

Uluabat Gölündeki Kızılğöz (*Rutilus rutilus* (L., 1758)) Türünün Sindirim Kanalındaki Mukosubstansların Histokimyasal Açıdan Değerlendirilmesi

Nurgül ŞENOL Özlem YEŞİL

Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Isparta, Türkiye

Geliş tarihi: 21.05.2014

Kabul Tarihi: 23.06.2014

ÖZET

Bu çalışmada kızılğöz (*Rutilus rutilus* L., 1758)'ün sindirim kanalı; mide, ilk bağırsak, orta bağırsak ve son bağırsak olmak üzere dört bölüme ayrıldı ve histokimyasal açıdan değerlendirildi. Çalışılan balıklar ergin olarak Uluabat Gölü'nden temin edildi. Mukosubstans yoğunluklarının, dağılımlarının ve özelliklerinin tanımlanması için PAS, PAS/AB pH 2.5, AB pH 2.5, AF, AF/AB pH 2.5 histokimyasal boyamaları uygulandı. Sindirim kanalının mukoza, submukoza, tunika muskularis ve tunika seroza tabakalarını içerdiği görüldü. Yapılan histokimyasal incelemelerde asidik ve nötral mukosubstansların sülfatlı mukosubstanslara göre daha yoğun bulunduğu sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler

Histokimya, Kızılğöz, *Rutilus rutilus*, Sindirim kanalı

Histochemical Evaluation of Alimentary Tract Mucosubstances in the Roach (*Rutilus rutilus* L., 1758), in Lake Uluabat

SUMMARY

In this study, roach (*Rutilus rutilus* (L., 1758)) of alimentary canal was divided in to four sections; stomach, anterior intestine, middle intestine and posterior intestine and were evaluated histochemical respect. Species were provided from adult roach fish located in Uluabat lake. PAS, PAS/AB pH 2.5, AB pH 2.5, AF, AF/AB pH 2.5 histochemical stainings were performed for determining mucosubstance features, density and distribution. Alimentary canal was included mucosa, submucosa, tunica muscularis and tunica serosa layers. As a result of the histochemical study of acidic and neutral mucosubstances were more intense than sulfated mucosubstances.

Key Words

Alimentary canal, histochemistry, roach, *Rutilus rutilus*

GİRİŞ

Uluabat Gölü, Marmara Bölgesi'nde Bursa İlinin Karacabey ve Mustafakemalpaşa İlçeleri içerisinde yer almaktadır (Balık ve Çubuk 2001; Çınar ve ark. 2008). Uluabat Gölü'nün yüzey alanı 160 km², doğu-batı yönündeki uzunluğu 25 km, kuzey-güney yönünde 10.5 km genişliğindedir (Çınar ve ark. 2008). Gölün ortalama derinliği 2.5 m, deniz seviyesinden yüksekliği de 8 m'dir (Balık ve Çubuk 2001). Göl, ülkemizde bulunan diğer pek çok göle göre balık türü çeşitliliği bakımından oldukça zengindir. Yapılan çalışmalara göre gölde 21 balık türü bulunduğu bildirilmiştir (Çınar ve ark. 2008).

Mikroskopik incelemeler sonucu genel yapı itibariyle balıkların mide ve sindirim kanalı duvarının mukoza, lamina propria-submukoza, muskularis ve seroza tabakalarından oluştuğu bildirilmiştir (Park ve ark. 2003; Diaz ve ark. 2007; Raji ve Norouzi 2010; Khojasteh ve ark. 2013).

Teleostlardaki sindirim kanalı mukus hücrelerinin yerleşimleri sindirim kanalının her bir bölümünde ve türden türe belirgin bir şekilde değişiklik gösterdiği ve kayganlaştırma, parazit ve patojenik bakterilere karşı bariyer oluşturma, mide mukozasını sindirim enzimlerinden koruma, iyonik ve ozmotik dengeyi düzenleme, sindirim ve absorpsiyon gibi işlevlere katkı sağladığı rapor edilmiştir (Leknes 2013). Asidik ve sülfatlı glikoproteinlerin bakteriyel adezyonları engellediği,

glikoproteinlerin proteaz enziminin dejenrasyonundan koruduğu ve goblet hücrelerinin birçok musin ile birlikte genellikle parazitli balıklarda görüldüğü rapor edilmiştir (Bosi ve ark. 2005).

