

Uluabat Gölündeki Tahta (*Blicca bjoerkna* (L., 1758)) Balığının Mide ve Bağırsak Dokularının Histokimyasal Açından Karşılaştırılması

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

Yapılan çalışmada tahta (*Blicca bjoerkna* (L., 1758)) balığının mide ve bağırsak bölümlerinin histolojik ve histokimyasal açıdan karşılaştırılması amaçlanmaktadır. *Blicca bjoerkna*'nın sindirim sistemi morfolojik olarak; mide, ilk bağırsak, orta bağırsak ve son bağırsak olmak üzere dört bölüme ayrıldı. Çalışılan balıklar ergin olarak Uluabat Gölü'nden temin edildi. Karanfil yağı anestezisi uygulandı. Daha sonra abdominal diseksiyon ile mide ve bağırsaklardan örnek alımı gerçekleştirildi. Alınan örneklerin ışık mikroskopunda morfolojik ve histokimyasal yapısı incelendi. Mukosubstans özellikleri, yoğunlukları ve dağılımlarını göstermek için PAS, PAS/AB pH 2.5, AB pH 2.5, AF, AF/AB pH 2.5 histokimyasal boyamaları uygulandı.

Anahtar Kelimeler

Blicca bjoerkna, Histokimya, Sindirim kanalı, Tahta

Comparative Histochemical Studies on the Stomach and Intestine Tissues of the White Bream (*Blicca bjoerkna* (L., 1758)), in Lake Uluabat

SUMMARY

The present investigation aims to illustrate the histological and histochemical differences of the stomach and intestine of the white bream (*Blicca bjoerkna* (L., 1758)). The digestive system of *Blicca bjoerkna* is morphologically divided into four portions: stomach, anterior intestine middle intestine and posterior intestine portions. Species were provided from adult roach fish located in Uluabat lake. Stomach and intestine sampling was performed with abdominal dissection after application of anesthesia clove oil. The morphological and histochemical structures of all samples were studied with a light microscope. 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.

Key Words

Alimentary canal, *Blicca bjoerkna*, Histochemistry, White bream

GİRİŞ

Bursa ili sınırları içerisinde yer alan Uluabat Gölü alanı 160 m² olup, kışın 3 m olarak ölçülen derinliğinin yazın 0.5-1 m'ye kadar düştüğü belirtilmiştir. Gölün balık çeşitliliği yönünden zengin olduğu bunun da Susurluk Çayı ile Marmara Denizi'ne bağlanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Çınar ve ark. 2008).

Gölde bulunan tahta balığı diğer balık türlerine göre en yoğun olan türlerden biridir (Çınar ve ark. 2013). Tahta balığı (*Blicca bjoerkna*), genellikle sakin suları tercih eden bir tür olup, ağırlıklı olarak büyük akarsu ve göllerde yaşamaktadır. Avrupa'da en çok tanınan balıklardan olan bu tür, İngiltere'nin doğusundan Hazar denizine kadar uzanan geniş bir sahada yayılış göstermektedir. Ülkemizde de Uluabat, Sapanca, Manyas ve Ladik gölleri ile Gelemen Devlet Üretme Çiftliği kanallarında tespit edilmiştir. Ekonomik önemlerinin az olmasının yanı sıra, etleri kılçıklı ve lezzetsizdir. Genelde ekonomik balıklarının yetiştiriciliğinde yem olarak kullanılmaktadır (Selver ve ark. 2010).

Yapılan çalışmada tahta balığının mide ve bağırsak bölgelerindeki glikoproteinlerin, yoğunluğunun ve dağılımlarının histokimyasal açıdan karşılaştırılması ve bu balık türü ile ilgili araştırma konularındaki boşluğun doldurulması amaçlanmıştır. Ayrıca aynı alanda yapılacak

diğer çalışmalara ışık tutması açısından da önemlidir.

MATERYAL ve METOT

Uluabat Gölü'nden temin edilen ergin 3 adet tahta balığı karanfil yağı anestezisi 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.

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: Periyodik asit/Schiff; AF: Aldehid fuksin

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 uygulanmıştır.

