

Tuz Stresinin *Pseudotropheus acei* Balığının Sindirim Kanalı Üzerindeki Histolojik Etkileri

Enes YILDIRIM¹ , Zehra ALKAN ÇEKİÇ^{2*} , Ahmet Regaib OĞUZ³ 

Öz

Sindirim kanalı tüm canlılarda olduğu gibi balıklarda da besinlerin sindiriminden sorumlu organdır. Balıkların beslenme şekli, kanal yapısı ve morfolojisi türden türe farklılık göstermektedir. Balıklarda sindirim kanalı mukoza tabakasında bulunan mukus hücreleri tuzluluk, iyon regülasyonu, pH, kirletici, parazit ve stres gibi faktörlerden etkilenmektedir. Tuzluluk balık büyümesi, beslenmesi, metabolizması ve diğer fizyolojik aktiviteleri etkileyen en önemli parametrelerden biridir. Bu çalışmada *Pseudotropheus acei* balıklarına farklı tuz konsantrasyonları uygulandı. Uygulama sonucunda balıkların en fazla 27 ppt tuzluluğa adapte olduğu daha yüksek tuzluluklarda ise öldüğü gözlemlendi. Kontrol ve tuzluluğa adapte olan gruplardaki balıkların sindirim kanalları histolojik olarak incelendi. Yapılan çalışmalar sonucunda *Pseudotropheus acei* balığı sindirim kanalının seröz, muskularis, submukoza ve mukoza tabakalarından oluştuğu görüldü. Tuz stresine maruz kalan balıkların sindirim kanalı mukus hücreleri 15 farklı bölgeden sayılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir. İstatistiksel analiz sonucu, nötral glikokonjugat içeren mukus hücre sayısının kontrol grubunda 267.4, 20 ppt grubunda 328.66 ve 27 ppt grubunda 360 olduğu görüldü. Sindirim kanalında 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 & Alcian Blue pH 2.5 boyaları ile histokimyasal olarak belirlendi. Tuzluluk stresinin balıklarda sindirim kanalında bulunan mukus hücre yoğunlukları ve içeriği üzerine etkili olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Histoloji, Mukus Hücresi, Sindirim Kanalı, Tuzluluk.

The Histological Effects of Salt Stress on the Digestive Tract of *Pseudotropheus acei* Fish

Abstract

The digestive tract is responsible for food digestion in fish, as it is in all living organisms. Feeding habits, canal structure, and morphology of fish vary among species. The mucous cells in the mucosal layer of the digestive tract are influenced by factors such as salinity, ion regulation, pH, pollutants, parasites, and stress. Salinity is one of the most important factors affecting fish growth, nutrition, metabolism, and other physiological activities. In our experimental study, different concentrations of salt were applied to *Pseudotropheus acei* fish. It was observed that the fish adapted to a maximum salinity of 27 ppt and died at higher salinities. The digestive tract tissues of both control and salinity-adapted fish were examined histologically. The histological studies revealed that the digestive tract of *Pseudotropheus acei* consisted of four layers: serous, muscularis, submucosa, and mucosa. Mucus cells in the digestive tract of fish exposed to salt stress were counted from 15 different regions and statistically analyzed. Statistical analysis revealed that the number of mucus cells containing neutral glycoconjugates was 267.4 in the control group, 328.66 in the 20 ppt group, and 360 in the 27 ppt group. The densities of neutral, carboxylated, O-sulfate ester, strongly sulfated, and sulfated glycoconjugates in the mucus cells, important cells within the digestive tract, were determined histochemically using Periodic Acid/Schiff (PAS), Alcian Blue at pH 2.5, Alcian Blue at pH 1.0, Alcian Blue at pH 0.5, and Aldehyde Fuchsin stains. It was concluded that salinity stress had a significant effect on the mucus cell densities and content in fish living in aquatic environments.

Keywords: Histology, Mucus Cell, Digestive tract, Salinity.

¹Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi/Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Van, Türkiye, mahirenes1619@gmail.com

^{2,3}Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi/ Biyoloji Bölümü, Van, Türkiye, zhra.alkan@hotmail.com ahmetoguz@yyu.edu.tr

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author

1. Giriş

Ekolojik faktörler arasında tuzluluk su ortamına özgüdür. Su buharlaştıkça sudaki iyon oranında artış görülmektedir. Su buharlaşmasıyla birlikte, suyun miktarı azalırken, tuz miktarı sabit kalır. Bu durumda, tuzun suya oranı giderek artar (Sellner ve ark., 1988). Sucul ortamlarda artan tuzluluk suyun iyon oranlarında değişime neden olabilmektedir. Yapılan farklı çalışmalarda tuzluluğun hem deniz hem de tatlı su balıklarının büyüme kapasiteleri üzerinde etkisinin olduğu gösterilmiştir (Suresh ve Lin, 1992; Peterson-Curtis, 1997). Aynı zamanda iyon toksitesi ve artan ozmotik stres ile birlikte balıklarda ciddi oranda ölüme veya üreme oranlarında düşüşe ve büyüme oranlarında değişime neden olduğu ifade edilmektedir (Sellner ve ark., 1988; Jeppesen ve ark., 2015; Bezirci ve ark., 2012).

Tüm omurgalı canlılarda olduğu gibi balıklarda da sindirim kanalı özofagus, mide, bağırsak ve dışarıya açılan bir rektumdan oluşur. Balıkların sindirim kanalı, türden türe morfolojik ve histolojik olarak farklılık gösterir (Morrison ve Wright, 1999). Bu farklılıklar yaşam tarzları ve beslenme alışkanlıklarından (omnivor, herbivor ve karnivor gibi) kaynaklanır (Farrell, 2011). Bunun yanı sıra balıklarda sindirim sisteminin morfolojisi, vücut büyüklüğü, ontogeni ve filogeni ile de ilişkilidir (Banan Khojasteh, 2012). Beslenme alışkanlıkları morfolojik olarak mide büyüklüğüne, bağırsak uzunluğuna ve enzim aktivitesine etki eder (Gonzalez Neves dos Santos ve ark., 2011). Sindirim kanalı kısımlarına ve türler arası farklılıklara bağlı olarak tabakaların kalınlıkları ve mukoza tabakasını oluşturan kıvrım uzunlukları değişiklik gösterir. Sindirim kanalı histolojik olarak incelendiğinde en dış kısımda epitel hücrelerden seröz tabakası, altında kas hücrelerinden muskularis tabakası, bağ dokusu hücrelerinden submukoza ve goblet hücrelerinin bulunduğu en iç kısımda lümeni çevreleyen mukoza tabakalarından oluşmaktadır (Genten ve ark., 2009; Formicki ve Kirschbaum 2019; Takashima ve Hibiya, 1995).

Mukus, çoğunlukla mukoza tabakasında bulunan mukus hücreleri tarafından salgılanan sümüksü koruyucu bir sıvıdır (Lai ve ark., 2009). Mukus hücrelerinin görevi besinlerin kanal boyunca kolayca kaymalarını sağlar ve kimyasalların zararları etkilerine karşı da hücreleri korur. Hücrelerden salgılanan mukus yoğunluğu stres, kirleticiler, beslenme, fiziksel ve kimyasal hasarlara göre değişiklik gösterir (Shephard, 1994). Sindirim sisteminden salgılanan müsinler birçok görevi üstlenmektedir. Bu görevler yağlama, sindirim, emilim, bulaşıcı hastalıkları kontrol etme ve zararlı mikroorganizmaların çoğalmasını engellemektir (Loretz 1995; Domeneghini ve ark., 2005). Mukusun yapısı %95'i sudan oluşurken %5 müsin ve elektrolitler gibi küçük bileşenlerden oluşan fazlasıyla hidratlı bir jeldir (Diaz ve ark., 2008). Müsinler, yüksek moleküler ağırlıklı glikoproteinlerdir. Müsin glikoproteinlerinin, salgılayıcı müsinler, apikal membranda bulunan transmembran müsinler ve glikokaliksin ana bileşenini oluşturur (Johansson ve ark., 2011).

