

Karacaören II Baraj Gölü'nde Yaşayan Sudak Balığı (*Sander lucioperca*) Solungaçlarında Bazı Histokimyasal Değerlendirmeler**

*Seval Kelek

Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Merkez, 32260, Isparta, Türkiye
*E mail: seval.k85@gmail.com

Abstract: Histochemical Structure of the Gills of Sander (*Sander lucioperca*) in Karacaören Dam Lake. In this study, it was aimed to determine that glycoconjugates features of gills of sander fish (*Sander lucioperca*) living these lake as physicochemical properties and heavy metal effects on rates of Karacaören II Dam Lake. It was determined that acidic and O-sulphated ester glycoconjugates were showed strong reaction in mucus cells in all regions of the gill. Carboxylic and neutral glycoconjugates of the gills were not observed only the mucus cells oriented in the secondary lamellae. As a result of the applied staining methods was found to be more than the number of combined with a mixture of mucus cells.

Key Words: Glycoconjugate, gill, histochemistry, Karacaören, *Sander lucioperca*

Özet: Bu çalışmada Karacaören II Baraj Gölü'nün fizikokimyasal ve ağır metal oranları verilerek bu gölde yaşayan Sudak balığı (*Sander lucioperca*) solungaçlarının glikokonjugat özelliklerinin belirlenmesi amaçlandı. Solungacın bütün bölgelerindeki mukus hücrelerinin asidik ve O-sülfat esterli glikokonjugatlara karşı güçlü reaksiyon gösterdiği belirlendi. Karboksilli ve nötral glikokonjugatların solungaçların sadece sekonder lamellerindeki mukus hücrelerinde gözlenmediği saptandı. Uygulanan kombine boyama yöntemleri sonucunda karışım halinde bulunan mukus hücrelerinin sayısının fazla olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: Glikokonjugat, histokimya, Karacaören, *Sander lucioperca*, solungaç

**Bu araştırma Yüksek lisans tezi olup BAP YL-2033 no'lu proje ile desteklenmiştir.

Giriş

Balıklarda solungaçlar hava ile kan arasında gaz değişimini sağlayan yapılar olarak (Geldiay ve Balık, 1999; Sarihan ve Cengizler, 2006); akciğerler gibi kanın oksijence zenginleştiği yerlerdir (Timur, 2006). Suyula doğrudan temas eden bu yapıların epitelinde bulunan mukus hücreleri tarafından salgılanan mukus maddesi, patojen mikroorganizmalara karşı fiziksel bir bariyer oluşturmasının yanı sıra lubrikasyon, solunum, iyon regülasyonu ve difüzyon gibi süreçlerde de rol oynar (Shephard, 1994; Domenechini ve diğ. 2004; Zayed ve Mohamed, 2004).

Balık solungaçlarının histokimyasal yapısını belirlemek üzere yapılan histolojik (Tao ve diğ. 1999; Rodriguez ve diğ. 2002; Roberts ve Powell, 2003; Arellano ve diğ. 2004; Calabro ve diğ. 2005; Diaz ve diğ. 2005; Çınar ve diğ. 2008; Çınar ve diğ. 2009) ve lektin histokimya çalışmaları (Burkhardt-Holm, 1997; Xu ve diğ. 2001; Jung ve diğ. 2002; Mittal ve diğ. 2004) sonucunda mukus bileşenleri olan musinlerin karakterleri ortaya konmuştur.

Bu çalışmada Karacaören II Baraj Gölü'nün fizikokimyasal ve ağır metal oranları verilerek bu gölden toplanan Sudak balığı (*Sander lucioperca*) solungaçlarının glikokonjugat özelliklerinin belirlenmesi amaçlandı.

Materyal ve Yöntem

Çalışmada 2010 yılı Mart ayında Karacaören II Baraj Gölü'nden toplanan 5 adet erişkin (+2) Sudak balığı (*Sander lucioperca*) örneğine ait solungaçlar materyal olarak kullanıldı. Solungaç örnekleri 24 saat süreyle %10' luk formaldehit solusyonunda tesbit edildi. Yıkama işleminden sonra rutin histolojik doku takibinden geçirilen örnekler parafinde bloklandı. Parafin bloklardan 6-7µm kalınlığında alınan kesitlere genel histolojik yapının belirlenmesi için Hematoksilin-Eosin (Culling ve diğ. 1976) boyama yöntemi uygulandı. Çalışılan bölgelerin glikokonjugat özelliklerinin belirlenmesi için de aşağıda belirtilen boyama yöntemleri kullanıldı:

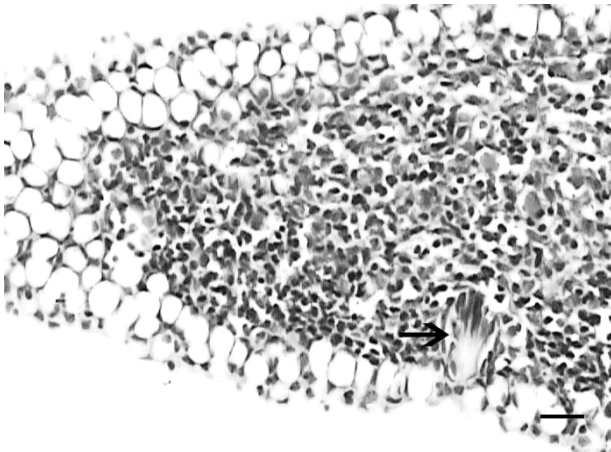
1. Nötral glikokonjugatların belirlenmesinde Periyodik asit-Shiff (PAS) metodu (McManus, 1948);
2. Asidik glikokonjugatların belirlenmesinde Alsiyan Blue (AB) pH 2.5 metodu (Lev ve Spicer, 1964);
3. Nötral ve asidik glikokonjugat kompozisyonunun karşılaştırılmasında PAS/AB pH 2.5 metodu (Mowry, 1956);
4. Güçlü sülfatlı glikokonjugatların belirlenmesinde AB pH 0.5 metodu (Lev ve Spicer, 1964);

5. O- sülfat esterli glikokonjugatların belirlenmesinde AB pH 1.0 metodu (Lev ve Spicer, 1964);
6. Sülfatlı asidik glikokonjugatların belirlenmesinde Aldehit Fuksin (AF) metodu (Gomari, 1952);
7. Sülfatlı ve asidik glikokonjugat kompozisyonunun karşılaştırılmasında AF/AB pH 2.5 metodu (Spicer ve Mayer, 1960);
8. Siyalik asitli glikokonjugatların belirlenmesinde KOH/PAS (Saponifikasyon) metodu (Culling ve diğ. 1976);
9. Sülfatlı glikokonjugatların belirlenmesinde Metilasyon/AB pH 2.5 metodu (Spicer, 1960);
10. Karboksilli glikokonjugatların belirlenmesinde Metilasyon/KOH/AB pH 2.5 metodu (Spicer ve Lillie, 1959).

Hazırlanan preparatlar Olympus CX 41 tipi ışık mikroskopunda incelenecek ve ilgili kısımlardan fotoğraf çekimi yapıldı. Kirillik derecesinin tayini için balık örneklerinin toplandığı bölgeden alınan su örneklerinin fizikokimyasal analiz sonuçları Devlet Su İşleri (DSİ) ve ağır metal analizleri Proaktif Su A.Ş.' den temin edildi.

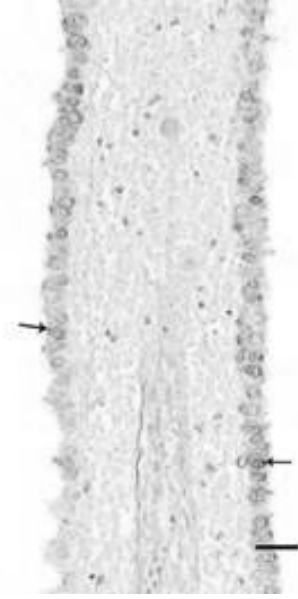
Bulgular

Karacaören II Baraj Gölü'nden alınan su örneklerinin analiz sonuçları Tablo 1'de ağır metal analiz sonuçları ise Tablo 2'de verilmiştir. Karacaören II Baraj Gölü'nden temin edilen balıklara ait solungaç mukus hücrelerinin primer ve sekonder lameller ile primer uçlardaki yoğunlukları Tablo 3'de, bu hücrelerin uygulanan boyama yöntemlerine gösterdikleri reaksiyon şiddeti ise Tablo 4'de verilmiştir. Çalışılan örneklerin solungaçlarında primer ve sekonder lamellerin uçlarında çok sayıda genişlemiş kan damarına rastlandı. Primer lamel uçlarında ayrıca tat tomurcukları (Şekil 1) gözlemlendi.

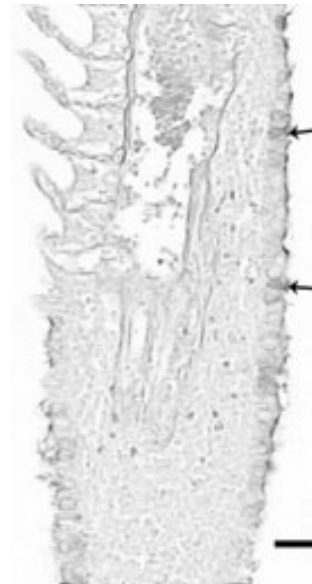


Şekil 1. Primer lamel ucunda tat tomurcuğu (ok). HE. Bar: 50 µm.

