



## 抑制肠道气呼吸大鳞副泥鳅主要呼吸器官的组织病理

王玟秀<sup>1</sup>, 秦真东<sup>1</sup>, Sarath Babu V<sup>1</sup>, 周萌<sup>1</sup>, 梁日深<sup>1</sup>, 莫金凤<sup>1</sup>,  
吴灶和<sup>1</sup>, 张轩<sup>2</sup>, 赵丽娟<sup>1\*</sup>, 林鑫<sup>1\*</sup>

(1. 仲恺农业工程学院动物科技学院, 广东省水环境与水产品安全工程技术研究中心,  
广州市水产病害与水禽养殖重点实验室, 广东 广州 510225;  
2. 广州市华轩水产有限公司, 广东 广州 528200)

**摘要:** 为了阐明肠道气呼吸对泥鳅的生理作用, 本研究通过抑制大鳞副泥鳅肠道气呼吸, 探究其主要呼吸器官的组织病理变化。结果显示, 被抑制肠道气呼吸的大鳞副泥鳅通常在1周左右死亡。当被抑制肠道气呼吸的大鳞副泥鳅出现垂死时, 采集对照组和实验组的鳃、皮肤、前肠、中肠、后肠以及直肠进行苏木素—伊红(H.E)染色、阿利新蓝—高碘酸雪夫氏(AB-PAS)染色组织切片观察和扫描电镜观察, 主要的病理变化: ①H.E染色结果显示实验组大鳞副泥鳅鳃丝末端充血, 背部皮肤表皮层的毛细血管收缩并减少, 且真皮层细胞呈畸形, 前肠黏膜褶膨大, 后肠浆膜层有红细胞渗出, 后肠、直肠结缔组织显著增厚; ②AB-PAS染色结果显示, 实验组大鳞副泥鳅鳃、背部皮肤、后肠、直肠组织中嗜酸性空泡细胞均增多, 前肠和中肠固有层酸性黏蛋白含量增多, 黏膜下层中性黏蛋白含量减少; ③扫描电镜结果显示, 实验组大鳞副泥鳅鳃丝鳃小片表面皱缩, 表皮受损脱落, 背部皮肤表面分泌孔增加, 中肠内腔表面突起增多, 后肠和直肠絮状颗粒增多。研究表明, 抑制大鳞副泥鳅肠道气呼吸会引发其主要呼吸器官上皮组织出现黏液细胞增多、红细胞溢出等病理变化, 甚至导致机体死亡, 由此可知, 肠道气呼吸行为是大鳞副泥鳅的必要生理活动。本研究将为大鳞副泥鳅的健康养殖及幼苗培育提供新的参考。

**关键词:** 大鳞副泥鳅; 气呼吸; 抑制; 呼吸器官; 组织病理

**中图分类号:** S 941.8

**文献标志码:** A

鱼类的呼吸系统行使机体与外界环境气体交换的基本功能。鳃是鱼类的主要呼吸器官, 是气体交换、渗透压调节及离子平衡调控的重要场所。不仅如此, 有些鱼类还能利用皮肤、鳃上器、肠道等器官辅助呼吸。例如南方鳊(*Silurus soldatovi*)<sup>[1]</sup>、欧洲鳗鲡(*Anguilla anguilla*)<sup>[2]</sup>、弹涂鱼(*Periophthalmus modestus*)<sup>[3]</sup>等鱼类的皮肤真皮层因富含毛细血管而能进行气

体交换; 又如泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)<sup>[4]</sup>、护胸鲃(*Hypostomus plecostomus*)<sup>[5]</sup>等鱼类的肠道因具有大量毛细血管而兼具辅助呼吸功能。其中泥鳅是我国名优水产养殖品种之一, 其肉质细嫩、味道鲜美、营养丰富, 素有“水中人参”之美称。近年来大陆从中国台湾地区引进一种名为大鳞副泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus*)的新型养殖品种, 其具有生长快、抗病力强等优点而迅速

收稿日期: 2019-04-15 修回日期: 2019-05-04

资助项目: 中国—东盟海上合作基金(CAMC-2018F); 国家自然科学基金(31872606, 31572657, U1701233); 广东省海洋与渔业局基金(GDME-2018C006, D21822202, A201512C003, 2015-115); 广东省教育厅基金(KA170500G, TK222001G, KA18058B3, KA1819604); 广东省现代农业产业技术体系创新团队建设专项

通信作者: 赵丽娟, E-mail: 406856929@qq.com; 林鑫, E-mail: linli@zhku.edu.cn

得到养殖户的青睐。随着养殖规模的扩大、养殖密度的增加,大鳞副泥鳅疾病的暴发频率也越来越高,严重危害其健康养殖,故有必要开展与大鳞副泥鳅相关的基础生理学研究,为大鳞副泥鳅的健康养殖提供理论基础。广东省作为大鳞副泥鳅的主要养殖区域之一,在需求方面,优质鳅苗长期供不应求,其中育苗时幼苗的存活率不高一直是大鳞副泥鳅养殖产业发展的瓶颈<sup>[6]</sup>。现有研究报道,大鳞副泥鳅幼苗时期的肠道气呼吸系统发育尚不完善<sup>[7]</sup>,因此开展与其肠道气呼吸相关的组织病理学研究可以为提高大鳞副泥鳅幼苗存活率提供基础理论依据。

目前已有学者针对泥鳅肠道这一特殊呼吸器官进行组织形态学观察<sup>[4,8-13]</sup>。虽然已有个别学者在抑制泥鳅肠道气呼吸后,对其后肠进行组织病理切片观察及不同时期的转录组测序结果分析<sup>[13]</sup>,但缺乏对其主要呼吸器官(鳃、皮肤和肠道)的系统研究。本研究通过抑制大鳞副泥鳅的肠道气呼吸行为后,结合组织病理切片技术和扫描电镜技术观察其鳃、皮肤和肠道3种主要呼吸器官的病理变化情况,阐明该行为活动对大鳞副泥鳅的生理作用。此次研究结果将为大鳞副泥鳅的健康养殖及幼苗培育提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