Kızılğöz (*Rutilus rutilus*) pek çok Avrupa ülkesinde sportif avcılığı yapılan önemli balık türlerinden biridir. Bundan dolayı Avrupa ülkeleri tarafından da önem verilen bir balık türüdür. *Rutilus rutilus* Avrupa da, Karadeniz ve Azak Denizi'nde ve Türkiye tatlı sularında görülmektedir (Alagöz ve ark. 2006). Kızılğöz omnivor bir tür olup esas olarak littoralde yaşamakta ise de ötrofik koşullarda ve pelajikte de bulunabilmektedir. Karnivor türlerin beslenmeleri için önemli olan kızılğöz göllerde baskın bir tür olup, yoğunluğu ve yıllık büyümeleriyle diğer balık türlerini etkilemektedir. Dünyada kızılğöz ile yapılmış birçok kapsamlı ekolojik çalışma mevcuttur (Alagöz-Ergüden ve ark. 2008). Ayrıca, araştırmalarda elde edilen bulgulara göre kızılğöz balığı popülasyonunun Uluabat Gölü'nde diğer küçük yapılı türlerin popülasyonlarına göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (Balık ve Çubuk 2001).

Balıkların sindirim sistemi veya mide içeriği ile ilgili çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Ayrıca çalışmalar genellikle balık biyolojisi ya da su kirliliği üzerine yapılmıştır (Polat ve Yılmaz 1999; Çınar ve ark. 2013). Buna karşılık Uluabat gölünde yaşayan kızılğöz türünün sindirim sistemiyle ilgili histokimyasal açıdan bir araştırma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada kızılöz balık türünün mide ve bağırsak bölgelerindeki glikoproteinlerin, yoğunluğu ve dağılımlarının histokimyasal açıdan değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Uluabat Gölü'nden temin edilen ergin 3 adet kızılöz balığına karanfil yağı anesteziyi uygulandıktan sonra abdominal diseksiyon ile mide ve bağırsaklarından örnek alımı gerçekleştirildi. Araştırması yapılan balık türlerinin ortalama uzunlukları 20-25 cm, ağırlıkları 120- 150 g olarak ölçüldü.

Alınan örnekler %10'luk formaldehitte 24-48 saat arası bekletildi. Tespit işleminden sonra rutin doku takibinden geçirilen doku örnekleri parafinle bloklandı. Parafin bloklardan 5-6 µ kalınlığında kesitler alındıktan sonra histolojik yapının belirlenmesi için Hemotoksilen-Eosin boyası, mukosubstans özellikleri, yoğunluk ve dağılımlarının belirlenmesi için de Tablo 1'de verilen histokimyasal yöntemler uygulandı.

Tablo 1. Uygulanan Histokimyasal Yöntemler

Table 1. The Histochemical Methods

Yöntemler	Kaynaklar
1. PAS (Nötral glikoproteinler)	Mc Manus (1948)
2. PAS/AB pH 2.5 (Nötral ve asidik glikoproteinler)	Mowry (1956)
3. AB pH 2.5 (Karboksilli zayıf asitli Glikoproteinler)	Lev and Spicer (1964)
4. AF (Sülfatlı glikoproteinler)	Gomari (1952)
5. AF/AB pH 2.5 (Güçlü asidik glikoproteinler)	Spicer and Mayer (1960)

AB: Alcian blue; PAS: Periodik asit/Schiff; AF: Aldehid fuksin

BULGULAR

Çalışmamızda kızılöz türünün sindirim kanalı; mide, ilk bağırsak, orta bağırsak ve son bağırsak olarak dört bölüme ayrılarak histokimyasal yapısı incelendi. Aslında her bir bölümün kendine özgü yapısı olsa da genel yapı itibarıyla

sindirim kanalı mukoza, submukoza, tunica muskularis ve tunika serozadan meydana geldiği görüldü.

