

## Sazan Balığı (*Cyprinus carpio*) Yüzgeçlerindeki Bazı Hücrelerin Glikokonjugat İçerikleri

Kenan ÇINAR<sup>1</sup>

Seval TÜRK<sup>1</sup>

Öznur ÖNAL<sup>1</sup>

Geliş Tarihi: 22.05.2013

Kabul Tarihi: 05.08.2013

**Özet:** Bu çalışmada Sazan balığı (*Cyprinus carpio*) yüzgeçlerindeki (dorsal, pektoral, pelvik, anal ve kaudal) mukus, club, granular, yüzey epitel hücrelerin glikokonjugat içeriklerinin belirlenmesi amaçlandı. Dokular %10'luk formaldehit solüsyonunda iki gece tespit edildi. dokular rutin histolojik takipten geçirilerek parafinde bloklandı. Parafin bloklardan 6–7µm kalınlığında alınan kesitlere genel histolojik yapının belirlenmesi için Hematoksilen-Eosin ve glikokonjugat özelliklerinin belirlenmesi için histokimyasal boyama yöntemleri uygulandı. Gözlenen sonuçlar club hücrelerin pelvik, pektoral, anal ve dorsal yüzgeçlerde sadece asidik glikokonjugat içerdiği, kaudal yüzgeçte ise herhangi bir boyama yöntemine karşı reaksiyon göstermediği tespit edildi. Granular hücrelerin de bütün yüzgeçlerde genellikle nötral glikokonjugat içerdiği belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Sazan, Yüzgeç, Glikokonjugat.

### The Glycoconjugate Contents of Some Cells in Fins of Carp (*Cyprinus carpio*)

**Abstract:** This study was aimed to determined glycoconjugate contents of mucus, club, granular and epithelial surface cells in the fin (dorsal, pectoral, pelvic, anal and caudal) of carp (*Cyprinus carpio*). The samples were fixed in 10% formaldehyde solution for two nights. The samples which were excised and processed with routine histologic tissue methods were blocked in paraffin.

Paraffin blocks were applied histochemical staining methods for determining the properties glycoconjugate and hematoxylin-eosin for histological determination of the overall structure were taken from 6–7µm thick sections. The observed results, club cells were detected that include only asidic glycoconjugate in pelvic, pectoral, anal and dorsal fins, as for not include this glycoconjugate in caudal fin. Also, granular cells were determined that include generally neutral glycoconjugate all of fin.

**Key Words:** Carp, Fin, Glycoconjugate.

---

<sup>1</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü/ISPARTA, svlturk@gmail.com

## Giriş

Yüzgeçler balığın yüzme, denge sağlama ve yön değiştirme fonksiyonlarında görevli organlardır<sup>1,2</sup>. Balıklarda çift (pektoral ve pelvik) ve tek ya da medyan (dorsal, anal ve kaudal) yüzgeçler bulunmaktadır. Yüzgeçler iki katlı bir deri kıvrımıyla onu destekleyen öğelerden oluşmaktadır. Balık derisi epidermisindeki epitelyal, goblet, clavate, club, granular gibi hücreler yüzgeçlerde de tespit edilmiştir<sup>1-4</sup>. Balık epidermisinde bulunan epitel ve club hücreleri korumada görevlidir. Multifonksiyonel olan club hücreleri bazı balıklarda epidermal salgı hücreleri karakterindedir. Bu hücreler, toksik kimyasallar, aminler, anti-patojenik ajanlar, toksinler ve spesifik faktörlere yanıt olarak salınan feromonları üretirler. Mukus hücreleri gibi patolojik ve adaptasyon durumlarında bu hücrelerin sayısal olarak değişebildiği bildirilmiştir<sup>5</sup>. Bu çalışmada ise bütün yüzgeçlerde club hücrelerin bulunduğu ve salgısının asidik karakterde olduğu tespit edildi.

Epidermis hücreleri arasında bulunan balon, tüp ya da şişe biçiminde olabilen mukus hücreleri ise balığın dış yüzey epitelini kaplayan ve suda kolay hareket etmesini sağlayan mukus salgılamaktadırlar<sup>6-8</sup>.

