenen sapmalar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$).

Oregon erkekleri için, kontrol, aseton kontrol ve uygulama grupları için çizilen ömür eğrileri Şekil 4. 15'te görülmektedir. Ömür eğrileri incelendiğinde de O1 uygulama grubunun ömür uzunluğundaki azalma göze çarpmaktadır.



Şekil 4. 15. 4-tert-OP uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) *D. melanogaster* Oregon soyu erkeklerinin ortalama ömür uzunluğu eğrileri.

5. TARTIŞMA

Son yıllardaki çalışmalar, doğada bulunan çok sayıdaki kimyasalın, birçok hayvanda normal endokrin fonksiyonunu bozma yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir. Çevresel östrojenler (ksenoöstrojenler) de bu zararlı kimyasal gruplarından biridir ve genel olarak endokrin bozucular olarak isimlendirilmişlerdir. Bu bileşikler, hayvanlarda ve insanlarda östrojen hormonu gibi davranabilen sentetik kimyasallardan ve doğal bitki bileşiklerinden oluşmaktadır.

Östrojenik bileşiklerin çoğu, özel bir amaç için üretilmekte ya da bir yan ürün olarak ortaya çıkmaktadır ve pestisitler, plastikler, konserve kutuları, oyuncaklar, kozmetikler, boyalar, deterjanlar, şampuanlar, boyalar gibi birçok tüketim ürününün yapımında kullanılmaktadır. Bu bileşiklerin yaygın kullanım ve çeşitliliğinin sonucu olarak başta insan olmak üzere balık, kuş vb. hayvanlarda pek çok istenmeyen etki ortaya çıkmaktadır (NIEHS, 2006).

Endokrin bozucu kimyasalların kullanımına dünyanın pek çok ülkesinde kısıtlamalar ve yasaklamalar getirilmesine rağmen, bazılarının 100 yıla varan yarı ömürleri, çevrede parçalanmadan kalmaları ve sediment, su ve toprakta birikmeleri bu maddelere maruz kalma riskini artırmakta ve bu bileşiklerin önemine dikkat çekmektedir (Çok ve Öztok, 2003). Bununla beraber, çok düşük dozlarının bile hem laboratuvar hayvanlarında hem de yabani türlerde olumsuz etkilerinin saptanması bu bileşiklere olan ilgiyi artırmıştır (NIEHS, 2006).

Endokrin bozucu kimyasalların etkilerine ilişkin yapılan çalışmaların çoğu omurgalı canlılar üzerine yoğunlaşmıştır. Bu kimyasalların omurgasız canlılara etkileri ancak 2000'li yıllarda yoğun olarak araştırılmaya başlanmıştır ve etki mekanizmaları konusundaki bilgiler kısıtlıdır. Oysa ki omurgasızlar, hayvanlar aleminde bilinen türlerin %95'ini temsil eder ve ekosistemin yapısı ve fonksiyonu için çok önemlidirler (Hutchinson, 2002; Oehlmann and Schulte-Oehlmann, 2003). Omurgasız canlılarla yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunda ise sucul organizmalar kullanılmıştır. Ancak sucul omurgasızlar temel omurgasız gruplarını temsil etme konusunda yetersiz olabilir (Hutchinson, 2002). Bu bakımdan karasal

bir omurgasız olan *Drosophila melanogaster* ile yaptığımız bu çalışma önem taşımaktadır.

Bu çalışmada, en önemli endokrin bozucu kimyasallardan olan bisfenol A (BPA), 4-nonilfenol (4-NP) ve 4-tert-oktilfenolün (4-tert-OP) *D. melanogaster*'in gelişim biyolojisi üzerine olan etkileri, larvadan pupaya, pupadan ergine geçiş oranı ve süresi, yavru döl sayısı, eşey oranı ve yumurta verimi test edilerek araştırılmıştır. Aynı zamanda bu maddelerin ömür uzunluğuna olan etkileri de incelenmiştir. Deney koşullarında, gelişim, yumurta verimi ve ömür uzunluğunu etkileyebilecek çevresel ve iç etkenler sabit tutulmuştur. Bu deneyler için oluşturulan kontrol ve aseton kontrol grubu sonuçları arasında fark bulunmamaktadır. Bu nedenle, elde edilen sonuçların farklılığı uygulanan maddelerin etkisi olarak yorumlanmıştır.

Çalışmalarımızın sonuçlarına genel olarak bakıldığında, endokrin bozucu olarak tanımlanan bisfenol A, 4-nonilfenol ve 4-tert-oktilfenol, *D. melanogaster*'in gelişim biyolojisi ve ömür uzunluğu üzerinde farklı etkilere yol açmışlardır.

5. 1. Gelişim Biyolojisine Etkiler

Uygulanan bisfenol A dozları (0.1 mg/L, 1 mg/L, 10 mg/L), larvadan pupaya, pupadan ergine geçiş oranı üzerinde istatistiksel olarak önemli bir değişim meydana getirmemiştir ($p>0.05$) (Çizelge 4. 2 ve 4. 5). Ancak larvadan pupaya, pupadan ergine geçiş süresi, kontrol ve aseton kontrol gruplarına göre tüm uygulama gruplarında istatistiksel olarak önemli derecede gecikmiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4. 3 ve 4. 6).

Birçok araştırma sonucunda da bisfenol A'nın gelişimi geciktirici etkileri bulunmuştur. Bisfenol A, omurgalılarda hormon reseptörleriyle etkileşime girerek endokrin sistemde olumsuz etkiler ortaya çıkaran bir çevresel östrojendir (Planello et al., 2008). BPA'nın omurgasızların gelişim ve üreme parametreleri üzerinde de etkili olabileceği saptanmıştır. BPA'nın sucul bir böcek olan *Chironomus riparius*'un (Diptera) gelişimi ve üremesi üzerine olan etkileri Watts ve arkadaşları (2001) tarafından araştırılmış ve uygulanan maddenin pupadan çıkış zamanında gecikmeye neden olduğu ve ergin çıkış yüzdesini azalttığı saptanmıştır. Aynı

araştırmacıların yaptığı başka bir çalışmada (2003), uygulanan BPA'nın ağız parçalarında deformasyona neden olduğu ve larval gömlek değiştirmeleri geciktirdiği tespit edilmiştir. Benzer bir çalışmada, *C. riparius*'un yumurta ve larvalarına uygulanan BPA'nın gelişim üzerine etkileri olduğu belirlenmiştir (Segner et al., 2003). Endokrin bozucu kimyasalların sucül bir omurgasız olan *Tigriopus japonicus* (Copepoda) üzerine etkilerini araştıran bir çalışmada, hayatta kalış, fekundite ve eşey oranında herhangi bir değişime rastlanmazken, gelişimde gecikmeler ortaya çıkmıştır. (Marcial et al., 2003). Roepke ve arkadaşları (2005) tarafından yapılan bir çalışmada, BPA uygulamalarının embriyoların gelişimini geciktirdiği saptanmıştır. Izumi ve arkadaşlarının (2008) karasinek *Musca domestica* ile yaptıkları bir çalışmada, BPA'nın yumurtadan larvaya, larvadan pupaya geçiş oranını azalttığı ve pupadan çıkış zamanını geciktirdiği belirlenmiştir. *Marisa cornuarietis* ile yapılan başka bir çalışmada, 50 ve 100 µg/L BPA uygulaması, yumurtadan çıkış süresini geciktirmiştir (Schirling et al., 2006).

4-nonilfenolün 0.1 mg/L, 1 mg/L ve 10 mg/L'lik dozları, *D. melanogaster*'in larvadan pupaya, pupadan ergine geçiş oranını etkilememiştir ($p>0.05$) (Çizelge 4.13 ve 4.16). Nonilfenolün 1 mg/L ve 10 mg/L'lik dozları, larvadan pupaya geçiş süresinde istatistiksel olarak önemli bir gecikmeye neden olurken ($p<0.05$), 0.1 mg/L 4-NP uygulaması böyle bir gecikme meydana getirmemiştir ($p>0.05$) (Çizelge 4. 14). Pupadan ergine geçiş süresi ise 0.1 mg/L ve 1 mg/L'lik uygulamalardan etkilenmiş ve kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma meydana gelmiştir ($p<0.05$). 10 mg/L uygulama grubunda böyle bir azalma söz konusu değildir (Çizelge 4. 17).

Sucül bir omurgasız olan *Eurytemora affinis* ile yapılan bir çalışmada, larvalara 4 - 44 µg/L arasındaki konsantrasyonlarda 4-NP uygulandığında bu larvaların bir larval basamaktan diğerine geçemediği ve gömlek değiştirmenin geciktiği belirlenmiştir. (Forget-Leray et al., 2005). Brown ve arkadaşlarının (1999) yaptığı bir başka çalışmada, 800-1000 µg/L 4-NP uygulamasının embriyoların gelişimini tamamen durdurduğu saptanmıştır. Zhang ve arkadaşlarının (2003) yaptığı benzer bir çalışmada, 800-1000 µg/L 4-NP uygulaması *Daphnia magna* embriyolarının gelişimini tamamen durdurmuştur. Nice ve arkadaşları (2000) tarafından yapılan bir çalışmada, sucül bir omurgasız olan *Crassostrea gigas*'a farklı

konsantrasyonlarda (0.1, 1, 10, 100, 1000 ve 10.000 µg/L) 4-NP uygulandığında bu canlının özel bir larval basamağa (D-şekline) gelişimi gecikmiştir. Gelişim süresinde oluşan gecikmenin yanı sıra D-şekilli larvaya ulaşan birey sayısında da azalmalar ortaya çıkmıştır. Östrojenik kimyasalların sucul bir omurgasız olan *Tigriopus japonicus* (Copepoda) üzerine etkilerini araştıran bir çalışmada, 1 ve 10 µg/L 4-NP uygulaması gelişimde gecikmelere neden olmuştur (Marcial et al., 2003). Nonilfenolün etkilerini araştıran diğer bir çalışmada, karides *Americamysis bahaia* (Crustacea: Mysidacea) juvenillerine uygulanan NP gömlek değiştirmede gecikmeye neden olmuştur (Hirano et al., 2009). Bir başka çalışmada ise, 11 ppm ve 22 ppm nonilfenol uygulaması tatlısu süngeri *Heteromyenia*'da gelişimsel anormalliklere yol açmış, 22 ppm'lik uygulama ise büyüme hızında istatistiksel olarak anlamlı azalmalara neden olmuştur (Hill et al., 2004). Benzer bir çalışmada, deniz kestanesi *Arbacia lixula* embriyolarına 0.937 – 18.74 µg/L arasında değişen konsantrasyonlarda NP uygulaması embriyoların büyümesini inhibe etmiştir (Cakal Arslan and Parlak, 2007). Diğer bir çalışmada ise, kaya midyesi *Elminius modestus* larvalarına 0.01 – 10 µg/l 4-NP uygulandığında ergin büyüklüğünde azalma ve larval gelişimde hızlanma saptanmıştır (Billinghurst et al., 2001). Omurgasız canlılarla yapılan bu çalışmaların ve benzer şekilde bizim çalışmalarımızın sonuçları, 4-NP'nin genel olarak gelişimsel etkilere neden olduğunu göstermektedir.