大鳞副泥鳅取自广州华轩水产有限公司,体质量为(25±2)g。将其暂养在仲恺农业工程学院动物科技学院300L循环水养殖缸中,适应15d后,挑选健康活泼的个体进行实验。暂养期间确保水质指标正常,暂养3d后开始投喂泥鳅专用饲料,实验开始前1天停止喂食。

### 1.2 实验方法

**实验分组及处理** 取3个体积为300L的塑料养殖桶,放满自来水后用增氧泵曝气过夜。每个桶各放入20尾泥鳅。其中实验组10尾放入直径35cm、高35cm的网兜中,用装满水的瓶子将其压在水底,达到限制泥鳅浮出水面气呼吸的目的,但饲料仍然可以通过网孔进行正常投喂。另外10尾大鳞副泥鳅放养在网兜外,它们能自由浮上水面进行气呼吸,作为对照组。保持水体溶解氧含量为7.0~8.0mg/L,温度为(20±1)°C。实验期间持续增氧,每日照常投喂饲料至饱食状态,投喂2h后清除残饵和粪便,每天换水1/3。

**组织病理学观察** 抑制肠道气呼吸1周左右,使用MS-222(200mg/L)麻醉实验组和对照组各3尾,采集鳃、皮肤、肠道(分前肠、中肠、后肠以及直肠4个部分)组织,均用4%多聚甲醛固定液于室温下(20±1)°C固定24h后进行一系列的常规组织切片,用于组织病理分析。组织病理切片包括苏木素—伊红(H.E)染色和阿利新蓝—高碘酸雪夫氏(AB-PAS)染色。以上组织切片制作完成后用扫描仪器(Pannoramic MIDI, 3D HISTECH)进行全方位扫描,后用Caseviewer 2软件进行观察。

**扫描电镜观察** 抑制肠道气呼吸1周左右,使用MS-222(200mg/L)麻醉实验组和对照组各3尾,采集鳃、皮肤、肠道(分前肠、中肠、后肠以及直肠4个部分)组织,样品经过取材2h固定(2.5%戊二醛)后,转移至4°C冰箱保存过夜,然后进行后固定[用0.1mol/L磷酸盐缓冲液15min重复冲洗3次+1%的锇酸与0.1mol/L磷酸盐缓冲液室温(20±1)°C固定2h],脱水(依次于30%—50%—70%—80%—90%—95%—100%—100%浓度梯度的酒精中各浸泡15min),用临界点干燥仪(Quorum)干燥,离子溅射仪(IXRF)导电处理(喷金30s左右)等一系列标准电镜样品制作后,在扫描电镜(HITACHI)下观察并拍照。

**数据处理** 实验数据以Excel 2016及Graphpad Prism 6软件进行常规统计,采用SPSS 22.0软件对实验数据进行单因素方差分析,统计数值均以mean±SD表示。

## 2 结果

### 2.1 大鳞副泥鳅的行为观察

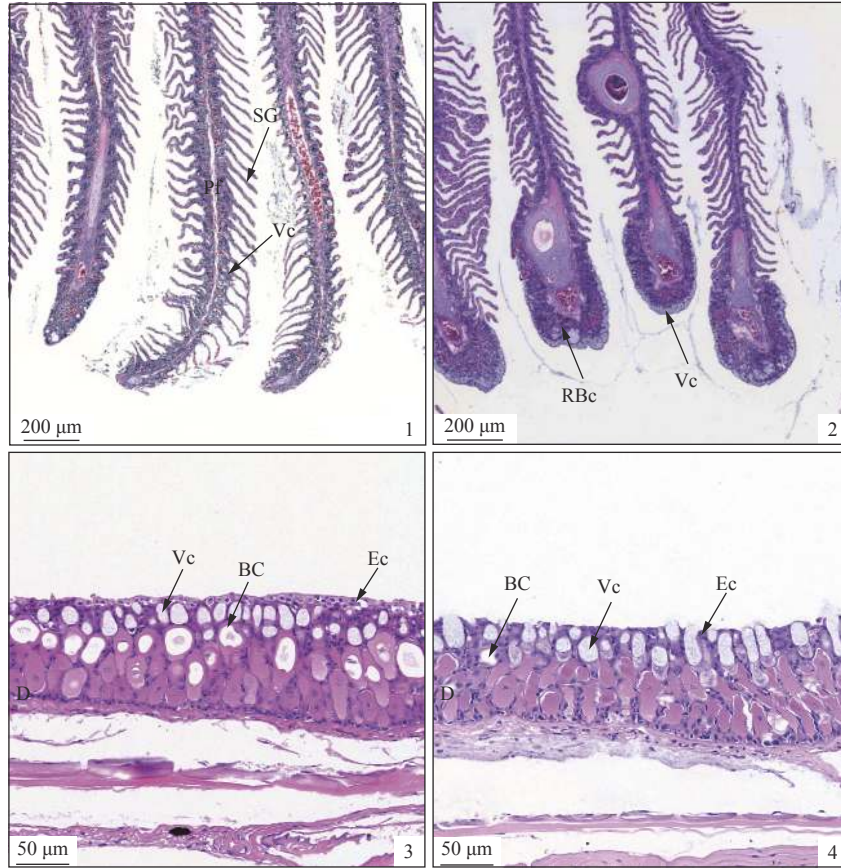
起初,两组泥鳅均静置于容器底部,鳃盖节律性张合。半小时后,网兜外的泥鳅(对照组)开始逐渐出现肠道气呼吸的行为。同时网兜内的泥鳅(实验组)焦躁不安,撞咬网兜,鳃盖开合也更加频繁。第6天实验组泥鳅游动缓慢。第8天实验组个别泥鳅出现垂死,对照组泥鳅并无异常状况。

