



Farklı Sıcaklıklara Maruz Kalan Balık Solungaç Dokularındaki Değişimlerin Histolojik Olarak İncelenmesi

Şeyma Nur AZBOY¹, Hafize BARIK¹, Kader ALKAN¹, Zehra ALKAN ÇEKİÇ^{*2}, Ahmet Regaib OĞUZ¹

¹ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 65080, Van / Türkiye

² Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 65080, Van / Türkiye

*E-mail: zhra.alkan@hotmail.com

Makale Bilgisi :

Geliş:
13/08/2024
Kabul Ediliş:
04/11/2024

Anahtar Kelimeler:

- Mukus
- Histoloji
- Sıcaklık
- Solungaç

Öz

İklim değişikliği balık metabolizmasını etkileyen çevresel faktörler üzerinde de etkiye sahiptir. Su sıcaklığı arttıkça balığın oksijen alımını, besin ve üreme gibi süreçlerde değişimlere neden olur. Balıklar içinde buldukları suların fiziksel ve kimyasal özelliklerinden etkilenmektedir. Bu değişimler davranışsal, histolojik ve moleküller düzeyde olabilmektedir. Solungaçlar su ile direkt temas halinde oldukları için kirleticiler, fizikokimyasal değişimler, parazitik ve mikrobiyal enfeksiyonlar gibi çevresel değişimlerden etkilenen ilk organlardan biridir. Bu nedenle farklı sıcaklıklara maruz bırakılan *Pseudotropheus acei* balık solungaçları histolojik olarak incelendi. Solungaç dokusunda bulunan önemli hücrelerden biri olan mukus hücrelerinin nötral, karboksilatlı, O-sülfat esterli, güçlü sülfatlı ve sülfatlanmış glikokonjugat yoğunlukları Periyodik Asit – Schiff (PAS), Alcian Blue pH 2.5, Alcian Blue pH 1.0, Alcian Blue pH 0.5 ve Aldehit Fuksin boya ile histokimyasal olarak belirlendi. Solungaç dokusunda sıcaklık artışına bağlı olarak lamellar ayrılma, nekroz ve hiperplazi gibi histopatolojik değişimler gözlemlendi. Ayrıca termal strese maruz kalan *Pseudotropheus acei* balığı solungaç dokusunda bulunan mukus hücre içerik ve yoğunluklarında farklılıklar olduğu gözlemlendi. Özellikle sıcaklık artışının ilk maruziyeti olan 29 ve 30 °C’de mukus yoğunluğu diğer gruplara göre fazlaydı. Sonuç olarak *Pseudotropheus acei* balıklarında sıcaklığın histolojik olarak anomalilere ve mukus hücre içeriğinde değişime neden olduğu gözlemlendi.

Histological Investigation of Changes in Fish Gill Tissues Exposed to Different Temperatures

Article Info

Received:
13/08/2024
Accepted:
04/11/2024

Keywords:

- Mucus
- Histology
- Temperature
- Gill

Abstract

Climate change also has an effect on environmental factors affecting fish metabolism. As water temperature increases, it causes changes in processes such as oxygen uptake, nutrition and reproduction of fish. Fish are affected by the physical and chemical properties of the water they live in. These changes can be at behavioral, histological and molecular levels. Since gills are in direct contact with water, they are one of the first organs affected by environmental changes such as pollutants, physicochemical changes, parasitic and microbial infections. Therefore, *Pseudotropheus acei* fish gills exposed to different temperatures were examined histologically. Neutral, carboxylated, O-sulfate ester, strong sulfated and sulfated glycoconjugate densities of mucus cells, one of the important cells found in gill tissue, were determined histochemically with Periodic Acid-Schiff (PAS), Alcian Blue pH 2.5, Alcian Blue pH 1.0, Alcian Blue pH 0.5 and Aldehyde Fuchsin stains. Histopathological changes such as lamellar separation, necrosis and hyperplasia were observed in the gill tissue due to the increase in temperature. In addition, differences were observed in the mucus cell content and density in the gill tissue of *Pseudotropheus acei* fish exposed to thermal stress. Especially at the first exposure to the temperature increase of 29 and 30 °C, the mucus density was higher than the other groups. As a result, it was observed that temperature caused histological anomalies and changes in the mucus cell content in *Pseudotropheus acei* fish.

Atf bilgisi: Azboy, Ş. N., Barik, H., Alkan, K. & Alkan Çekiç, Z. (2024). Farklı Sıcaklıklara Maruz Kalan Balık Solungaç Dokularındaki Değişimlerin Histolojik Olarak İncelenmesi Menba Journal of Fisheries Faculty, 10 (3), 47-57. DOI: 10.58626/menba.1513525.

GİRİŞ

İklim değişikliğinin balık popülasyonları üzerindeki etkisini net olarak ortaya koymak oldukça zordur. İklim değişikliği balık metabolizmasını etkileyen çevresel faktörler üzerinde de etkiye sahiptir. Balıklar içinde buldukları suların fizikokimyasal özelliklerinden etkilenmektedir (Mitra ve ark., 2013). Akvatik ortamlardaki düşük ve yüksek ortam sıcaklıkları balık sağlığına zarar verebilir, büyümeyi geciktirebilir ve hatta ölüme neden olabilir (Volkof ve Rønnestad, 2020). Ayrıca su sıcaklığı değiştikçe suda yaşayan mikroorganizmaların sayısı ve çeşitliliğinde de artışlar olabilmektedir. Bu artan mikroorganizmalara karşı savunma süreci boyunca balık dokularında hasarlar meydana gelmekte hatta balık için ölümler sonuçlanmaktadır (Ibáñez ve ark., 2023). Bu değişim süreci boyunca balıkta hem fiziksel hem de moleküler düzeyde değişimler meydana gelmektedir. Solungaçlar su ile direkt temas halinde oldukları için kirleticiler, fiziko-kimyasal değişimler, parazitik ve mikrobiyal enfeksiyonlar gibi çevresel değişimlerden etkilenen ilk organlardan biridir. Bu nedenle balıklarda solungaçlar, çevresel farklılıkların belirlenmesinde biyoindikatör dokular olarak kullanılır (Strzyzewska ve ark., 2016; Carvalho ve ark., 2020; Menon ve ark., 2023).

Balıklarda solungaçların osmoregülasyon, pH düzenlenmesi, azotlu atıkların dışarı atılması, iyon düzenlenmesi gibi pek çok görevleri vardır (Henry ve ark., 2012; Evans ve ark., 2005; Su ve ark., 2020). Solungaçlar iyonositler, mukus ve pavament hücreler gibi farklı hayati görevleri olan pek çok hücreden oluşur (Wilson ve Laurent, 2002). Mukus hücrelerinden salgılanan mukus, patojen mikroorganizmalara karşı fiziksel bir bariyer oluşturmasının yanı sıra lubrikasyon, solunum, iyon regülasyonu, difüzyon ve bağışıklık sisteminde de rol oynar (Lai ve ark., 2009; Gustafsson ve Johansson, 2022).