PAS metodu uygulamasında primer lamellerin uçlarında yerleşim gösteren mukus hücre sayısının orta yoğunlukta olduğu ve güçlü reaksiyon gösterdikleri belirlendi. Primer lamellerin orta (Şekil 2) ve dip (Şekil 3) bölgelerinde daha yoğun olarak bulunan mukus hücrelerinin reaksiyonları da güçlüydü. Sekonder lamellerde ise bu boyama yöntemine karşı reaksiyon gözlenmedi.



Şekil 2. Primer lamelin orta kısmında yoğun olarak bulunan ve güçlü reaksiyon gösteren PAS (+) (oklar) mukus hücreleri. PAS. Bar: 50 µm.



Şekil 3. Primer lamelin dip bölgesinde yoğun olarak bulunan ve güçlü reaksiyon gösteren PAS (+) mukus hücreleri (oklar). PAS. Bar: 50 µm.

Tablo 1. Alınan su numunelerine ait analiz sonuçları

| SİMGE | BİRİM | PARAMETRELER | KARACAÖREN II BARAJ GÖLÜ |
|-------------------|----------------------|-------------------------------|--------------------------|
| T | °C | Sıcaklık | 22 |
| pH | /N | /N | 8,12 |
| EC | Mohm/cm | Elektriksel İletkenlik | 37,4 |
| TDS | mg/l | Toplam çözünen madde | 232 |
| SS | mg/l | Askıdaki katılar | 3 |
| Turb | NTU | Bulanıklık | 4 |
| Col | Pt-Co | Renk | 5 |
| Cl | mg/l | Klorür | 8,86 |
| NH3-N | mg/l | Amonyum Azotu | 0,013 |
| NO2-N | mg/l | Nitrit azotu | 0,006 |
| NO3-N | mg/l | Nitrat azotu | 0,190 |
| DO | mg O ₂ /l | Çözünmüş oksijen | 9,0 |
| BOD5 | mg/l | Biyokimyasal oksijen ihtiyacı | 6,0 |
| TH | mg/l | Toplam Sertlik | 186,5 |
| o-PO ₄ | mg/l | Orta-Fosfat | 0,00 |
| SO ₄ | mg/l | Sülfat | 10,2 |
| Na | mg/l | Sodyum | 9,6 |
| K | mg/l | Potasyum | 1,6 |
| Ca | mg/l | Kalsiyum | 48,90 |
| Mg | mg/l | Magnezyum | 15,79 |
| COD | mg/l | Kimyasal Oksijen İhtiyacı | 6,2 |
| TKN | mg/l | Toplam Kjeldahl Azotu | 0,62 |
| Top.P | mg/l | Toplam Fosfor | 0,049 |
| Top.N | mg/l | Toplam Azot | 1,020 |

Tablo 2. Alınan su numunelerinde ağır metal analiz sonuçları

| Örnek | Cu | Pb | Zn | Fe | Al | Mn | Cr | Cd | Hg | B |
|--------------------------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Karacaören II Baraj Gölü | 0,04 | 0,05 | 0,07 | <0,01 | <0,01 | <0,01 | <0,01 | <0,01 | <0,01 | <0,01 |

Cu, bakır; Pb, kurşun; Zn, kalay; Fe, demir; Al, alüminyum; Mn, manganez; Cr, krom; Cd, Kadmiyum; Hg, civa; B, bor.

Tablo 3. Sudak balığı solungaçlarının primer ve sekonder lameller ve primer uçlarda dağılım gösteren mukus hücreler yoğunluğu

| Boyama Metotları | Mukus Hücrelerin Yoğunluğu | | | |
|--------------------------|----------------------------|-------------|--------------|----------------|
| | Primer dip | Primer orta | Primer uç | Sekonder lamel |
| PAS | +++ | +++ | ++ | - |
| AB pH 2.5 | +++ | +++ | +++ | + |
| AB pH 2.5/PAS | K+++ | K+++ | AB*+ K+++ | AB+ |
| AB pH 1.0 | +++ | +++ | +++ | + |
| AB pH 0.5 | +++ | +++ | +++ | + |
| AF | +++ | +++ | +++ | + |
| AF/AB pH 2.5 | K+++ | K+++ | K+++ | K+++ AF+ |
| KOH/PAS | - | - | +++ | - |
| Metilasyon/AB pH 2.5 | +++ | +++ | +++ | + |
| Metilasyon/KOH/AB pH 2.5 | +++ | +++ | +++ | - |