4-tert-oktilfenol uygulamaları (0.1 mg/L, 1 mg/L, 10 mg/L), larvadan pupaya, pupadan ergine geçiş oranlarında önemli bir değişim meydana getirmemiştir ($p>0.05$) (Çizelge 4. 24 ve 4. 27). Larvadan pupaya geçiş süresi, uygulanan tüm oktilfenol dozlarından etkilenmiş ve ortalama pupalaşma süresinde kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir gecikme meydana gelmiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4. 25). 0.1mg/L ve 10mg/L oktilfenol uygulaması pupadan ergine geçiş süresinde istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden olurken, 1 mg/L'lik uygulama istatistiksel olarak anlamlı bir azalma meydana getirmiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4. 28).

Andersen ve arkadaşları (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, 5.2 µg/L OP uygulaması deniz omurgasız *Acartia tonsa* larvalarının gelişimini inhibe etmiştir. Benzer bir çalışmada, 0.001 – 5 ng/L arasında değişen miktarlardaki OP 'nin deniz

kestanesi (*Strongylocentrotus purpuratus* ve *Lytechinus anamesus*) embriyolarının gelişimini inhibe ettiği saptanmıştır (Roepke et al., 2005). Benzer şekilde, deniz kestanesi *Arbacia lixula*'ya 5 – 160 µg/L OP uygulamasının embriyoların büyümesini inhibe ettiği bulunmuştur (Cakal Arslan and Parlak, 2007). Endokrin bozucu kimyasalların sucul bir omurgasız olan *Tigriopus japonicus* (Copepoda) üzerine etkilerini araştıran bir çalışmada, 0.1 ve 1 µg/L p-t-OP uygulamaları gelişimde gecikmelere yol açmıştır (Marcial et al., 2003). Yaptığımız çalışmada uygulanan tüm dozların *Drosophila melanogaster*'in ortalama pupalaşma süresini geciktirdiği saptanmıştır. Ortalama erginleşme zamanında ise hem gecikme hem de kısalma ortaya çıkmıştır. Bizim sonuçlarımız da oktilfenolün omurgasız canlıların gelişimini geciktirme veya durdurma yönündeki sonuçlarını desteklemektedir.

Başarılı bir gelişim ve metamorfoz, bir çok enzim, hormon ve bunların etkileşimini kapsayan bir kimyasal dengeler sistemine bağlıdır. Böcek gelişimi ve üremesinde meydana gelen değişimlerin çoğu endokrin sistemdeki değişimlerden kaynaklanmaktadır. Larvadan pupaya geçiş sırasında etkili olan en önemli hormonlar, ektisteroidler (ektizon ve 20-hidroksiektizon) ve juvenil hormondur. Pupalaşma sırasında ektizon miktarı artarken, juvenil hormon miktarı azalır (Kalthoff, 1996).

Ektizon hormonu, yaşam döngülerinin belli dönemlerinde gömlek değiştiren böceklerde bulunmaktadır. Steroid bir hormon olan ektizon, gömlek değiştirme ve metamorfozu kapsayan temel postembriyonik gelişimsel değişimleri düzenleyerek böcek gelişimi boyunca anahtar bir rol oynar (Hall and Thummel, 1998). Ektizon, gelişim üzerine olan etkisini, ektizon reseptör (EcR) ve Ultraspiracle (USP) olmak üzere nükleer reseptör ailesinin iki üyesinin oluşturduğu bir heterodimerik bir kompleksle etkileşime girerek gösterir (Baker et al, 2000; Kozlova and Thummel, 2000). Moleküler çalışmalar, *Drosophila*'nın ektisteroid reseptörünün (USP) omurgalıların steroid hormon (Retinoid X) reseptörleri ile homoloji gösterdiğini ortaya çıkarmıştır (Hall and Thummel, 1998). Bununla beraber, ektisteroid hormon reseptörü ve DNA kompleksi arasındaki etkileşimin omurgalılarıdaki ile benzer olduğu (Ozyhar et al., 1991; Zou and Fingerman, 1997) ve steroid hormon reseptörlerine bağlanma yeteneğine sahip endokrin bozucu kimyasalların

omurgasızların ektisteroid reseptörlerine de bağlanabileceği öne sürülmüştür (Watts et al., 2001). *Drosophila melanogaster*'de B_{II} in vitro analizi adı verilen bir test tekniği ile yapılan bir araştırmada, endokrin bozucu kimyasalların (BPA, NP, OP) reseptör kompleksindeki ligand bağlanma bölgesi için ektisteroidler ile rekabet edebileceği belirlenmiştir (Dinan et al., 2001).

Drosophila gelişimi büyük oranda ektisteroidler ile düzenlenir (Kozlova and Thummel, 2000; Thummel, 2001; Gilbert, 2006). Ektisteroid hormonlarla yapısal benzerlik gösteren östrojenik kimyasalların ektisteroid reseptörlerine bağlanıp endojen ektisteroidlerin reseptörlerine bağlanmasını engelleyerek gelişimde bir takım bozulmalar meydana getirmesi olasıdır (Zou and Fingerman, 1997; Forget-Leray et al., 2005). Örneğin, ksenoöstrojenik bir bileşik olan dietilstilbestrolün (DES) metabolik olarak 20-hidroksiektizon (20-E) sentez kapasitesini değiştirerek ya da doğrudan doğruya 20-E reseptörlerine bağlanarak *Daphnia magna*'nın gömlek değiştirmesini etkilediği belirlenmiştir (Baldwin et al., 1995). Çalışma kapsamında uygulanan çevresel östrojenler (BPA, 4-NP ve 4-tert-OP), *Drosophila*'nın ektisteroid hormon reseptörleri ile etkileşime girip gelişim zamanında değişimler ortaya çıkarmış olabilir. Dinan ve arkadaşları (2001), *D. melanogaster*'de "B_{II} biyoanaliz yöntemi" ile BPA ve NP'nin ektisteroidler ile antagonistik etkileşimde bulunduğunu belirlemişlerdir. Uygulanan tüm maddeler larvadan pupaya geçişi geciktirmiştir. Larval dönemde uygulanan östrojenik bileşikler, ektisteroidler ile rekabete girerek doğal hormonların reseptörlerine bağlanmasını engellemiş (antagonistik etki) ve gelişimi geciktirmiş olabilir.

Çalışmamızda pupadan ergine geçişte BPA uygulaması gecikmeye, 4-NP uygulaması hızlanmaya, 4-tert-OP uygulaması ise hem gecikme hem de hızlanmaya neden olmuştur. Pupadan ergine geçişte her maddenin etkisinin farklı olması, maddeler arasındaki konsantrasyon farkına bağlanabilir. Başlangıçta aynı dozda uygulanmış olmalarına rağmen, pupal dönemde bu maddelerin her biri farklı hızda metabolize edilerek konsantrasyon farklılığı ortaya çıkmış olabilir.

Endokrin bozucuların hem antagonistik etkili hem de agonistik etkili olabildiği bilinmektedir (e. hormone, 2004). 4-tert-OP'nin 0.1 mg/L ve 10 mg/L dozları

antagonistik etki, 1 mg/L dozu ise agonistik etki göstererek pupadan ergine geçişi farklı şekillerde etkilemiş olabilirler.

Endokrin bozucu kimyasallarla yapılan çalışmalarda, bu maddelere maruz kalmanın hücrelerde stresi indükleyebileceği saptanmıştır. Örneğin BPA ile yapılan çalışmalarda, BPA uygulamasının kemirgenlerde karaciğer, beyin, böbrek ve testislerde oksidatif stresi indüklediği gösterilmiştir (Roy et al., 1997; Obata and Kubota, 2000; Bindhumol et al., 2003; Kabuto et al., 2003; Cho et al., 2008). Hücre kendini korumak için stres nedeni ile zarar gören proteinlerini tamir eder ya da bazı özel proteinlerin üretimini artırır. Bu proteinlerin bazıları, “ısı şoku proteinleri” (heat shock protein, hsp) olarak adlandırılır. Bunlar, hücre koruma sisteminin önemli bir parçasını oluştururlar. Bu proteinler adlarından belli olduğu gibi ısıya duyarlıdır, yalnız son zamanlarda yapılan çalışmalar bu proteinlerin sadece ısı ile değil diğer birçok stres faktöründen (çevresel değişimler, hipertermi, metabolik değişimler, toksik kimyasallar, virüs enfeksiyonu v.b.) de etkilenecek arttığını göstermiştir. Isı şoku proteinleri, hasar görmüş proteinlerin lizozomlara taşınmasını ya da normal koşullara döndüğünde proteinin eski halini almasını sağlayarak hasarlı proteinlerin tamirine yardımcı olurlar (Roberts and Feder, 1999; Neven, 2000; Morrow and Tanguay, 2003). Sıcaklık gibi stres faktörlerinin gelişim üzerine olan etkilerini araştırmak için yapılan bir çalışmada, uygulanan stres faktörü (sıcaklık), hsp70 artışına neden olmuş ve gelişim süresini uzatmıştır. Gelişim süresindeki uzamanın strese bir yanıt olduğu belirtilmiştir (Sorensen and Loeschcke, 2004). Bir başka çalışmada da hsp70 transkripsiyonu arttığında gelişim süresinin de uzadığı gösterilmiştir (Krebs and Feder, 1998).

Planello ve arkadaşları (2008), *Chironomus riparius* (Diptera) larvalarına 3-12 mg/L BPA uygulandığında hsp70 transkripsiyonunun arttığını saptamışlardır. Benzer biçimde, hsp70 mRNA miktarının bisfenol A ve nonilfenolü de içeren farklı kirletici uygulamaları ile arttığı belirlenmiştir (Lee et al., 2006). Rhee ve arkadaşları (2009) tarafından *Tigriopus japonicus* (Copepoda) ile yapılan bir çalışmada, BPA uygulamasının hsp70 ifadesinde artışa neden olduğu, NP ve OP uygulamalarının ise bu genin ifadesinde azalmaya yol açtığı saptanmıştır.