### 2.2 组织切片染色结果

**H.E染色实验结果** 鳃的H.E染色结果显示,相比对照组(图版I-1),实验组鳃丝末端明显膨大,空泡细胞(10~30μm)增多,且鳃丝末端红细胞聚集(图版I-2)。从图版I-3和I-4可以看出,两组泥鳅皮肤表皮层外侧均分布大量体

积较空泡细胞小, 但细胞核却占比大的上皮细胞。其中实验组的上皮细胞数量明显减少, 但表皮内侧空泡细胞却显著增多(图版 I -4)。另外, 背部的皮肤表皮浅层还分布大量可以进行

气体交换的毛细血管网(图版 I -3, I -4)。实验结果显示, 相比对照组, 实验组皮肤表皮层的毛细血管明显收缩、减少(图版 I -4), 真皮层细胞形态呈畸形, 集体倾斜状挤向体表(图版 I -4)。



图版 I 鳃和背部皮肤组织切片H.E染色

1和3分别为对照组鳃、背部皮肤; 2和4分别为实验组鳃、背部皮肤; Pf. 鳃丝; Vc. 空泡细胞; SG. 鳃小片; RBc. 红细胞; BC. 毛细血管; Ec. 上皮细胞; D. 真皮层; 下同

Plate I H.E staining of gills and dorsal skins tissue section

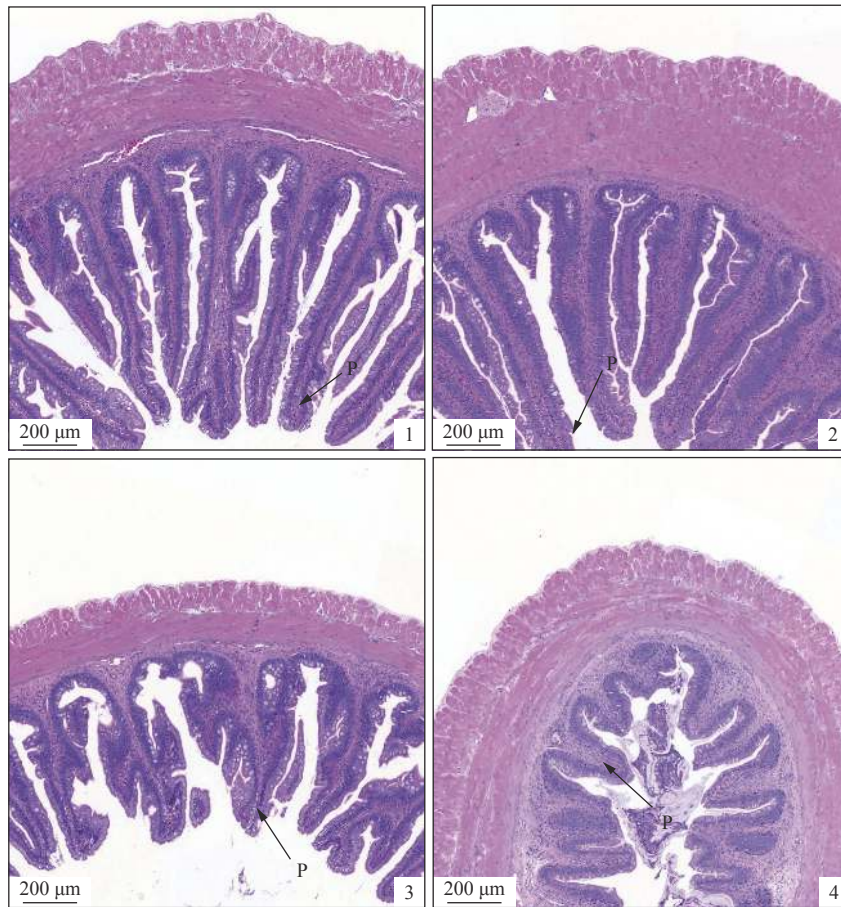
1 and 3. gills, dorsal skins from the control group respectively; 2 and 4. gills, dorsal skins from the experimental group respectively; Pf. primary filament; Vc. vacuolar cells; SG. secondary gill lamellae; RBc. red blood cells; BC. blood capillary; Ec. epithelial cells; D. dermis; the same below

根据马洪博<sup>[12]</sup>对泥鳅肠道的形态学描述, 可将肠道划分为前肠(AI)、中肠(MI)、后肠(PI)以及直肠(R)。前肠是整个肠道肠壁最厚, 管腔最大的部位。在抑制肠道气呼吸的情况下, 相比对照组(图版 II -1), 实验组前肠(图版 II -2)黏膜褶整体形态呈现膨大的症状, 其长度/宽度比值为 $9.17 \pm 0.30$ (图版 II -2), 而对照组的仅为 $4.80 \pm 0.70$ (图版 II -1), 差异极显著( $P < 0.001$ )。两组中肠黏膜褶的外形也同前肠的类似(图版 II -3, II -4), 但其对照组呈现的分支更为明显(图版 II -3)。

后肠和直肠是泥鳅进行肠道气呼吸的主要场所。H.E染色结果显示, 抑制肠道气呼吸后,

后肠出现浆膜层脱落, 血红细胞聚集、渗出, 黏膜下层结缔组织增多等明显病理症状(图版 III -2)。尽管对照组后肠黏膜层与肌层之间也出现大量血红细胞, 但其中的血红细胞只是单纯聚集在血管中, 并无其他异常症状(图版 III -1)。同时通过对比发现, 实验组直肠黏膜下层也出现结缔组织增多的病理变化(图版 III -4)。

AB-PAS染色实验结果 AB-PAS染色结果主要分为4种: 红色表示富含中性黏多糖或糖原; 深蓝色表示富含酸性黏多糖; 紫红色表示主要含中性黏多糖且少含酸性黏多糖; 蓝紫色表示主要含酸性黏多糖且少含中性黏多糖。从大