Mukusun en önemli bileşeni viskoz ve elstatik jel benzeri özelliklerinde rol oynayan glikoprotein mäsindir (Sheng ve Hasnain, 2022). Salgılanan mukusun kimyasal içeriği farklılık gösterebilmektedir. Bu içerikler nötral glikokonjugatlar, asidik glikokonjugatlar ve bazik glikokonjugatlar olarak sınıflandırılabilir (Meyer ve Tsukise, 1989). Farklı içeriğe sahip mukusun balıklardaki görevleri de farklılık göstermektedir. Bu nedenle aynı balık türünde farklı mukus hücre tipleri bulunmaktadır (Reverter ve ark., 2018).

Salgılanan mukus içeriği ve hücre sayısı endojen ve ekzojen faktörlere bağlı olarak değişim gösterebilmektedir (Marriott ve Gregory, 1990). Solungaç epitelinde bulunan mukus salgılayan hücreler endojen olarak cinsiyet ve gelişim, ekzojen olarak da pH, tuzluluk, sıcaklık, yüksek amonyak konsantrasyonu ve ağır metaller gibi farklı ortam şartlarında değişiklik gösterebilir. İklim değişikliğinin de balık solungaç dokusunda bulunan mukus hücreleri üzerine etkili olduğu düşünülmektedir (Foyle ve ark., 2020; Santoso ve ark., 2020). Küresel ısınmanın bir sonucu olarak su sıcaklığındaki artış, balıklar da dahil olmak üzere suda yaşayan organizmaların dağılımını ve hayatta kalmasını etkiler. Sıcaklık, balıkların tüm biyokimyasal, fizyolojik ve yaşam faaliyetlerini etkileyebilmektedir (Alfonso ve ark., 2021; Amir ve ark., 2022). Bu çalışmamızda da *Pseudotropheus acei* balığının farklı sıcaklıklara sahip ortamlara maruz bırakılarak sıcaklığın solungaç histolojisi ve mukus hücreleri üzerine etkileri incelemeyi amaçlamıştır.

MATERYAL VE METOD

Balıklar ile ilgili tüm prosedürler Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanan hayvan çalışma protokollerine (YUHADYEK 2023/05-35) uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Deneyel Çalışma

Çalışmada akvaryum balıkçılığında yoğun olarak tercih edilen üreme olgunluğuna sahip *Pseudotropheus acei* balığı kullanıldı. Kullanılan balıklar artan sıcaklık şartlarına maruz bırakmak için deney düzeneği kuruldu. Balıklar kontrol (25.4 °C), 29 °C, 30 °C, 31 °C, 32 °C olacak şekilde gruplandırıldı. Günlük besleme Tetra discus granule yem ile günde iki kez olarak toplam vücut ağırlığının %4 ü olarak verildi. Fotoperiyodu 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olarak düzenlendi. Deney süreci tamamlandıktan sonra balıklar Fenoksi etanol (0,2 mL/l) ile anestezi edilerek solungaç dokuları histolojik çalışmalar için Bouin fiksatif içeriğine alındı. Dokular fiksatif içeriğinde 24 saat bekletildi. Solungaç dokuları, aşağıdaki prosedür kullanılarak paraffin bloklar içeriğine gömüldü.

Histoloji

Dokular 24 saat boyunca oda sıcaklığında fiksatiflerde tutuldu ve daha sonra %70'lik etil alkole aktarıldı. Numuneler artan etil alkol konsantrasyonlarından (%70, %80, %90, %95 ve %100) geçirildikten sonra, ksilol içeriğine alındı ve parafin içine gömüldü. Daha sonra parafin bloklar içeriğine konulan dokularından bir mikrotom yardımıyla (MICROM International GmbH, Almanya) 5µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler lam üzerine alındıktan sonra taze hazırlanan Hematoksilen&Eozin, Periyodik Asit-Schiff (PAS), Alcian Blue pH 2.5, Alcian Blue pH 1.0, Alcian Blue pH 0.5, PAS/AB pH 2.5, AF/AB pH 2.5 ile boyandı (Çizelge 1). Kesitler ışık mikroskobu (Leica DMI 6000B, Almanya) ile incelendikten sonra Leica DFC 490 kamera (Leica Microsystems, Almanya) ile fotoğrafları çekildi. Mukus hücrelerindeki değişim semikantitatif olarak değerlendirildi.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Deneyel çalışma sonucunda farklı sıcaklıklara maruz bırakılan *Pseudotropheus acei* balığının maksimum 32 °C'ye kadar adapte olduğu belirlendi. Rutin histolojik boyamalar sonucunda *Pseudotropheus acei* balığı solungaç dokusunun diğer teleost balıklara benzer olduğu görüldü. Solungaç dokusunun primer ve sekonder lamellerden oluştuğu gözlemlendi. Bu yapılar üzerinde pavament, iyonosit, mucus ve eritrosit hücreleri yoğun olarak gözlemlendi. Ayrıca artan sıcaklığa bağlı olarak solungaç dokusunda bir takım histopatolojik hasarlar tespit edildi. Bu hasarlar nekroz, lamellar ayrılma, solungaç atrofisi, kanama ve hiperplasya olarak tanımlandı (Şekil 1). Periyodik Asit/Schiff boyaması sonucunda *Pseudotropheus acei* balığı solungaç dokusunda nötral

