



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2011: 25 (3): 129 - 132
http://www.fusabil.org

Seval KELEK
Nagehan ÇİMENÖĞLU
Kenan ÇINAR

Süleyman Demirel
Üniversitesi,
Fen Fakültesi,
Biyoloji Bölümü,
Isparta, TÜRKİYE

Kadife Balığı (*Tinca Tinca* L. 1758) Derisinde Mukus Hücrelerin Histokimyasal Yapısı

Bu çalışmada Kadife Balığı (*Tinca tinca* L. 1758)'nın gular, pelvik ve anal yüzgeç arası bölge, pelvik ve pektoral yüzgeç arası bölgelerinden alınan deri mukus hücrelerinin histokimyasal karakterlerinin belirlenmesi amaçlandı. Her üç bölgede de sülfatlı asidik glikokonjugatların güçlü reaksiyon gösterdiği belirlendi. Uygulanan AB pH 2.5/PAS boyama metodu sonucunda gular bölgede sadece asidik glikokonjugat içeren mukus hücrelerinin bulunduğu, diğer bölgelerde de hem asidik hemde nötral glikokonjugat içeren hücrelerin bulunduğu belirlendi. Güçlü sülfatlı ve O- sülfat esterli glikokonjugatların gular ve pelvik-anal yüzgeç arası bölgedeki mukus hücrelerinde güçlü, pelvik-pektoral yüzgeç arası bölgedeki mukus hücrelerinde zayıf reaksiyon gösterdiği tespit edildi.

Anahtar sözcükler: Kadife balığı, tinca tinca, histokimya, glikokonjugat.

The Histochemical Structure on The Mucous Cells in Skin of The Tench (*Tinca Tinca* L. 1758)

This study was aimed to determine histochemical characters of mucus cells taken from regions of gular, between pelvic and anal fin region, between pelvic and pectoral fin of the Tench (*Tinca tinca* L. 1758). It was identified that strong reaction acidic sulfate glycoconjugates showed strong reactions in all three regions. From the AB pH 2.5/PAS painting method, only mucus cells containing acidic glycoconjugate were found, in gular region, the cells containing both acidic glycoconjugate neutral were found in the other regions. Strong sulphated and O-sulfate ester of glycoconjugates showed strongest reactions in the mucous cells in gular and between pelvic and anal fins regions, and weak reactions in the mucous cells in the region between pelvic and pectoral fins.

Keywords: Tench, tinca tinca, histochemistry, glycoconjugate.

Giriş

Balıkların derisi, dışta epidermis (üst deri), ortada hipodermis ve içte dermis (alt deri) olmak üzere üç tabakadan oluşmaktadır (1-6). Balık epidermisinde epitelyal, goblet, clavate, club, granular, iplik, zehir, duyusal, sakkiform, rodlet ve merkel hücreleri bulunmaktadır (4, 5, 7, 8).

Balığın üst derisi balığı kaygan bir tabaka halinde örten, balığın suda kolay hareket etmesini sağlayan, deriden girebilecek mikroorganizmaları önleyecek mukus hücrelerinin ürettiği mukus salgısıyla örtülmüştür (1-6). Bakteri, virüs, parazit, besleyiciler ve su kirliliği balıkların gelişmesinde azalmaya yada ölüm oranlarında artışa neden olabilmektedir. Mukusun ana bileşeni olan musin çok miktarda su absorbe edebilen glikoproteinlerden oluşur (4). Bu karbonhidrat bileşeni stres ve çevresel şartlarda değişir (7). Glikoproteinlerin mekanik, antiviral, antimikrobiyal, osmotik ve iyonik taşıma gibi çok çeşitli fonksiyonları vardır (9, 10).

Yapılan çalışmalarda farklı balık türlerine uygulanan histokimyasal metodlarla deri mukus hücrelerinin glikokonjugat içerikleri belirlenmiştir (11-15)

Bu çalışmada Kadife balığı (*Tinca tinca*)'nın gular, pelvik-pektoral ve pelvik-anal yüzgeçler arasından alınan deri mukus hücrelerinin histokimyasal karakterinin belirlenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada, Kovada Gölü'nden temin edilen 10 adet erişkin *Tinca tinca* türüne ait üç bölgeden (gular, pelvik-anal yüzgeç arası bölge ve pelvik-pektoral yüzgeç arası bölge) alınan deri örnekleri materyal olarak kullanıldı. Alınan doku örnekleri 24 saat süreyle %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Yıkama işleminden sonra rutin histolojik doku takibi işleminden geçirilen örnekler parafinde bloklandı. Parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığında alınan kesitlere aşağıda belirtilen boyama yöntemlerinden;