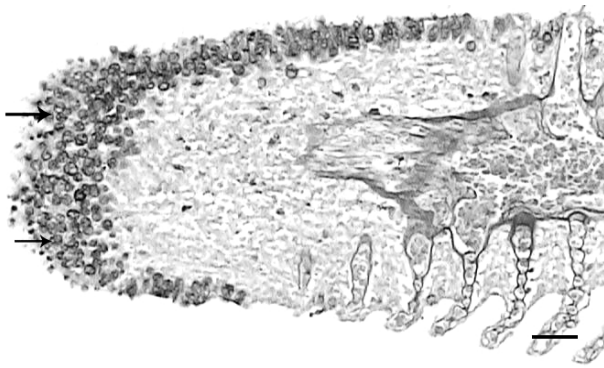
PAS: Periyodik asid-Schiff, AB: Alsiyan blue, AF: Aldehit fuksin, K: Karışım
+++ yoğun, ++ orta, + az, - yok, * baskın

Tablo 4. Sudak balığı solungaçların primer ve sekonder lamellerde ve primer uçlarda dağılım gösteren mukus hücrelerin farklı boyama yöntemlerine karşı gösterdiği reaksiyon şiddeti

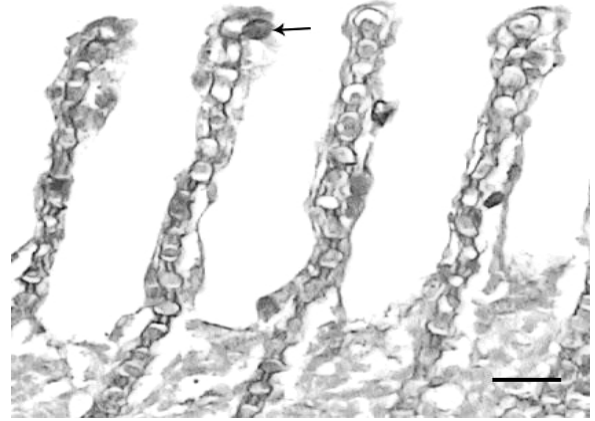
| Boyama Metotları | Mukus Hücrelerin Boyanma Özelliği | | | |
|--------------------------|-----------------------------------|-------------|-----------|----------------|
| | Primer dip | Primer orta | Primer uç | Sekonder lamel |
| PAS | +++ | +++ | +++ | - |
| AB pH 2.5 | +++ | +++ | +++ | +++ |
| AB pH 2.5/PAS | AB, K | AB, K | AB, K | AB, K |
| AB pH 1.0 | +++ | +++ | +++ | +++ |
| AB pH 0.5 | +++ | ++ | ++ | +++ |
| AF | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| AF/AB pH 2.5 | K | K | K | K, AF |
| KOH/PAS | - | - | +++ | - |
| Metilasyon/AB pH 2.5 | +++ | ++ | ++ | +++ |
| Metilasyon/KOH/AB pH 2.5 | +++ | +++ | +++ | - |

PAS: Periyodik asid-Schiff, AB: Alsiyan blue, AF: Aldehit fuksin, K: Karışım
 ++++ çok güçlü, +++ güçlü, ++ orta, + zayıf, - negatif, * baskın

AB pH 2.5 uygulamasına (+) yanıt veren mukus hücrelerinin primer lamellerin uçlarında çok, sekonder lamellerde ise az sayıda olduğu ve güçlü reaksiyon gösterdikleri saptandı. Bu yöntemle solungacın primer lamelleri boyunca yerleşen çok sayıda mukus hücrelerinin hem asidik, hem de nötral glikokonjugatlar içerdiği, ayrıca primer lamel uçlarındaki (Şekil 4) az sayıda hücrede de AB pH 2.5 (+) glikokonjugat bulunduğu sonucuna varıldı. Sekonder lamellerde ise AB pH 2.5 (+) baskın hücrelere rastlandı (Şekil 5).

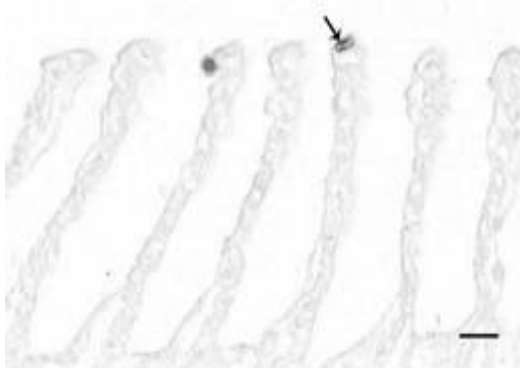


Şekil 4. Primer lamel ucunda nötral ve asidik glikokonjugatları birlikte içeren mukus hücresi (oklar). AB pH 2.5/PAS. Bar: 50 µm.