glikokonjugat içeren mukus hücre dağılımının yoğun olarak primer lamellerde olduğu görüldü. Pseudotropheus acei balığı kontrol gruplarında nötral glikokonjugat içeren mukus hücrelerin diğer gruplarla kıyaslandığında az sayıda olduğu belirlendi. Mukus hücre sayılarının 32 °C'de daha yüksek olduğu görüldü. Sıcaklık artışıyla beraber balık solungaç dokularında mukus içeren hücre yoğunluğunda ve sayılarında artış olduğu tespit edildi (Şekil 2). Karboksillenmiş glikokonjugat içeren mukus hücrelerin işaretlenmesi için Alcian Blue pH 2.5 boyama yöntemi kullanıldı. Yapılan histolojik boyama sonucunda Pseudotropheus acei balığı solungaç dokusunda asidik glikokonjugatların genel olarak pozitif reaksiyon verdiği görüldü. İşaretlenen mukus hücrelerinin genel olarak solungaç primer lamellerde konumlandığı gözlemlendi. Mukus hücre yoğunluğunun semikantitatif olarak 31 ve 32 °C grubu balık solungaçlarında ve lamellar yapının uç kısımlarında daha fazla olduğu görüldü (Şekil 3). O-sülfat esterli glikokonjugatları içeren mukus hücrelerinin belirlemek için Alcian Blue pH 1.0 boyası kullanıldı. Kontrol ve deney gruplarının tamamında pozitif işaretlenmenin olduğu görüldü. Solungaç dokularında meydana hipeplazi sonucunda işaretlenen hücrelerin yoğun olarak primer lamellerde de olduğu gözlemlendi. Boyanma yoğunluğu açısından incelendiğinde gruplar arasında fark olduğu görüldü. Mukus hücre yoğunluğunun 31 ve 32 °C'ye maruz bırakılan balık solungaçları da daha fazla olduğu belirlendi (Şekil 4). Mukus hücrelerinde güçlü sülfatlanmış glikokonjugatları tanımlamak için Alcian Blue 0.5 pH boyası kullanıldı. Yapılan boyama sonucunda kontrol ve sıcaklığa maruz bırakılan tüm gruplarda pozitif işaretlenme olduğu görüldü. İşaretlenme yoğunluğunun sıcaklığa maruz bırakılan gruplar arasında farklılık gösterdiği belirlendi. Solungaç mukus hücre yoğunluğunun 30 ve 32 °C'ye maruz bırakılan balıklarda daha fazla olduğu tespit edildi. Ayrıca mukus içeren hücre yoğunluğunun solungaç primer lamellerinde olduğu belirlendi (Şekil 5). Nötr ve güçlü asidik glikokonjugatları karşılaştırmak için PAS/AB pH 2.5 boyaması kullanıldı. Boyama sonucunda güçlü asidik glikokonjugatların nötral glikokonjugatlara göre daha baskın olduğu görüldü. Gruplar arasında farklılıklar olduğu tespit edildi. İşaretlenmenin yoğun olarak 29 ve 32 °C' de olduğu belirlendi. Sıcaklık maruziyeti artışına bağlı olarak hücre yoğunluğunda artış olduğu belirlendi. İşaretlenen mukus hücrelerin solungaç primer lamellerde olduğu görüldü (Şekil 6). Güçlü asidik glikokonjugatları belirlemek için Aldehit Fuksin boyası kullanıldı. Yapılan boyamalar sonucunda güçlü asidik glikokonjugatları içeren mukus hücrelerin tüm gruplarda pozitif işaretlendiği belirlendi. Güçlü asidik glikokonjugatları içeren mukus hücrelerin 29 °C'ye maruz bırakılan solungaç dokusunda diğer gruplara göre işaretlenmenin daha yoğun olduğu gözlemlendi. Boyama sonucunda mukus hücrelerinin solungaç sekonder lamellerde konumlandığı belirlendi (Şekil 7). Sülfatlanmış ve karboksillenmiş glikokonjugatları karşılaştırmak için Aldehid fuksin/Alcian blue 2.5 pH boyaması kullanıldı. Yapılan boyama sonucunda karboksillenmiş glikokonjugatların sülfatlanmış glikokonjugatlara oranla daha yoğun olduğu ve genel olarak işaretlenmenin sınırlı olduğu görüldü. Kontrol grubu solungaç dokusunda işaretlenmenin sınırlı olduğu belirlendi. Ayrıca 31 °C'de işaretlenmenin olmadığı görüldü. İlk maruziyet derecesi olan 29 °C'de hücre yoğunluğunda artış olduğu semikantitatif olarak belirlendi. Solungaç dokusunda mukus hücrelerin yoğun olarak sekonder lamellerde ve sınırlı da olsa primer lamellerde işaretlendiği görüldü (Şekil 8).

Sıcaklık, balıklarda sadece üreme ve hayvan davranışında değil, aynı zamanda bağışıklık tepkisi ve bulaşıcı hastalıkların ilerlemesinde de önemli rol oynayan bir çevresel faktördür (Bly ve Clem, 1992; Bowden ve ark., 2007). Sıcaklık, tuzluluk, ağır metal konsantrasyonu ve asitlikteki değişiklikler ve çevre bileşimindeki diğer değişikliklerin yanı sıra su ortamındaki diğer fiziksel ve kimyasal değişiklikler, hassas bir organ olan balığın solungacını etkiler (Prakash ve ark., 1998; Alkan ve ark., 2023; Oğuz ve ark., 2023). Sıcaklığa maruz bırakılan balıkların solungaçlarında, branşiyal sekonder lamellerdeki epitel hücrelerinde hiperplazi, kan damarlarında tıkanıklık, pillar hücrelerinde hipertrofi, sekonder lamelleri arasında kanama ve bol miktarda mukus maddesi görüldü (Salazar-Lugo Prihatiningsih ve ark., 2016; Mohamad ve ark., 2021; Phrompanya ve ark., 2021; Islam ve ark., 2022). Ayrıca sıcaklık ve tuzluluktaki değişikliklerin tropikal resif balıklarında solungaç yapısını değiştirdiği de rapor edilmiştir (Bowden ve ark., 2014). Genel olarak, mukus hücre yoğunluğu ve mukus üretimi farklı balık türleri arasında ve farklı çevre koşullarında da değişiklik gösterir (Laurent, 1984; Subramanian ve ark., 2007; Cabillon ve Lazado, 2019). Yapılan farklı çalışmalarda, artan miktarda mukus sekresyonunun asit, tuzluluk, solungaç hastalıkları, kirleticiler, sıcaklık tarafından indüklendiği gösterilmiştir (Roberts ve Powell, 2003; Powell, 2007; Singh ve Banerjee, 2008; Phrompanya ve ark., 2021; Alkan ve ark., 2023). Ayrıca epitel yüzeyinde potansiyel olarak patojenik mikroorganizmaların çoğalmasını önleyebilir (Mittal ve ark., 1994). Hava soluyan balıklarda, sülfatlanmış glikoproteinler, atmosferik havayı almak için emersiyon karşı korumada rol almaktadır (Chandra ve Banerjee, 2004).

Balık türlerinde asidik ve nötr glikokonjugatlar, mukoza hücrelerinin ana bileşenidir. Asidik ve sülfatlanmış asit glikoproteinleri yüksek viskozite sağlar ve parçacıkların suda süspansiyona yapışmasına yardımcı olabilir (Uribe ve Sibbing, 1984). Sülfatlanmış glikokonjugatlar, mukus yapısında önemli bir rol oynar. Bu bileşenler, mukusun viskozitesini artırarak, hem sindirim sürecine hem de koruyucu kalkan işlevi görenek toksinler, bakteriler, virüsler, protozoa ve diğer ekzojen makromoleküller yakalanmasına katkıda bulunur. Asidik glikoproteinlerin artışı, mukusun koruyucu özelliklerini güçlendirir (Mitall ve ark., 1994; Domeneghini ve ark., 1998; Miyagi ve ark., 2008). Mukusun büyük kısmı su moleküllerinden oluşurken, sülfoglikokonjugatlar bu suyun hapsolmesine yardımcı olur, böylece mukusun kıvamı ve fonksiyonu korunur (Fiertak ve Kilariski, 2002). Nötr glikokonjugatlar, makromoleküllerin membranlar boyunca emiliminin ve taşınmasının rol oynar (Pedini ve ark., 2005; Sarasquete ve ark., 2001; Matheus ve ark., 2021).

Düşük sıcaklıklara maruz bırakılan Fathead minnows (*Pimephales promelas*) balığı solungaç mukus hücre sayısında azalma olduğu ifade edilmiştir (Wentworth ve ark., 2018). Isı stresine maruz bırakılan Gökkuşluğu alabalığı (*Salmo gairdneri*) solungaç epitelinde mukus üretimindeki artışla birlikte morfolojik değişiklikler meydana geldiği bildirilmiştir (Jacobs ve ark., 1981). Yüksek sıcaklığa maruz bırakılan sazan balığı (*Cyprinus carpio*) solungaç kesitlerinin histolojik incelemesi sonucu, hiperplazi, hipertrofi, kanama ve mukus artışı gibi histolojik lezyonlar gösterdiği ifade edilmiştir (Saber, 2011).