Nötral mukosubstanslarını belirlenmesi için uygulanan PAS boyamasında mide ve bağırsaklarda pozitif reaksiyon gözlemlendi (Şekil 1.a, b). Nötral glikoproteinlerin mide, ilk bağırsak ve son bağırsak epitel yüzeyinde orta bağırsak epitelinden daha az bulunduğu, goblet hücrelerinde nötral mukosustansların ilk ve son bağırsak goblet hücresinde orta düzeyde iken mide ve orta bağırsak goblet hücresinde az yoğunlukta olduğu belirlendi.

Zayıf asidik sülfatlı mukosubstans özelliklerinin belirlenmesi için AB pH 2.5 boyaması uygulandı. Sindirim kanalının epitel yüzeyinde AB pH 2.5 uygulamasının negatif reaksiyon verdiği gözlemlendi. Goblet hücrelerine bakıldığında karboksilli glikoproteinlerin en yoğun mide de olduğu, orta bağırsağa doğru azaldığı ve son bağırsakta orta düzeyde olduğu gözlemlendi (Şekil 1.c, d).

Nötr ve asidik glikoprotein varlığının belirlenmesi için PAS/AB pH 2.5 uygulaması gerçekleştirildi. Son bağırsak epitel yüzeyinde negatif, diğer bölümlerin epitel yüzeyinde ise pozitif reaksiyon gözlemlendi. Mide, orta ve son bağırsak goblet hücrelerinde kombinasyon hakimken ilk bağırsakta kombinasyon baskınlığıyla birlikte PAS ve AB reaksiyonu da saptandı (Şekil 1.e, f).

Sülfatlı mukosubstans özelliğinin belirlenmesi için AF uygulaması gerçekleştirildi. Mide, orta, ilk ve son bağırsak epitel yüzeyinde negatif reaksiyon gözlenirken özellikle mide ve ilk bağırsak goblet hücrelerinde güçlü reaksiyon ve yoğunluk gözlemlendi. Orta ve son bağırsak da ise yoğunluğun orta düzeyde olduğu belirlendi.

AF/AB pH 2.5 uygulaması sonucunda güçlü asidik mukosubstanslı yapılar gözlemlendi. Epitel yüzeylerde reaksiyon oluşmadığı belirlendi. Mukus hücrelerinde kombinasyon ve AB pH 2.5 reaksiyonlarında değişik yoğunlukta pozitiflik görülürken AF reaksiyonu negatif olduğu saptandı. Mide goblet hücrelerinde AB baskınlığı saptanırken, bağırsaklarda kombinasyon ve AB yoğunluğu eşit miktarlarda olduğu belirlenmiştir.