图版 II 前肠和中肠组织切片H.E染色

1和3分别为对照组前肠、中肠；2和4分别为实验组前肠、中肠；P. 黏膜褶；下同

**Plate II H.E staining of anterior intestine and middle intestine tissue section**

1 and 3. anterior intestine, middle intestine from the control group respectively; 2 and 4. anterior intestine, middle intestine from the experimental group respectively; P. plicamucosa ; the same below

面积浅紫红色的染色结果可知，鳃丝鳃小片及鳃丝空腔主要含糖原或中性黏蛋白且少含酸性黏多糖，其中空泡细胞呈现蓝色，表明其富含酸性黏蛋白(图版IV-1, IV-2)。对照组鳃组织只存在少数被染成浅蓝色的空泡细胞，均匀地分布在鳃小片基部(图版IV-1)，而实验组的鳃丝末端却明显聚集大量染成深蓝色的空泡细胞(图版IV-2)，显著说明实验组鳃组织酸性黏蛋白的分泌量比对照组多。背部皮肤AB-PAS染色结果显示，两组皮肤表皮均分布3~5层深蓝色的网状空泡细胞(图版IV-3, IV-4)，且分布范围大致相同，但相比对照组，实验组的空泡细胞数量明显更多，分布更为密集(图版IV-3)。

通过对比发现，实验组前肠、中肠固有层的蓝色显色结果均比对照组的深(图版V-2, V-4)。相反，其黏膜下层的紫红色显色程度却呈现相对较浅的结果(图版V-2, V-4)。这说明

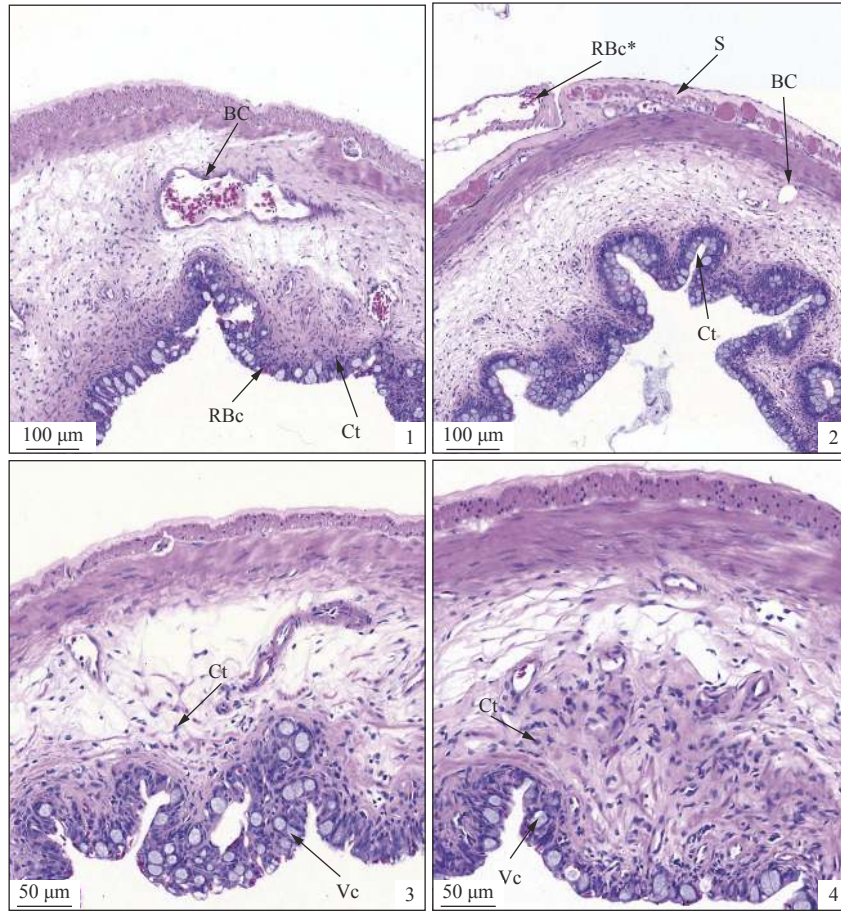
<http://www.sxuebao.cn>

在抑制肠道气呼吸1周后，实验对象前肠、中肠酸性黏蛋白的分泌量相对增多，但同时，黏膜下层的糖原或中性黏蛋白的分泌量反而减少(图版V-2, V-4)。

与前肠和中肠相比，后肠(图版VI-1, VI-2)和直肠(图版VI-3, VI-4)的固有层面积大幅减少。相比对照组(图版VI-1)，实验组后肠(图版VI-2)黏膜层表面分布更多富含酸性黏蛋白的空泡细胞。另外，固定视野内，实验组直肠的空泡细胞总数也相对增多(图版VI-3, VI-4)。以上同样说明，相比对照组，实验组后肠、直肠黏膜层富含酸性黏蛋白的空泡细胞均明显增多。

### 2.3 扫描电镜结果

利用扫描电镜对鳃部主要呼吸区的鳃小片进行观察，发现低倍镜下( $\times 1000$ )对照组的鳃小片表面整体相对平整、光滑(图版VII-1)，而实验



图版 III 后肠和直肠组织切片H.E染色

1和3分别为对照组后肠、直肠; 2和4分别为实验组后肠、直肠; S. 浆膜层; Ct. 结缔组织; \*代表RBC明显渗出

Plate III H.E staining of posterior intestine and rectum tissue section

1 and 3. posterior intestine, rectum from the control group respectively; 2 and 4. posterior intestine, rectum from the experimental group respectively; S. serosa; Ct. connective tissue; \* indicates the RBC leaked out significantly