Geliş Tarihi : 14.01.2011
Kabul Tarihi : 24.11.2011

Yazışma Adresi Correspondence

Seval KELEK
Süleyman Demirel
Üniversitesi,
Fen Fakültesi,
Biyoloji Bölümü,
Isparta – TÜRKİYE

sevalkelek@stud.sdu.edu.tr

1. Nötral glikokonjugatların belirlenmesinde Periyodik asit-Schiff (PAS) metodu (16),
2. Asidik glikokonjugatların belirlenmesinde Alsiyan Blue (AB) pH 2.5 metodu (17),
3. Nötral ve asidik glikokonjugat kompozisyonunun karşılaştırılmasında PAS/AB pH 2.5 metodu (18),
4. Güçlü sülfatlı glikokonjugatların belirlenmesinde AB pH 0.5 metodu (17),
5. O- sülfat esterli glikokonjugatların belirlenmesinde AB pH 1.0 metodu (17),
6. Sülfatlı asidik glikokonjugatların belirlenmesinde Aldehit Fuksin (AF) metodu (19) ve
7. Sülfatlı ve asidik glikokonjugat kompozisyonunun karşılaştırılmasında AF/AB pH 2.5 metodu (20) uygulandı.

Hazırlanan preparatlar Olympus CX 41 tipi ışık mikroskopunda incelendi ve ilgili kısımlardan fotoğraf çekimi yapıldı.

Bulgular

Kesitlere uygulanan klasik histokimyasal boyama yöntemleri sonucunda mukus hücrelerinin uygulanan boyama yöntemlerine göre glikokonjugat yoğunluğu Tablo 1'de ve su analiz sonuçları Tablo 2'de verilmiştir.

Gular bölgeden alınan deri örneklerinde mukus hücrelerin PAS uygulaması sonucunda zayıf; AB pH 0.5, 1.0, 2.5 ve AF boyama yöntemleri sonucunda güçlü reaksiyon gösterdiği tespit edildi. Nötral ve asidik glikokonjugatların belirlenmesinde kullanılan AB pH 2.5 /PAS uygulaması sonucunda mukus hücrelerin asidik glikokonjugatları yoğun olarak bulduklarını saptandı. Uygulanan AF/AB pH 2.5 boyama metodu sonucunda mukus hücrelerinin bir kısmının asidik içeriğinin baskın (Şekil 1, ince ok) ve bir kısmının ise hem asidik hem de sülfatlı glikokonjugatları eşit miktarda (Şekil 1, kalın ok) içerdikleri belirlendi.

Pelvik ve pektoral yüzgeçler arasından alınan deri örneklerine uygulanan AB pH 0.5 ve 1.0 boyama yöntemleri sonucunda mukus hücrelerinin zayıf, AB pH 2.5 metoduna karşı ise daha güçlü reaksiyon gösterdikleri tespit edildi. PAS ve AF boyama yöntemleri sonucunda ise bu hücrelerin güçlü reaksiyon gösterdiği saptandı. AB pH 2.5/PAS uygulaması sonucunda bu bölgedeki mukus hücrelerin hem nötral hem de asidik glikokonjugatları eşit miktarda içerdiği ancak asidik glikokonjugatları içeren hücrelerin (Şekil 2) daha fazla sayıda olduğu belirlendi. Sülfatlı ve asidik glikokonjugatların kıyaslanmasında kullanılan AF/AB pH 2.5 uygulaması sonucunda bu bölgedeki deride bulunan mukus hücrelerin hem sülfatlı hem de asidik glikokonjugatları içerdiği, az sayıdaki hücrenin ise asidik glikokonjugat içerdiği saptandı.

Pelvik ve anal yüzgeçler arasından alınan deri örneklerine uygulanan PAS, AB pH 0.5, 1.0 ve AF yöntemleri sonucunda mukus hücrelerinin güçlü, AB pH 2.5 uygulaması sonucunda ise daha güçlü reaksiyon gösterdiği tespit edildi. Bu bölgede nötral ve asidik glikokonjugatları eşit miktarda içeren mukus hücrelerinin bulunduğu, aynı zamanda bazı mukus hücrelerin asidik glikokonjugat içeriğinin diğer glikokonjugata göre baskın olduğu belirlendi (Şekil 3). Uygulanan AF/AB pH 2.5 metodu sonucunda deride sülfatlı ve asidik glikokonjugatları eşit miktarda içeren mukus hücrelerin çok sayıda olduğu, bazı hücrelerin ise sadece asidik glikokonjugat içerdiği saptandı.