SONUÇ

Sonuç olarak *Pseudotropheus acei* balıklarının solungaç mukus hücre glikokonjugat içerikleri, ortam şartlarına göre değişim göstermektedir. Bu değişimler sıcaklık artışına bağlı farklılık göstermektedir. Bu çalışma, *Pseudotropheus acei* solungaç mukus içeriği ve yoğunluğunun farklı sıcaklıklara bağlı değişkenlik gösterdiğini açıkça ortaya koymaktadır. Bu değişimlerin farklı su ortamlarına adaptasyondan kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

CONCLUSION

In conclusion, this study has focused on determining the physicochemical properties of chitin (CT) and chitosan (CS) samples obtained from cuttlebone of *S. officinalis*, and on FTIR, XRD, and SEM analyses. The findings indicate that the extracted CT from cuttlebone is in the alpha (α) form, featuring a fine nanofiber structure with slight nano-porosity. The chitin and chitosan yields obtained from cuttlebone of *S. officinalis* were calculated as $32.1\pm 0.15\%$ and $72.6\pm 0.21\%$, respectively. The degree of deacetylation was created to be 15.80% of chitin, while the degree of deacetylation of chitosan was 84.20%. The solubility of chitosan from cuttlebone was $85.24\pm 2.55\%$. The CrI % of cuttlebone was found to be 60.13%. These biomaterials hold promising potential as alternatives in various industrial sectors such as petroleum, pharmaceuticals, medicine, textiles, and agriculture. The unique properties revealed through this study contribute to the potential applications of these marine-derived biomaterials, opening avenues for further exploration and utilization in diverse industrial areas.

ETİK STANDARTLARA UYUM

Yazarların katkıları

1. Ş. N. A: Laboratuvar çalışmasını gerçekleştirdi
2. H.B: Laboratuvar çalışmasını gerçekleştirdi
3. K.A: Laboratuvar çalışmasını gerçekleştirdi
4. Z.A: Laboratuvar çalışmasını gerçekleştirdi ve makaleyi hazırladı.
5. A.R.O: Çalışmayı tasarladı ve verileri yorumladı.

Çıkar çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan ettiler.

Hayvanların Refahına İlişkin Beyan

Çalışma protokolü YUHADYEK 2023/05-35 onay numarası ile önceden Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı.

İnsan Hakları Beyanı

Bu çalışma insan katılımcıları kapsamamaktadır.

KAYNAKLAR

- Alfonso, S., Gesto, M., & Sadoul, B. (2021). Temperature increase and its effects on fish stress physiology in the context of global warming. *Journal of Fish Biology*, 98(6), 1496-1508.
- Alkan, Z., Kaval Oğuz, E., & Oğuz, A. R. (2023). Investigation of mucus cell change in gills of van fish (*Alburnus tarichi*, *Güldenstädt*, 1814) treated with fluvalinate. *Chemistry and Ecology*, 39(8), 894-907.
- Amir, F., Muchlisin, Z. A., Nur, F. M., Fadli, N., Siti-Azizah, M. N., Wilkes, M., & Marimuthu, K. (2022). Effect of increasing water temperature on the physiology and gill histology of Barramundi, *Lates calcarifer* (Pisces, Perciformes) fingerlings. *International Aquatic Research*, 14(4), 263-273.
- Bly, J. E., & Clem, L. W. (1992). Temperature and teleost immune functions. *Fish & Shellfish Immunology*, 2(3), 159-171.
- Bowden, T. J., Thompson, K. D., Morgan, A. L., Gratacap, R. M., & Nikoskelainen, S. (2007). Seasonal variation and the immune response: a fish perspective. *Fish & Shellfish Immunology*, 22(6), 695-706.
- Bowden, A. J., Gardiner, N. M., Couturier, C. S., Stecyk, J. A. W., Nilsson, G. E., Munday, P. L., & Rummer, J. L. (2014). Alterations in gill structure in tropical reef fishes as a result of elevated temperatures. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 175, 64-71.

- Cabillon, N. A. R., & Lazado, C. C. (2019). Mucosal barrier functions of fish under changing environmental conditions. *Fishes*, 4(1), 2.
- Carvalho, T., Nascimento, A., Gonçalves, C., Santos, M., & Sales, A. (2020). Assessing the histological changes in fish gills as environmental bioindicators in Paraty and Sepetiba bays in Rio de Janeiro, Brazil. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 48(4), 590-601.
- Chandra, S., & Banerjee, T. K. (2004). Histopathological analysis of the respiratory organs of *Channa striata* subjected to air exposure. *Veterinarski Arhiv*, 74(1), 37-52.
- Domenechini, C., Straini, R. P., & Veggetti, A. (1998). Gut glycoconjugates in *Sparus aurata* L. (Pisces, Teleostei). A comparative histochemical study in larval and adult ages. *Histology and Histopathology*, 13(2), 359-372.
- Evans, D. H., Piermarini, P. M., & Choe, K. P. (2005). The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiological Reviews*, 85(1), 97-177.
- Fiertak, A., & Kilarski, W. M. (2002). Glycoconjugates of the intestinal goblet cells of four cyprinids. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 59, 1724-1733.
- Foyle, K. L., Hess, S., Powell, M. D., & Herbert, N. A. (2020). What is gill health and what is its role in marine finfish aquaculture in the face of a changing climate?. *Frontiers in Marine Science*, 7, 400.
- Gustafsson, J. K., & Johansson, M. E. (2022). The role of goblet cells and mucus in intestinal homeostasis. *Nature reviews Gastroenterology & Hepatology*, 19(12), 785-803.
- Henry, R. P., Lucu, Č., Onken, H., & Weihrauch, D. (2012). Multiple functions of the crustacean gill: osmotic/ionic regulation, acid-base balance, ammonia excretion, and bioaccumulation of toxic metals. *Frontiers in Physiology*, 3, 431.
- Ibáñez, A., Garrido-Chamorro, S., & Barreiro, C. (2023). Microorganisms and climate change: a not so invisible effect. *Microbiology Research*, 14(3), 918-947.
- Islam, M. R., Hossain, M. A., Afrose, F., Roy, N. C., & Iqbal, M. M. (2022). Effect of temperature on the growth performance, haematological properties and histomorphology of gill, intestine and liver tissues in juvenile butter catfish *Ompok bimaculatus*. *Aquaculture, Fish and Fisheries*, 2(4), 277-286.
- Jacobs, D., Esmond, E. F., Melisky, E. L., & Hocutt, C. H. (1981). Morphological changes in gill epithelia of heat-stressed rainbow trout, *Salmo gairdneri*: evidence in support of a temperature-induced surface area change hypothesis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38(1), 16-22.
- Lai, S. K., Wang, Y. Y., Wirtz, D., & Hanes, J. (2009). Micro-and macrorheology of mucus. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61(2), 86-100.
- Laurent, P. (1984). Internal morphology of the gill. *Fish Physiology*, 10, 73-183.
- Marriott, C., & Gregory, N. P. (1990). Mucus physiology and pathology. *Bioadhesive Drug Delivery Systems*, 1-24.
- Matheus, V. A., Faccioli, C. K., Chedid, R. A., Senhorini, J. A., Franceschini-Vicentini, I. B., & Vicentini, C. A. (2021). Morphological and histochemical features of the digestive tract of *Leiarius marmoratus* (Gill, 1870). *Journal of Fish Biology*, 99(5), 1622-1631.
- Menon, S. V., Kumar, A., Middha, S. K., Paital, B., Mathur, S., Johnson, R., & Asthana, M. (2023). Water physicochemical factors and oxidative stress physiology in fish, a review. *Frontiers in Environmental Science*, 11, 1240813.
- Meyer, W., & Tsukise, A. (1989). Histochemistry of glycoconjugates in the skin of the bovine muzzle, with special reference to glandular structures. *Cells Tissues Organs*, 136(3), 226-234.
- Mitra, A., Abdel-Gawad, F. K., Bassem, S., Barua, P., Assisi, L., Parisi, C., & Guerriero, G. (2023). Climate change and reproductive biocomplexity in fishes: Innovative management approaches towards sustainability of fisheries and aquaculture. *Water*, 15(4), 725.
- Mittal, A. K., Ueda, T., Fujimori, O., & Yamada, K. (1994). Histochemical analysis of glycoproteins in the epidermal mucous cells and sacciform cells of an Indian swamp eel *Monopterus albus* (Hamilton) (Synbranchiformes, Pisces). *Acta Histochemica et Cytochemica*, 27(3), 193-204.
- Miyagi, T., Wada, T., Yamaguchi, K., Hata, K., & Shiozaki, K. (2008). Plasma membrane-associated sialidase as a crucial regulator of transmembrane signalling. *Journal of biochemistry*, 144(3), 279-285.
- Mohamad, S., Liew, H. J., Zainuddin, R. A., Rahmah, S., Waiho, K., Ghaffar, M. A., & De Boeck, G. (2021). High environmental temperature and low pH stress alter the gill phenotypic plasticity of Hoven's carp *Leptobarbus hoevenii*. *Journal of fish biology*, 99(1), 206-218.