Balıklardaki sindirim kanalında bulunan müsinlerin histokimyasal yapıları türlere, yaşa ve yaşam alanlarına göre değiştiği bilinmektedir (Grau and ark., 1992; Sarasquete ve ark., 2001; Cao ve Wang, 2009). Balıklarda kanal boyunca mukus hücrelerinin varlığı ve sayısı değişmektedir (Domeneghini ve ark., 1998; Sanden ve ark., 2005). Mukus içeriğinin beslenmeden etkilenmediği ifade edilirken (Ortiz-Delgado ve ark., 2012), yapılan bazı çalışmalarda ise mukus hücre içeriklerinin beslenme içeriğinden kaynaklı olarak değiştiği ifade edilmiştir (Tibbetts, 1997; Luzzana ve ark., 2005). Nötral glikokonjugat içeren mukus hücreleri, enzimatik sindirimde, plazma zarındaki molleküllerin emiliminde ve taşınmasında, aynı zamanda midenin yüksek asit içeriği üzerine tampon etkisi vardır (Petrinec ve ark., 2005). Posterior bağırsakta bulunan asidik glukokonjugat içeren mukus hücrelerinin, yiyecek artıklarını uzaklaştırmaya yardımcı olduğu ifade edilmektedir (Shi ve ark., 2007)

Yapılan çalışmalarda müsinlerin histokimyasal yapıları balığın türüne, yaşına, bulunduğu ortamlara ve beslenme tarzına bağlı olarak değişim gösterdiği belirtilmektedir (Elia ve ark., 2018). Bu çalışmada tuz stresine maruz bırakılan *Pseudotropheus acei* balığının sindirim kanalında bulunan mukus hücre lokalizasyonu, yoğunluğu ve alanlarındaki değişimlerin belirlenmesi amaçlandı.

2. Materyal ve Metot

Tüm hayvan deney işlemleri Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Araştırmacıları Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanan hayvan çalışma protokollerine (YUHADYEK 2023/05-36) uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

2.1. Deneyisel Çalışmalar

Materyal olarak *Pseudotropheus acei* balığı kullanıldı. Balıklar kontrol, 20 ppt, 30 ppt, 40 ppt ve 50 ppt olacak şekilde gruplandırıldı. Balıklara, günde iki kez toplam vücut ağırlığının % 4'ü kadar Tetra Discus Granül yem verildi. Fotoperiyot 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olarak düzenlendi. Çalışmada kontrol grubu hariç tüm gruplara başlangıçta %2 oranında tuz eklenerek deney başlatıldı. Deney süresince suyun tuzluluk düzeyi her gün 1 ppt artırıldı. Bu artış hızına göre, 20 ppt hedefine 18 gün içerisinde ulaşılırken, 27 ppt hedefine ise 25 gün sonunda ulaşıldı. Deney süreci tamamlandıktan sonra balıklar, fenoksi etanol (0,2 mL/L) ile anestezi edilerek, sindirim kanalı dokuları histolojik inceleme için Bouin fiksatifine içine alındı. Balıkların deney süresince adapte olduğu tuzluluğun maksimum 27 ppt olduğu belirlendi. Sindirim kanalı dokuları, aşağıdaki prosedür kullanılarak parafine içerisine gömüldü.

2.2 Histoloji

Dokular 24 saat boyunca oda sıcaklığında fiksatiflerde tutuldu ve daha sonra %70 etanole aktarıldı. Alınan örnekler etil alkol konsantrasyonlarından (%70, %80, %90, %95 ve %100) geçirildikten sonra, ksilol içerisine alındı ve parafin içine gömüldü. Daha sonra parafin içerisine gömülen dokulardan mikrotom yardımıyla (Microm International GmbH, Almanya) 5µm kesitler alındı. Kesitler taze hazırlanan Hematoksilen&Eozin, Periyodik Asit – Schiff (PAS), Alcian Blue pH 2.5, Alcian Blue pH 1.0, Alcian Blue 0.5, PAS/AB pH 2.5, AF/AB 2.5 ile boyandı. Dokular ışık mikroskobu ile incelendi (Leica DMI 6000B, Almanya) ve Leica DFC 490 (Leica Microsystems Almanya) kamera ile görüntüler elde edildi.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan histolojik boyalar.

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

2.3. Mukus hücre analizi

PAS ile boyanan sindirim kanalı dokusunda bulunan mukus hücrelerin yoğunluklarını belirlemek için 15 farklı kesit kullanılarak hücre sayımı yapıldı. Hücre sayımları, sindirim kanalının posterior bağırsak kısmında yapıldı.

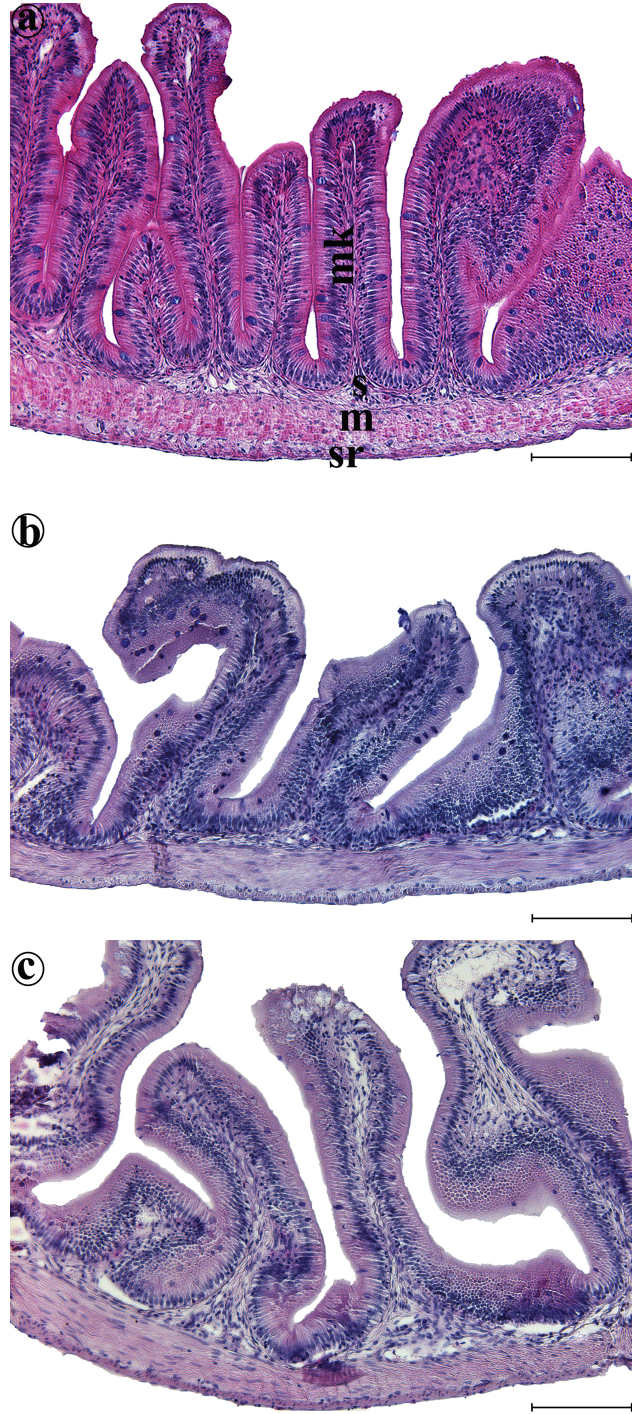
2.4. İstatistiksel analiz

Veriler, ortalama $\pm$ ortalamanın standart hatası (SEM) olarak ifade edildi. Gruplar arasındaki farkı belirlemek için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Duncan'ın post hoc test karşılaştırması yapıldı. İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics for Windows 21.0 (IBM Corp., ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. Önem $P < 0,05$ 'te kabul edildi.