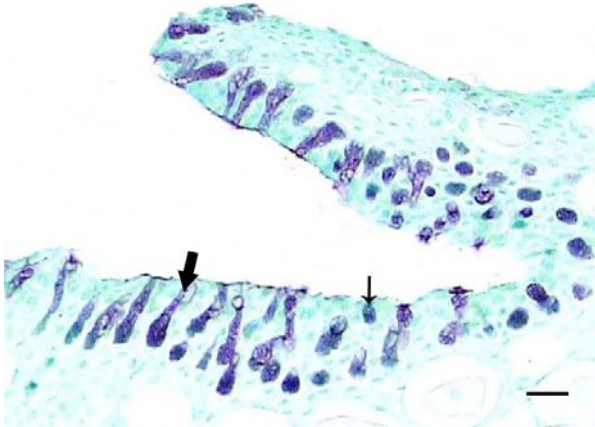
Tablo 1. Kadife balığı derisindeki mukus hücrelerinin glikokonjugat yoğunluğu.

Uygulanan Yöntemler	Gular Bölge	Pelvik ve Pektoral Yüzgeçler Arası	Pelvik ve Anal Yüzgeçler Arası
PAS	+	+++	+++
AB pH 2.5/PAS	AB	AB*	K
AB pH 0.5	+++	+	+++
AB pH 1.0	+++	+	+++
AB pH 2.5	+++	++++	++++
AF	+++	+++	+++
AF/AB pH 2.5	AF AB K	AB K	K AB*

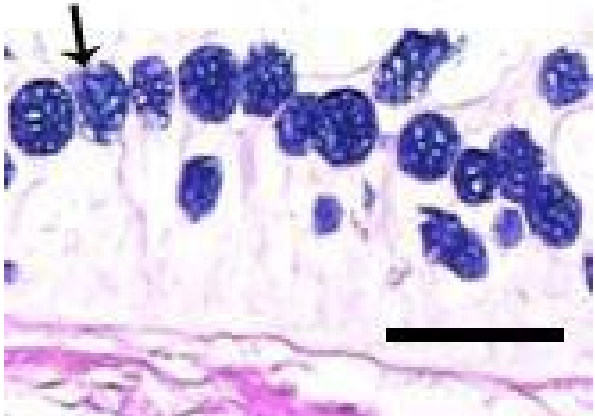
PAS, Periyodik asit-Schiff; AB, Alsiyan Blue; AF, Aldehit Fuksin. Reaksiyon şiddetinin gösterimi; +++++, çok güçlü; +++, güçlü; ++, orta; +, zayıf; *, baskın; K, karışım.

Tablo 2. Su numunelerinin fizikokimyasal analizleri.

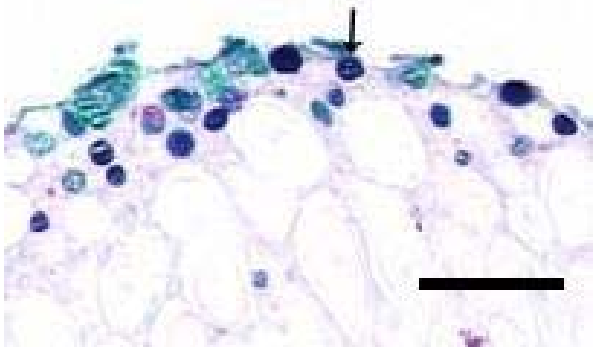
Parametreler	Birimler
Çözünmüş oksijen	7.8 mg O ₂ /l
Toplam sertlik	175.0 mg/l
Bulanıklık	19.0 NTU
Toplam Alkalinite	176 mg/l
İletkenlik	343 mohm/cm
Ph	7.9
Amonyum azotu	0.0 mg/l
Orta fosfat	0.07 mg/l
Nitrit	0.009 mg/l
Nitrat	0.31 mg/l
Potasyum	3.8 mg/l
Sülfat	9 mg/l
Klorür	10.6 mg/l



Şekil 1. Gular bölge. AB pH 2.5(+) (ince ok), AF ve AB pH pH 2.5(kalın ok) mukus hücreleri. AF/AB pH 2.5. Bar: 50 µm.