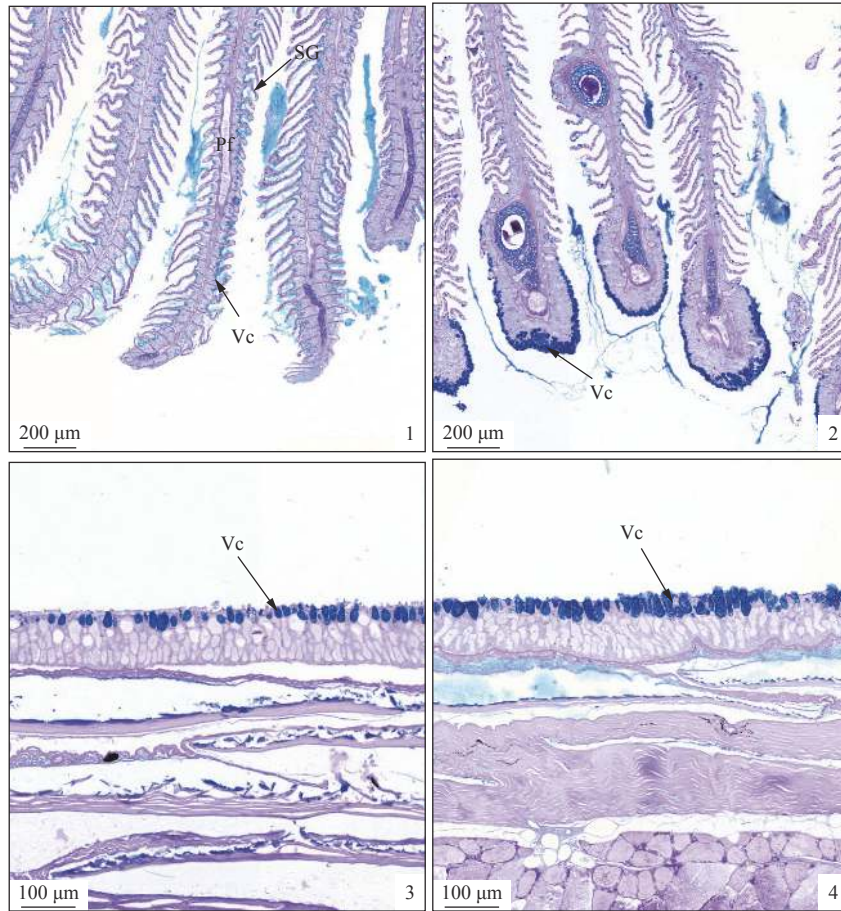
组的呈现皱缩的特征, 表观相对粗糙, 且表面出现皱褶(图版 VII-2)。高倍镜下(×3 000), 对照组鳃小片表面的上皮细胞完好无损(图版 VII-3), 而实验组的上皮细胞却出现明显脱落、表皮结构缺失等症状(图版 VII-4)。

对鳞片下的背部皮肤表皮观察发现, 表皮表面分布许多凹陷状的分泌孔, 这些分泌孔的开口直径约为2~3 μm。低倍镜下(×1 000), 可以清楚地观察到实验组(图版 VIII-2)皮肤表皮分泌孔的数量明显比对照组多(图版 VIII-1)。高倍镜下(×3 000), 两组皮肤表皮上紧密围绕分泌孔周围的微脊形状也存在明显差异, 其中对照组的微脊相对扩散, 纹路简单(图版 VIII-3), 而实验组的微脊更为集中、纹路复杂, 形态呈指纹状或花纹状(图版 VIII-4), 且基本聚集、延伸至分泌孔进口处。

针对前肠观察发现, 两组黏膜表面皱褶呈现不规则排列, 低倍镜下(×200), 相比对照组(图版 IX-1), 实验组的肠道褶皱表面呈现一种相对圆润、饱满的特征(图版 IX-2)。两组前肠黏膜表面均分布许多孔状的凹陷(图版 IX-1, IX-2)。高倍镜下(×3 000), 对照组表面的微绒毛出现明显的脱落(图版 IX-3), 而实验组无该症状。相比对照组, 实验组前肠内腔的凹陷分泌孔也相对更多、更直观。

针对中肠观察发现, 低倍镜下(×200), 对照组呈现同前肠类似皱缩的明显特征(图版 X-1)。同时, 实验组中肠呈现出同样圆润、光滑的外观特征, 症状与前肠类似(图版 X-2)。高倍镜下(×1 000), 实验组中肠表面出现明显的突起(图版 X-4), 而对照组未观察到该结构(图版 X-3)。

针对后肠观察发现, 对照组黏膜表皮表征



图版 IV 鳃和背部皮肤组织切片AB-PAS染色图

1和3分别为对照组鳃、背部皮肤；2和4分别为实验组鳃、背部皮肤

Plate IV AB-PAS staining of gills and dorsal skins tissue section

1 and 3. gills, dorsal skin from the control group respectively; 2 and 4. gills, dorsal skins from the experimental group respectively