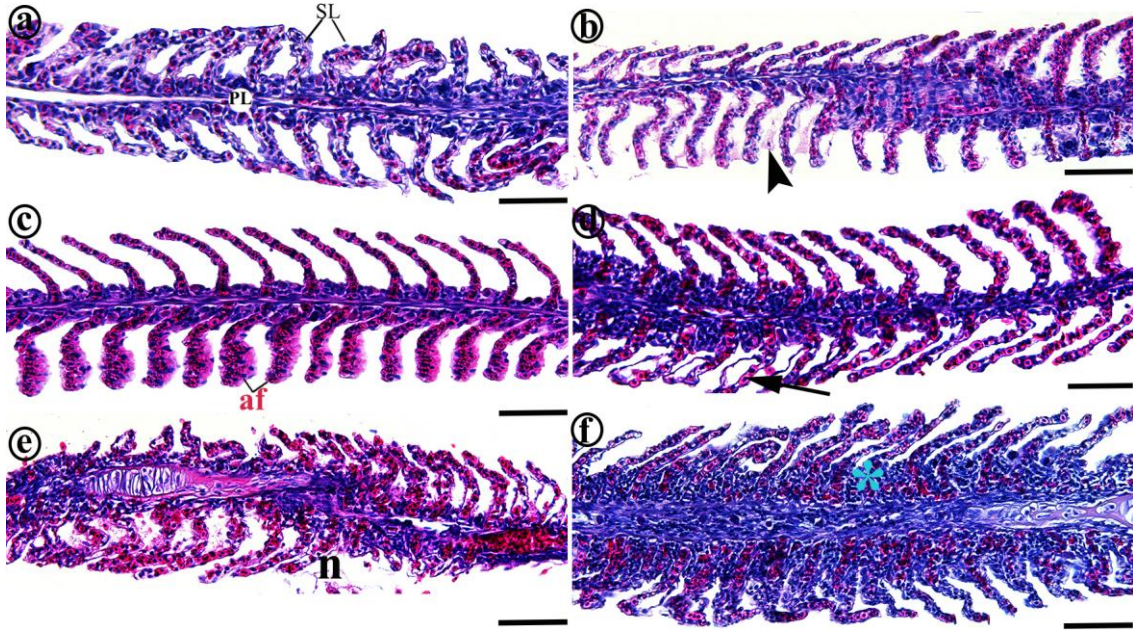
- Oguz, A. R., Sepil, A., Alkan, Z., Ergoz Azizoglu, B., Şen, F., & Kaval Oguz, E. (2024). Effects of salinity on gill histology in sailfin velifera (*Poecilia velifera*). *Aquaculture International*, 32(3), 2585-2597.
- Pedini, V., Dall'Aglio, C., Parillo, F., & Scocco, P. (2005). Glycoconjugate distribution in gastric fundic mucosa of *Umbrina cirrosa* L. revealed by lectin histochemistry. *Journal of Fish Biology*, 66(1), 222-229.
- Phrompanya, P., Panase, P., Saenphet, S., & Saenphet, K. (2021). Histopathology and oxidative stress responses of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to temperature shocks. *Fisheries Science*, 87(4), 491-502.
- Powell, M. D. (2007). Respiration in infectious and non-infectious gill diseases. *Fish Respiration and Environment*, 317-339.
- Prakash, P., Kumar, G. P., Laloraya, M., Hemnani, T., & Parihar, M. S. (1998). Superoxide anion radical generation as a temperature stress response in the gills of freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*: role in mucus exudation under elevated temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 119(2), 211-216.
- Prihatiningsih, W. R., Suseno, H., Zamani, N. P., & Soedharma, D. (2016). Temperature and salinity effects on bioaccumulation, gill structure, and radiation dose estimation in the milkfish *Chanos chanos* exposed to 137 Cs. *Atom Indonesia*, 42(3), 129-135.
- Reverter, M., Tapissier-Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., & Sasal, P. (2018). Biological and ecological roles of external fish mucus: a review. *Fishes*, 3(41), 1-19.
- Roberts, S. D., & Powell, M. D. (2003). Comparative ionic flux and gill mucous cell histochemistry: effects of salinity and disease status in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 134(3), 525-537.
- Saber, T. (2011). Histological adaptation to thermal changes in gills of common carp fishes *Cyprinus carpio* L. *Rafidain journal of Science*, 22(1), 46-55.
- Salazar-Lugo, R., Estrella, A., Oliveros, A., Rojas-Villaruel, E., & Lemus, M. (2009). Paraquat and temperature affect nonspecific immune response of *Colossoma macropomum*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 27(3), 321-326.
- Santoso, B., Suhartono, H., E., Yunita, R., & Biyatmoko, D. (2020). Epidermal mucus as a potential biological matrix for fish health analysis. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 24(6), 361-382.
- Sarasquete, C., Gisbert, E., Ribeiro, L., Vieira, L., & Dinis, M. T. (2001). Glyconjugates in epidermal, branchial and digestive mucous cells and gastric glands of gilthead sea bream, *Sparus aurata*, Senegal sole, *Solea senegalensis* and Siberian sturgeon, *Acipenser baeri* development. *European Journal of Histochemistry*, 45(3), 267-78.
- Sheng, Y. H., & Hasnain, S. Z. (2022). Mucus and mucins: the underappreciated host defence system. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 856962.
- Singh, A. K., & Banerjee, T. K. (2008). Toxic effects of sodium arsenate ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) on the skin epidermis of air-breathing catfish *Clarias batrachus* (L.). *Veterinarski Arhiv*, 78(1), 73-88.
- Strzyzewska, E., Szarek, J., & Babinska, I. (2016). Morphologic evaluation of the gills as a tool in the diagnostics of pathological conditions in fish and pollution in the aquatic environment: a review. *Veterinarni Medicina*, 61(3), 123-132.
- Su, H., Ma, D., Zhu, H., Liu, Z., & Gao, F. (2020). Transcriptomic response to three osmotic stresses in gills of hybrid tilapia (*Oreochromis mossambicus* female \times *O. urolepis hornorum* male). *BMC Genomics*, 21, 1-20.
- Subramanian, S., MacKinnon, S. L., & Ross, N. W. (2007). A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 148(3), 256-263.
- Uribe, R., & Sibbing, F. A. (1984). Regional specializations in the oro-pharyngeal wall and food processing in the carp (*Cyprinus carpio* L.). *Netherlands Journal of Zoology*, 35(3), 377-422.
- Volkoff, H., & Rønnestad, I. (2020). Effects of temperature on feeding and digestive processes in fish. *Temperature*, 7(4), 307-320.
- Wentworth, S. A., Thede, K., Aravindabose, V., Monroe, I., Thompson, A. W., Molyneaux, N., & Packer, R. K. (2018). Transcriptomic analysis of changes in gene expression of immune proteins of gill tissue in response to low environmental temperature in fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 25, 109-117.
- Wilson, J. M., & Laurent, P. (2002). Fish gill morphology: inside out. *Journal of Experimental Zoology*, 293(3), 192-213.