BULGULAR

Tahta balığına uygulanan PAS boyamasında hem mide hem son bağırsak epitelinde ve mukozasında oldukça yoğun gözlenen pozitiflik ilk bağırsak ve orta bağırsak epitelinde ve mukozasında ise yoğunluk azalmıştır (Şekil 1. a, b).

Karboksilli zayıf asidik glikoproteinlerin mideden son bağırsağa kadar incelenen tüm bölümlerde az yoğunlukta rastlandı fakat son bağırsağa gelindiğinde artış gösterdiği saptanmıştır (Şekil 1. b, c).

PAS/AB pH 2.5 uygulamasında mide epitelinde orta yoğunlukta nötr ve asidik glikoproteine rastlanırken ilk, orta ve son bağırsak epitelinde az yoğunlukta reaksiyon

belirlendi. Mide goblet hücrelerinde PAS baskın ve yoğun olmakla birlikte kombinasyon orta derecede AB pH 2.5 ise az derece gözlenmiştir. Son bağırsağa doğru PAS baskınlığının azaldığı ve yerini kombinasyona bıraktığı nötr ve asidik glikoproteinlerin arttığı saptanmıştır (Şekil 1. d, f).

Sülfatlı asidik glikoproteinleri belirleyen AF uygulamasından sonra mide, ilk ve orta bağırsakta hem epitelinde hem de mukozasında hiçbir reaksiyon gözlenmedi. Son bağırsakta hem epitelinde hem de goblet hücrelerinde az da olsa sülfatlı asidik glikoproteine rastlanmıştır.

Güçlü asidik bileşenli mukosubstanslar için uygulanan AF/AB pH 2.5 kombinasyonuna mide epitel ve mukozasında ayrıca son bağırsak epitel ve goblet hücrelerinde orta yoğunlukta rastlanırken ilk bağırsak ve orta bağırsak mukoza ve epitelinde az derecede rastlanmıştır.

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

Tablo 2. Tahta balığının histokimyasal reaksiyonları

Table 2. Histochemical reactions of white bream fish

Tahta Yöntem	Mide				İlk Bağırsak				Orta Bağırsak				Son Bağırsak			
	Epitel Yüzevi	Goblet Hücresi		Epitel Yüzevi	Goblet Hücresi		Epitel Yüzevi	Goblet Hücresi		Epitel Yüzevi	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	++	-	+	-	-	+	+	+	++	-	-				
AB Ph 2.5	AB	++	+	+	+	+	+	+	+	++	++	++				
	KOMB	++	-	+	-	-	+	+	+	++	-	-				

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

TARTIŞMA ve SONUÇ

Histokimyasal metodlar kullanılarak yapılan çalışmalar sonucu bağırsak epitelinde birçok goblet hücrelerinin dağılımı olarak bulunduğu tespit edilmiştir. Balıklarda deri ve bağırsak mukoza tabakasında tanımlanan çeşitli koruyucu proteinler ve fonksiyonları aksine bunları oluşturan "musin" olarak adlandırılan moleküller hakkında bilginin çok az olduğu bildirilmiştir (Neuhaus 2007). Farklı miktarlarda belirlenen nötr, asidik ve sülfatlı glikoproteinlerin, farklı yoğunlukta boyanmalar gösterdiği belirtilmiştir. Asidik ve sülfatlı glikoproteinlerin bakteriyel adezyonları engellediği glikoproteinlerin proteaz enziminin dejenerasyonundan koruduğu ve goblet hücrelerinin birçok musin ile birlikte genellikle parazitli balıklarda görüldüğü rapor edilmiştir (Bosi ve ark. 2005).