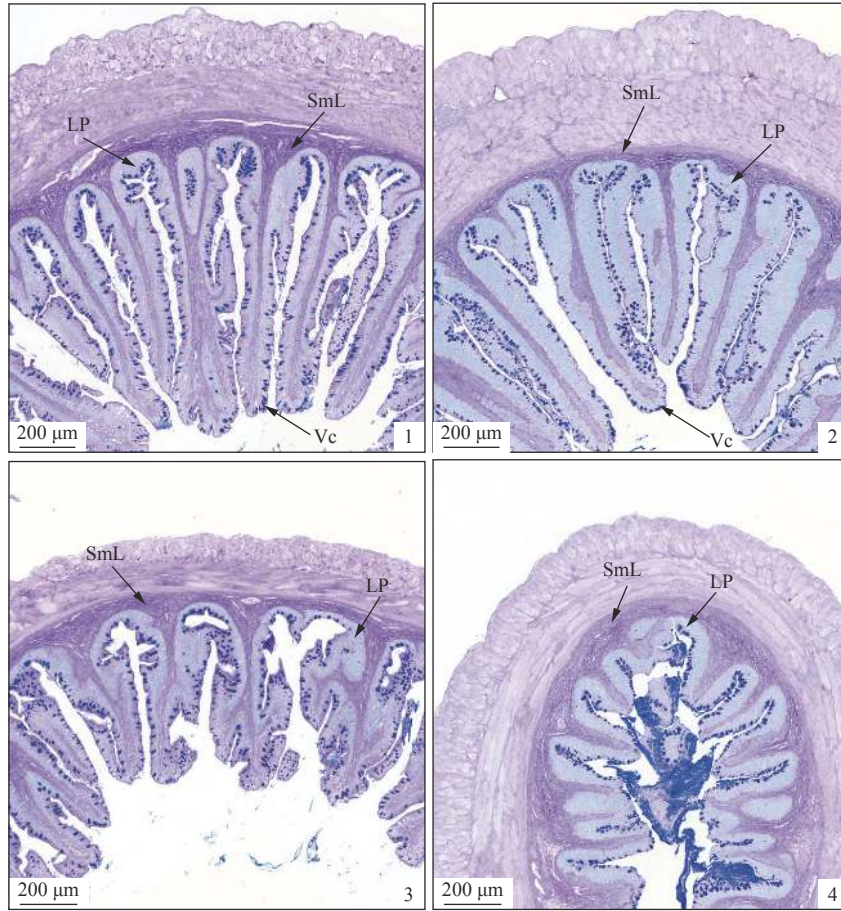
相对平整(图版 XI-1), 而实验组出现皱缩的症状(图版 XI-2)。放大3 000或6 000倍的视野内均可以观察到, 对照组表面均分布着轮廓清晰的五边形、六边形微脊以及密集的表皮颗粒(图版 XI-1, XI-3)。相反, 实验组表面的微脊消失, 整个视野内充满了相互连接的絮状颗粒(图版 XI-2, XI-4)。

直肠观察结果显示, 放大3 000倍下, 对照组表皮微微隆起, 松弛平滑(图版 XII-1), 而实验组与之形成对比, 呈现相对皱缩的特征(图版 XII-2)。放大6 000倍下, 相比对照组(图版 XII-3), 实验组直肠表面分布的密集颗粒增多, 且出现少量的微绒毛(图版 XII-4)。

### 3 讨论

大鳞副泥鳅是一种以皮肤和肠道辅助呼吸的鱼类。目前关于肠道气呼吸对大鳞副泥鳅的生理作用仍没有被深入研究。本研究通过组织

切片技术和扫描电镜技术, 分别对有无抑制肠道气呼吸的大鳞副泥鳅主要呼吸器官进行二维以及三维的视角观察。H.E染色结果显示, 抑制肠道气呼吸的行为对其主要的呼吸器官均造成不同程度的损伤。比如鳃丝末端膨胀、充血, 皮肤毛细血管收缩, 后肠浆膜层脱落等。在硬骨鱼类中, 有研究证实部分鱼类的空气呼吸行为涉及 $\text{NH}_4^+$ 的排泄, 例如龟壳攀鲈(*Anabas testudineus*)<sup>[14]</sup>、尖齿胡鲶(*Clarias gariepinus*)<sup>[15]</sup>及许氏齿弹涂鱼(*Periophthalmodon schlosseri*)<sup>[16-17]</sup>等, 它们利用特化的鳃上器或者肠道进行快速的 $\text{NH}_4^+$ 排泄。大鳞副泥鳅的肠道气呼吸生理活动是否与 $\text{NH}_4^+$ 的排泄有关, 抑制气呼吸是否对鳃组织的 $\text{NH}_4^+$ 代谢等方面有影响, 还需进一步研究。另外, 也有学者对限制肠道气呼吸行为后的泥鳅后肠进行了组织学观察, 发现被限制肠道气呼吸30 d后的泥鳅出现后肠内腔上皮毛细血管断裂的病理



图版 V 前肠和中肠组织切片AB-PAS染色图

1和3分别为对照组前肠、中肠; 2和4分别为实验组前肠、中肠; SmL. 黏膜下层; LP. 固有层; 下同

Plate V AB-PAS staining of anterior intestine and middle intestine tissue section

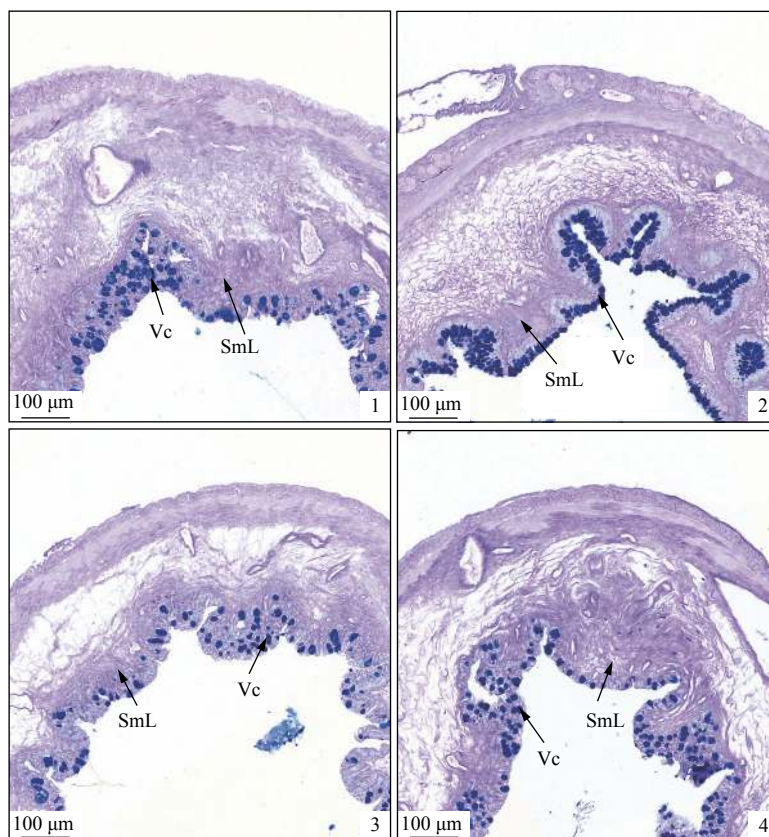
1 and 3. anterior intestine, middle intestine from the control group respectively; 2 and 4. anterior intestine, middle intestine from the experimental group respectively; SmL. submucosa layer; LP. lamina propria; the same below