Çalışmamızda uyguladığımız BPA, NP ve OP larvadan pupaya geçişte (pupalaşma süresinde) gecikmelere neden olmuştur. Erginleşme süresindeki değişimler ise maddelere göre değişiklik göstermiş ve hem gecikmelere hem de hızlanmalara yol açmıştır. Ortaya çıkan bu değişimlerin nedeni uygulamalara bağlı olarak hsp ifadesinde meydana gelen değişimler olabilir. Isı şoku proteinlerinin (hsp) ifadesinin larval – pupal süreç boyunca, ektisteroidler tarafından düzenlendiği, bunların kodlandığı gen bölgeleri arasında karşılıklı bir etkileşim olduğu, hsp sentezinin yapısal ve gelişimsel olarak ayarlandığı rapor edilmiştir (Morrow and Tanguay, 2003). Bu nedenle, stres koşulları altında indüklenen hsp sentezi, ektizon sentezini etkileyerek gelişimi etkilemiş olabilir.

Bir dişinin günlük ortalama yavru döl sayısının belirlenmesi deneyinde 0.1 mg/L ve 1 mg/L BPA uygulaması yavru döl sayılarını kontrol ve aseton kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaltmıştır ($p < 0.05$). 10mg/L uygulama grubunda, yavru döl sayısı bakımından anlamlı bir azalma gözlenmemiştir ($p > 0.05$) (Çizelge 4. 7). BPA'nın test edilen tüm dozları *Drosophila*'nın eşey oranında istatistiksel olarak önemli bir farka neden olmamıştır ($p > 0.05$) (Çizelge 4. 8.). 4-NP ve 4-tert-OP'nin (0.1 mg/L, 1 mg/L, 10 mg/L) *D. melanogaster*'in yavru döl sayısı ve eşey oranı üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisine rastlanmamıştır ($p > 0.05$) (Çizelge 4. 18, 4. 19, 4. 29 ve 4. 30).

Endokrin bozucu kimyasalların zararsız olarak tanımlanmış dozlarının canlılar üzerinde daha fazla etkili olabileceği konusunda tartışmalar bulunmaktadır. “Düşük doz hipotezi” olarak isimlendirilen bu hipotezin doğruluğu araştırılmaya devam etmektedir (BPA INFO, 2002; Vom Saal and Hughes, 2005). Bisfenol A'nın düşük konsantrasyonlarının daha etkili olduğuna dair çalışmalar vardır (Welshons et al., 2006; Izumi et al., 2008; Lemos et al., 2009; Goodman et al., 2009). Uygulanan en yüksek BPA dozunun yavru döl sayısı üzerine etkili olmaması bu maddenin düşük dozlarının gelişim üzerine yüksek dozlara oranla daha etkili olabileceğini düşündürmekte ve bu hipotezi destekler niteliktedir.

Ektisteroidlerin doğrudan ya da dolaylı yollardan oogenez ve spermatogenezi etkilediği bilinmektedir. Ektizon metabolizmasını etkileyebilen BPA'nın erkek ve dişilerde üreme üzerinde etkili olduğu rapor edilmiştir (Lemos et al., 2010).

Çalışmamızda uyguladığımız BPA spermatogenez ve/ya da oogenezi etkileyerek yavru döl sayısında azalmalara neden olmuş olabilir.

Bir dişinin günlük ortalama yumurta verimi üzerine endokrin bozucu kimyasalların etkisi incelendiğinde, kontrol gruplarına göre bütün uygulama gruplarının yumurta veriminde genel bir azalma vardır. BPA, 4-NP ve 4-tert-OP'nin uygulanan tüm dozları (0.1 mg/L, 1 mg/L, 10 mg/L) *D. melanogaster*'in yumurta verimini istatistiksel olarak anlamlı oranda azaltmıştır ($p<0.05$) (Çizelge 4. 9, 4. 20 ve 4. 31). Ancak tüm bu değişimler doza bağlı olarak lineer bir artış ya da azalış şeklinde gözlenmemiştir.

Izumi ve arkadaşlarının (2008) karasinek *Musca domestica* ile yaptıkları bir çalışmada, 100 µg/kg ve 1000 µg/kg BPA uygulaması ile eşey oranı erkek bireylerden yana artış göstermiştir. Lemos ve arkadaşları (2009), karasal bir omurgasız olan *Porcellio scaber* juvenillerine 10 mg BPA /kg toprak uyguladıklarında 2 dişiye karşılık 1 erkek birey (2:1) oluşurken daha yüksek dozlardaki uygulamalar kontrolden farklı bir oran (1:1) vermemiştir. Endokrin bozucu kimyasalların sucül bir omurgasız olan *Tigriopus japonicus* (Copepoda) üzerine etkilerini araştıran bir çalışmada ise, 0.01, 0.1, 1, 10 µg/L BPA uygulanan bireylerde hayatta kalış, fekundite ve eşey oranında herhangi bir değişime rastlanmamıştır (Marcial et al., 2003). Benzer olarak, BPA'nın *Marisa cornuarietis*'in fekunditesi, yumurtadan çıkışı ve büyümesine olan etkilerini araştıran diğer bir çalışmada da, 0.1 – 640 µg/L arasında değişen BPA uygulamalarının bu parametreler üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etki ortaya çıkarmadığı belirlenmiştir (Forbes et al., 2008). Bisfenol A'nın sucül bir omurgasız olan *Hyalella azteca*'ya olan etkilerini araştıran bir başka çalışmada 1.1 mg/L uygulaması, büyüme (uzunluk ve ağırlık) üzerine etkili olmazken dişi başına ortalama yavru döl sayısını anlamlı derecede azaltmıştır (Mihaich et al., 2009). Evrimsel olarak ilkel bir omurgasız olan *Hydra oligactis*'in eşeyli ve eşeysiz üremesine BPA'nın toksik etkisini araştıran bir çalışmada ise, 0.5 – 4 mg/L BPA uygulaması ortalama yumurta sayısını azaltmıştır (Fukuhori et al., 2005).

Birçok çalışmada, nonilfenolün (NP) gelişim üzerine herhangi bir etkisi gözlenmemiştir. Örneğin, nonilfenolün etkilerini araştıran bir çalışmada 4-NP

uygulaması, *Chironomus tentans*'ın eşey oranını, üreme ve yumurta yaşayabilirliğini etkilememiştir (Kahl et al., 1997). Nonilfenolün etkilerini araştıran diğer bir çalışmada, karides *Americamysis bahaia* (Crustacea: Mysidacea) juvenillerine uygulanan NP eşey oranında herhangi bir değişime yol açmamıştır (Hirano et al., 2009). Benzer bir şekilde, 31 µg/L 4-NP uygulanan sucul plankton *Tisbe battagliai*'de fekundite ve eşey oranı uygulamadan etkilenmemiştir (Bechmann, 1999). Sucul bir omurgasız olan *Eurytemora affinis* ile yapılan diğer bir çalışmada, NP uygulamasının fekundite ve yavru döl sayısını etkilemediği belirlenmiştir (Forget-Leray et al., 2005). Başka bir çalışmada, 4-NP uygulaması sucul bir omurgasız olan *Tigriopus japonicus*'un (Copepoda) hayatta kalış, fekundite ve eşey oranında herhangi bir değişime neden olmamıştır (Marcial et al., 2003). Diğer bir çalışmada, *Daphnia magna* erginlerine uygulanan 50 µg/L 4-NP fekundite ve eşey oranında herhangi bir değişime yol açmamıştır (Zhang et al., 2003). *D. magna* ile yapılan bir çalışmada da, 0.46 µM ve 0.91 µM 4-NP uygulaması yavru döl sayısını etkilememiştir (LeBlanc et al., 2000).

Bu çalışmaların yanı sıra NP uygulamalarının ortalama yavru döl sayısı ve fekunditede azalmaya neden olduğunu gösteren çalışmalar da vardır. Comber ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (1993) 0.13 mg/L NP uygulaması, *D. magna*'nın ortalama yavru döl sayısında kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma meydana getirmiştir. Brown ve arkadaşlarının (1999) yaptığı bir çalışmada, 10µg/L'lik 4-NP uygulamasının sucul bir omurgasız olan *Corophium volutator* dişilerinin üretkenliğinde artmaya neden olduğu saptanmıştır. Diğer bir çalışmada, *Daphnia galeata* erginlerine 10-100 µg/L nonilfenol uygulanmış ve fekunditede azalma ve gelişimsel anormallikler tespit edilmiştir (Shurin and Dodson, 1997). *D. magna* ile yapılan başka bir çalışmada, 100 µg/L NP uygulaması fekunditede anlamlı bir azalmaya yol açarken, hayatta kalış ve yavru döl sayısı üzerine etkili olmamıştır (Baldwin et al., 1997). Ayrıca, 50 µg/L NP uygulaması tatlı su rotatoru *Brachionus calyciflorus* dişilerinin verimliğinde azalmaya neden olmuştur (Preston et al., 2000).

Endokrin bozucu kimyasalların sucul bir omurgasız olan *Tigriopus japonicus* (Copepoda) üzerine etkilerini araştıran bir çalışmada, 0.01, 0.1, 1, 10 µg/L p-tert-

oktilfenol (p-t-OP) uygulanan bireylerde gelişim ve üreme incelenmiştir. Hayatta kalış ve eşey oranında herhangi bir değişime rastlanmamıştır. Ancak 1 µg/L p-t-OP uygulaması fekundite üzerinde etkili olmuş ve dişi başına yavru sayısını artırmıştır (Marcial et al., 2003).

Bu çalışmalardan da anlaşılacağı gibi çalışma kapsamında kullanılan endokrin bozucu kimyasalların (BPA, 4-NP ve 4-tert-OP) eşey oranı, yavru döl sayısı ve fekundite üzerine etkileri çeşitlidir. Bazı çalışmalarda anlamlı etkiler gözlenirken bazılarında etki görülmemiştir. Ortaya çıkan sonuçların çeşitliliği uygulanan farklı dozlara ve farklı omurgasız türlerine bağlanabilir.