3. Bulgular ve Tartışma

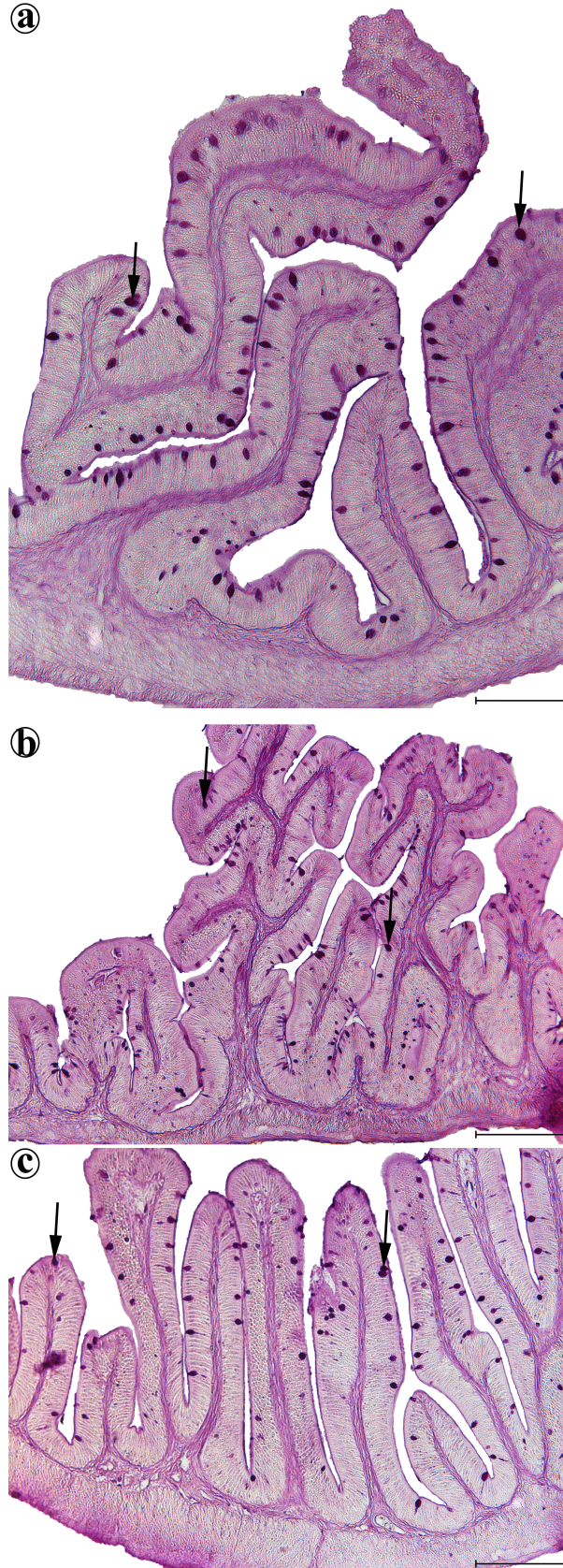
Deneysel çalışma sonucunda *Pseudotropheus acei* balığının adapte olduğu maksimum tuzluluk

değerinin 27 ppt olduğu belirlendi. Yapılan histolojik çalışmalar sonucunda *Pseudotropheus acei* balığı sindirim kanalının diğer omurgalı balıklarda olduğu gibi farklı tabakalardan oluştuğu gözlemlendi. En dışta kanalı çevreleyen ince bağ dokusundan oluşan seröz tabaka, kas dokusundan oluşan muskularis tabaka, gevşek bağ dokusundan oluşan submukoza tabakası ve silindirik epitel hücrelerin bulunduğu mukozadan tabakası yer almaktadır (Şekil 1).

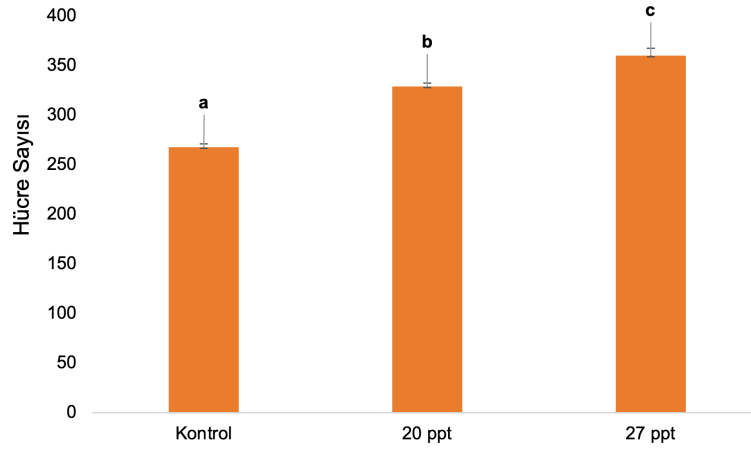


Şekil 1. *Pseudotropheus acei* balığı sindirim kanalı dokusu genel görünümü (a, kontrol; b, 20 ppt; c, 27 ppt; m: muskularis tabakası, s: submukoza tabakası, mk: mukoza tabakası, sr: seröz tabaka), bar 100µm.

Sindirim kanalında bulunan nötral glikokonjugatların belirlenmesi için Periyodik asit/Schiff boyama yöntemi kullanıldı. Farklı tuzluluk konsantrasyonlarına maruz bırakılan grupların yanı sıra kontrol grubuna ait dokularda da PAS boyaması ile pozitif işaretlendiği görüldü. Balık sindirim kanalı dokusunun 15 farklı bölgesinden mukus hücresi sayımı yapıldı. Elde edilen veriler üzerinde istatistiksel analiz gerçekleştirildi. Analiz sonuçlarına ait grafiklere göre nötral glikokonjugat içeren mukus hücresi sayıları; kontrol grubunda 267,4, 20 ppt grubunda 328,66 ve 27 ppt grubunda 360 olarak belirlendi. Yapılan grafikte de bu artışın gruplar arasında belirgin şekilde olduğu gösterildi. İstatistiksel analiz sonucunda, 27 ppt grubunda diğer gruplara oranla daha fazla nötral glikokonjugat içeren mukus hücresi bulunduğu saptandı (Şekil 2, Şekil 3).