Şekil 2. Pelvik ve pektoral yüzgeçler arası bölge. AB pH 2.5 baskın (ok) hücreler. AF/AB pH 2.5. Bar: 50 µm.



Şekil 3. Pelvik ve Anal yüzgeçler arası bölge. AB pH 2.5 baskın hücreler (ok). AB pH 2.5/PAS. Bar: 50 µm.

Tartışma

Yapılan araştırmalar sonucunda balık derisinde mukusun mekaniksel zarara karşı koruma, yuva yapımı, beslenme, iletişim, hastalıklara karşı direnç, hareket, savunma, boşaltım, üreme, iyonik ve osmotik düzenleme ve solunumda görev aldığı bildirilmiştir (1).

Araştırmada *Arius tenuispinis* türünün derisindeki mukus hücrelerin PAS, AB pH 1.0 ve 2.5 boyama yöntemlerine karşı reaksiyon gösterdikleri bildirilmiştir (21). Bu çalışmada da bu boyama yöntemlerine karşı çalışılan bütün bölgelerde pozitif reaksiyon gösterdikleri belirlendi.

Solea senegalensis (22) türünün derisindeki mukus hücrelerinde elde edilen bulgularla benzer biçimde bu çalışmada da sülfatlı asidik glikokonjugatların bütün bölgelerde yoğun biçimde bulunduğu tespit edildi.

Torpedo ocellata rafinesque (23) derisinde mukus hücrelerinde elde edilen bulgularla benzer biçimde nötral glikokonjugatın yoğun biçimde bulunduğu bu çalışmada da çalışılan bütün bölgelerde saptandı.

Pleuronectes platessa L. (24) derisinde bildirildiği şekilde bu çalışmada da mukus hücrelerinde sülfatlı glikokonjugatların bulunduğu tespit edildi.

Arius tenuispinis Day (21) ve *Salmo trutta* L. (25) derilerinde bulunan mukus hücrelerin hem nötral hem de asidik glikokonjugat içerdiklerini bildirilmiştir. Bu çalışmada ise gular bölgede mukus hücrelerin asidik, pelvik ve pektoral yüzgeçler arası ile pelvik ve pektoral yüzgeçler arasındaki bölgede ise hem nötral hemde asidik glikokonjugat içeren mukus hücrelerin varlığı belirlendi.

Psetta maxima (26) türünün dorsal ve ventral vücut bölgelerine ait olmak üzere başın gerisi, dorsal ve ventral yüzgece komşu bölgeler ve kaudal bölgelerde AB pH 0.5 ve AF (+) hücelere rastlanmadığı bildirilmektedir. Aynı araştırmacılar belirtilen bu bölgelere ait mukus salgılayan hücrelerde AB pH 2.5 ve PAS (+), ventralde dorsal yüzgece komşu bölge dışında diğer bölgelerde AB pH 1.0 (+) hücreleri bildirmektedirler. Bu çalışmada ise çalışılan üç bölgede de (gular, pelvik-pektoral ve pelvik-anal yüzgeçler arası bölge) uygulanan tüm histokimyasal boyamalara karşı hücrelerin pozitif reaksiyon gösterdiği belirlendi.

Sonuç olarak, Kadife balığı (*Tinca tinca*) derisinde mukus salgılayan hücrelerin uygulanan histokimyasal boyamalar sonucunda farklı yoğunlukta buldukları belirlendi. Tüm bölgelerde mukus hücrelerin sülfatlı asidik glukokonjugatları yoğun olarak bulunduğu saptandı. Ayrıca asidik glukokonjugat içeren hücrelerin bütün bölgelerde güçlü reaksiyon gösterdikleri belirlendi. PAS (+) hücreler gular bölgede zayıf, diğer bölgelerdeki mukus hücrelerinde güçlü reaksiyon gösterdiği belirlendi.