Tez çalışması kapsamında uygulanan tüm endokrin bozucu kimyasallar (BPA, 4-NP ve 4-tert-OP) yumurta verimini kontrol gruplarına göre anlamlı oranda azaltmıştır. Birçok iç ve dış faktörün *Drosophila melanogaster*'in yumurta verimini etkilediği bilinmektedir. Stres de yumurta verimini etkileyebilen bir faktördür. Endokrin bozucu kimyasallarla yapılan çalışmalarda, bu maddelere maruz kalmanın hücrelerde stresi indükleyebileceği saptanmıştır (Roy et al., 1997; Obata and Kubota, 2000; Bindhumol et al., 2003; Kabuto et al., 2003; Cho et al., 2008). Yumurta veriminde meydana gelen azalmanın nedeni, endokrin bozucu bu kimyasallardan kaynaklanan stresin yumurta verimini etkilemesi olabilir. Stres koşulları altında, *Drosophila melanogaster*'in üreme fonksiyonunda değişimler meydana geldiği ve ektisteroid sistemin (ektizon ve 20-hidroksiectizon) bu durumdan sorumlu olduğu bildirilmiştir (Rauschenbach et al., 2000).

Drosophila melanogaster erkek ve dişileri, hedef dokuda 20-hidroksiectizona (20-E) dönüştürülebilen bir öncül hormon olan ektizona sahiptir. 20-E ovaryum gelişimini kontrol ettiğinden, dişilerde erkeklerden daha fazla bulunmaktadır. 20-E miktarı ile yumurta verimi arasında negatif geri bildirim mekanizması olduğu rapor edilmiştir. Örneğin, aç bırakılan ve yüksek sıcaklık uygulanan dişilerde 20-E konsantrasyonu artarken yumurta verimi azalmıştır (Rauschenbach et al., 2000). Lemos ve arkadaşları (2009) karasal bir omurgasız olan *Porcellio scaber*'a BPA uyguladıklarında bu maddenin 20E konsantrasyonunu artırdığını saptamışlardır. Çalışmamızda uyguladığımız endokrin bozucu kimyasallar ektizon hormonunda bir artışa neden olmuş ve böylece yumurta verimini azaltmış olabilir.

Lemos et al. (2009) tarafından yapılan çalışmada, ortaya çıkan hiperektizyonizmin üremede çok önemli bir anahtar protein olan yumurta yolk proteini öncüsü vitellogenine (*vtg*) zarar vererek fekunditeyi azaltabileceği yorumu yapılmıştır. Artan 20-E miktarı, yolk protein sentezinde bozulmalara yol açarak üreme üzerinde etkili olabilmektedir. BPA uygulamasını takiben *vtg* üretimindeki artış balıklar, amfibiler ve omurgasızlarda rapor edilmiştir (Crain et al., 2007). Çalışma kapsamında uyguladığımız östrojenik bileşikler *vtg* üretimine zarar vererek yumurta veriminde azalmaya yol açmış olabilir.

Gelişim ve yumurta veriminde ortaya çıkan değişimlerin hormonal bir bozukluk nedeniyle olup olmadığı konusu fizyolojik ve moleküler çalışmalar yapılarak daha ayrıntılı olarak incelenmelidir. Hormon düzeyleri ölçülerek yapılan analizler sonucunda bu maddelerin gelişimsel etkileri tam olarak aydınlatılabilecektir.

5. 2. Ömür Uzunluğu Üzerine Etkiler

Bir organizmanın ergin ömür süresi, sahip olduğu genetik etkenler ve çevresel etkenlerin etkileşimiyle belirlenir. Eğer bu dış etmenler ömrün başından sonuna sabit tutulursa, erginlerin yaşama süresi genotiplerinin bir ifadesi olarak ortaya çıkar (Ünlü and Bozcuk, 1979a,b).

Çalışmanın başında değinildiği gibi çevresel etmenlerden sıcaklık (25°C), besin (standart *Drosophila* besiyeri), populasyon yoğunluğu (10 birey/tüp), ışık (günde 12 saat aydınlık) ve bir oranda bağıl nem (%50 – 60) sabit tutulmuştur. Ayrıca çalışmaların tümünde *Drosophila melanogaster*'in Oregon soyu kullanılmıştır. Deneylerde değişen etmen, organizmaya uygulanan endokrin bozucu kimyasallardır. Dolayısıyla deneylerde ergin ömür uzunluğunda görülen değişimler, endokrin bozucu bu kimyasalların etkisiyle ortaya çıkmış olmalıdır.

Daha önceki çalışmalara göre Oregon soyunun ömür uzunluğu araştırmacıların deneysel koşullarına göre belli oranda değişiklik göstermektedir. Çalışma ortamı, bireysel deneyim ve uygulama farkları aynı labotatuvar koşullarında bile ömür uzunluğu farklılıklarına neden olabilmektedir (Ünlü, 1991c). Örneğin *D.melanogaster*'in Oregon soyunun Clark ve Gould (1970)'un verilerine göre

erkekleri 25°C'de yaklaşık 67 gün, dişileri 56 gün yaşarken, Ünlü and Bozcuk (1979a)'un verilerine göre, Oregon erkekleri 67 gün, dişileri ise 61 gün yaşamıştır. Araştırmamızdaki bulgulara göre Oregon kontrol grubunda dişiler 74,77 gün, erkekler 68,20 gün yaşamıştır.

Bisfenol A, 4-nonilfenol ve 4-tert-oktilfenolün *Drosophila melanogaster*'in ömür uzunluğu üzerine olan etkileri dişi ve erkeklerde ayrı ayrı incelenmiş, eşeye ve doza bağlı farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Kontrol grupları arasında fark olmaması asetonun ömür uzunluğunda herhangi bir değişikliğe neden olmadığını, ömür uzunluğunda gözlenen değişimlerin endokrin bozucu kimyasalların etkisiyle olduğunu göstermektedir.

Bisfenol A uygulanan gruplarda 1mg/L ve 10mg/L'lik dozlarda, dişilerin ortalama ömür uzunluğu anlamlı derecede azalmıştır ($p<0.05$) (Çizelge 4. 10). Bu iki grubun ortalama ömür uzunlukları benzer (71,58 gün) olduğundan belirgin bir doz cevap ilişkisinden bahsedilememektedir. Ancak belirli bir dozun eşik etkisi yaratmış olabileceği düşünülmektedir. Erkeklerde, 1mg/L'lik BPA uygulaması, aseton kontrole göre ömür uzunluğunda önemli bir azalmaya neden olmuştur ($p<0.05$). 0.1mg/L BPA uygulaması ise, kontrol gruplarına göre anlamlı bir artışa yol açmıştır (Çizelge 4. 11).

Nonilfenol uygulamalarında, dişilerin ömür uzunluğunun sadece 10mg/L dozundan etkilendiği ve kontrol gruplarına göre anlamlı derecede kısaldığı gözlenmiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4. 21). Erkeklerde ise kontrol gruplarından farklı bir ömür uzunluğuna rastlanmamıştır ($p>0.05$) (Çizelge 4. 22).

Oktilfenol uygulanan dişilerin ömür uzunluğunda kontrol gruplarından farklı bir değişim gözlenmezken ($p>0.05$), erkekler sadece 0.1mg/L oktilfenol uygulanan grupta kontrol gruplarına göre daha kısa yaşamıştır ($p<0.05$) (Çizelge 4. 32 ve 4. 33). Bu grupta en düşük doz olan 0.1mg/L OP'nin azaltıcı etkisi, bu maddenin çok düşük dozlarının bile canlıların ömür uzunluğunu kısalttığını göstermesi açısından oldukça önemlidir. Oktilfenol gibi endokrin bozucu maddelerle yapılan çalışmalarda düşük dozların yüksek dozlardan daha etkili olabileceği

belirtilmektedir. “Düşük doz hipotezi” olarak adlandırılan bu hipotez günümüzde halen araştırılmaktadır (BPA INFO, 2002). Çalışmamızda ortaya çıkan ömür uzunluğunu azaltan bu etki oktilfenolün düşük dozlardaki azaltıcı etkisini açıklayabilir.

Yapılan literatür taramalarında, çalışmamızda kullandığımız çevresel östrojenlerin omurgasızların ömür uzunluğuna etkileri konusunda yapılmış çalışmaların sınırlı olduğu görülmüştür. Bechmann (1999) tarafından yapılan ve bu konuda tek olan bir çalışmada, 31 µg/L 4-NP uygulanan sucül plankton *Tisbe battagliai*'de ömür uzunluğunun uygulamadan etkilenmediği belirlenmiştir.

Drosophila melanogaster ile yapılan çalışmalarda, ektisteroidlerin ömür uzunluğunu etkilediği belirlenmiştir (Simon et al., 2003; Moskalev et al., 2006; Tricoire et al., 2009). Simon ve arkadaşları (2003) tarafından *Drosophila melanogaster*'de yapılan bir çalışmada, ektizon reseptör (EcR) mutasyonu bakımından heterozigot olan bireylerin kontrole göre ömür uzunluğunda %40-50 oranında artış gözlenmiştir. Aynı çalışmada, ektizon biyosentez mutasyonu taşıyan özel bir soyun ömür uzunluğunda artış meydana gelmiştir. Moskalev ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (2006), ektizon hormonunun ömür uzunluğuna etkisi *D. melanogaster* kullanarak araştırılmış ve ektizon hormonu üretme bakımından hasarlı olan *woc* soyunun, yabanıl Canton S soyuna göre %46 daha uzun yaşadığı belirlenmiştir. Ektizon hormonu *woc* soyuna dışarıdan verildiğinde ömür uzunluğu azalarak Canton S soyununkine yakın bir değere ulaşmıştır. Bu sonuçlar, ömür uzunluğunun belirlenmesinde ektizon hormonunun önemini göstermiştir.

Tricoire ve arkadaşları (2009) tarafından yapılan bir çalışmada, RU486 adı verilen bir sistem kullanılarak, ektizon reseptörü (EcR) farklı oranlarda inaktive edilmiş ve *D. melanogaster* erkek ve dişilerinde ömür uzunluğuna olan etkiler araştırılmıştır. Erkeklerde hafif inaktivasyon durumunda ömür uzunluğu kontrole göre %26 – 45 artarken, daha güçlü bir inaktivasyon ömür uzunluğunu %14 oranında azaltmıştır. Dişilerde ise hafif inaktivasyon bile ömür uzunluğunda %43 – 80 oranlarında bir azalma meydana getirmiştir. Bu çalışmadan da anlaşıldığı gibi ektizon reseptörü

ömür uzunluğunun belirlenmesinde önemli bir role sahiptir. Ayrıca bu reseptörün inaktivasyonu erkek ve dişilerin ömür uzunluğunda farklı sonuçlara yol açmaktadır. Çevresel östrojenlerin omurgasızların ektisteroid reseptörlerine bağlanma yeteneğine sahip olduğu öne sürülmüştür (Ozyhar et al., 1991; Zou and Fingerman, 1997; Watts et al., 2001). Ayrıca BPA ve NP'nin ektisteroidlerle antagonistik etkileşim içinde olduğu saptanmıştır (Dinan et al., 2001). Çalışmamızda kullandığımız çevresel östrojenler (BPA, 4-NP ve 4-tert-OP) ektizon reseptörleri ile etkileşime girerek *D. melanogaster* erkek ve dişilerinin ömür uzunluklarında değişimler meydana getirmiş olabilir.