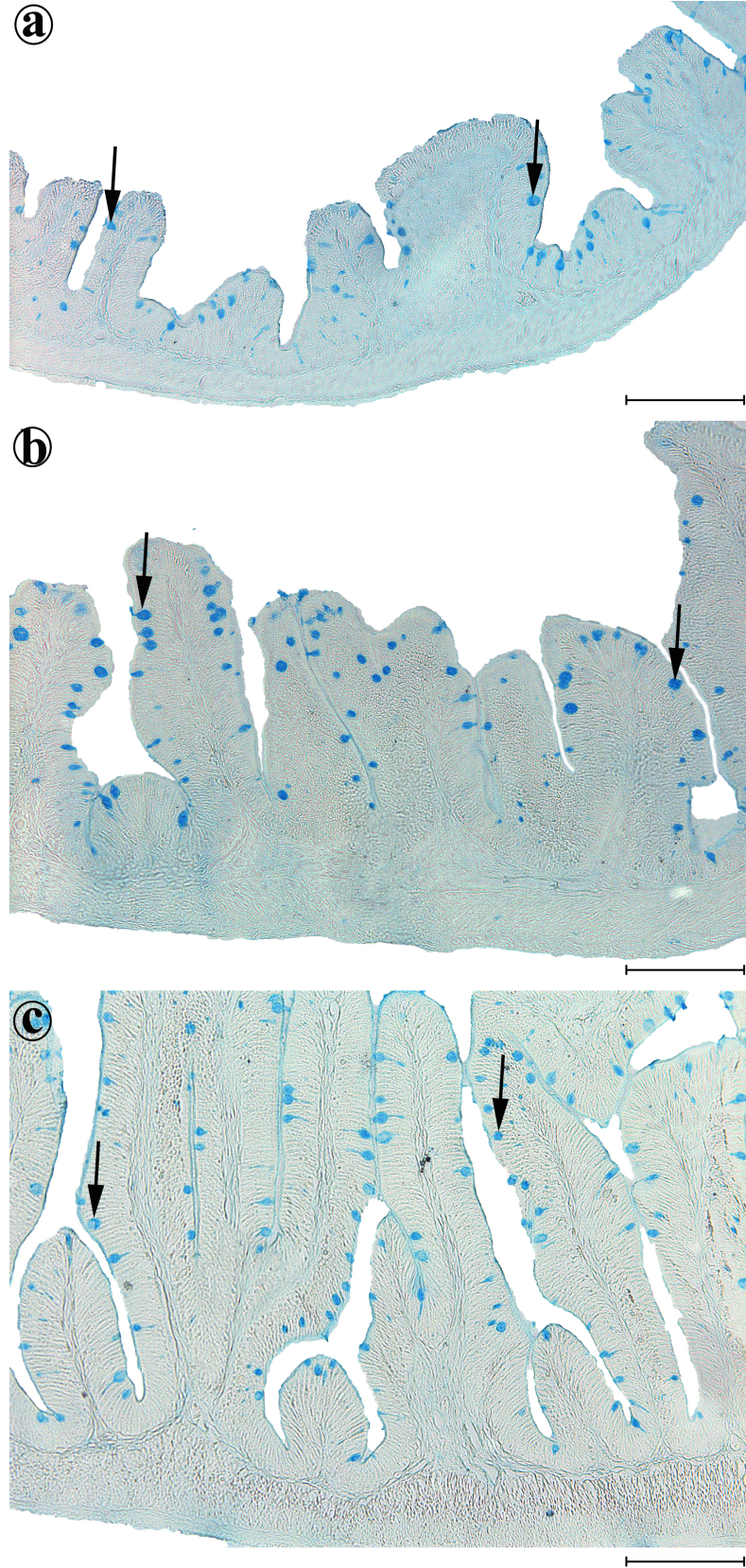


Şekil 2. *Pseudotropheus acei* sindirim kanalı dokusunda Periyodik asit/Schiff ile işaretlenen mukus hücrelerin görünümü (a, kontrol; b, 20 ppt; c, 27 ppt), bar 100µm.



Şekil 3. Tuzluluğa maruz bırakılan *Pseudotropheus acei* sindirim kanalı dokusundaki nötr glikokonjugat salgılayan mukus hücre sayıları. Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları gösterir.

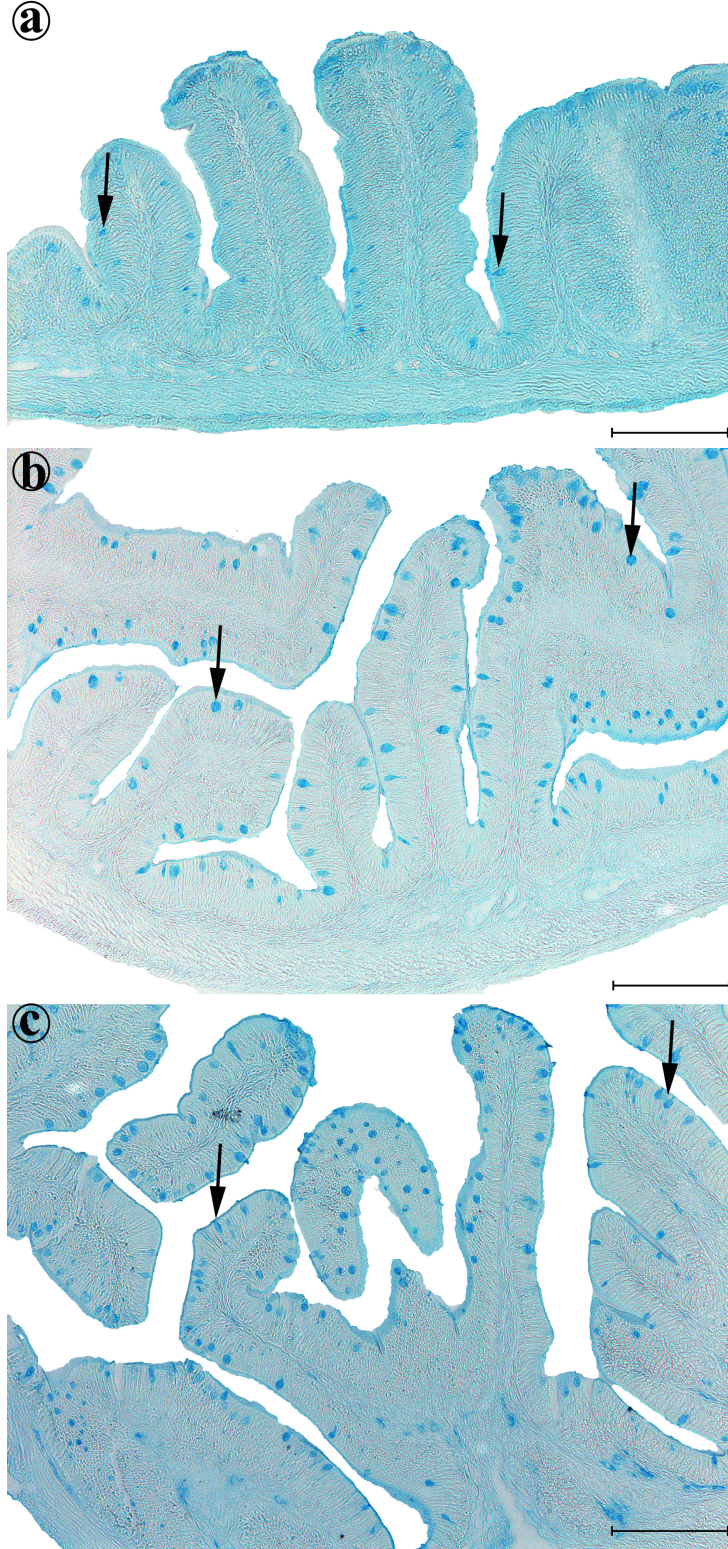
Mukus hücrelerindeki karboksile glikokonjugatlar AB pH 2.5 boyası kullanılarak tespit edildi. Mukus hücrelerinin sindirim kanalı epitel yüzeylerinde konumlandığı görüldü. Boyama sonuçları, kontrol, 20 ppt ve 27 ppt gruplarında pozitif reaksiyon olduğu gözlemlendi. Kontrol grubu balık sindirim kanallarında mukus hücrelerindeki karboksile glikozkonjugatlar diğer gruplara kıyasla daha düşük yoğunlukta işaretlendi. En yoğun boyamanın ise 27 ppt'ye maruz bırakılan balık sindirim kanallarında olduğu belirlendi (Şekil 4).



Şekil 4. *Pseudotropheus acei* sindirim kanalı dokusunda Alcian Blue pH 2.5 ile işaretlenen mukus hücrelerin görünümü (a, kontrol; b, 20 ppt; c, 27 ppt), bar 100μm.