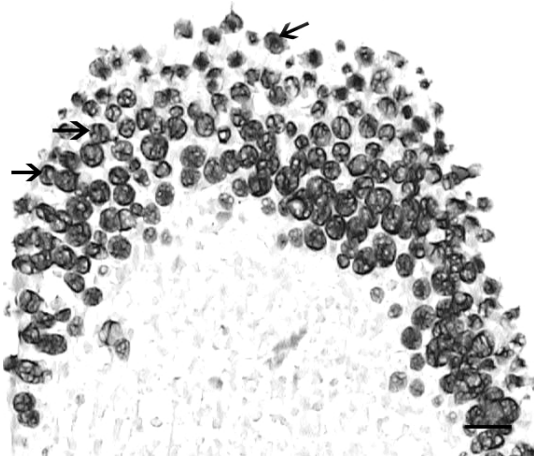
Şekil 5. Sekonder lamellerde AB pH 2.5 (+) baskın mukus hücresi (ok). AB pH 2.5/PAS. Bar: 50µm.

AB pH 1.0 boyama yönteminde solungacın primer lamel uçlarında yerleşim gösteren çok sayıda mukus hücrelerinin güçlü reaksiyon gösterdiği belirlendi. Sekonder lamellerde (Şekil 6) az sayıda bulunan bu hücrelerin güçlü reaksiyon gösterdiği tesbit edildi. Primer lamellerin orta ve dip bölgelerinde yoğun olarak bulunan mukus hücreleri de güçlü reaksiyon gösterdi.



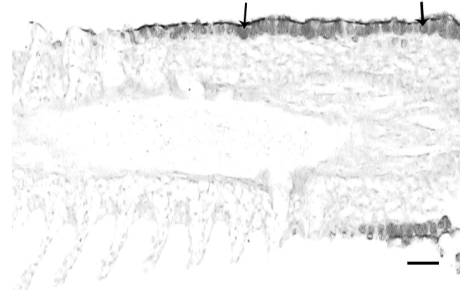
Şekil 6. Sekonder lamellerde güçlü AB pH 1.0 mukus hücresi (ok). AB pH 1.0. Bar: 50 µm.

AB pH 0.5 metodu ile primer lamellerin uç ve orta bölgelerindeki mukus hücrelerinde orta yoğunlukta, sekonder lamellerde ve primer lamellerin dip bölgelerindeki hücrelerde ise güçlü reaksiyon gözlemlendi. AB pH 0.5 (+) hücrelerin primer lamellerin tümünde çok, sekonder lamellerde ise az sayıda olduğu tespit edildi. AF uygulaması sonucunda solungaçın bütün bölgelerinde çok güçlü reaksiyon izlendi. Primer lamel boyunca yoğun olan mukus hücrelerinin sekonder lamellerde oldukça az sayıda olduğu tespit edildi. AF/AB pH 2.5 metodu ile de, primer lameller boyunca ve sekonder lamellerde AF ve AB (+) glikokonjugatları içeren mukus hücrelerinin çok sayıda olduğu (Şekil 7), aynı zamanda sekonder lamellerde az sayıda hücrede ise sadece AF (+) glikokonjugat bulunduğu gözlemlendi.



Şekil 7. Primer lamel ucunda AF ve AB (+) glikokonjugatları eşit miktarda içeren mukus hücreleri (oklar). AF/AB pH 2.5. Bar: 50 µm.

KOH/PAS metodu sonucunda sadece primer uçlardaki çok sayıda mukus hücresinde güçlü reaksiyon belirlendi. Metilasyon/AB pH 2.5 uygulamasında solungaç primer lamellerinin uç ve orta bölgelerinde bulunan mukus hücrelerinde orta, primer lamellerin dip kısımları (Şekil 8) ile sekonder lamellerdeki hücrelerin ise güçlü reaksiyon gösterdiği belirlendi. Bu hücrelerin primer lameller boyunca çok, sekonder lamellerde ise az sayıda oldukları tesbit edildi.



Şekil 8. Primer lamelin dip bölgesinde güçlü reaksiyon gösteren mukus hücreleri (oklar). Metilasyon/AB pH 2.5. Bar: 50 µm.

Metilasyon/KOH/AB pH 2.5 boyama yöntemi sonucunda solungaçların primer lamellerinde pozitif reaksiyon gösteren mukus hücrelerinin çok sayıda ve reaksiyon şiddetinin de güçlü olduğu sonucuna varıldı. Sekonder lamellerde ise bu hücrelere rastlanmadı.

Tartışma ve Sonuç

Solungaç epitelinde yerleşen mukus hücreleri sayısal ve morfolojik açıdan pH, tuzluluk, sıcaklık, yüksek amonyak konsantrasyonu ve ağır metaller gibi farklı ortam şartlarından etkilenirler. Yapılan farklı çalışmalarda mukus hücre sayısının bakteriyel solungaç hastalığı (Ferguson ve diğ., 1992), amoebik solungaç hastalığı (Roberts ve Powell, 2003), yüksek amonyak konsantrasyonu (Ferguson ve diğ., 1992), tuzluluk (Bordas ve diğ., 2003), asidite (Ledy ve diğ., 2003), yüksek basınç ve düşük sıcaklık (Dunel ve diğ., 1996) gibi farklı değişkenlere göre artış gösterdiği bildirilmiştir.