症状<sup>[13]</sup>。本实验对大鳞副泥鳅的组织学观察发现, 抑制肠道气呼吸导致其后肠浆膜层脱落, 黏膜下层结缔组织增多等病理症状。这些症状的差异也许与泥鳅种类、大小、饲喂材料等实验条件有关。

AB-PAS染色结果显示, 抑制大鳞副泥鳅的肠道气呼吸会导致其主要呼吸器官、组织出现酸性黏蛋白、空泡细胞增多的病理症状。与之相反, 实验组前肠、中肠黏膜下层中性黏蛋白或糖原的分泌量却同比下降, 其机理有待进一步研究。另外, 实验组后肠出现的症状与前人的研究结果大致相同<sup>[13]</sup>, 进一步验证说明抑制肠道气呼吸的行为会促进其后肠黏膜层嗜酸性杯状细胞的分化。本实验AB-PAS染色结果与其他学者<sup>[4, 10, 13, 18]</sup>在泥鳅及大鳞副泥鳅(*M. mizolepis*)肠道黏液细胞上的染色结果相一致。由此可知, 大

鳞副泥鳅肠道上出现的与AB染液强阳性反应的空泡细胞均为黏液细胞, 同理可将鳃及背部皮肤组织中出现的空泡细胞也归类为黏液细胞<sup>[19]</sup>。已有研究表明, 当欧洲鳗鲡鳃组织的上皮细胞处于高压状态时, 表面的黏液细胞数量明显减少, 说明鳃组织黏液细胞对物理环境的变化比较敏感<sup>[20]</sup>。本研究中, 抑制大鳞副泥鳅的肠道气呼吸可能会改变其鳃组织的环境, 从而导致其鳃丝末端出现黏液细胞增多等病理症状。

虽然也有学者对鱼类的独特呼吸器官进行扫描电镜观察<sup>[21-25]</sup>, 但关于抑制肠道气呼吸后参与呼吸的主要器官的变化情况未见详尽阐述。本实验的扫描电镜结果显示, 抑制肠道气呼吸不仅破坏鳃小片上皮细胞的完整性, 而且还分别导致皮肤、前肠表面的分泌孔增多。有学者通过扫描电镜观察发现, 同属空气呼吸鱼类的

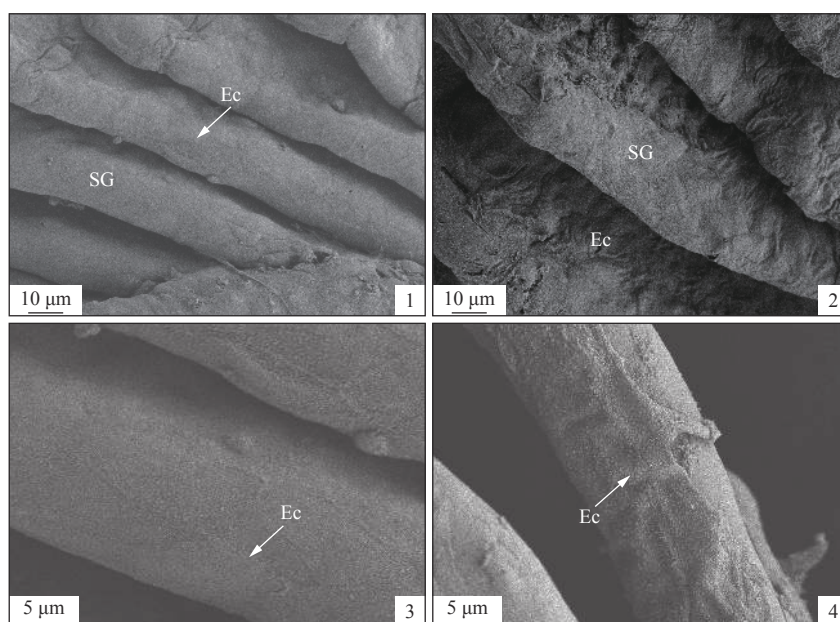


图版 VI 后肠和直肠组织切片AB-PAS染色图

1和3分别为对照组后肠、直肠；2和4分别为实验组后肠、直肠

**Plate VI AB-PAS staining of posterior intestine and rectum tissue section**

1 and 3. posterior intestine, rectum from the control group respectively; 2 and 4. posterior intestine, rectum from the experimental group respectively