Çizelgeler

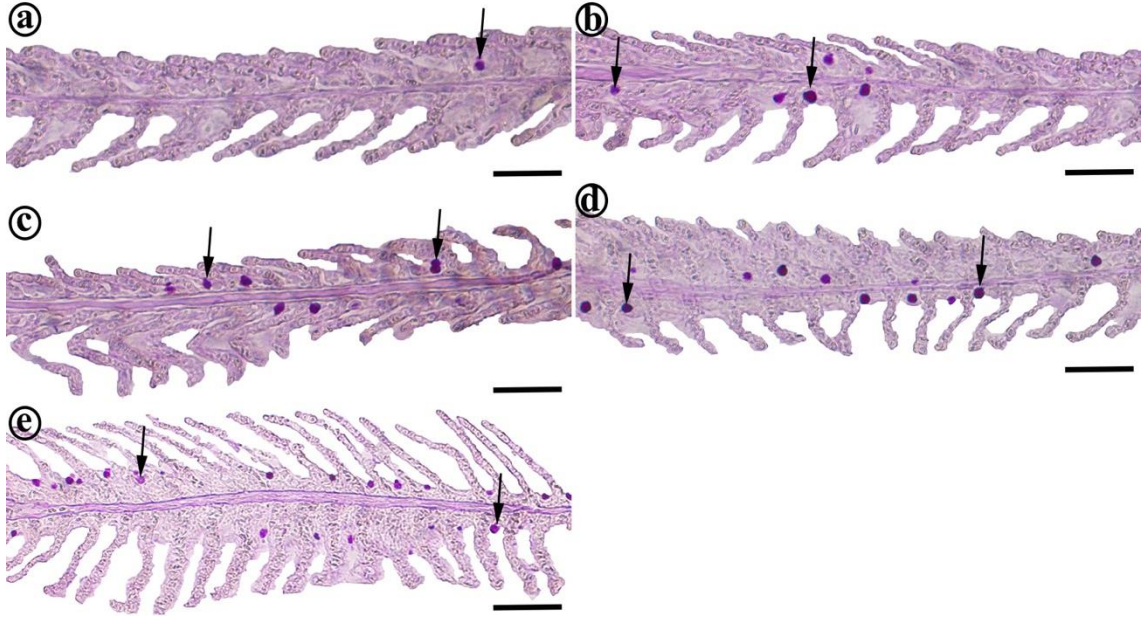
Çizelge 1. Histolojik boyamalar için kullanılan boyalar

Boyama Yöntemi	Spesifitesi
Periyodik Asit-Shiff (PAS)	Nötral glikonkonjugatların belirlenmesi
Alcian Blue (AB) pH 2.5	Karboksilatlı glikokonjugatların belirlenmesi
AB pH 1.0	O-sülfat esterli glikokonjugatların belirlenmesi
AB pH 0.5	Güçlü sülfatlı glikokonjugatların belirlenmesi
Aldehid Fuksin	Sülfatlanmış glikokonjugat belirlenmesi
AF/ AB pH 2.5	Sülfatlı ve karboksilatlı glikokonjugatların karşılaştırılması
PAS/ AB pH 2.5	Nötral ve güçlü asidik glikokonjugatların karşılaştırılması