Calabro ve diğ., (2005) *Coelorrhynchus coelorrhynchus* solungaçlarının primer ve sekonder lamellerinde PAS (+) hücreler bulunduğunu bildirmişlerdir. *Dicentrarchus labrax* (Diler ve Çınar, 2009a), *Gara rufa* (Diler ve Çınar, 2009b) ve *Aphanius anatoliae sureyanus* (Diler ve Çınar, 2010) türlerinde primer lamellerdeki mukus hücrelerinin güçlü PAS(+) reaksiyon, buna karşın *Solea senegalensis* türünde bazı mukus hücrelerinin zayıf reaksiyon gösterdiği bildirilmiştir (Arellano ve diğ., 2004). Sunulan çalışmada ise primer lamellerdeki mukus hücrelerinde PAS (+) hücrelerin güçlü reaksiyon gösterdiği ortaya konmuştur.

Pleuronectes platessa L., *Platichthys flesus* L. ve *Salmo gairdneri richardson* (Fletcher ve diğ., 1976); *Micropogonias furnieri* (Diaz ve diğ., 2001; Diaz ve diğ., 2005); *Dicentrarchus labrax* (Diler ve Çınar, 2009a) ve *Gara rufa* (Diler ve Çınar, 2009b) primer ve sekonder lamellerdeki mukus hücrelerinin hem nötral, hem de asidik glikokonjugatları eşit miktarda bulundukları rapor edilmiştir. Bunun yanısıra *Odontesthes bonariensis* türünde mukus hücrelerin sadece asidik glikokonjugat içerdikleri öne sürülmüştür (Vigliano ve diğ., 2006). *Cyprinus carpio* solungaçlarında da asidik glikokonjugatların baskın olduğu bildirilmektedir (Çınar ve diğ.,

2008). Sunulan çalışmada, AB pH 2.5/PAS uygulama sonuçlarına göre primer ve sekonder lamellerdeki bazı hücrelerde asidik ve nötral glikokonjugatlar eşit miktarda değerlendirilirken, sadece asidik glikokonjugatlar içeren hücrelerin de bulunduğu belirlenmiştir.

KOH/PAS uygulaması sonucunda *Micropogonias furnieri* (Diaz ve diğ., 2005), *Cyprinus carpio* (Çınar ve diğ., 2008), *Aphanius anatoliae sureyanus* (Diler ve Çınar, 2010) primer lamellerdeki mukus hücrelerin orta şiddette reaksiyon gösterdiği, *Gara rufa* (Diler ve Çınar, 2009b) primer ve sekonder lamellerdeki mukus hücrelerinin bu yönteme karşı güçlü reaksiyon verdikleri kaydedilmiştir. Bu çalışmada ise solungaçların sadece primer lamel uçlarındaki mukus hücrelerinde güçlü reaksiyon gösterdiği ortaya konmuştur.

Cynoscion guatucupa (Diaz ve diğ., 2005) solungaçlarında mukus hücrelerinin AB pH 1.0 ve 0.5 uygulamaları sonucunda orta; *Solea senegalensis* (Arellano ve diğ., 2004) bazı mukus hücrelerinde güçlü; *Gara rufa* (Diler ve Çınar, 2009b) ve *Pseudophoxinus antalyae* türünde ise bazı mukus hücrelerinde zayıf reaksiyon izlendiği rapor edilmiştir (Çınar ve diğ., 2009). *Cyprinus carpio* (Çınar ve diğ., 2008) solungaçlarında ise durum daha da karmaşıktır, AB pH 0.5 ve 1.0 uygulamalarına karşı primer lamellerin orta, sekonder lamellerin zayıf şiddette reaksiyon gösterdiği belirtilmiştir. Bu farklı raporlara ek olarak, *Aphanius anatoliae sureyanus* türünde yapılan çalışmada (Diler ve Çınar, 2010) primer lamellerdeki mukus hücrelerinin AB pH 0.5 ve 1.0 uygulamasına reaksiyon göstermediği; *Dicentrarchus labrax* (Diler ve Çınar, 2009a) solungaçlarında da AB pH 1.0 (+) hücrelerin bulunmadığı bildirilmektedir. Sunulan çalışmada ise solungaç mukus hücrelerinin çoğunda güçlü reaksiyon izlenmiştir.