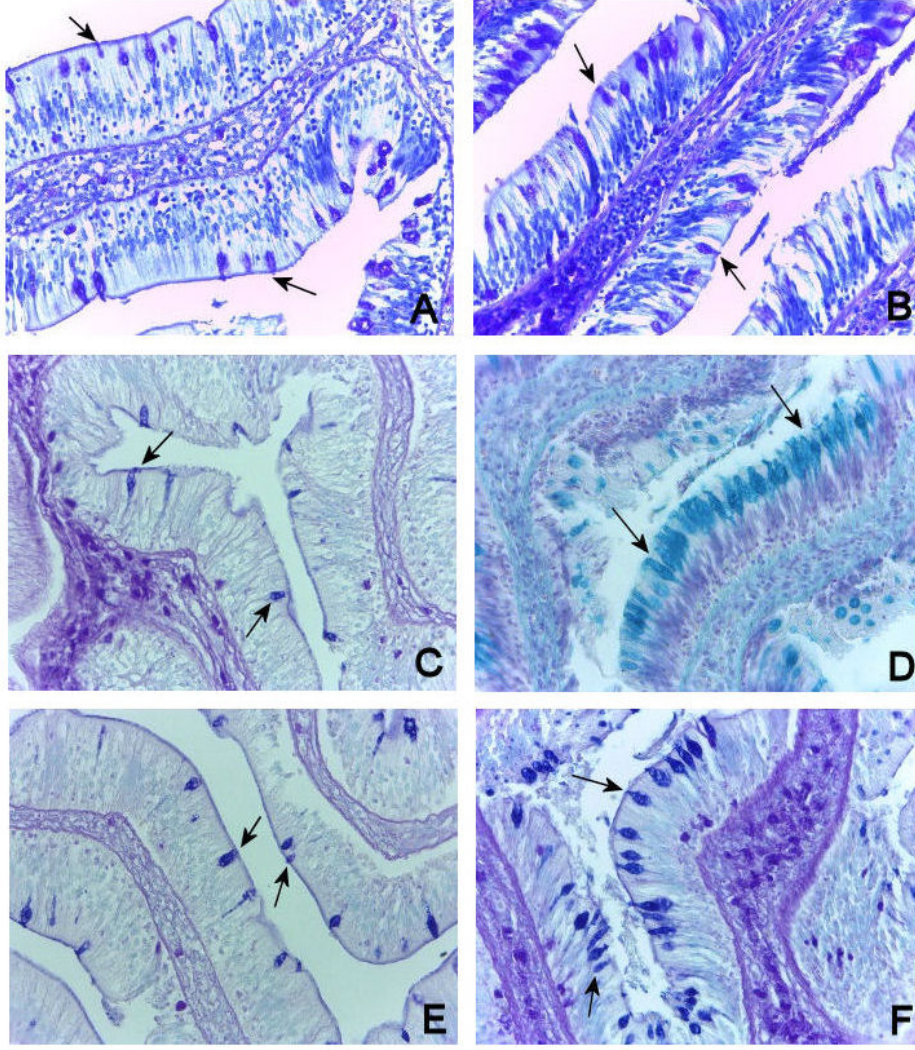
Kızılöz balığına uygulanan histokimyasal uygulamalar ve reaksiyon sonuçları Tablo 2'de gösterilmektedir.

Tablo 2. Kızılöz balığının histokimyasal reaksiyonları

Table 2. Histochemical reactions of roach fish

Tahta Yöntem	Mide				İlk Bağırsak				Orta Bağırsak				Son Bağırsak			
	Epitel Yüzeyi	Goblet Hücresi		Epitel Yüzeyi	Goblet Hücresi		Epitel Yüzeyi	Goblet Hücresi		Epitel Yüzeyi	Goblet Hücresi					
		Reaksiyon	Dağılım		Reaksiyon	Dağılım		Reaksiyon	Dağılım		Reaksiyon	Dağılım				
PAS	+	++	+	+	+++	++	++	++	+	+	++	++				
PAS	PAS	+	-	-	+	+	++	-	-	-	-	-				
AB pH 2.5	AB	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-				
	KOMB	+	+++	++	+	++	++	-	+++	++	-	++	++			
AB pH 2.5		-	+++	+++	-	+++	++	-	++	+	-	++	++			
AF		-	+++	+++	-	+++	+++	-	+	++	-	++	++			
AF	AF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-			
AF	AB	-	++	++	-	++	++	-	+	+	+	++	++			
AB Ph 2.5	KOMB	-	+	+	-	++	++	-	+	+	+	++	++			

AB: Alcian blue; PAS: Periodik asit/Schiff; AF: Aldehid fuksin (-) Negatif, (+) Zayıf, (++) Orta, (+++) Yoğun



Şekil 1. a) Mide PAS pozitif reaksiyon, X 400; b) İlk bağırsak PAS pozitif reaksiyon, X 400; c) Mide AB pH 2.5 pozitif reaksiyon, X 400; d) İlk bağırsak AB pH 2.5 pozitif reaksiyon, X 400; e) Mide AB ve PAS/AB kombinasyonu pozitif reaksiyonlu hücreler, X 400; f) İlk bağırsak AB ve PAS/AB kombinasyonu pozitif reaksiyonlu hücreler, X 400.