Tüm bu bilgilerin ışığında, endokrin bozucular olarak isimlendirilen Bisfenol A, 4-nonilfenol ve 4-tert-oktilfenolün *Drosophila melanogaster*'in gelişim biyolojisi, yumurta verimi ve ömür uzunluğu üzerine olumsuz ve bazı durumlarda belirgin olmayan etkileri olduğunu söyleyebiliriz. Ancak ortaya çıkan tüm bu değişimlerin hormonal bir bozukluk sonucunda mı yoksa sadece toksik bir etki sonucu mu ortaya çıktığı kapsamlı olarak araştırılmalıdır. Ülkemizde ve dünya genelinde yaygın olarak kullanılan ve atık olarak çevreye salınan bu maddelerin diğer canlılara ve besin zincirinin en üstünde bulunan insana olası zararlı etkilerini önlemek için, bu maddelerin kullanımına ilişkin önlemlerin alınması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Aarab, N., Lemaire-Gony, S., Unruh, E., Hansen, P. D., Larsen, B. K., Andersen O. K., Narbonne, J. F., 2006, Preliminary study of responses in mussel (*Mytilus edulis*) exposed to bisphenol A, diallyl phthalate and tetrabromodiphenyl ether, *Aquat. Toxicol.*, 78, 86 – 92.
- Acosta, M., Goni, B., 2000, A technique for collecting and examining a large number of eggs, *Dros. Inf. Serv.*, 83, 174 – 175.
- Adachi, T., Yasuda, K., Mori, C., Yoshinaga, M., Aoki, N., Tsujimoto, G., Tsuda, K., 2005, Promoting insulin secretion in pancreatic islets by means of bisphenol via intracellular estrogen receptors, *Food and Chemical Toxicology*, 43, 713 – 719.
- Al-Saffar, Z. Y., Grainger, J. N. R., Aldrich, J., 1995, The development rates of the egg and pupal stages of *Drosophila melanogaster* (Meigen) under changing conditions of temperature and humidity, *J. therm. Biol.*, 20(5), 399 – 404.
- Al-Saffar, Z. Y., Grainger, J. N. R., Aldrich, J., 1996, Temperature and humidity affecting development, survival and weight loss of the pupal stage of *Drosophila melanogaster*, and the influence of alternating temperature on the larvae, *J. therm. Biol.*, 21(5/6), 389 – 396.
- Andersen, H. R., Wollenberger, L., Halling-Sorensen, B., Kusk, K. O., 2001, Development of copepod nauplii to copepodites—a parameter for chronic toxicity including endocrine disruption, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20, 2821 – 2829.
- Ashburner, M., Wright, T. R. F., 1978, *The Genetics and Biology of Drosophila*, Academic Press, London & New York, 604s.
- Ashburner, M., 1989, *Drosophila a Laboratory Handbook*, Cold Spring Harbor Press, New York, 689s.
- Atlı, E., Ünlü, H., 2006, The effects of microwave frequency electromagnetic fields on the development of *Drosophila melanogaster*, *International Journal of Radiation Biology*, 82(6), 435 – 441.
- Avise, J. C., 1993, The evolutionary biology of aging, sexual reproduction and DNA repair, *Evolution*, 47(5), 1293 – 1301.
- BAFU, 2007, Octylphenol, nonylphenol and their ethoxylates, <http://www.bafu.admin.ch>.
- Bağcı, G., 1983, *Drosophila'da Ömür Uzunluğu – Sıcaklık Etkileşiminin Araştırılması*, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 166s.

- Bağcı, G., Bağcı, H., Bozcuk, A. N., 1990, Minimum sıcaklık dalgalanmalarının ömür uzunluğuna etkisi, Doğa – Tr. J. of Biology, 14, 1 – 5.
- Bağcı, G., Bozcuk, A. N., 1991, Ergin *Drosophila*'nın ömür uzunluğuna sıcaklık ve ışığın etkisi, Doğa – Tr. J. of Biology, 15, 1 – 8.
- Bechmann, R. K., 1999, Effect of the endocrine disrupter nonylphenol on the marine copepod *Tisbe battagliai*. Sci. Total Environ., 233, 33 – 46.
- Baker, K. D., Warren, J. T., Thummel, C. S., Gilbert, L. I., Mangelsdorf, D. J., 2000, Transcriptional activation of the *Drosophila* ecdysone receptor by insect and plant ecdysteroids, Insect Biochemistry and Molecular Biology, 30, 1037 – 1043.
- Baldwin, W. S., Milam, D. L., LeBlanc, G. A., 1995, Physiological and biochemical perturbations in *Daphnia magna* following exposure to the model environmental estrogen diethylstilbestrol, Environ. Toxicol. Chem., 14, 945 – 952.
- Baldwin, W. S., Graham, S. E., Shea, D., LeBlanc, G. A., 1997, Metabolic androgenization of female *Daphnia magna* by the xenoestrogen 4-nonylphenol. Environ. Toxicol. Chem, 16, 1905 – 1911.
- Bettinetti, R., Provini, A., 2002, Toxicity of 4-nonylphenol to *Tubifex tubifex* and *Chironomus riparius* in 28-Day Whole Sediment Tests, Ecotox. and Environ. Saf., 53, 113 – 121.
- Billinghurst, Z., Clare, A. S., Depledge, M. H., 2001, Effects of 4-n-nonylphenol and 17 β -oestradiol on early development of the barnacle *Elminius modestus*, J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 257, 255 – 268.
- Bindhumol, V., Chitra, K. C., Mathur, P. P., 2003, Bisphenol A induces reactive oxygen species generation in the liver of male rats, Toxicology, 188, 117–124.
- Bozcuk, A. N., 1972, DNA synthesis in the absence of somatic cell division associated with ageing in *Drosophila subobscura*, Exp. Geront., 7, 147 – 156.
- Bozcuk, A. N., 1977, Ageing in *Drosophila* and Orgel's Hypothesis, Gerontology, 23, 414 – 418.
- Bozcuk, A. N., 1978, The effects of some genotypes on the longevity of adult *Drosophila*, Exp. Geront., 13, 279 – 286.
- Bozcuk, A. N., 1981, Genetics of longevity in *Drosophila* V. The specific and hybridised effects of Rolled, Sepia, Ebony and Eyeless autosomal mutants, Experimental Gerontology, 16, 415 – 427.

- Bozcuk, A. N, Özsoy, E. D., 2002, Yaşlanmanın genetiği ve evrimsel anlamı, Geriatri, 8 – 13.
- Bozcuk, A. N., Sümer, S., Özsoy, E. D., Arısoy, M., 2004, Age-related enzyme activity in different genotypes of alcohol dehydrogenase (ADH) in *Drosophila melanogaster*, Biogerontology, 5, 243 – 247.
- BPA INFO (Bisphenol A: Information Sheet), 2002, <http://www.bisphenol-a.org>.
- Browder, L. W., Erickson, C. A., Jeffery, W. R., 1991, Developmental Biology, Saunders College Publishing, ISBN 0 – 03 – 013514 – 1, United States of America, 754s.
- Brown, R. J., Conradi, M., Depledge, M. H., 1999, Long-term exposure to 4-nonylphenol affects sexual differentiation and growth of the amphipod *Corophium volutator* (Pallas, 1766), Sci. Total Environ., 233, 77 – 88.
- Cakal Arslan, O., Parlak, H., 2007, Embryotoxic effects of nonylphenol and octylphenol in sea urchin *Arbacia lixula*, Ecotoxicology, 16(6), 439 – 444.
- Cakal Arslan, O., Parlak, H., 2008, Effects of bisphenol A on the embryonic development of sea urchin (*Paracentrotus lividus*), Environ. Toxicol., 23, 387 – 392.
- Chippindale, A. K., Leroi, A. M., Kim, S. B., Rose, M. R., 1993, Phenotypic plasticity and selection in *Drosophila* life-history evolution. I. Nutrition and the cost of reproduction, J. Evol. Biol., 6, 171 – 193.
- Cho, S. H., Choi, M. H., Kwon, O.S., Lee, W.Y., Chung, B.C., 2008, Metabolic significance of bisphenol A-induced oxidative stress in rat urine measured by liquid chromatography-mass spectrometry, J. Appl. Toxicol., 29(2), 110-117.
- Clancy, D. J., Gems, D., Harshman, L. G., Oldham, S., Stocker, H., Hafen, E., Leivers, S. J., Partridge, L., 2001, Extension of life-span by loss of CHICO, a *Drosophila* insulin receptor substrate protein, Science, 292, 104 – 106.
- Clark, A. M., Gould, A. B., 1970, Genetic control of adult life-span in *Drosophila melanogaster*, Exp. Geront., 2, 79 – 84.
- Comber, M. H. I., Williams, T. D., Stewart, K. M., 1993, Effects of nonylphenol on *Daphnia magna*, Water Research, 27, 273 – 276.
- Comfort, A., 1959, Natural Aging and the Effects of Radiation, Radiation Research Supplement, 1, 216 – 234.
- Crain, D. A., Eriksen, M., Iguchi, T., Jobling, S., Laufer, H., LeBlanc, G. A., Guillette, L. J., 2007, An ecological assessment of bisphenol A: Evidence from comparative biology, Reprod. Toxicol., 24, 225 – 239.