Mukus lubrikasyon, patojen mikroorganizmalara karşı vücudu korumada ve bazı ağır metal tuzlarını tutarak dışarı atmada fiziksel rol oynar<sup>8-10</sup>. Ayrıca bazı balıklarda mukus örtü klorun geçişini geciktirerek osmoregulasyon görevi de yapmaktadır<sup>8,10</sup>.

Bu çalışmada Sazan balığı (*Cyprinus carpio*) yüzgeçlerine ait epitellerdeki (dorsal, pektoral, pelvik, anal ve kaudal) mukus, club, granular ve yüzey epitel hücrelerin glikokonjugat içeriklerinin belirlenmesi amaçlandı.

## Materyal ve Metot

Bu çalışmada, Kovada Gölü'nden temin edilen 10 adet erişkin *Cyprinus carpio* türüne ait yüzgeçler (pelvik, pektoral, dorsal, anal ve kaudal) materyal olarak kullanıldı. Alınan örnekler 24 saat süreyle %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Yıkama işleminden sonra rutin histolojik doku takibi işleminden geçirilen örnekler parafinde bloklandı. Parafin bloklardan 6–7µm kalınlığında alınan kesitlere genel histolojik yapının belirlenmesi için Hematoksilen-Eosin<sup>11</sup> boyama yöntemi uygulandı. Çalışılan bölgelerin glikokonjugat özelliklerinin belir-

lenmesi için de aşağıda belirtilen boyama yöntemleri kullanıldı:

1. Nötral glikokonjugatların belirlenmesinde Periyodik asit-Shiff (PAS) metodu<sup>12</sup>;
2. Asidik glikokonjugatların belirlenmesinde Alsiyan Blue (AB) pH 2.5 metodu<sup>13</sup>;
3. Nötral ve asidik glikokonjugat kompozisyonunun karşılaştırılmasında PAS/AB pH 2.5 metodu<sup>14</sup>;
4. Güçlü sülfatlı glikokonjugatların belirlenmesinde AB pH 0.5 metodu<sup>13</sup>;
5. O- sülfat esterli glikokonjugatların belirlenmesinde AB pH 1.0 metodu<sup>13</sup>;
6. Sülfatlı asidik glikokonjugatların belirlenmesinde Aldehit Fuksin (AF) metodu<sup>15</sup>;
7. Sülfatlı ve asidik glikokonjugat kompozisyonunun karşılaştırılmasında AF/AB pH 2.5 metodu<sup>16</sup>

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

## Bulgular

Kirlilik derecesinin tayini için balık örneklerinin toplandığı bölgeden alınan su örneklerinin analiz sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

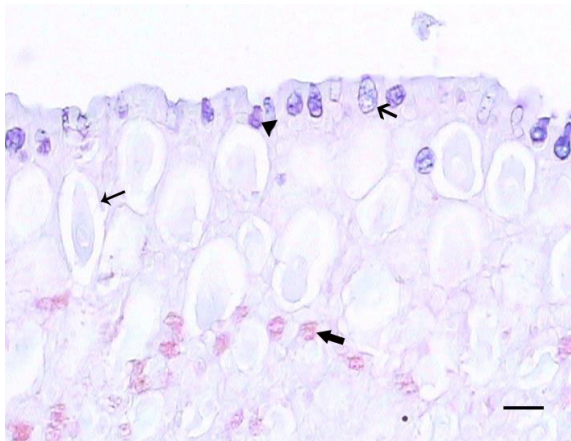
Uygulanan histokimyasal boyamalar sonucunda yüzgeçlerdeki club ve yüzey hücrelerin nötral glikokonjugatı içermediği belirlendi. Yüzgeçlerdeki mukus hücrelerin AB pH 2.5 uygulamasına karşı güçlü reaksiyon gösterdiği tespit edildi. AF uygulamasının yüzgeçlerin club ve granüllü hücrelerinde reaksiyona rastlanmadı. Yüzgeçlerdeki mukus hücrelerin hem asidik hemde nötral, club hücrelerin sadece asidik, granüllü hücrelerin sadece nötral, yüzey hücrelerinde ise bazı hücrelerin asidik, bazılarının nötral glikokonjugatı içerdiği belirlendi (Şekil 1-3). AF/AB pH 2.5 uygulamasında yüzgeçlerdeki çoğu hücrenin asidik glikokonjugat içerdiği, sadece kaudal yüzgeçteki mukus hücrelerinde sülfatlı glikokonjugatın baskın olduğu belirlendi (Şekil 4).