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

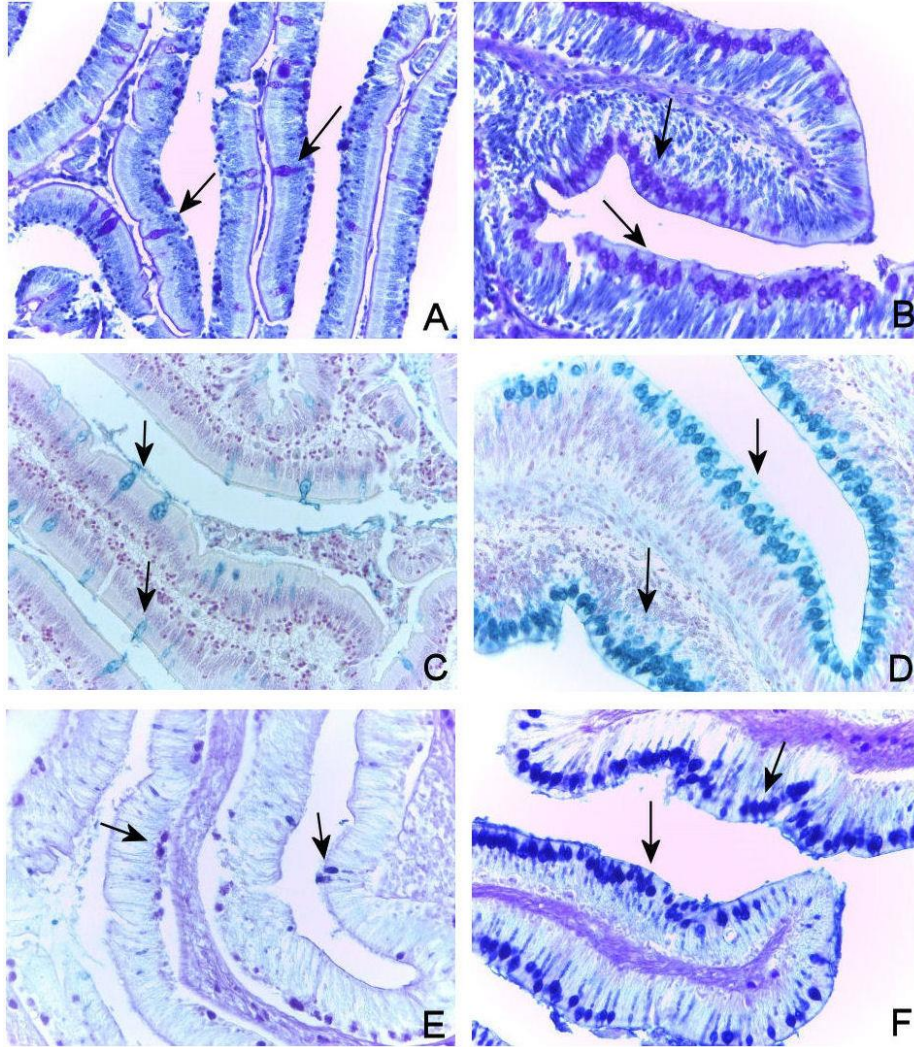
2013). Mide mukozasının tek katlı prizmatik epitel hücreleri ile çevrelenmiş olduğu ve bu hücrelerin çekirdeklerinin oval olup hücre bazalında bulunduğunu, prizmatik hücreler arasında goblet hücrelerine rastlanmadığını belirtilmiştir. Ayrıca basit tubular bezlerin kripta boşluklarına açıldığını öne sürülmüştür (Khojasteh ve ark. 2013).

Histokimyasal çalışmalara göre teleostlardaki sindirim kanalı mukus hücrelerinin yerleşimleri besin, vücut ağırlığı ve cinsiyet farklılıklarına göre sindirim kanalının her bir bölümünde ve türden türe belirgin bir şekilde değişiklik göstermektedir. Ayrıca gastrointestinal sistemin histolojik yapısının beslenme alışkanlığıyla ilişkilidir. (Raji ve Norouzi 2010; Leknes 2013). Goblet hücrelerinin kayganlaştırma, fiziksel etkilerden ve parazit, patojenik bakterilere karşı koruma, gastrik yaralanmalara karşı koruma, iyonik ve ozmotik dengeyi düzenleme, sindirim ve absorpsiyon gibi görevleri olduğu bildirilmiştir (Leknes 2013).

Oncorhynchus mykiss (Gökkuşluğu alabalığı) türünde yapılan histokimyasal uygulamalarda goblet hücre

yoğunluğunun son bağırsağa doğru artış gösterdiği fakat içerik açısından önemli bir farklılık göstermediği bildirilmiştir. Goblet hücrelerinin nötral ve asidik içerikli olduğu belirlenmiştir (Banan- Khojasteh ve ark. 2009). Yapılan çalışmada da asidik (AB pH 2.5 pozitif) ve nötral

(PAS pozitif) içerikli mukosubstansların yoğunlukta olduğu gözlemlendi. Tahta balığında özellikle mide ve son bağırsak epitel ve goblet hücrelerinde oldukça güçlü reaksiyon saptandı. İlk ve orta bağırsakta ise reaksiyonun zayıf kaldığı tespit edildi.