Kaynaklar

1. Zaccane G. Histochemical studies of acid proteoglycans and glycoproteins and activities of hydrolytic and oxidoreductive enzymes in the skin epidermis of the fish *Blennius sanguinolentus pallas*. *Histochem Cell Bio* 1983; 78(2): 163-175.
2. Ekingen G. Balık anatomisi. Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları.No: 1, Mersin: Güven, 2001.
3. Sarıhan E, Cengizler İ. Temel balık anatomisi ve fizyolojisi. Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Adana: Nobel Kitabevi, 2006.
4. Demir N. İhtiyoloji, 4. Baskı, 424, Ankara: Nobel Yayın Dağıtım, 2009.
5. Bat L, Erdem Y, Ustaoglu Tırıl S, Yardım Ö. Balık Sistematiji 1. Baskı, 26-27, Ankara: Nobel Yayın Dağıtım, 2008.
6. Genten F, Terwinghe E, Danguy A. Atlas of fish histology. 757, New Hampshire, USA: Enfield, 2009.
7. Zaccane G, Kapoor BG, Fasulo S, Ainis L. Structural, histochemical and functional aspects of the epidermis of fishes. *Adv Mar Biol* 2001; 40: 253-348.
8. Whitear M. The skin of fishes including cyclostomes In: Bereiter-Hahn J, Matoltsy AG, Richards KS (Editors). *Biology of the Integument. Vol. 2 Vertebrates*. Berlin: Springer-Verlag, 1986: 8-64.
9. Allen A. Structure and function of gastrointestinal mucus. In: Johnson LR (Editor). *Physiology of the gastrointestinal tract*. New York: Raven Pres, 1981: 617-639,
10. Shephard KL. Functions for fish mucus. *Rev Fish Biol Fish* 1994; 4: 401-29.
11. Fletcher TC, Jones R, Reid L. Identification of glycoproteins in goblet cells of epidermis and gill of plaice (*Pleuronectes platessa* L.), flounder (*Platichthys flesus* L.) and rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Histochem J* 1976; 8: 597-608.
12. Alan D, Pickering D, Macey DJ. Structure, histochemistry and the effect of handling on the mucous cells of the epidermis of the char *Salvelinus alpinus* (L.). *J Fish Biol* 1977; 10(5): 505-512.
13. Gona O. Mucous glycoproteins of teleostean fish: a comparative histochemical study. *Histochem J* 1979; 11: 709-718.
14. Mittal AK, Whitear M, Agarwal SK. Fine structure and histochemistry of the epidermis of the fish. *Monopterusuchia J Zool* 1980; 191(1): 107-125.
15. Mittal AK, Ueda T, Fujimori O, Yamada K. Histochemical analysis of glycoproteins in the unicellular glands in the epidermis of an Indian fresh water fish *Mastacembelus pancalus* (Hamilton). *Histochem J* 1994; 26: 666-677.
16. McManus JFA. Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technol* 1948; 23: 99-108.
17. Lev R, Spicer SS. Specific staining of sulphate groups with alcian blue at low pH. *J Histochem Cytochem* 1964; 12: 309.
18. Mowry RW. Alcian blue techniques fort he histochemical study of acidic carbohydrates. *J Histochem cytochem* 1956; 4: 407-408.
19. Gomari G. Gomari's aldehyde fuchsin stain. In: Culling CFA, Allison RT, Barr WT. (Editors). *Cellular Pathology Technique*. London: Butterworths, 1952: 238.
20. Spicer SS, Mayer DR. Aldehyde fuchsin/Alcian blue. In: Culling CFA, Allison RT, Barr WT. (Editors). *Cellular Pathology Technique*. London: Butterworths, London, 1960: 233.
21. Al-Banaw A, Kenngott R, Al-Hassan JM, Mehana N, Sinowatz F. Histochemical analysis of glycoconjugates in the skin of a catfish (*Arius tenuispinis*, Day). *Anat Histol Embryol* 2009; 39(1): 42-50.
22. Sarasquete C, Gonzalez de Canales ML, Arellano J, et al. Histochemical study of skin and gills of Senegal sole, *Solea senegalensis* larvae and adults. *Histol Histopathol* 1998; 13(3): 727-735.
23. Carmignani MP, Zaccane G. Histochemical analysis of epidermal cells in the skin of *Torpedo ocellata Rafinesque*. *Acta Histochem* 1975; 52(1): 100-110.
24. Lopez-Vidriero MT, Jones R, Reid L, Fletcher TC. Analysis of skin mucus of plaice *Pleuronectes platessa*. *J Comp Patho* 1980; 90(3): 415-420.
25. Harris JE, Watson A, Hunt S. Histochemical analysis of mucous cells in the epidermis of Brown trout *Salmo trutta* L. *Comp Biochem Physiol* 1972; 54: 325-328.
26. Özen MR, Demirbağ E, Çınar K. Kalkan balığı (*Psetta maxima*) derisinde mukus hücrelerinin dağılımı ve histokimyasal yapısı. 20. Ulusal biyoloji kongresi. Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye, 747-748, 2010.