Figure 1. a) PAS positive reaction in stomach, X 400; b) PAS positive reaction in anterior intestine, X 400; c) AB pH 2.5 positive reaction in stomach, X 400 d) AB pH 2.5 positive reaction in anterior intestine, X 400 e) AB and PAS/AB combination cells positive reaction in stomach, X 400; f) AB and PAS/AB combination cells positive reaction in anterior intestine, X 400.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Gastrik tabakalarda yüzey epitelinin hücrelerinde bol miktarda asidik ve nötral glikoprotein sentezlendiği belirtilmiştir. En çok salgılanan asidik glikoprotein siyalik asit olduğu ve bunun mukozal salgıyı kayganlaştırdığı düşünülmektedir. Asidik münlerin bağırsaktaki görevlerinin ise yüzeyi nemli tutarak gaz alışverişini kolaylaştırmak olduğu bildirilmektedir (Park ve ark. 2003). Nötral glikoproteinlerin görevinin ise disakkaritler ve kısa zincirli yağ asitleri gibi sindirilmiş besinlerin mide epitelinden emilimini kolaylaştırmak olduğu sanılmaktadır (Diaz ve ark. 2003).

Oncorhynchus mykiss (Gökkuşuğu alabalığı) türünde yapılan histokimyasal analizler sonucu goblet hücre yoğunluğunun son bağırsağa doğru artış gösterdiği fakat içerik açısından önemli bir farklılık göstermediği rapor

edilmiştir. Goblet hücrelerinin nötral ve asidik içerikli olduğu belirlenmiştir (Banan- Khojasteh ve ark. 2009). Yapılan çalışmada ise kıızılgöz balık türünde orta ve son bağırsakta goblet hücre varlığının orta yoğunlukta olduğu belirlenirken ilk bağırsakta oldukça yoğun olduğu gözlenmiştir.

Halobatrachus didactylus türünde yapılan araştırmalara göre mide epitel yüzey hücrelerinde PAS uygulamasının kuvvetli bir reaksiyon gösterdiği buna rağmen AB pH 2.5 uygulamasının reaksiyonun zayıf kaldığı belirtilmiştir (Desantis ve ark. 2009). Sunulan çalışmada kıızılgöz balığının hem mide epitelinde hem de goblet hücrelerinde nötral mukosubstanslar çok az olarak tespit edilmiştir.

Thorichthys meeki (Ciklet) balığının bağırsak örneklerine uygulanan PAS ve AB pH 2.5 ile güçlü boyanmalar görülmüştür. PAS/AB pH 2.5 kombinasyon uygulamasından sonra mavi boyanmalar hakim olup mavimor karışımı boyanmaların da az miktarda bulunduğu

gözlenmiştir (Leknes 2010). Araştırmamızda kızılğöz bağırsak örneklerinde aynı kombinasyon boyamasında orta bağırsakta kombinasyonun oldukça kuvvetli reaksiyon verdiği belirlenirken ilk ve son bağırsakta orta derecede yoğunluk gözlemlendi.

Micropogonias furnieri midesinde asidik mukosubstans (AB pH 2.5) yoğunluğunun az olduğu, mide bölgeleri (kardiya, fundus, pilorus) arasında yoğunluk açısından önemli bir farklılığın bulunmadığı, *Engraulis anchoita* midesinde ise asidik mukosubstans yoğunluğunun orta düzeyde olduğu bildirilmiştir (Diaz ve ark. 2003; Diaz ve ark. 2007). Yaptığımız çalışmada ise kızılğöz türünde mide ve bağırsak epitelinde AB pH 2.5 reaksiyonu gözlenmezken, mide mukozasında oldukça yoğundu. Bağırsaklarda ise bir azalma gözlemlendi.