Cyprinus carpio (Çınar ve diğ., 2008) solungaçlarında ise sülfatlı asidik glikokonjugatlar içeren mukus hücrelerinin primer lamellerde orta, sekonder lamellerde zayıf şiddette reaksiyon gösterdiği bildirilmektedir. Diler ve Çınar (2010) *Aphanius anatoliae sureyanus* türünde aynı yönteme karşı primer lamellerdeki mukus hücrelerinin zayıf reaksiyon verdiğini belirtmektedirler. Diler ve Çınar ise (2009b) *Gara rufa*'da primer lamellerin uç bölgelerindeki çoğu hücrenin zayıf, sekonder lameller arasında kalan az sayıda hücrenin ise orta şiddette reaksiyon verdiğini kaydetmektedirler. Sunulan çalışmada solungaçların bütün bölgelerindeki mukus hücrelerinde çok güçlü reaksiyon gözlenmiştir.

Dicentrarchus labrax (Diler ve Çınar, 2009a), *Gara rufa* (Diler ve Çınar, 2009b) ve *Aphanius anatoliae sureyanus* (Diler ve Çınar, 2010) primer lamellerdeki bazı hücrelerde asidik glikokonjugat içeriğinin diğer glikokonjugata göre baskın; *Pseudophoxinus antalyae* (Çınar ve diğ., 2009) sadece AB pH 2.5 (+), *Cyprinus carpio* (Çınar ve diğ., 2008) ve *Odontesthes bonariensis* (Vigliano ve diğ., 2006) ise sadece AF (+) reaksiyon verdiğini belirtmiştir. Bu çalışmada ise solungaç mukus hücrelerinde hem asidik, hem de sülfatlı glikokonjugatların eşit yoğunlukta bulunduğu belirlendi.

Sonuç olarak Karacaören II Baraj Gölü'nden toplanan balıkların solungaçlarına uygulanan histokimyasal yöntemlerle, glikokonjugatların primer lamellerdeki mukus hücrelerinde sayısal ve reaksiyon şiddeti bakımından sekonder lamelere oranla oldukça yoğun oldukları tespit edildi. Ayrıca, primer ve sekonder lamel uçlarda çok sayıda genişlemiş kan damarına ve primer lamel uçlarda tat tomurcuklarına rastlanması, Karacaören II Baraj Gölü'nün fizikokimyasal değerleri ve ağır metal oranlarından kaynaklanıyor olacağı kanısındayız.

Kaynakça

- Arellano JM, Storch V, Sarasquete C (2004): Ultrastructural and histochemical study on gills and skin of the Senegal sole, *Solea senegalensis*. *J Appl Ich*, 20, 452-460.
- Bordas MA, Balebona MC, Chabrillon M, Rodriguez-Maroto JM, Morinigo MA (2003): Influence of temperature and salinity on the adhesion to mucous surfaces of gilt-head seabream (*Sparus auratus* L.) of pathogenic strains of *Vibrio alginolyticus* and *Listonella anguillarum*. *Bull Eur Assoc Fish Pathol*, 23, 273-280.
- Burkhardt-Holm P (1997): Lectin histochemistry of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gill and skin. *Histochem J*, 29, 893-899.
- Calabro C, Albanese MP, Lauriano ER, Martella S, Licata A (2005): Morphological, histochemical and immunohistochemical study of the gill epithelium in the abyssal teleost fish *Coelorrhynchus coelorrhynchus*. *Folia Histochem Cytobiol*, 43(1): 51-56.
- Culling CFA, Reid PE, Dunn WL (1976): A new histochemical method for the identification and visualization of both side chain acylated and non-acylated sialic acids. *J Histochem Cytochem*, 24, 1225-1230.
- Çınar K, Şenol N, Özen MR (2008): Histochemical characterization of glycoproteins in the gills of the carp (*Cyprinus carpio*). *AÜ Vet Fak Derg*, 55, 61-64.
- Çınar K, Aksoy A, Emre Y, Aşti RN (2009): The histology and histochemical aspects of gills of the flower fish, *Pseudophoxinus antalyae*. *Vet Res Commun*, 33, 453-460.
- Diaz AO, Garcia AM, Devinenti CV, Goldemberg AL (2001): Mucous cells in *Micropogonias furnieri* gills: Histochemistry and ultrastructure. *Anat Histol Embryol*, 30, 135-139.
- Diaz AO, Garcia AM, Devinenti CV, Goldemberg AL (2005): Ultrastructure and histochemical study of glycoconjugates in the gills of the white croaker (*micropogonias furnieri*). *Anat Histol Embryol*, 34, 117-122.
- Diler D, Çınar K (2009a): A histochemical study of glycoconjugates in the gills of the bass (*Dicentrarchus labrax* L. 1758). *Gazi Uni J Sci*, 22 (4): 257-261.
- Diler D, Çınar K (2009b): The histochemical study of mucous cells in the gills of the (*Gara rufa*). *EÜ FBE Derg*, 2 (1): 51-60.
- Diler D, Çınar K (2010): Histochemical characterization of glycoconjugates in the gills of the *Aphanius anatoliae sureyanus* (Neu, 1937) (Osteichthyes: Cyprinodontidae). *MAKÜ FBE Derg*, 1, 1-8.
- Domenechini C, Pannelli Straini R, Veggetti A (1998): Gut glycoconjugates in *Sparus aurata* L. (Pisces, Teleostei). A comparative histochemical study in larval and adult ages. *Histol Histopathol*, 13, 359-372.
- Dunel EB, Sebest P, Chevalier C, Simon B, Bart HL (1996): Morphological changes induced by acclimation high pressure in the gill epithelium of the freshwater Yellow Eel. *J Fish Biol*, 48, 1018-1022.
- Ferguson HW, Morrison D, Ostland VE, Lumsden J, Byrne P (1992): Response of mucus-producing cell in gill disease of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J Comp Pathol*, 106, 255-265.
- Fletcher TC, Jones R, Reid L (1976): Identification of glycoproteins in goblet cells of epidermis and gill of plaice (*Pleuronectes platessa* L.), flounder (*Platichthys flesus* L.) and rainbow trout (*Salmo gairdneri richardson*). *Histochem J*, 8, 597-608.
- Geldiay R, Balık S (1999): Fresh water fishes in Turkey (in Turkish). 532. Ege üniversitesi basımevi, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No: 46. İzmir.
- Gomari G (1952): Gomari's aldehyde fuchsin stain, CFA Culling, RT Allison, WT Barr, In: Cellular Pathology Technique Butterworths, 238, London.