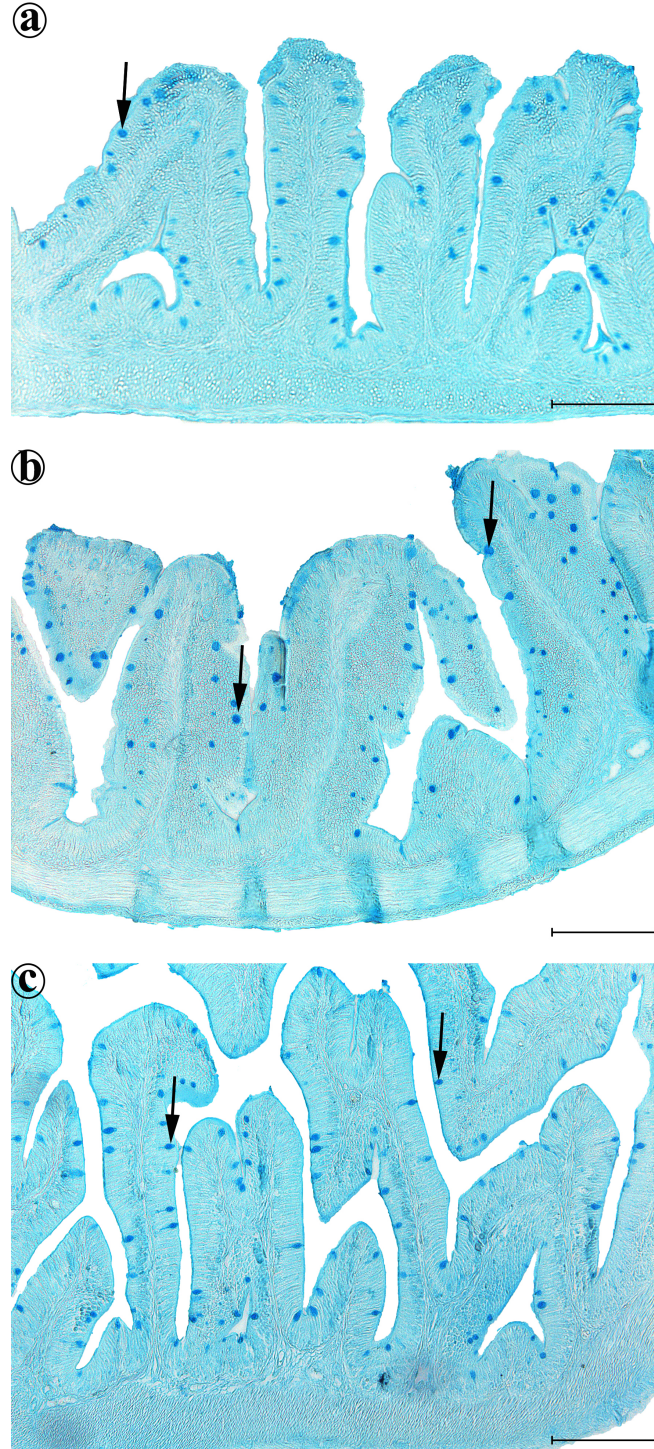
O-sülfat esterleri glikokonjugatları belirlemek için AB pH 1.0 boyaması kullanıldı. Tüm guruplarda mukus hücreleri pozitif olarak işaretlendi. İşaretlenen mukus hücrelerin sindirim kanalı

epitel yüzeylerinde konumlandığı belirlendi. Boyama yoğunluğu açısından yapılan semikantitatif değerlendirme sonucunda, gruplar arasında farklılıklar olduğu görüldü. Kontrol grubundaki mukus hücreleri diğer gruplara oranla daha düşük yoğunlukta işaretlendiği görüldü. En yoğun işaretlenmenin tuz stresinin en yüksek olduğu 27 ppt de olduğu belirlendi (Şekil 5).



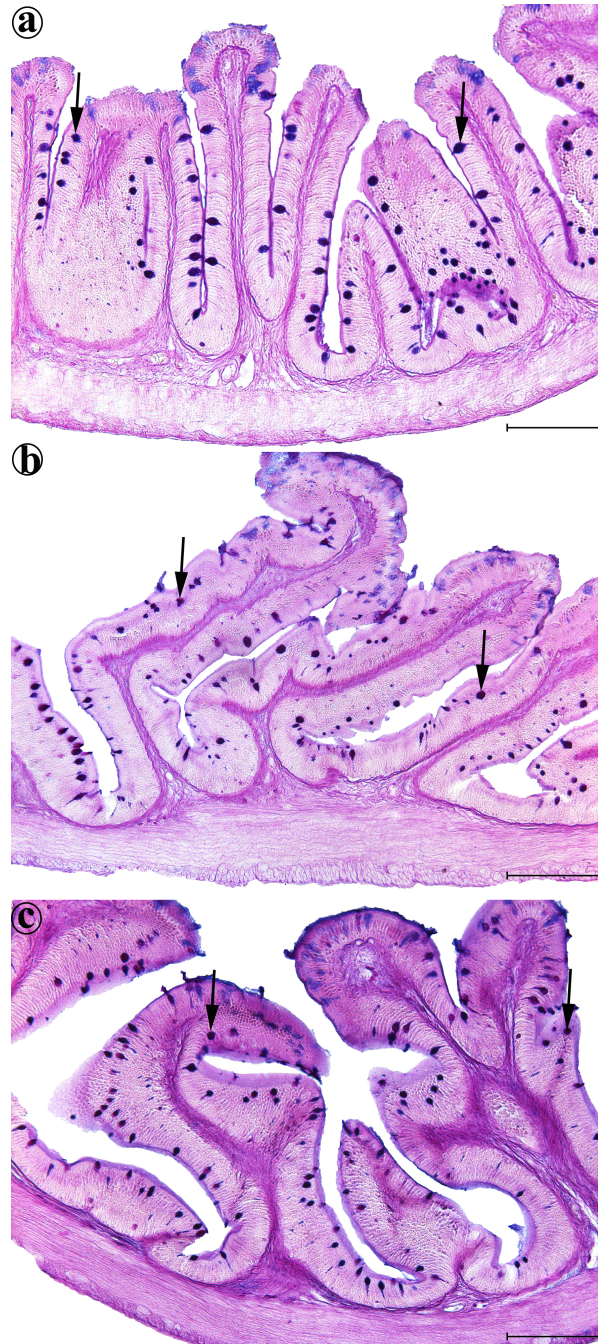
Şekil 5. *Pseudotropheus acei* sindirim kanalı dokusunda Alcian Blue pH 1.0 ile işaretlenen mukus hücrelerin görünümü (a, kontrol; b, 20 ppt; c, 27 ppt), bar 100µm.

Güçlü sülfatlanmış glikokonjugatları içeren mukus hücreleri tespit etmek için AB pH 0.5 boyaması kullanıldı. Tüm gruplarda mukus hücrelerinin pozitif reaksiyon gösterdiği gözlemlendi. Yapılan boyama sonucunda mukus yoğunluğunun gruplar arasında farklılık gösterdiği belirlendi. Tuzluluk stresine maruz kalan grupların kontrol grubuna kıyasla daha yoğun işaretlendiği gözlemlendi (Şekil 6).