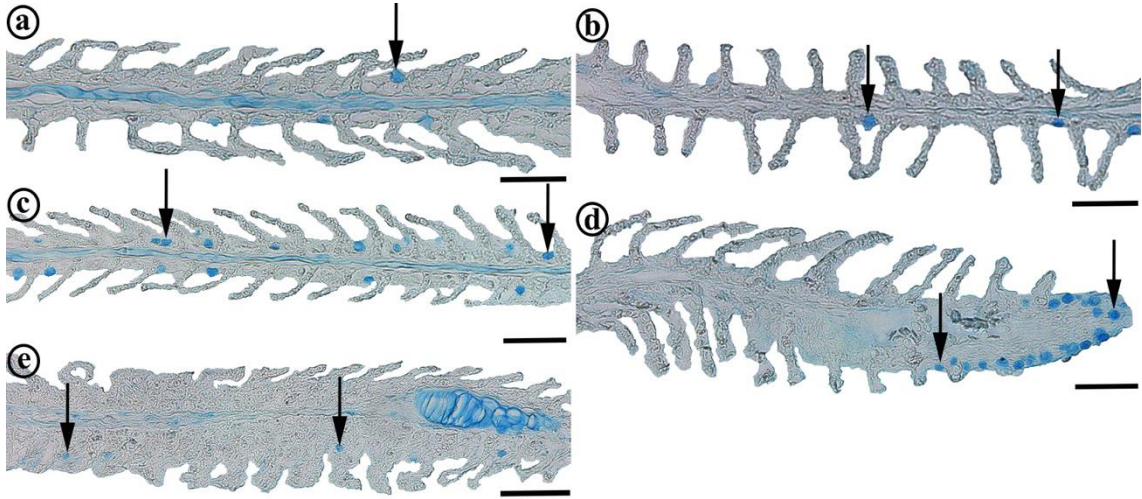
Şekiller



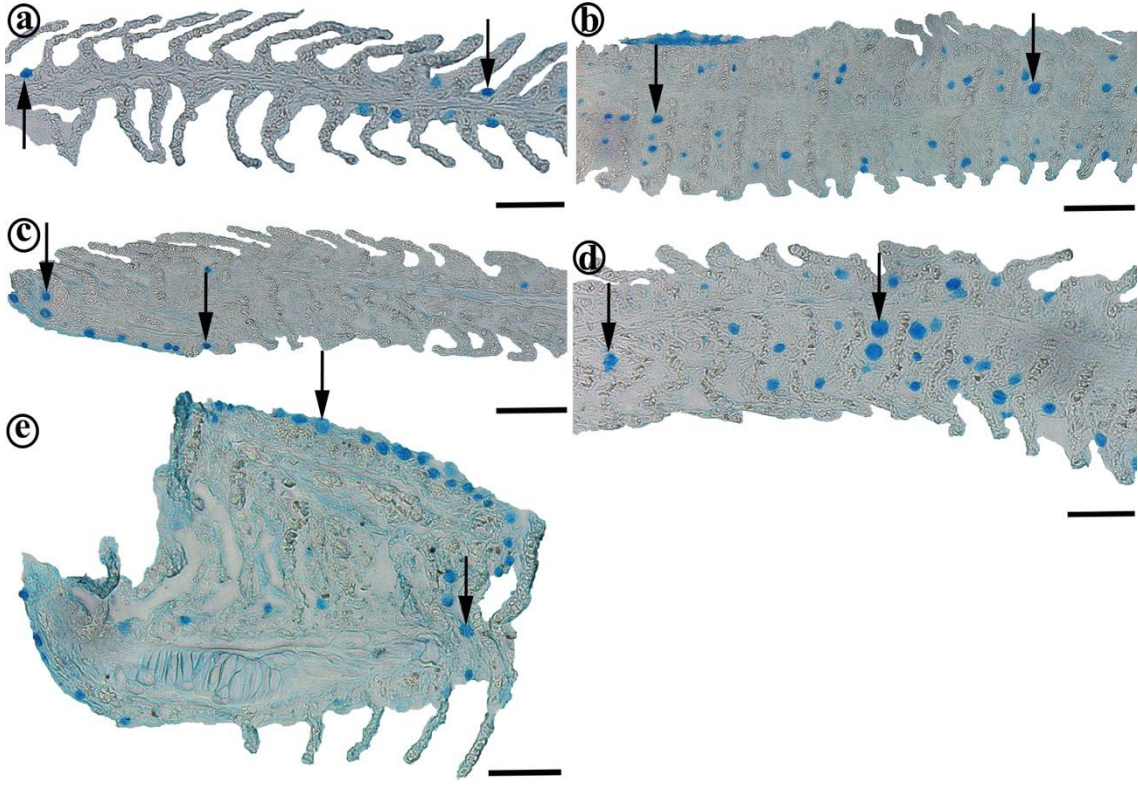
Şekil 1. *Pseudotropheus acei* balığı solungaç dokusu genel görünümü (a, kontrol; b, 29 °C; c, 30 °C; d-e 31 °C; f, 32 °C; PL, primer lamel; SL, sekonder lamel; ok başı, kanama; af, atrofi; ok, lamellar ayrılma; n, nekroz; *, hiperplazi), bar 100µm



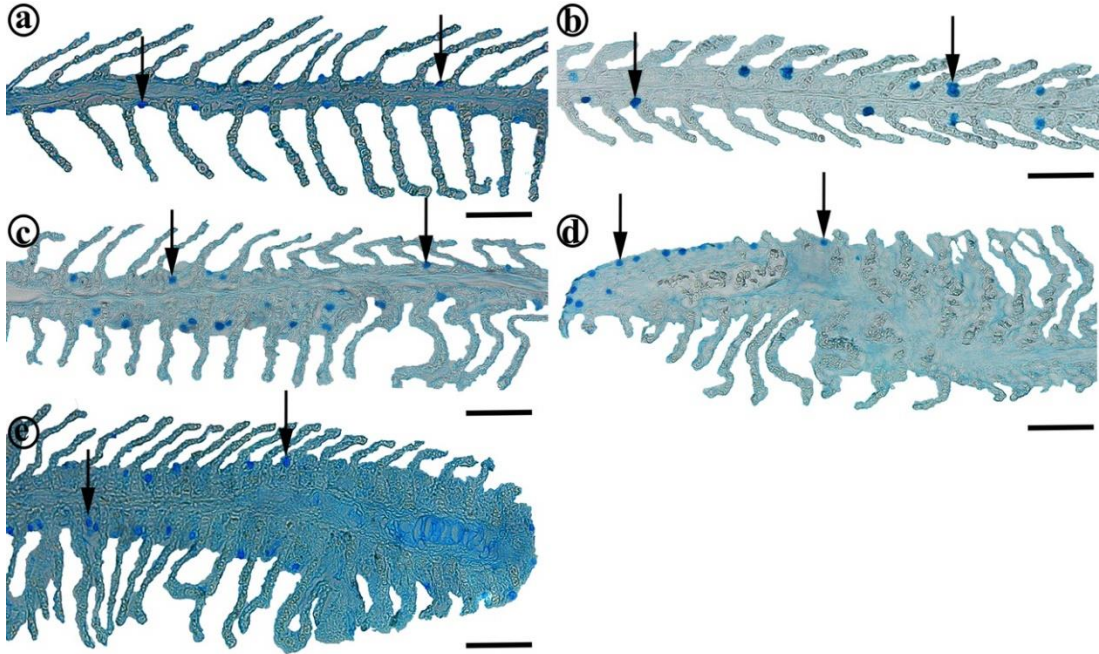
Şekil 2. *Pseudotropheus acei* solungaç dokusunda nötral glikokonjugat içeren mukus hücrelerin görünümü (Periyodik Asit-Schiff) (a, kontrol; b, 29 °C; c, 30 °C; d, 31 °C, e, 32 °C), bar 100µm



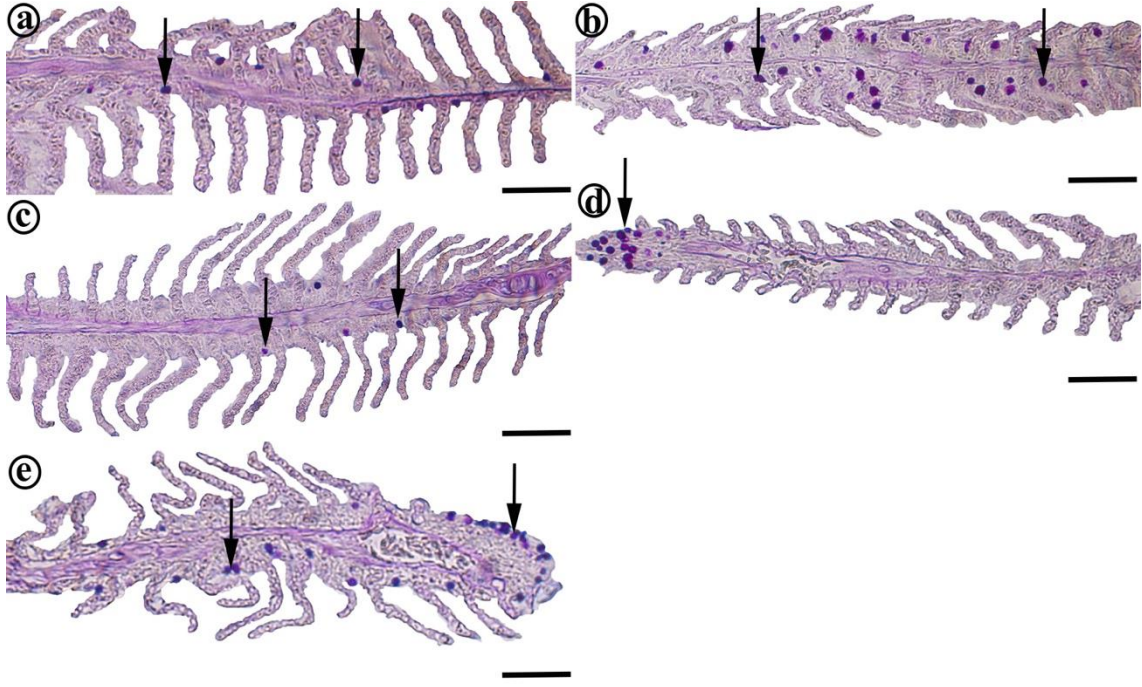
Şekil 3. *Pseudotropheus acei* solungaç dokusunda karboksilatlı glukokonjugat içeren mukus hücrelerin görünümü (Alcian Blue pH 2.5) (a, kontrol; b, 29 °C; c, 30 °C; d, 31 °C, e, 32 °C), bar 100µm