Balıkların yüzgeçlerindeki hücrelerin reaksiyon şiddeti Tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 1. Alınan su numunelerine ait analiz sonuçları**

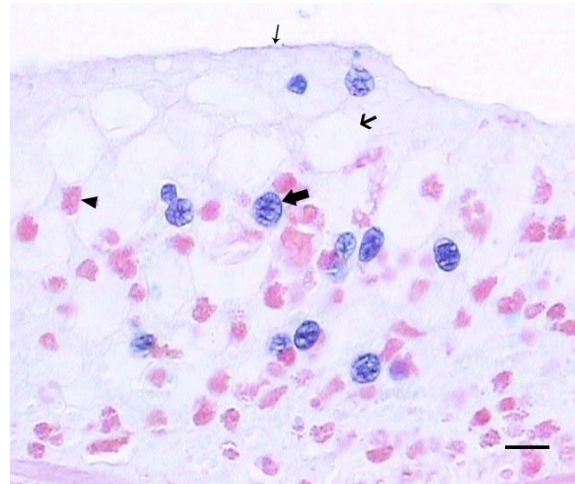
**Table 1. The results of analysis of water samples taken**

SİMGE	BİRİM	PARAMETRELER	KOVADA GÖLÜ
T	°C	Sıcaklık	22
pH	/N	/N	7,9
EC	Mohm/cm	Elektriksel İletkenlik	37,4
TDS	mg/l	Toplam çözünen madde	228
SS	mg/l	Askıdaki katılar	3
Turb	NTU	Bulanıklık	4
Col	Pt-Co	Renk	5
Cl	mg/l	Klorür	8,86
NH <sub>3</sub> -N	mg/l	Amonyum Azotu	0,013
NO <sub>2</sub> -N	mg/l	Nitrit azotu	0,009
NO <sub>3</sub> -N	mg/l	Nitrat azotu	0,19
DO	mg O <sub>2</sub> /l	Çözülmüş oksijen	9,0
BOD <sub>5</sub>	mg/l	Biyokimyasal oksijen ihtiyacı	6,0
TH	mg/l	Toplam Sertlik	186,5
o-PO <sub>4</sub>	mg/l	Orta-Fosfat	0,00
SO <sub>4</sub>	mg/l	Sülfat	10,2
Na	mg/l	Sodyum	10
K	mg/l	Potasyum	2,6
Ca	mg/l	Kalsiyum	48,90
Mg	mg/l	Magnezyum	18,79
COD	mg/l	Kimyasal Oksijen İhtiyacı	6,2
TKN	mg/l	Toplam Kjeldahl Azotu	0,6
Top.P	mg/l	Toplam Fosfor	0,05
Top.N	mg/l	Toplam Azot	1,02



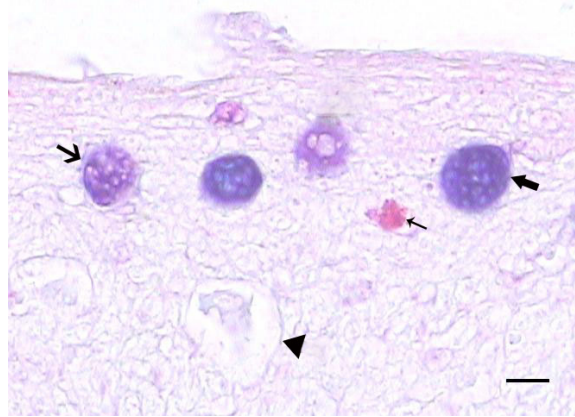
**Şekil 1. Pektoral yüzgeç. PAS/AB pH 2.5 metodu. AB (+) mukus hücresi (geniş ok); her iki glikokonjugatı da içeren mukus hücresi (okbaşı); AB (+) club hücre (ince ok); PAS (+) granular hücre (kalın ok). Bar: 50 µm.**