- Çok, İ., Öztok, U., 2003, Çevremizdeki kimyasalların üreme sistemi üzerine etkileri, Sağlık ve Toplum, 13(3), 9 – 18.
- David, J., Cohet, Y., Fouillet, P., 1975, The variability between individuals as a measure of senescence: A study of the number of eggs laid and the percentage of hatched eggs in the case of *Drosophila melanogaster*, Exp. Geront., 10(1), 17 – 25.
- Dinan, L., Bourne, P., Whiting, P., Dhadialla, T. S., Hutchinson, T. H., 2001, Screening of environmental contaminants for ecdysteroid agonist and antagonist activity using the *Drosophila melanogaster* B_{II} cell in vitro assay, Environ. Toxicol. Chem., 20(9), 2038 – 2046.
- e. hormone, 2004, Environmental Estrogen Effects, <http://e.hormone.tulane.edu/learning/eeeffects.html>.
- Economos, A. C., Lints, F. A., 1984, Growth rate and life span in *Drosophila* I. Methods and mechanisms of variation of growth rate, Mechanisms of Ageing and Development, 27, 1 – 13.
- Foley, P. A., Luckinbill, L. S., 2001, The effects of larval behavior on adult life-history features in *Drosophila melanogaster*, Evolution, 55(12), 2493 – 2502.
- Forbes, V. E., Warbritton, R., Aufderheide, J., Van Der Hoeven, N., Caspers, N., 2008, Effects of bisphenol a on fecundity, egg hatchability, and juvenile growth of *Marisa cornuarietis*, Environ. Toxicol. Chem., 27(11), 2332 – 2340.
- Forget-Leray, J., Landriau, I., Minier, C., Leboulenger, F., 2005, Impact of endocrine toxicants on survival, development, and reproduction of the estuarine copepod *Eurytemora affinis*, Ecotoxicol. Environ. Saf., 60, 288 – 294.
- Fukuhori, N., Kitano, M., Kimura, H., 2005, Toxic effects of bisphenol A on sexual and asexual reproduction in *Hydra oligactis*, Arch. Environ. Contam. Toxicol., 48, 495 – 500.
- Fulga, T., Rorth, P., 2002, What directs the migration of cells?, www.embl.heidelberg.de/ExternalInfo/oipa/ar2002/ar02_35.pdf.
- Gavrilov, L. A., Gavrilova, N. S., 2002, Evolutionary theories of aging and longevity, The Scientific World Journal, 2, 339 – 356.
- Gilbert, S. F., 2006, Developmental Biology: *Drosophila* Metamorphosis, <http://8e.devbio.com/>.
- Good, T. P., Tatar, M., 2001, Age-specific mortality and reproduction respond to adult dietary restriction in *drosophila melanogaster*, J. Insect Physiol., 47, 1467 – 1473.

- Goodman, J. E., Witorsch, R. J., McConnell, E. E., Sipes, I. G., Slayton, T. M., Yu, C. J., Franz, A. M., Rhomberg, L. R., 2009, Weight of evidence evaluation of reproductive and developmental effects of low doses of bisphenol A, *Critical Reviews in Toxicology*, 39, 1 – 75.
- Graf, U., Van Schaik, N., Würgler, F. E., 1992, *Drosophila* Genetics: A Practical Course, Springer – Verlag Press, New York, 239s.
- Graves, J. L., Mueller, L. D., 1993, Population density effects on longevity, *Genetica*, 91, 99 – 109.
- Grisolia, C. K., Bilich, M. R., Formigli, L. M., 2004, A comparative toxicologic and genotoxic study of the herbicide arsenal, its active ingredient imazapyr, and the surfactant nonylphenol ethoxylate, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 59, 123–126.
- Gullan, P. J., Cranston, P. S., 2005, *The insects: An outline of entomology*, 3rd edition, Blackwell Publishing, Oxford, UK, 505s.
- Hahn, T., Schenk, K., Schulz, R., 2002, Environmental chemicals with known endocrine potential affect yolk protein content in the aquatic insect *Chironomus riparius*, *Environmental Pollution*, 120(3), 525 – 528.
- Hall, B. L., Thummel, C. S., 1998, The RXR homolog Ultraspiracle is an essential component of the *Drosophila* ecdysone receptor, *Development*, 125, 4709 – 4717.
- Hercus, M. J., Hoffman, A. A., 2000, Maternal and grandmaternal age influence offspring fitness in *Drosophila*, *Proc. R. Lond. B*, 267, 2105 – 2110.
- Hill, M., Stabile, C., Steffen, L. K., Hill A., 2002, Toxic effects of endocrine disrupters on freshwater sponges: common developmental abnormalities, *Environ. Pollut.*, 117, 295 – 300.
- Hirano, M., Ishibashi, H., Kim, J. W., Matsumura, N., Arizono, K., 2009, Effects of environmentally relevant concentrations of nonylphenol on growth and 20-hydroxyecdysone levels in mysid *Americamysis bahia*, *Comp. Biochem. Physiol. Part C*, 149, 368–373.
- Hodge, S., 2001, The effect of pH and water content of natural resources on the development of *Drosophila melanogaster* larvae, *Dros. Inf. Serv.*, 84, 38-43.

<http://flymove.uni-muenster.de>

http://cas.bellarmine.edu/tietjen/Laboratories/BioPix_4U/Image140.gif, hormones controlling insect development

http://www.biology.ualberta.ca/king-jones_lab/KKJ_lab/steroids_files/lifecycle.jpg.

- Huey, R. B., Wakefield, T., Crill, W. D., Gilchrist, G. W., 1995, Within – and between – generation effects of temperature on early fecundity of *Drosophila melanogaster*, *Heredity*, 74(2), 216 – 223.
- Hutchinson, T. H., 2002, Reproductive and developmental effects of endocrine disrupters in invertebrates: in vitro and in vivo approaches, *Toxicol. Letters*, 131, 75 – 81.
- Idaomar, M., El Hamss, R., Bakkali, F., Mezzoug, N., Zhiri, A., Baudoux, D., Muñoz-Serrano, A., Liemans, V., Alonso-Moraga, A., 2002, Genotoxicity and antigenotoxicity of some essential oils evaluated by wing spot test of *Drosophila melanogaster*, *Mutation Research*, 513, 61 – 68.
- Iliadi, K. G., Iliadi, N. N., Boulianne, G. L., 2009, Regulation of *Drosophila* life-span: Effect of genetic background, sex, mating and social status, *Exp. Gerontol.*, 44, 546 – 553.
- Izumi, N., Yanagibori, R., Shigeno, S., Sajiki, J., 2008, Effects of bisphenol A on the development, growth, and sex ratio of the housefly *Musca domestica*, *Environ. Toxicol. Chem.*, 27(6), 1343 – 1353.
- Kabuto, H., Hasuike, S., Minagawa, N., Shishibori, T., 2003, Effect of bisphenol A on the metabolism of active oxygen species in mouse tissues, *Environ. Res.*, 93, 31–35.
- Kahl, M. D., Makynen, E. A., Kosian, P. A., Ankley, G. T., 1997, Toxicity of 4-nonylphenol in a life-cycle test with the midge *Chironomus tentans*, *Ecotoxicol Environ. Saf.*, 38, 155 – 160.
- Kaiser, M., Gasser, M., Ackerman, R., Stearns, S. C., 1997, P-element insert in transgenic flies: A cautionary tale, *Heredity*, 78, 1 – 11.
- Kalthoff, K., 1996, *Analysis of Biological Development*, McGraw – Hill Inc., USA, 738s.
- Keller, E. C., Mitchell, D. F., 1964, Interchromosomal genetic interactions in *Drosophila* II. An analysis of viability characters, *Genetics*, 49, 293 – 307.
- Kern, S., Ackermann, M., Searns, S. C., Kawecki, T. J., 2001, Decline in offspring viability as a manifestation of aging in *Drosophila melanogaster*, *Evolution*, 55(9), 1822 - 1831.
- Kiyomoto, M., Kikuchi, A., Unuma, T., Yokota, Y., 2006, Effects of ethynylestradiol and bisphenol A on the development of sea urchin embryos and juveniles, *Marine Biology*, 149, 57 – 63.
- Kozlova, T., Thummel, C. S., 2000, Steroid regulation of postembryonic development and reproduction in *Drosophila*, *TEM*, 11(7), 276 – 280.

- Krebs, R. A., Feder, M. E., 1998, Hsp 70 and larval thermotolerance in *Drosophila melanogaster* : how much is enough and when is more too much?, *Journal of Insect Physiology*, 44, 1091 – 1101.
- Lamb, M. J., 1964, The effects of radiation on the longevity of female *D. subobscura*, *J. Insect. Physiol.*, 10, 487 – 497.
- Lansing, A. I., 1947, A transmissible, cumulative, and reversible factor in aging, *J. Gerontol*, 2, 228 – 239.
- Lansing, A. I., 1948, Evidence for aging as a consequence of growth cessation, *PNAS USA*, 34, 304 – 310.
- Larsen, P. L., Albert, P. S., Riddle, D. L., 1995, Genes that regulate both development and longevity in *Caenorhabditis elegans*, *Genetics*, 139, 1567 – 1583.
- Latorre, A., Lacorte, S., Barcello, D., Montury, M., 2005, Determination of nonylphenol and octylphenol in paper by microwave-assisted extraction coupled to headspace solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1065, 251 – 256.
- LeBlanc, G. A., Mu, X., Rider, C. V., 2000, Embryotoxicity of the alkylphenol degradation product 4-nonylphenol to the crustacean *Daphnia magna*, *Environmental Health Perspectives*, 108(12), 1133 – 1138.
- Lee, S. M., Lee, S. B, Park, C. H., Choi, J., 2006, Expression of heat shock protein and hemoglobin genes in *Chironomus tentans* (Diptera, Chironimidae) larvae exposed to various environmental pollutants: a potential biomarker of freshwater monitoring, *Chemosphere*, 65(6), 1074 – 1081.
- Lee, S. B., Choi, J., 2007, Effects of bisphenol A and ethynyl estradiol exposure on enzyme activities, growth and development in the fourth instar larvae of *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae), *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 68, 84 – 90.
- Lemos, M. F. L., Van Gestel, C. A. M., Soares, A. M. V. M., 2009, Endocrine disruption in a terrestrial isopod under exposure to bisphenol A and vinclozolin, *J. Soils Sediments*, 9, 492 – 500.
- Lemos, M. F. L., Van Gestel, C. A. M., Soares, A. M. V. M., 2010, Developmental toxicity of endocrine disrupters bisphenol A and vinclozolin in a terrestrial isopod, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, (Published online) <http://www.springerlink.com/content/335381wwt118111n/fulltext.pdf>
- Lemos, M. F. L., Van Gestel, C. A. M., Soares, A. M. V. M., 2010, Reproductive toxicity of the endocrine disrupters vinclozolin and bisphenol A in the terrestrial isopod *Porcellio scaber* (Latreille, 1804), *Chemosphere*, 78, 907 – 913.