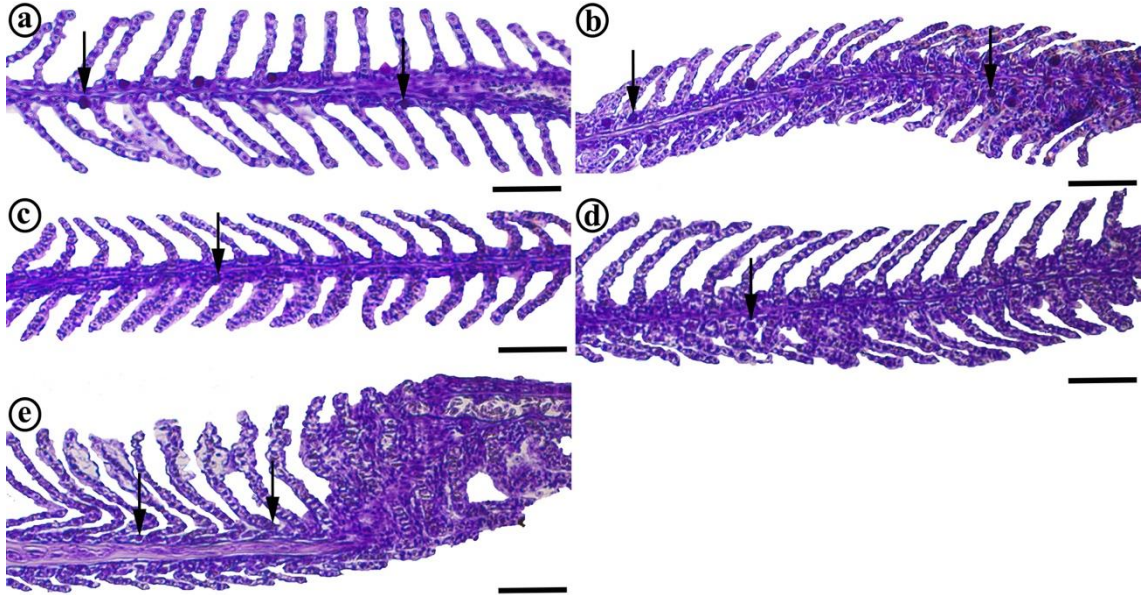
Şekil 4. *Pseudotropheus acei* solungaç dokusunda O-sulfat ester içeren glukonjugat içeren mukus hücrelerin görünümü (Alcian Blue pH 1.0) (a, kontrol; b, 29 °C; c, 30 °C; d, 31 °C, e, 32 °C), bar 100µm



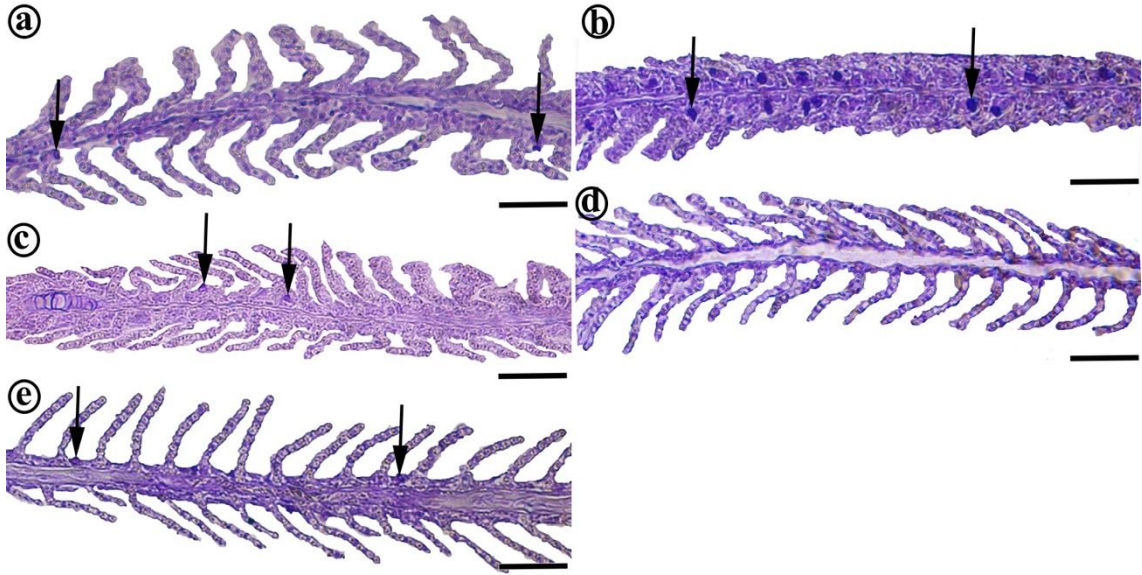
Şekil 5. *Pseudotropheus acei* solungaç dokusunda güçlü sülfatlı glikonjugat içeren mukus hücrelerin görünümü (Alcian Blue pH 0.5) (a, kontrol; b, 29 °C; c, 30 °C; d, 31 °C, e, 32 °C), bar 100µm



Şekil 6. *Pseudotropheus acei* solungaç dokusunda PAS/Alcian Blue pH 2.5 ile işaretlenen mukus hücrelerin görünümü (a, kontrol; b, 29 °C; c, 30 °C; d, 31 °C, e, 32 °C), bar 100µm



Şekil 7. *Pseudotropheus acei* solungaç dokusunda sülfatlanmış glukokongjugat içeren mukus hücrelerin görünümü (Aldehid Fuksin) (a, kontrol; b, 29 °C; c, 30 °C; d, 31 °C, e, 32 °C), bar 100µm



Şekil 8. *Pseudotropheus acei* solungaç dokusunda Aldehid Fuksin/Alcian Blue pH 2.5 ile işaretlenen mukus hücrelerin görünümü (a, kontrol; b, 29 °C; c, 30 °C; d, 31 °C, e, 32 °C), bar 100µm