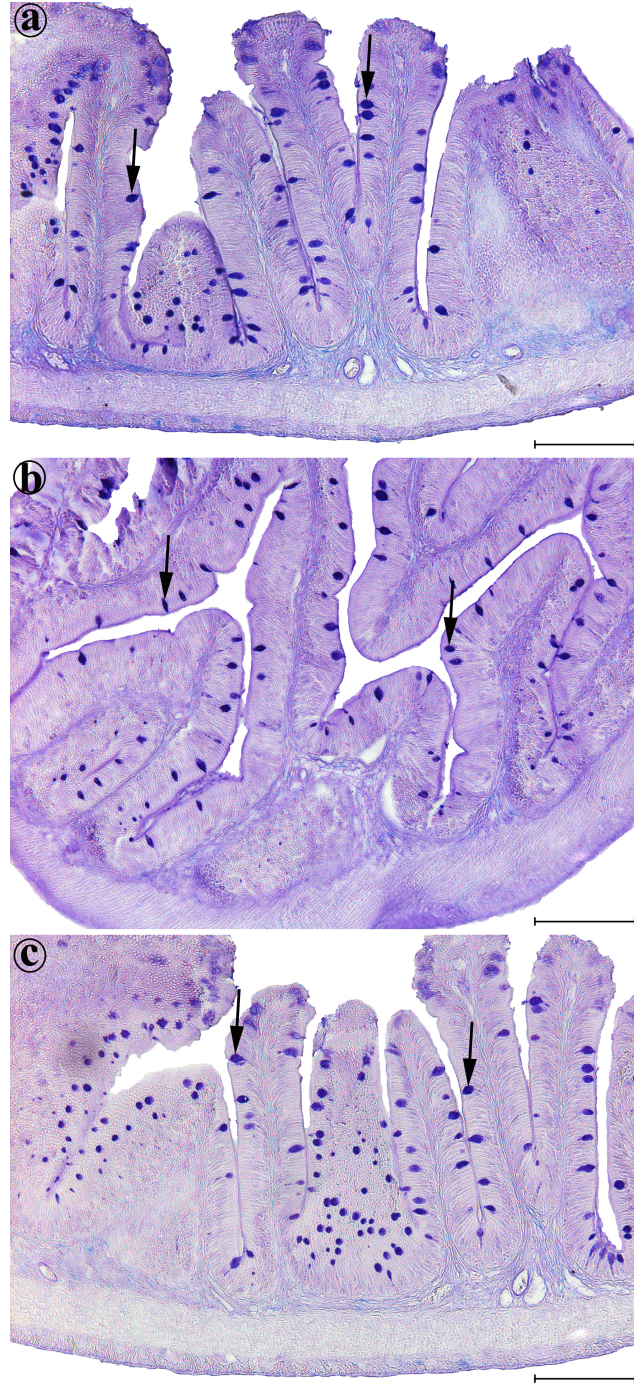
Şekil 6. *Pseudotropheus acei* sindirim kanalı dokusunda Alcian Blue pH 0.5 ile işaretlenen mukus hücrelerin görünümü (a, kontrol; b, 20 ppt; c, 27 ppt), bar 100µm.

Nötr ve güçlü asidik glikokonjugatları karşılaştırmak amacıyla PAS/AB pH 2.5 boyama yöntemi kullanıldı. İşaretlenen mukus hücrelerin sindirim kanalı epitel yüzeyinde konumlandığı belirlendi. Boyama sonucunda güçlü asidik glikokonjugatların nötral glikokonjugatlara kıyasla daha yoğun boyandığı görüldü. Ayrıca deney grupları arasında mukus yoğunluğunda farklılıklar olduğu tespit edildi. Tuza maruz bırakılan gruplarda kontrol grubuna oranla semikantitatif olarak artış olduğu gözlemlendi (Şekil 7).



Şekil 7. *Pseudotropheus acei* sindirim kanalı dokusunda Periyodik asit/Schiff & Alcian Blue pH 2.5 ile işaretlenen mukus hücrelerin görünümü (a, kontrol; b, 20 ppt; c, 27 ppt), bar 100μm.

Sülfatlanmış ve karboksillenmiş glikokonjugatları karşılaştırmak amacıyla Aldehit fuksin/Alcian Blue 2.5 pH boyama yöntemi kullanıldı. İşaretlenen mukus hücrelerin sindirim kanalı epitel yüzeyinde konumlandığı belirlendi. Boyama sonucunda karboksillenmiş glikokonjugatların sülfatlanmış glikokonjugatlara kıyasla daha yoğun işaretlendiği görüldü. Ayrıca, tuzluluğa maruz bırakılan gruplarda pozitif reaksiyon olduğu görüldü (Şekil 8).



Şekil 8. *Pseudotropheus acei* sindirim kanalı dokusunda Aldehit fuksin&Alcian Blue pH 2.5 ile işaretlenen mukus hücrelerin görünümü (a, kontrol; b, 20 ppt; c, 27 ppt), bar 100µm.

Tatlı sularda tuzluluk artışı, birçok tatlı su türü için aşırı fizyolojik ve ozmotik stres oluşturarak şiddetli stres ve risk faktörleri yaratabilir. Tuzluluk değişimleri, balıkta metabolik aktivite, osmolarite regülasyonu, beslenme gereksinimleri, doku yapısı ile fizyolojik ve biyokimyasal göstergelerin tümünü etkileyebilir. Her ne kadar bazı tatlı su balıkları tuzlu-alkali suda başarılı bir şekilde yetiştirilmiş olsa da tatlı su balıklarının hayatta kalma oranları büyük ölçüde tuzluluk koşullarına bağlı olarak değişir (Jiang ve ark., 2022). Ayrıca çalışmalar, yüksek tuzluluğun tatlı su balıklarının büyüme, üreme ve metabolik süreçleri üzerinde belirli bir etki yaratabileceğini göstermektedir (Overton ve ark., 2008; Fridman ve ark., 2012).

Mukozal yüzeyler (deri, solungaçlar, bağırsak ve koku alma organı) balıkların için çevredeki tehditlere karşı çok önemli ilk savunma hattı sağlar (Lazado ve Caipang, 2014; Salinas, 2015). Mukus hücreleri salgıları, mukoza tabakasını bir bariyer olarak çevreler ve mikrobiyal ile paraziter enfeksiyonlardan, ayrıca yutulan besinlerin yol açtığı fiziksel ve kimyasal aşınmalardan korur (Tibbetts, 1997). Savunmadaki rollerinin yanı sıra, mukozal yapılar farklı fizyolojik süreçlerde de rol oynar. Örneğin, ozmotik denge ile iyonik ve asit-baz düzenlemesini sağlarken, bağırsaklar azotlu atıkların atılımı, katabolizma ve besin alımında rol oynar (Smith, 1930; Evans ve ark., 2015).

Yüksek mukus salgısı, mukoza tabakasının sindirim enzimleri tarafından tahrip edilmesini önlemeye yardımcı olur. Özellikle nötr müsinler, sindirim sürecinde, besin emilimi ve besinlerin parçalanması için gerekli kofaktörlerin sağlanmasında önemli rol oynar (Vidal ve ark., 2019). Ayrıca sülfatlanmış asit müsinlerinin iyon, sıvı ve protein transferinde rol oynadığı belirtilmektedir (Petrinec ve ark., 2005).

Sülfat grupları ve siyalik asit, yüksek su tutma nedeniyle teleost bağırsak mukusunda önemli rollere sahip olduğu düşünülmektedir (Leknes, 2015). Mukus içeriğinde asidik proteoglikanlar nötr proteoglikanlara kıyasla belirgin şekilde daha yüksek viskoziteye sahiptir. Nötr proteoglikanlar ise mukusta laminar bir akış oluşturarak bağırsak yıkama ve temizliği artırabilir (Uribe ve Sibbing, 1984). Bu tür yapısal özellikler, su, iyonlar ve çeşitli sindirim ürünlerinin alımını kolaylaştırabilir (Robertson ve Wright, 1997; Tibbetts, 1997). Sülfat grupların negatif yükleri arasındaki itici kuvvetler, mukus yapısındaki özellikleri etkileyebilir. Bu itici kuvvetler, mukusun daha akışkan ve daha elastik hale gelmesine yol açabilir. Bu özellik bağırsaklardaki yağlama etkisini artırarak mukusun viskozitesini ve kayganlığını yükseltir. Böylece bağırsak içeriğinin hareketi kolaylaşır. Bu da sindirim sisteminin daha verimli çalışmasına ve dışkı geçişinin rahatlamasına katkıda bulunur. Mukus, bağırsakların sağlıklı bir işleyişi için oldukça önemli bir bileşendir ve içindeki bileşenlerin özellikleri, bağırsak sağlığını doğrudan etkileyebilir (Johansson ve ark., 2013; Leknes, 2015; Paone ve Cani, 2020).