- Leung, H. W., Ballantyne, B., 1999, Developmental toxicity evaluation of rats dosed orally or cutaneously with Octoxynol-9, *J. Appl. Toxicol.*, 19, 267–273.
- Lin, Y. J., Seroude, L., Benzer, S., 1998, Extended life-span and stress resistance in the *Drosophila* mutant *methuselah*, *Science*, 282, 943 – 946.
- Lints, F. A., Lints, C. V., 1969, , Influence of preimaginal environment on fecundity and aging in *Drosophila melanogaster* hybrids – I. Preimaginal population density, *Exp. Gerontol.*, 4, 231 – 244.
- Lints, F. A., Lints, C. V., 1971a, Influence of preimaginal environment on fecundity and aging in *Drosophila melanogaster* hybrids – II. Preimaginal temperature, *Exp. Gerontol.*, 6, 417 – 426..
- Lints, F. A., Lints, C. V., 1971b, Influence of preimaginal environment on fecundity and aging in *Drosophila melanogaster* hybrids – III. Developmental speed and life span, *Exp. Gerontol.*, 6, 427 – 445.
- Lints, F. A., Lints, C. V., 1971c, Relationship between growth and aging in *Drosophila*, *Nature*, 229, 86 – 88.
- Lints, F. A., Bourgois, M., Delalieux, A., Stoll, J., Lints, C. V., 1983, Does the female life span exceed that of the male: A study in *Drosophila melanogaster*, *Gerontology*, 29(5), 336 – 352.
- Luckinbill, L. S., Arking, R., Clare, M. J., 1984, Selection for delayed senescence in *Drosophila melanogaster*, *Evolution*, 38(5), 996 – 1003.
- Luckinbill, L. S., Clare, M. J., 1986, A density threshold for the expression of longevity in *Drosophila melanogaster*, *Heredity*, 56, 329 – 335.
- Mair, W., Goymer, P., Pletcher, S. D., Partridge, L., 2003, Demography of dietary restriction on death in *Drosophila*, *Science*, 301, 1731 -1733.
- Marcial, H. S., Hagiwara, A., Snell, T. W., 2003, Estrogenic compounds affect development of harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus*, *Environ. Toxicol. and Chem.*, 22(12), 3025 – 3030.
- Maynard Smith, J., 1958, The effects of temperature and of egg-laying on the longevity of *Drosophila subobscura*, *J. Exp. Biol.*, 35, 832 – 842.
- Mcintyre, G. S., Gooding, R. H., 2000, Effects of maternal age on larval competitiveness in house flies, *Heredity*, 85, 480 – 489.
- McMillan, I., Fitz-Earle, M., Butler, L., Robson, D. S., 1970, Quantitative genetics of fertility II. Life time egg production of *Drosophila melanogaster* – Experimental, *Genetics*, 65, 335 – 369.

- Medawar, P. B., 1952, An unsolved problem in biology, London: Lewis. Reprinted in Medawar, P. B. 1981 The uniqueness of the individual. NewYork: Dover.
- Memmi, B. K., Ünlü H., 2007, The effects of short duration microwave exposure on the life span and the induction of sex-linked recessive lethal mutations in *Drosophila melanogaster*, Hacettepe J. of Biol. and Chem., 35(3), 173 – 179.
- Meregalli, G., Pluymers, L., Ollevier, F., 2001, Induction of mouthpart deformities in *Chironomus riparius* larvae exposed to 4-*n*-nonylphenol, Environmental Pollution, 111, 241 – 246.
- Meyer, J. R., 2005, The endocrine system/Hormonal control of molting &metamorphosis, <http://www.cals.ncsu.edu/course/ent425/tutorial/endocrine2.html>
- Mihaich, E. M., Friederich, U., Carpers, N., Hall, A. T., Klecka, G. M., Dimond, S. S., Staples, C. A., Ortego, L. S., Hentges, S. G., 2009, Acute and chronic toxicity testing of bisphenol A with aquatic invertebrates and plants, Ecotoxicology and Environmental Safety, 72, 1392 – 1399.
- Miller, R. S., Thomas, J. L., 1958, The effects of larval crowding and body size on the longevity of adult *Drosophila melanogaster*, Ecology, 39(1), 118 – 125.
- Min, K. J., Tatar, M., 2006, *Drosophila* diet restriction in practice: Do flies consume fewer nutrients?, Mechanisms of Ageing and Development, 127, 93 – 96.
- Miyo, T., Charlesworth, B., 2004, Age-specific mortality rates of reproducing and non-reproducing males of *Drosophila melanogaster*, Proc. R. Soc. Lond. B., 271, 2517 – 2522.
- Morrow, G., Tanguay, R. M., 2003, Heat shock proteins and aging in *Drosophila melanogaster*, Seminars in Cell & Developmental Biology, 14, 291 – 299.
- Moskalev, A. A., Shaposhnikov, M. V., Zainulin, V. G., Punegov, V. V., 2006, The influence of ecdysone-containing phytopreparations on life span of *Drosophila melanogaster* strains depending on the genotype, Adv. Gerontol., 19, 33 – 35.
- Neven, L. G., 2000, Physiological responses of insects to heat, Postharvest Biology and Technology, 21, 103 – 111.
- NIEHS, 2006, <http://www.niehs.nih.gov/health/topics/agents/endocrine/docs/endocrine.pdf>
- Nice, H. E., Thorndyke, M. C., Morritt, D., Steele, S., Crane, M., 2000, Development of *Crassostrea gigas* larvae is affected by 4-nonylphenol, Marine Pollution Bulletin, 40(6), 491 – 496.

- Obata, T., Kubota, S., 2000, Formation of hydroxyl radicals by environmental estrogen-like chemicals in rat striatum, *Neurosci. Lett.*, 296, 41–44.
- Oehlmann, J., Schulte-Oehlmann, U., Tillmann, M., Markert, B., 2000, Effects of endocrine disruptors on prosobranch snails (Mollusca: Gastropoda) in the laboratory. Part I: Bisphenol A and octylphenol as xeno-estrogens, *Ecotoxicology*, 9, 383 – 397.
- Oehlmann, J., Schulte-Oehlmann, U., 2003, Endocrine disruption in invertebrates, *Pure Appl. Chem.*, 75(11-12), 2207 – 2218.
- Oetken, M., Bachmann, J., Schulte-Oehlmann, U., Oehlmann, J., 2004, Evidence for endocrine disruption in invertebrates, *International Review of Cytology*, 236, 1 – 44.
- Orr, W. C., Sohal, R. S., 1994, Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*, *Science*, 263, 1128 – 1131.
- Ozyhar, A., Strangmann-Diekmann, M., Kiltz, H. H., Pongs, O., 1991, Characterization of a specific ecdysteroid receptor-DNA complex reveals common properties for invertebrate and vertebrate hormone-receptor/DNA interactions, *Eur. J. Biochem.*, 200, 329 – 335.
- Parkes, T. L., Elia, A. J., Dickinson, D., Hilliker, A. J., Philips, J. P., Boulianne, G. L., 1998, Extension of *Drosophila* lifespan by overexpression of human SOD1 in motorneurons, *Nature Genetics*, 19, 171 – 174.
- Partridge L., Barton, N. H., 1993, Optimality, mutation and the evolution of ageing, *Nature*, 362, 305 – 311.
- Partridge, L., 2001, Evolutionary theories of ageing applied to long-lived organisms, *Experimental Gerontology*, 366, 641 – 650.
- Piper, D. W., Skorupa, D., Partridge, L., 2005, Diet, metabolism and lifespan in *Drosophila*, *Exp. Gerontol.*, 40, 857 – 862.
- Planello, R., Martinez-Guitarte, J. L., Morcillo, G., 2008, The endocrine disruptor bisphenol A increases the expression of HSP70 and ecdysone receptor genes in the aquatic larvae of *Chironomus riparius*, *Chemosphere*, 71, 1870 – 1876.
- Pokrywka, N., 2008, The Flyrm people, On Campus-Vassar College, 26 (7), http://oncampus.vassar.edu/articles/200803_flyrm_people.
- Preston, B. L., Snell, T. W., Robetson, T. L., Dingmann, B. J., 2000, Use of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* in screening assay for potential endocrine disrupters, *Environ. Toxicol. Chem.*, 19, 2923 – 2928.

- Prowse, N., Partridge, L., 1997, The effects of reproduction on longevity and fertility in male *Drosophila melanogaster*, J. Insect Physiol., 43(6), 501 – 512.
- Rauschenbach, I. Yu., Sukhanova, M. Zh., Hirashima, A., Sutsugu, E., Kuano, E., 2000, Role of ecdysteroid system in the regulation of *Drosophila* reproduction under environmental stress, Doklady Biological Sciences, 375, 641 – 643.
- Rhee, J. S., Raisuddin, S., Lee, K. W., Seo, J. S., Ki, J. S., Kim, I. C., Park, H. G., Lee, J. S., 2009, Heat shock protein (Hsp) gene responses of the intertidal copepod *Tigriopus japonicus* to environmental toxicants, Comp. Biochem. Physiol., Part C, 149, 104 – 112.
- Roberts, D. B., 1986, *Drosophila*, A Practical Approach, Information Printing Ltd., Oxford, 295s.
- Roberts, S. P., Feder, M. E., 1999, Natural hyperthermia and expression of the heat shock protein Hsp70 affect developmental abnormalities in *Drosophila melanogaster*, Oecologia, 121, 323 – 329.
- Roepke, T. A., Snyder, M. J., Chen, G. N., 2005, Estradiol and endocrine disrupting compound adversely affect development of sea urchin embryos at environmentally relevant concentrations, Aquatic Toxicology, 71, 155 – 173.
- Rogina, B., Renan, R. A., Nilsen, S. P., Helfand, S. L., 2000, Extended life-span conferred by cotransporter gene mutations in *Drosophila*, Science, 290, 2137 – 2140.
- Rose, M. R., Charlesworth, B., 1980, A test of evolutionary theories of senescence, Nature, 287, 141 – 142.
- Rose, M. R., Charlesworth, B., 1981, Genetics of life history in *Drosophila melanogaster*. II. Exploratory selection experiments, Genetics, 97, 187 – 196.
- Rose, M. R., 1984, Laboratory evolution of postponed senescence in *Drosophila melanogaster*, Evolution, 38(5), 1004 – 1010.
- Rose, M. R., 1991, Evolutionary biology of aging. Oxford University Press, New York, 222s.
- Rose, M. R., 1999, Genetics and ageing in *Drosophila*, Experimental Gerontology, 34, 577 – 585.
- Routledge, E. J., Sumpter, J. P., 1996, Structural Features of Alkylphenolic Chemicals Associated with Estrogenic Activity, The J. of Biol. Chem., 272(6), 3280 – 3288.