Misgurnus anguillicaudatus bağırsaklarında, hem AF ve hem de AF/AB pH 2.5 uygulamalarında orta derecede reaksiyon olduğu belirtilirken (Park ve ark. 2003) çalışılan kızılğöz türünde ise mide ve bağırsak epitelinde sülfatlı mukosubstans bulunmamasına rağmen mide ve ilk bağırsak goblet hücrelerinde oldukça yoğun olarak rastlandı. Fakat son bağırsağa doğru yoğunlukta bir düşüş gözlemlendi.

Cyprinus carpio (Sazan) balığının bağırsak mukozasında yapılan PAS ve PAS/AB uygulamalarında nötral, nötral-asidik glikoproteinlerin orta derecede bulunduğu saptanmıştır. AB pH 2.5 uygulaması sonucu ise asidik glikoproteinlerin, nötral ve nötral-asidik glikoproteinlere göre yoğunluğunda düşüş görüldüğü bildirilmiştir (Neuhaus 2007). Sunduğumuz çalışmada kızılğöz türünün bağırsağında PAS ve AB pH 2.5 reaksiyonlarının sonucunda nötral ve asidik glikoproteinlerin orta yoğunlukta olduğu görüldü. Kombinasyon uygulamasında ise orta ve son bağırsakta sadece nötral-asidik glikoprotein çeşidi bulunduğu özellikle orta bağırsakta kombinasyonun oldukça fazla olduğu gözlemlendi. İlk bağırsakta kombinasyon baskınlığında az miktarda nötral ve asidik glikoprotein varlığı görüldü.

Kızılğöz (*Rutilus rutilus*) balığının histokimyasal incelemelerinde asidik ve nötral mukosubstansların sülfatlı mukosubstanslara göre daha yoğun bulunduğu sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

- Alagöz-Ergüden S, Ergüden D, Göksu MZL (2008).** Seyhan Baraj Gölündeki (Adana) Kızılğöz'ün (*Rutilus rutilus* L., 1758) Büyüme Özellikleri. *J Fish Sci*, 2(1), 77-87.
- Alagöz S, Göksu MZL, Ergüden D (2006).** Seyhan Baraj Gölü'ndeki (Adana) Kızılğöz (*Rutilus rutilus* L., 1758) Popülasyonunun Büyüklük Dağılımı ve Kondisyon Faktörünün Belirlenmesi Üzerine Bir Ön Çalışma. *Ege Üniv Su Ürün Derg*, (1/3), 333-335.
- Balık İ, Çubuk H (2001).** Uluabat Gölü'ndeki Bazı Balık Türlerinin Avcılığında Galsama Ağlarının Av Verimleri. *Ege Üniv Su Ürün Derg*, 18(3/4), 339-405.