**Figure 1. Pectoral fin. PAS/AB pH 2.5 method. AB (+) mucus cell (wide arrow); mucus cell, including both glycoconjugate (arrowhead); AB (+) club cell (thin arrow); PAS (+) granular cell (thick cell). Bar: 50 µm.**



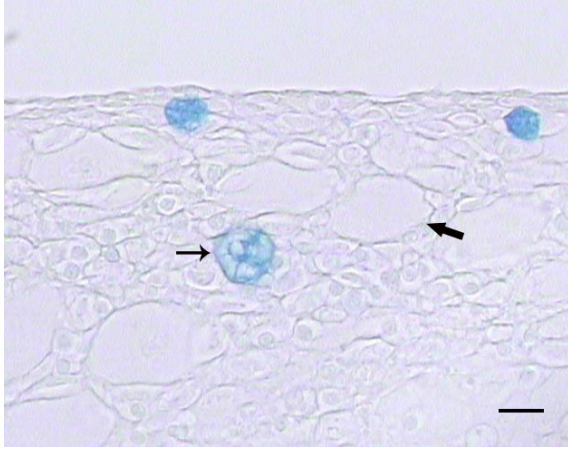
**Şekil 2. Anal yüzgeç. PAS/AB pH 2.5. Her iki glikokonjugatı da içeren mukus hücre (kalın ok); PAS/AB pH 2.5 (-) club hücre (geniş ok); PAS (+) Granular hücre (okbaşı); AB (+) yüzey epitel hücre (ince ok). Bar: 50 µm.**

**Figure 2. Anal fin. PAS/AB pH 2.5. Mucus cell, including both glycoconjugate (thick arrow); PAS/AB pH 2.5 (-) club cell (wide arrow); PAS (+) Granular cell (arrowhead); AB (+) epithelial surface cell (thin arrow). Bar: 50 µm.**



**Şekil 3. Kaudal yüzgeç. PAS/AB pH 2.5 metodu. PAS/AB pH 2.5 (-) Club hücre (okbaşı); AB baskın (+) mukus hücre (kalın ok); her iki glikokonjugatı da içeren mukus hücresi (geniş ok); PAS (+) granular hücre (ince ok). Bar: 50 µm.**

**Figure 3. Caudal fin. PAS/AB pH 2.5 method. PAS/AB pH 2.5 (-) Club cell (arrowhead); AB dominant (+) mucus cell (thick arrow); Mucus cell, including both glycoconjugate (wide arrow); PAS (+) granular cell (thin arrow). Bar: 50 µm.**



**Şekil 4.** Anal yüzgeç. AF/AB pH 2.5. AB (+) mukus hücre (ince ok); AF/AB pH 2.5 (-) club hücre (kalın ok). Bar: 50  $\mu$ m.

**Figure 4.** Anal fin. AF/AB pH 2.5. AB (+) mucous cell (thin arrow); AF/AB pH 2.5 (-) club cell (thick arrow). Bar: 50  $\mu$ m

kus hücrelerin ise güçlü PAS reaksiyonu gösterdiği bildirilmektedir. *Carassius auratus* ve *Brachydanio rerio*<sup>19</sup> türlerinin de kaudal yüzgeçlerindeki mukus hücrelerin güçlü reaksiyonu bildirilmiştir. Bu çalışmada ise pektoral ve kaudal yüzgeçteki mukus hücrelerinde orta, diğer yüzgeçlerdeki mukus hücrelerinde ise güçlü PAS reaksiyonu saptandı.

PAS/AB pH 2.5 uygulaması sonucunda çalışmamızdaki bulgularla benzer olarak *Tinca tinca* türünün bütün yüzgeçlerindeki bazı mukus hücrelerin her iki glikokonjugatıda eşit miktarda içerdiği, bazılarında ise sadece asidik glikokonjugatın saptandığı belirtilmektedir<sup>18</sup>.