Bağırsak epitelinde yer alan mukus hücreleri, hem fiziksel bir bariyer oluşturarak patojen ve toksinlerin girişini engellemekte hem de bağışıklık düzenlemesinde görev alan çeşitli biyomolekülleri

salgılayarak lokal immün yanıtın şekillenmesinde kritik rol oynamaktadır (Stolfi ve ark., 2022). Yapılan çalışmalarda mukus hücrelerinin sayısı ve yoğunluğunun suyun fiziko-kimyasal özelliklerinden etkilendiği belirtilmiştir. Örneğin, Sarı yılan balığı (*Pelteobagrus fulvidraco*) mukus hücrelerinin sayısı, yoğunluğu ve lokalizasyona göre farklılık gösterdiği bildirilmiştir (Cao ve Wang, 2009). Asya levreği (*Lates calcarifer*) balığının sindirim kanalı mukus hücrelerinin, uygulanan tuz stresine bağlı olarak değişim göstermiştir (Purushothaman ve ark., 2006). Benzer şekilde, tuzluluk ve diyet bileşimine maruz bırakılan Nil Tilapia balığı mukus hücre sayısı ve yoğunluğunda artış olduğu ifade edilmiştir (Tran-Ngoc ve ark., 2017). Ayrıca sıcaklık, tuzluluk ve pH gibi çevresel faktörlerin mukus hücrelerinin sayısını, yoğunluğunu ve lokalizasyonu üzerinde belirleyici etkiler oluşturduğu bildirilmiştir (Roberts ve Powell, 2003; Peyghan ve Powell, 2016). Mevcut çalışmada farklı tuzluluk seviyelerine maruz bırakılan *Pseudotropheus acei* balığı sindirim kanalındaki mukus hücre yoğunluğunun arttığı ve yapılan statiksel analiz sonucunda hücre sayısında artış olduğu gözlemlendi. Bu artışın özellikle suyun fizikokimyasal değişimlerinden kaynaklı olabileceğini göstermektedir. Mevcut çalışmada, *Pseudotropheus acei* balıklarının farklı tuzluluk seviyelerine maruz bırakılması sonucunda bağırsak mukus hücrelerinin sayısında belirgin bir artış gözlemlenmiştir. Artan tuzluluk, hücre dışı ortamın ozmotik dengesini bozarak epitel hücrelerinde su kaybına ve buna bağlı stres tepkilerinin ortaya çıkmasına neden olmuş olabilir. Bu da mukus hücrelerinin sayısını artırarak mukus tabakasının yoğunluğunu yükselten adaptif bir yanıtın tetiklenmesine yol açmıştır. Bulgular, tuz stresinin bağırsak mukozasında hem histolojik hem de fonksiyonel değişikliklere neden olduğunu ve mukus tabakasının yoğunluğundaki artışın balığın sindirim kanalını koruma ve çevresel streslere karşı adaptasyon mekanizması olarak işlev gördüğünü desteklemektedir.

4. Sonuçlar ve Öneriler

Sonuç olarak, balıklarda mukus hücrelerinin içerik ve yoğunluğu, suyun pH, tuzluluk, sıcaklık, çözünmüş oksijen ve iletkenlik gibi çevresel faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. *Pseudotropheus acei* balıklarının sindirim kanalı mukus hücrelerindeki glikokonjugat içerikleri ve hücre yoğunluğu, artan tuzluluk seviyelerine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Bu değişimlerin, farklı su ortamlarına adaptasyondan kaynaklanan uyum mekanizmaları ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, tuz stresinin yol açtığı histolojik değişimler, türün çevresel tuzluluk toleransını ve mukus hücreleri ile epitel adaptasyon mekanizmalarını anlamak açısından önemli ekolojik bilgiler sunmakta; aynı zamanda akuakültürde su kalitesi yönetimi, mukus tabakası bütünlüğünün korunması ve balık sağlığının iyileştirilmesine yönelik stratejilerin geliştirilmesi için kritik bir temel oluşturabilir.

Teşekkür

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 2209-A üniversite öğrencileri araştırma destek programı kapsamında (1919B012213680 no'lu proje) desteklenmiştir.

Yazarların Katkısı

Yazar 1: Kaynaklar, Araştırma, Analiz, Yazma

Yazar 2: Kaynaklar, Araştırma, Analiz, Yazma

Yazar 3: Proje yöneticisi, Fikir sahibi, Araştırma, Analiz, Yazma

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Araştırma ve Yayın Etiği Beyanı

Yapılan çalışmada araştırma ve yayın etiğine uyulmuştur.

Kaynaklar

- Abdel-Latif, H. M., Ahmed, H. A., Shukry, M., Khafaga, A. F., Elkhayat, B. K., Abdel-Tawwab, M., and Abdelaziz, R. A. (2023). Growth Performance, Physiological Responses, and Histoarchitectural Changes in Juvenile Pangasianodon hypophthalmus under Different Environmental Salinities. *Fishes*, 8(6), 282.
- Banan Khojasteh, S. M. (2012). The morphology of the post-gastric alimentary canal in teleost fishes: a brief review. *International Journal of Aquatic Science*, 3(2), 71-88.
- Bezirci, G., Akkas, S. B., Rinke, K., Yildirim, F., Kalaylioglu, Z., Severcan, F., and Beklioglu, M. (2012). Impacts of salinity and fish-exuded kairomone on the survival and macromolecular profile of *Daphnia pulex*. *Ecotoxicology*, 21, 601-614. <https://doi.org/10.1007/s10646-011-0820-0>
- Cao, X.J., and Wang, W.M. (2009). Histology and mucin histochemistry of the digestive tract of yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 38, 254-261. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0264.2009.00932.x>
- Diaz, A. O., García, A. M., and Goldemberg, A. L. (2008). Glycoconjugates in the mucosa of the digestive tract of *Cynoscion guatucupa*: a histochemical study. *Acta Histochemica*, 110(1), 76-85. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2007.08.002>
- Domenechini, C., Straini, R. P., and 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.
- Domenechini, C., Arrighi, S., Radaelli, G., Bosi, G., and Veggetti, A. (2005). Histochemical analysis of glycoconjugate secretion in the alimentary canal of *Anguilla anguilla* L. *Acta histochemica*, 106(6), 477-487. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2004.07.007>
- Elia, A. C., Capucchio, M. T., Caldaroni, B., Magara, G., Dörr, A. J. M., Biasato, I., and Gasco, L. (2018). Influence of *Hermetia illucens* meal dietary inclusion on the histological traits, gut mucin composition