- Banan- Khojasteh SM, Sheikhzadeh F, Mohammadnejad D, Azami A (2009).** Histological, Histochemical and Ultrastructural Study of the Intestine of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), *World Appl Sci J*, 6(11), 1525-1531.
- Bosi G, Shinn AP, Giari L, Simoni E, Pironi F, Dezfali BS (2005).** Changes in the Neuromodulators of the Diffuse Endocrine System of the Alimentary Canal of Farmed Rainbow Trout. *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), Naturally Infected with *Eubothrium crassum* (Cestoda). *J Fish Dis*, 28, 703-711.
- Çınar Ş, Küçükkara R, Balık İ, Çubuk H, Ceylan M, Erol K G, Yeğen V, Bulut C (2013).** Uluabat (Apolyont) Gölü'ndeki Balık Faunasının Tespiti, Tür Kompozisyonu ve Ticari Avcılığın Türlerle Göre Dağılımı. *J Fish Sci*, 7(4), 309-316.
- Çınar Ş, Küçükkara R, Ceylan M, Çubuk H, Erol K G, Akçimen U, Savaşer S (2008).** Uluabat Gölü'ndeki Kızılkanat (*Scardinius erythrophthalmus* L., 1758) Popülasyonu'nun Büyüme Parametrelerinin Araştırılması. *Ege Üniv Su Ürün Derg*, 25 (4), 289-293.
- Desantis S, Acone F, Zizza S, Defflorio M, Fernandez JLP, Sarasquete C, De Metro G (2009).** Glycohistochemical Study of the Toadfish *Halobatrachus didactylus* (Scheider, 1801) Stomach. *Sci Mar*, 73(3), 515-525.
- Diaz AO, Garcia AM, Devincenzi CV, Goldemberg AL (2003).** Morphological and Histochemical Characterization of the Mucosa of the Digestive Tract in *Engraulis anchoita*, *Anat Histol Embryol*, 32, 341-346.
- Diaz AO, Garcia AM, Figueroa DE, Goldemberg AL (2007).** The Mucosa of Digestive Tract in *Micropogonias furnieri*: A Light and Electron Microscope Approach, *Anat Histol Embryol*, 37, 251-256.
- Gomari (1952).** Gomari's Aldehyde Fuchsin stain. In: Cellular Pathology Technique (C. F. A. Culling, R. T. Allison, and W. T. Barr, eds). Butterworths, London.
- Khojasteh SMB, Ghodratiya S (2013).** Gastric and Intestinal Morphohistology of *Epinephelus coioides* (Osteichthyes, Serranidae). *Int J Aquac Sci*, 4 (2), 83-90.
- Leknes IL (2010).** Histochemical Study on the Intestine Goblet Cells in Cichlid and Poeciliid Species (Teleostei). *Tissue and Cell*, 42, 61-64.
- Leknes IL (2013).** Goblet Cell Types in Intestine of Tiger Barb nd Black Tetra (*Cyprinidae*, Characidae: Teleostei). *Anat Histol Embryol*, doi: 10.1111/ah.12083.
- Lev R, Spicer SS (1964).** Specific staining of sulphate groups with alcian blue at low pH. *J Histochem Cytochem*, 12, 309
- McManus JFA (1948).** Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technol*, 23, 99-108.
- Mowry RW (1956).** Alcian blue techniques for the histochemical study of acidic carbohydrates. *J Histochem Cytochem*, 4, 407-408.
- Neuhaus H, Van Der Marel M, Caspari N, Meyeri W, Enss M-L, Steinhagen D (2007).** Biochemical and Histochemical Study on the Intestinal Mucosa of the Common Carp *Cyprinus carpio* L., with Special Consideration of Mucin Glycoproteins. *J Fish Biol*, 70, 1523-1534.
- Park JY, Kim IS, Kim SY (2003).** Structure and Mucous Histochemistry of the Intestinal Respiratory Tract of the Mud Loach, *Misgurnus anguillicaudatus* (Cantor), *J Appl Ichthyol*, 19, 215-219.
- Polat N, Yılmaz M (1999).** Suat Uğurlu Baraj Gölü'nde Yaşayan Kababurun Balığı [*Chondrostoma regium* Heckel, 1843 (*Pisces-Cyprinidae*)]'nın Sindirim Sistemi İçeriği. *Turk J Zool*, 23 (Ek Sayı) 2, 679-693.
- Raji AR, Norouzi E (2010).** Histological and Histochemical Study on the Alimentary canal in Walking Catfish (*Claris batrachus*) and Piranha (*Serrasalmus nattereri*). *Iran J Res, Shiraz Univ*, 11(3), 255-261.
- Spicer SS, Mayer DR (1960).** Aldehyde Fuchsin/Alcian Blue. In: Cellular Pathology Technique (C.F.A. Culling, R.T. Allison, and W.T. Barr, eds) Butterworths, London.