Farklı yoğunluklarda formaline maruz bırakılan *Oncorhynchus mykiss* derisindeki mukus hücrelerin hem sayısal olarak hem de içeriğinin değiştiği bildirilmektedir (Buchmann vd., 2004). Aynı araştırmacılar<sup>20</sup> düşük konsantrasyonlardaki formalinin deride AB (+) mukus hücrelerinin sayısını arttırdığını tespit etmişler-

**Tablo 2. Yüzgeçlerdeki farklı hücrelerin reaksiyon şiddetleri**

**Table 2. The severity of the reaction of different cells in fins**

Yöntemler	Reaksiyon Şiddeti																			
	Pelvik Yüzgeç				Pektoral Yüzgeç				Dorsal Yüzgeç				Anal Yüzgeç				Kaudal Yüzgeç			
	M	C	G	Y	M	C	G	Y	M	C	G	Y	M	C	G	Y	M	C	G	Y
PAS	4	0	4	0	2-3	0	4	0	3-4	0	4	2-3	4	0	4	0	2-3	0	4	0
AB pH 2.5	4	2-3	2	4	3-4	2	0	0	3-4	2	2	2	4	0-1	0	3	3-4	0	0	0
AB pH 2.5 / PAS	K AB	AB	PAS	AB	AB* K	AB	PAS	0	AB* K	AB	PAS*	PAS AB	K	AB 0	PAS	AB	K AB*	0	PAS	0
AB pH 1.0	0-2	0	0	3	3	3	1	3	3	0	0	0	3	0	3	0	3-5	0	0	0
AB pH 0.5	2	0	2	0	2-3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0-2	2-4	0	0	2-3
AF	2	0	0	2	0-1	0	0	0	2-3	0	0	0	2	0	0	0	3-5	0	0	0
AF/AB pH 2.5	AB	AB	0	AB	AB	AB	0	0	AB* AB	AB	AB	AB	AB*	AB	0	AB	K AF*	0	0	0

## Tartışma ve Sonuç

*Gymnodraco acuticeps*<sup>17</sup> türünün pektoral ve kaudal yüzgeçlerindeki mukus hücrelerinde PAS (+) materyalin varlığı bildirilmiştir. *Tinca tinca*<sup>18</sup> pelvik, anal ve dorsal yüzgeçlerdeki mukus hücrelerin orta, pektoral yüzgeçteki mu-

dir. Bu çalışmada da yüzgeçlerdeki mukus hücrelerin ağırlıklı olarak asidik glikokonjugatı içerdiği tespit edildi.

*Carassius auratus* ve *Brachydanio rerio*<sup>19</sup> türlerinin kaudal yüzgeçlerindeki mukus hücrelerinin sülfatlı asidik glikokonjugat içerdiği bildirilmiştir. Bu çalışmada ise kaudal yüzgeç-

teki mukus hücrelerinde bu glikokonjugatın ortadan çok güçlüye doğru çeşitlilik gösterdiği tespit edildi.

*Tinca tinca* türünün dorsal yüzgecindeki mukus hücrelerin AB pH 0.5 ve 1.0 uygulamalarına karşı orta, pektoral, pelvik ve anal yüzgeçlerdeki mukus hücrelerinin ise güçlü reaksiyon verdiği bildirilmektedir<sup>18</sup>. Bu çalışmada ise bütün yüzgeçlerdeki bazı mukus hücrelerinde orta yoğunlukta AB pH 0.5 (+) ve 1.0 (+) reaksiyon tespit edildi. Aynı araştırmacılar<sup>18</sup> pelvik ve anal yüzgeçteki mukus hücrelerin güçlü sülfatlı glikokonjugat içerdiklerini, dorsal ve pektoral yüzgeçlerdeki mukus hücrelerinde ise orta yoğunlukta bulduklarını belirtmektedirler. Bu çalışmada ise bütün yüzgeçlerde dorsal, pelvik, pektoral ve anal yüzgeçlerinin mukus hücrelerinde az, kaudal yüzgeç mukus hücrelerinde ise orta yoğunluktan çok güçlüye reaksiyon gösterdiği belirlendi.