Şekil 1. A) Mide PAS pozitif reaksiyon, X 400; B) Son bağırsak PAS pozitif reaksiyon, X 400; C) Mide AB pH 2.5 pozitif reaksiyon, X 400; D) Son bağırsak AB pH 2.5 pozitif reaksiyon, X 400; E) Mide PAS ve PAS/AB kombinasyonu pozitif reaksiyon, X 400; F) Son bağırsak PAS/AB kombinasyonu pozitif reaksiyonu, X 400.

Figure 1. A) PAS positive reaction in stomach, X 400; B) PAS positive reaction in posterior intestine, X 400; C) AB pH 2.5 positive reaction in stomach, X 400 D) AB pH 2.5 positive reaction in posterior intestine, E) PAS and PAS/AB combination cells positive reaction in stomach, X 400 F) PAS/AB combination cells positive reaction in posterior intestine, X 400.

Halobatrachus didactylus türünde yapılan araştırmalara göre mide epitel yüzey hücrelerinde PAS uygulamasında kuvvetli reaksiyon gözlenirken AB pH 2.5 uygulamasında ise reaksiyonun zayıf kaldığı belirtilmiştir (Desantis ve ark. 2009). Yapılan araştırmada *Halobatrachus didactylus* türünde elde edilen sonuçlarla benzerlik saptanmıştır.

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 tahta bağırsak örneklerinde ise kombinasyonda son bağırsağa

doğru artış belirlendi. AB pH 2.5 tüm bağırsakta zayıf kalırken PAS orta derecede 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 tahta mide ve bağırsak bölümlerinin hem de mukozasında çok zayıf reaksiyon görüldü.

Park ve ark. (2003) tarafından AF ve AF/AB pH 2.5 uygulamalarında *Misgurnus anguillicaudatus*

bağırsaklarında orta derecede reaksiyon oluştuğu belirtilirken bu çalışmada AF uygulaması sonucu ilk bağırsak ve orta bağırsakta hiç reaksiyon gözlenmedi. Son bağırsakta ise çok az miktarda sülfatlı mukosubstanslara rastlandı.

Cyprinus carpio (Sazan balığı)'nın 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 azalış gösterdiği bildirilmiştir (Neuhaus 2007). Yapılan çalışmada tahta balığı bağırsağında PAS ve AB pH 2.5 reaksiyonlarının zayıf kaldığı tespit edildi. Kombinasyon uygulamasında ise son bağırsağa doğru reaksiyonda bir artış saptandı.

Yapılan histokimyasal incelemeler sonucunda tahta (*Blicca bjoerkna*) balığının sindirim kanalının tüm bölümlerinde PAS pozitif hücrelerin diğer histokimyasal uygulamalara göre daha yoğun olduğu tespit edildi.

KAYNAKLAR

- 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, Küçükçakara R, Balık İ, Çubuk H, Ceylan M, Erol K G, Yeğen V, Bulut C (2013).** Uluabat (Apolonynt) Gölü'ndeki Balık Faunasının Tespiti, Tür Kompozisyonu ve Ticari Avcılığın Türlerine Göre Dağılımı. *J Fish Sci*, 7(4), 309-316.
- Çınar Ş, Küçükçakara 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, Deflorio M, Fernandez JLP, Sarasquete C, De Metrio 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 and 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 ML, 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 App Ichthy*, 19, 215-219.
- Raji AR, Norouzi E (2010).** Histological and Histochemical Study on the Alimentary Canal in Walking Catfish (*Claris Batrachus*) and Piranha (*Serrasalmus nattereri*). *Iranian J Res, Shiraz Univ*, 11(3), 255-261
- Selver MM, Aydoğdu A, Çırak VY (2010).** Kocadere Deresi (Bursa)'ndeki Tahta Balıkları (*Blicca bjoerkna* L. 1758)'nın Helminth Parazitleri. *T Parazitol Derg*, 34 (2), 118-121.