- Roy, D., Palangt, M., Chen, C. W., Thomas, R. D., Colerangle, J., Atkinson, A., Yan, Z. J., 1997, Biochemical and molecular changes at the cellular level in response to exposure to environmental estrogen-like chemicals, *J. Toxicol. Environ. Health*, 50, 1–29.
- Rubin, G. M., 1988, *Drosophila melanogaster* as an experimental organism, *Science*, 240, 1453 – 1458.
- Schirling, M., Bohlen, A., Triebskorn, R., Köhler, H. R., 2006, An invertebrate embryo test with the apple snail *Marisa cornuarietis* to assess effects of potential developmental and endocrine disruptors, *Chemosphere*, 64, 1730 – 1738.
- Scott-Fordsmand, J. J., Krogh, P. H., 2004, The influence of application form on the toxicity of nonylphenol to *Folsomia fimetaria* (Collembola: Isotomidae), *Ecotox. Environ. Saf.*, 58, 294 – 299.
- Segner, H., Caroll, K., Fenske, M., Janssen, C.R., Maack, G., Pascoe, D., Schaefers, C., Vandenberg, G. F., Watts, M., Wenzel, A., 2003, Identification of endocrine-disrupting effects in aquatic vertebrates and invertebrates: report from the European IDEA project, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54, 302 – 314.
- Setsini, E. A., Carlson, J. C., Allsopp, R., 1991, The effects of ambient temperature on life span, lipid peroxidation, superoxide dismutase, and phospholipase A₂ activity in *Drosophila melanogaster*, *Experimental Gerontology*, 26, 385 – 395.
- Sgro, C. M., Partridge, L., 1999, A delayed wave of death from reproduction in *Drosophila*, *Science*, 286, 2521 – 2524.
- Shurin, J. B., Dodson, S. I., 1997, Sublethal toxic effects of cyanobacteria and nonylphenol on environmental sex determination and development in *Daphnia*, *Environ. Toxicol. and Chem.*, 16(6), 1269 – 1276.
- Simon, A. F., Shih, C., Mack, A., Benzer, S., 2003, Steroid control of longevity in *Drosophila melanogaster*, *Science*, 299, 1407 – 1410.
- Sokal, R. R., 1970, Senescence and genetic load: Evidence from *Tribolium*, *Science*, 167, 1733 – 1734.
- Sonnenschein, C., Soto, A. M., 1998, An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 65(1-6), 143 – 150.
- Sorensen, J. G., Loeschke, V., 2004, Effects of relative emergence time on heat stress resistance traits, longevity and hsp 70 expression level in *Drosophila melanogaster*, *Journal of Thermal Biology*, Article in Press.

- Soto, A. M., Justicia, H., Wray, J. W., Sonnenschein, C., 1991, P-nonyl-phenol: an estrogenic xenobiotic released from "modified" polystyrene, *Environmental Health Perspectives*, 92, 167 – 173.
- Sun, J., Tower, J., 1999, FLP recombinase-mediated induction of Cu/Zn-superoxide dismutase transgene expression can extend the life-span of adult *Drosophila melanogaster* flies, *Molecular and Cellular Biology*, 19(1), 216 – 228.
- Tatar, M., Carey, J. R., Vaupel, J. W., 1993, Long-term cost of reproduction with and without accelerated senescence in *Callosobruchus maculatus*: Analysis of age-specific mortality, *Evolution*, 47(5), 1302 – 1312.
- Tatar, M., Promislow, D. E. L., 1997, Fitness costs of female reproduction, *Evolution*, 51(4), 1323 – 1326.
- Thummel, C. S., 2001, Molecular mechanisms of developmental timing in *C. elegans* and *Drosophila*, *Developmental Cell*, 1, 453 – 465.
- Thummel, C. S., Chory, J., 2002, Steroid signaling in plants and insects: common themes, different pathways. *Genes Dev.*, 16(24), 3113 – 3129.
- Tower, J., 1996, Aging mechanisms in fruit flies, *Bioessays*, 18(10), 799 – 807.
- Tricoire, H., Battisti, V., Trannoy, S., Lasbleiz, A. M. P., Monnier, V., 2009, The steroid hormone receptor EcR finely modulates *Drosophila* lifespan during adulthood in a sex-specific manner, *Mechanisms of Ageing and Development*, 130, 547–552.
- Tyler, M. S., 2000, *Developmental Biology: A Guide for Experimental Study*, Sinauer Associates Inc., ISBN – 0 – 87893 – 843 – 5, Massachusetts, 208s.
- Ünlü, H., 1978, *Drosophila melanogaster*'de ömür uzunluğunun genetik denetimi, Doktora Tezi, 147 s., Ankara, 1978.
- Ünlü, H., Bozcuk, A. N., 1979a, Genetics of longevity in *Drosophila*. I. The effects of w, m, and f mutant genes in various genotype combinations, *Exp. Geront.*, 14, 117 – 124.
- Ünlü, H., Bozcuk, A. N., 1979b, Genetics of Longevity in *Drosophila*-II. The effects of homozygous and hemizygous w, m, f, wm, wf, mf and wmf mutant genotypes. *Exp. Geront.*, 14, 125 – 132.
- Ünlü, H., 1991a, *Drosophila melanogaster* ömür uzunluğunda yellow alellerinin heterozis etkisinin farklı backroundlarda incelenmesi, *Doğa Tr. J. of Biol.*, 15, 98 – 109.

- Ünlü, H., 1991b, *Drosophila melanogaster* ömür uzunluğunda *yellow* alellerinin etkisi ve heteroziste alel farklılıklarına bağlı anasal etki, Doğa Tr. J. of Biol., 15, 132 – 138.
- Ünlü, H., 1991c, *Drosophila melanogaster* ömür uzunluğunda bazı genlerin değişken etkileri, Doğa Tr. J. of Biol., 15, 124 – 131.
- Vom Saal, F. S., Hughes, C., 2005, An extensive new literature concerning low-dose effects of bisphenol A shows thw need for a new risk assessment, Environmental Health Perspectives, 113(8), 926 – 933.
- Warhurst, A. M., 1995, An environmental assessment of alkylphenol ethoxylates and alkylphenols, http://www.foe.co.uk/resource/reports/ethoxylates_alkylphenols.pdf.
- Warren, J. T., Petryk, A., Marque, G., Jarcho, M., Parvy, J. P., Dauplin-Villemant, C., O'Connor, M. B., Gilbert, L. I., 2002, Molecular and biochemical characterization of two P450 enzymes in the ecdysteroidogenic pathway of *Drosophila melanogaster*, PNAS, 99(17), 11043 – 11048.
- Watts, M. M., Pascoe, D., Carroll, K., 2001, Chronic exposure to 17 α -ethinylestradiol and bisphenol A-effects on development and reproduction in the freshwater invertebrate *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae), Aquatic Toxicol., 55, 113 – 124.
- Watts, M. M., Pascoe, D., Carroll, K., 2003, Exposure to 17 alpha-ethinylestradiol and bisphenol A--Effects on larval moulting and mouthpart structure of *Chironomus riparius*, Ecotoxicol. Environ. Saf., 54, 207 – 215.
- Welshons, W. V., Nagel, S. C., Vom Saal, F. S., 2006, Large effects from small exposures. III. Endocrine mechanisms mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure, Endocrinology, 147, 56 – 69.
- White, R., Jobling, S., Hoare, S. A., Sumpter, J. P., Parker, M. G., 1994, Environmentally persistent alkylphenolic compounds are estrogenic, Endocrinology, 135(1), 175 – 182.
- Williams, G. C., 1957, Pleiotropy, natural selection and the evolution of senescence. Evolution, 11, 398 – 411.
- WWF European Toxics Programme Report, Bisphenol A – A Known Endocrine Distrupter, (2000).
- Xu, L.-C., Sun, H., Jian-Feng Chen, J.-F., Bian, Q., Qian, J., Song, L., Wang, X.-R., 2005, Evaluation of androgen receptor transcriptional activities of bisphenol A, octylphenol and nonylphenol in vitro, Toxicology, 216, 197 – 203.

- Yang, Y., Wilson, D. L., 1999, Characterization of a life-extending mutation in age-2, a new aging gene in *Caenorhabditis elegans*, Journal of Gerontology, 54(4), 137 – 142.
- Yeşilada, E., 1988, *Drosophila melanogaster*'in Malatya ve Oregon Soyu, *Drosophila virilis* ve *Drosophila erecta*'nın Gelişim Dönemlerinin ve Yumurta Verimlerinin Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, 60s.
- Yeşilada, E., Bozcuk, A. N., 1991, *Drosophila melanogaster* (Oregon ve Malatya soyları) ile *D. erecta* ve *D. virilis*'in çeşitli gelişimsel özellikler açısından karşılaştırılması, Doğa – Tr. J. of Biology, 15, 114 – 123.
- Yılmaz, M., Özsoy, E. D., Bozcuk, A. N., 2008, Maternal age effects on longevity in *Drosophila melanogaster* populations of different origin, Biogerontology, 9, 163 – 168.
- Ying, G. G., Williams, B., Kokana, R., 2002, Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates – a review, Environment International, 28, 215 – 226.
- Yonemura, I., Motoyama, T., Hasekura, H., Boettcher, B., 1991, Relationship between genotypes of longevity genes and developmental speed in *Drosophila melanogaster*, Heredity, 66, 143 - 149.
- Zhang, L., Gible, R., Baer, K. N., 2003, The effects of 4-nonylphenol and ethanol on acute toxicity, embryo development, and reproduction in *Daphnia magna*, Ecotoxicol. Environ. Saf., 55, 330 – 337.
- Zou, E., Fingerman, M., 1997, Effects of estrogenic xenobiotics on molting of the water flea, *Daphnia magna*, Ecotoxicol Environ. Saf., 38, 281 – 285.
- Zwann, B. J., 1999, The evolutionary genetics of ageing and longevity, Heredity, 82, 589 – 597.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Emel ATLI

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Yılı : 28 / 01 / 1980

Medeni Hali : Evli

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise	1993 – 1996	Ankara Kurtuluş Lisesi
Lisans	1996 – 2001	Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans	2001 – 2004	Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
Doktora	2004 – 2010	Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

Yabancı Dil : İngilizce

İş Tecrübesi : Ocak 2002 – Temmuz 2010 Araştırma Görevlisi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı, Beytepe, ANKARA.