- and the oxidative stress biomarkers in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 496, 50-57. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.07.009>
- Evans, D. H., Piermarini, P. M., and 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. <https://doi.org/10.1152/physrev.00050.2003>
- Farrell, A. (2011). *Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment*. Academic Press, Cambridge, MA.
- Formicki, K., and Kirschbaum, F. (Eds.). (2019). *The histology of fishes*. CRC Press.
- Fridman, S., Bron, J., and Rana, K. (2012). Influence of salinity on embryogenesis, survival, growth and oxygen consumption in embryos and yolk-sac larvae of the Nile tilapia. *Aquaculture*, 334, 182-190. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.12.034>
- Genten, F., Terwinghe, E., & Danguy, A. (2009). *Atlas of fish histology*. CRC Press.
- Gonzalez Neves dos Santos, A. F., Neves dos Santos, L., and Gerson Araújo, F. (2011). Digestive tract morphology of the Neotropical piscivorous fish *Cichla kelberi* (Perciformes: Cichlidae) introduced into an oligotrophic Brazilian reservoir. *Revista de Biología Tropical*, 59(3), 1245-1255.
- Grau, A., Crespo, S., Sarasquete, M. C., and De Canales, M. G. (1992). The digestive tract of the amberjack *Seriola dumerili*, Risso: a light and scanning electron microscope study. *Journal of Fish Biology*, 41(2), 287-303. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1992.tb02658.x>
- Jeppesen, E., Brucet, S., Naselli-Flores, L., Papastergiadou, E., Stefanidis, K., Nøges, T., and Beklioglu, M. (2015). Ecological impacts of global warming and water abstraction on lakes and reservoirs due to changes in water level and related changes in salinity. *Hydrobiologia*, 750, 201-227. <https://doi.org/10.1007/s10750-014-2169-x>
- Johansson, M. E., Ambort, D., Pelaseyed, T., Schütte, A., Gustafsson, J. K., Ermund, A., and Hansson, G. C. (2011). Composition and functional role of the mucus layers in the intestine. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 68, 3635-3641. <https://doi.org/10.1007/s00018-011-0822-3>
- Johansson, M. E., Sjövall, H., and Hansson, G. C. (2013). The gastrointestinal mucus system in health and disease. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 10(6), 352-361. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.35>
- Jiang, Y., Yuan, C., Qi, M., Liu, Q., and Hu, Z. (2022). The Effect of Salinity Stress on Enzyme Activities, Histology, and Transcriptome of Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Biology*, 11(11), 1580. <https://doi.org/10.3390/biology11111580>
- Lai, S. K., Wang, Y. Y., and Hanes, J. (2009). Mucus-penetrating nanoparticles for drug and gene delivery to mucosal tissues. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61(2), 158-171. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2008.11.002>
- Lazado, C. C., and Caipang, C. M. A. (2014). Mucosal immunity and probiotics in fish. *Fish & shellfish immunology*, 39(1), 78-89. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.04.015>
- Leknes, I. L. (2015). Goblet cells and mucus types in the digestive intestine and respiratory intestine in bronze Corydoras (Callichthyidae: Teleostei). *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 44(5), 321-327.
- Lim, C. H., Bot, A. G., de Jonge, H. R., and Tilly, B. C. (2007). Osmosignaling and volume regulation in intestinal epithelial cells. *Methods in enzymology*, 428, 325-342. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(07\)28019-X](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(07)28019-X)
- Loretz, C. A. (1995). 2 Electrophysiology of ion transport in teleost intestinal cells. In *Fish physiology* (Vol. 14, pp. 25-56). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(08\)60241-1](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(08)60241-1)
- Luzzana, U., Valfrè, F., Mangiarotti, M., Domeneghini, C., Radaelli, G., Moretti, V. M., and Scolari, M. (2005). Evaluation of different protein sources in fingerling grey mullet *Mugil cephalus* practical diets. *Aquaculture International*, 13, 291-303. <https://doi.org/10.1007/s10499-004-3099-9>
- Morrison, C. M., and Wright Jr, J. R. (1999). A study of the histology of the digestive tract of the Nile tilapia. *Journal of Fish Biology*, 54(3), 597-606. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1999.tb00638.x>
- Ortiz-Delgado, J. B., Iglesias-Estévez, J., Sánchez-Conde, F. J., Cal, R., Lago-Rouco, M. J., Otero-Pinzas, J. J., and Sarasquete, C. (2012). A Morphohistological and Histochemical study of hatchery-reared European hake, *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758), during the lecito-exotrophic larval phase. *Centro Oceanográfico de Vigo*. <https://doi.org/10.3989/scimar.03424.03C>
- Overton, J. L., Bayley, M., Paulsen, H., and Wang, T. (2008). Salinity tolerance of cultured Eurasian perch, *Perca fluviatilis* L.: effects on growth and on survival as a function of temperature. *Aquaculture*, 277(3-4), 282-286. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.02.029>
- Paone, P., and Cani, P. D. (2020). Mucus barrier, mucins and gut microbiota: the expected slimy partners?. *Gut*, 69(12), 2232-2243. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-322260>

- Peterson-Curtis, T. L. (1997). Effects of salinity on survival, growth, metabolism, and behavior in juvenile hogchokers, *Trinectes maculatus fasciatus* (Achiridae). *Environmental Biology of Fishes*, 49, 323-331.
- Petrinec, Z., Nejedli, S., Kuzir, S., and Opacak, A. (2005). Mucosubstances of the digestive tract mucosa in northern pike (*Esox lucius* L.) and european catfish (*Silurus glanis* L.). *Veterinarski Arhiv*, 75(4), 317.
- Purushothaman, K., Lau, D., Saju, J. M., Sk, S. M., Lunny, D. P., Vij, S., and Orbán, L. (2016). Morpho-histological characterisation of the alimentary canal of an important food fish, Asian seabass (*Lates calcarifer*). *PeerJ*, 4, 2377-2397.
- Peyghan, R., and Powell, M. D. (2006). Histopathological study of gills in experimentally amoebic gill disease (AGD) infected Atlantic salmon, *Salmo salar*, L. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 7(4), 8-13.
- Roberton, A. M., and Wright, D. P. (1997). Bacterial glycosulphatases and sulphomucin degradation. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 11, 361-366. <https://doi.org/10.1155/1997/642360>
- Roberts, S. D., and 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.
- Salinas, I. (2015). The mucosal immune system of teleost fish. *Biology*, 4(3), 525-539. <https://doi.org/10.3390/biology4030525>
- Sanden, M., Berntssen, M. H. G., Kroghdahl, Å., Hemre, G. I., and Bakke-McKellep, A. M. (2005). An examination of the intestinal tract of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr fed different varieties of soy and maize. *Journal of Fish Diseases*, 28(6), 317-330. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2005.00618.x>
- Sarma, K., Prabakaran, K., Krishnan, P., Grinson, G., & Anand Kumar, A. (2013). Response of a freshwater air-breathing fish, *Clarias batrachus* to salinity stress: an experimental case for their farming in brackishwater areas in Andaman, India. *Aquaculture International*, 21(1), 183-196.
- 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. <https://doi.org/10.4081/1637>
- Shephard, K. L. (1994). Functions for fish mucus. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 4, 401-429. <https://doi.org/10.1007/BF00042888>
- Shi Ge, S. G., Wang JianXin, W. J., Liu XueZhu, L. X., and Wang RiXin, W. R. (2007). Study on the histology and histochemistry of the digestive tract of *Sebastiscus marmoratus*. *Journal of Fisheries of China*, 31, 293-302.
- Sellner, K. G., Lacouture, B. R., and Parrish, C. R. (1988). Effects of increasing salinity on a cyanobacteria bloom in the Potomac River estuary. *Journal of Plankton Research*, 10(1), 49-61. <https://doi.org/10.1093/plankt/10.1.49>
- Smith, H. W. (1930). The absorption and excretion of water and salts by marine teleosts. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 93(2), 480-505. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1930.93.2.480>
- Stolfi, C., Maresca, C., Monteleone, G., and Laudisi, F. (2022). Implication of intestinal barrier dysfunction in gut dysbiosis and diseases. *Biomedicines*, 10(2), 289. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10020289>
- Suresh, A. V., and Lin, C. K. (1992). Tilapia culture in saline waters: a review. *Aquaculture*, 106(3-4), 201-226. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(92\)90253-H](https://doi.org/10.1016/0044-8486(92)90253-H)
- Takashima F, Hibiya T (1995). An atlas of fish histology. Normal and pathological features, second ed. Kodansha Ltd., Tokyo.
- Tibbetts, I. R. (1997). The distribution and function of mucous cells and their secretions in the alimentary tract of *Arrhamphus sclerolepis krefftii*. *Journal of Fish Biology*, 50(4), 809-820. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1997.tb01974.x>
- Tran-Ngoc, K. T., Schrama, J. W., Le, M. T., Nguyen, T. H., Roem, A. J., and Verreth, J. A. (2017). Salinity and diet composition affect digestibility and intestinal morphology in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 469, 36-43. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.11.037>
- Uribe, R., and 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.
- Vidal, M. R., Ruiz, T. F., Dos Santos, D. D., Gardinal, M. V., de Jesus, F. L., Faccioli, C.K., and Vicentini, C.A. (2020). Morphological and histochemical characterisation of the mucosa of the digestive tract in matrinxã *Brycon amazonicus* (Teleostei: *Characiformes*). *Journal of Fish Biology*, 96(1), 251-260. <https://doi.org/10.1111/jfb.14217>