- Jung KS, Ahn MJ, Lee YD, Go GM, Shin TK (2002): Histochemistry of six lectins in the tissues of the flat *Paralichthys olivaceus*. *J Vet Sci*, 3(4): 293-301.
- Ledy K, Giamberini L, Pihan PC (2003): Mucous cell responses in gill and skin of Brown trout *Salmo trutta fario* in acidic, aluminium containing stream water. *Dis Aquat Organ*, 56, 235-240.
- 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.
- Mittal S, Mittal P, Mittal Kumar A (2004): Operculum of peppered loach, *Lepidocephalichthys guntea* (Hamilton, 1822) (Cobitidae, Cypriniformes) : a scanning electron microscopic and histochemical investigation. *Belgian J Zool*, 134(1): 9-15.
- Mowry RW (1956): Alcian blue techniques for the histochemical study of acidic carbohydrates. *J Histochem Cytochem*, 4, 407-408.
- Roberts SD, Powell MD (2003): Comparative ionic flux and gill mucous cell histochemistry: effects of salinity and disease status in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Comp Biochem Physiol Part A*, 134, 525-537.
- Rodriguez MR, Ordóñez FJ, Rosety M, Rosety JM, Rosety I, Ribelles A, Carrasco C (2002): Morpho-histochemical changes in the gills of turbot, *Scophthalmus maximus* L., induced by sodium dodecyl sulfate. *Ecotoxicol Environ Saf*, 51, 223-228.
- Sarıhan E, Cengizler İ (2006): Fish anatomy and physiology (in Turkish). Nobel kitabevi, Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Adana. 172s.
- Shephard KL (1994): Functions for fish mucus. *Rev Fish Biol*, 4, 401-429.
- Spicer SS, Lillie RD (1959): Saponification as a means of selectively reversing the methylation blockade of tissue basophilia. *J Histochem Cytochem*, 7, 123-125.
- Spicer SS (1960): A correlative study of the histochemical properties of rodent acid mucopolysaccharides. *J Histochem Cytochem*, 8, 18-35.
- Spicer SS, Mayer DR 1960: Aldehyde fuchsin/Alcian blue. CFA Culling, RT Allison, WT Barr, In: *Cellular Pathology Technique*, 233, Butterworths, London.
- Tao S, Liu C, Dawson R, Cao J, Li B (1999): Uptake of particulate lead via the gills of fish (*Carassius auratus*). *Arch Environ Contam Toxicol*, 37, 352-357.
- Timur M (2006): Fish physiology (in Turkish). Nobel Basımevi, Ankara. 192s.
- Xu DH, Klesius PH, Shoemaker CA (2001): Effect of lectins on the invasion of *Ichthyophthirius theront* to channel catfish tissue. *Dis Aquat Organ*, 45, 115-120.
- Vigliano FA, Aleman N, Quiroga MI, Nieto JM (2006): Ultrastructural characterization of gills in the juveniles of the Argentinian Silverside, *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes, 1835) (Teleostei: Atheriniformes). *Anat Histol Embryol*, 35, 76-83.
- Zayed AE, Mohamed SA (2004): Morphological study on the gills of two species of fresh water fishes: *Oreochromis niloticus* and *Clarias gariepinus*. *Ann Anat*, 186, 295-304.