Sonuç olarak, sazan balığı yüzgeçlerindeki çalışılan hücrelerin glikokonjugat içeriklerinin farklılık göstermesi, yaşadığı ortamın çevresel kirleticilerden (deterjanlar, ağır metaller, organik lipofilik kirleticiler vb.) etkilenebileceği kanısındayız.

## Kaynaklar

- Demir, N. 2006. İhtiyoloji (Karataş, M.). Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, pp. 195-204.
- Bat, L., Erdem, Y., Ustaoglu Tırıl, S., Yardım, Ö., 2008. Balık Sistematigi. Balıkta deri. Nobel Yayın Dağıtım. Ankara, pp. 26-27.
- Whitear, M., 1986. The skin of fishes including cyclostomes. In "Biology of the integument. Vol. 2 Vertebrates" (J. Bereiter-Hahn, A.G. Matoltsy and K.S.Richards, eds), Springer-Verlag, Berlin, pp. 8-64.
- Buchman, K., 1998. Histochemical characteritics of Gyrodactylus derjavini parasitizing the fins of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Folia Parasitologica*, 45, 312-318.
- Zaccone, G., Kapoor, B.G., Fasulo, S., Ainis, L., 2001. Structural, Histochemical and Functional Aspects of the Epidermis of Fishes. *Advances in Marine Biology*, pp. 40.
- Zaccone, G., 1983. 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*, 78, 2, 163-175.
- Ekingen, G., 2001. Balık anatomisi. Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No: 1, Mersin, pp. 254.
- Demir, N., 2009. İhtiyoloji (Karataş, M.). 4. Baskı, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, pp. 424.
- Sarihan, E., Cengizler, İ., 2006. Temel balık anatomisi ve fizyolojisi. Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Nobel kitabevi, Adana, pp. 172.
- Timur, G., 2008. Balık anatomisi. Nobel yayınevi, Ankara, pp. 112.
- Culling, C.F.A., Reid, P.E., Dunn, W.L., 1976. A new histochemical method for the identification and visualization of both side chain acylated and non-acylated sialic acids. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 24, 1225-1230.
- McManus, J.F.A., 1948. Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology*, 23, 99-108.
- Lev, R., Spicer, S.S., 1964. Specific staining of sulphate groups with alcian blue at low pH. *Journal of Histochemical Cytochemical*, 12, 309.
- Mowry, R.W., 1956. Alcian blue techniques for the histochemical study of acidic carbohydrates. *Journal of Histochemical Cytochemical*, 4, 407-408.
- Gomari, G., 1952. Gomari's aldehyde fuchsin stain. In: *Cellular Pathology Technique* (C.F.A. Culling, R.T. Allison and W.T. Barr, eds), Butterworths, London, p. 238.
- Spicer, S.S., Mayer, D.R., 1960. Aldehyde fuchsin/Alcian blue. In: *Cellular Pathology Technique* (C.F.A. Culling, R.T. Allison and W.T. Barr, eds), Butterworths, London, pp. 233.
- Eastman, J.T., Hikida, R.S., 1991. Skin structure and vascularization in the Antarctic Notothenioid fish *Gymnodraco acuticeps*. *Journal of Morphology*, 208, 347-365.
- Kelek, S., Çınar, K., Çimenoğlu, N., 2010. Kadi fe balığı (*Tinca tinca* L. 1758)'nın bazı yüzgeçlerindeki mukus hücrelerinin histokimyasal karakterleri. *MAKUFEBED*, 2, 97-110
- Mari-Beffa, M., Santamaria, J.A., Fernandez-Liebrez, P., Becerra, J., 1996. Histochemically defined cell states during tail fin regeneration in teleost fishes, *Differentiation*, 60,3, 139-149.
- Buchmann, K., Bresciani, J., Jappe, C., 2004. Effects of formalin treatment on epithelial structure and mucous cell densities in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), skin. *Journal of Fish Diseases*, 27, 99-104.