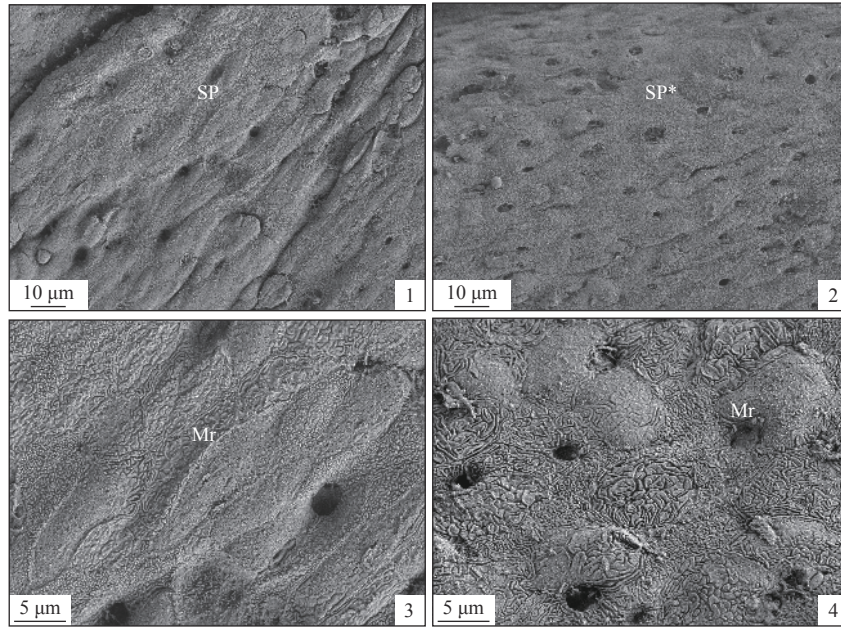
图版 VII 鳃小片黏膜上皮扫描电镜

1和3均为对照组，2和4均为实验组，图版VIII~XII同

**Plate VII Scanning electron micrograph (SEM) of the secondary gill lamellae**

1 and 3. control group. 2 and 4. experimental group, the same as Plate VIII-XII



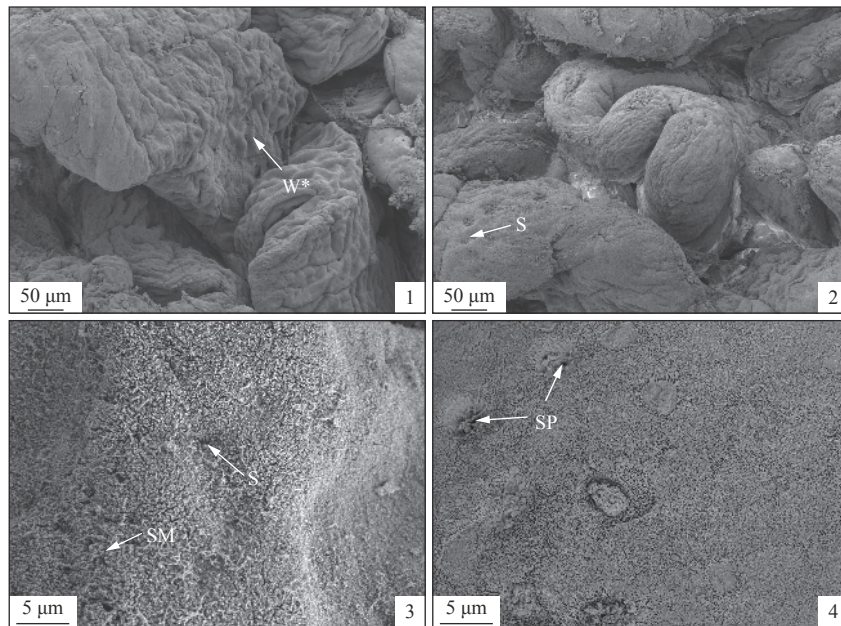


图版 VIII 背部皮肤黏膜上皮扫描电镜图

SP. 分泌孔; Mr. 微脊; 下同。\*表示明显增加

Plate VIII Scanning electron micrograph (SEM) of dorsal skin epidermis

SP. secretory pores; Mr. micro ridge; the same below. \* indicates increased number of the pores



图版 IX 前肠黏膜上皮扫描电镜图

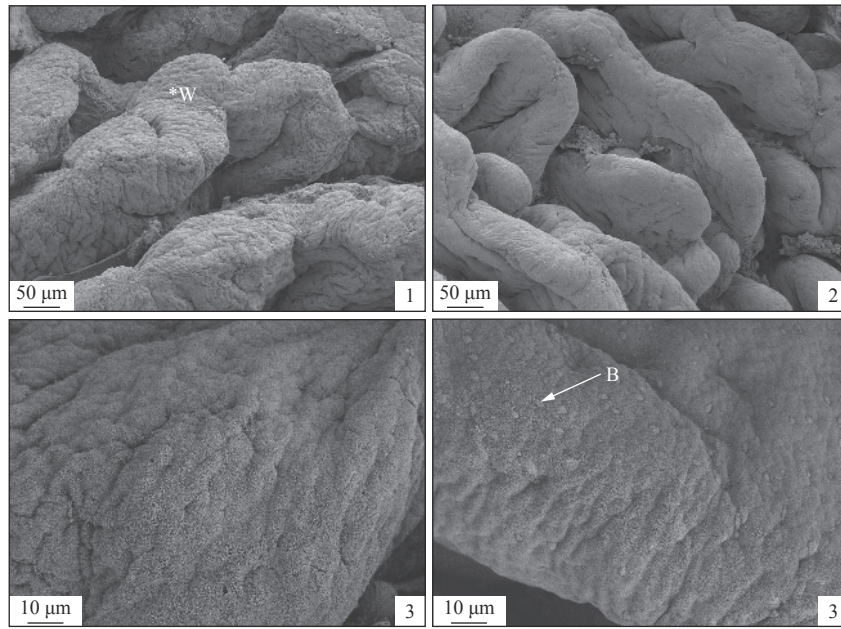
S. 凹陷; SM. 脱落的微绒毛; W. 皱褶; 下同。\*表示出现明显皱褶

Plate IX Scanning electron micrograph (SEM) of anterior intestine epidermis

S. sunken; SM. shedding of microvilli; W. wrinkle; the same below. \* indicates wrinkles obviously appear

非洲肺鱼(*Protopterus amphibius*)皮肤表面的分泌孔具有分泌黏液的功能<sup>[26]</sup>, 由此可推测实验组的背部皮肤和前肠组织的分泌孔增多现象与黏液细胞的分化增多有关, 同时该结果与AB-PAS染

色下组织切片显示黏液细胞增多的结果相呼应。另外, 实验组还出现中肠内表面突起增多, 后肠、直肠内腔黏膜表面的絮状颗粒增多等症状, 其原因有待进一步探讨。

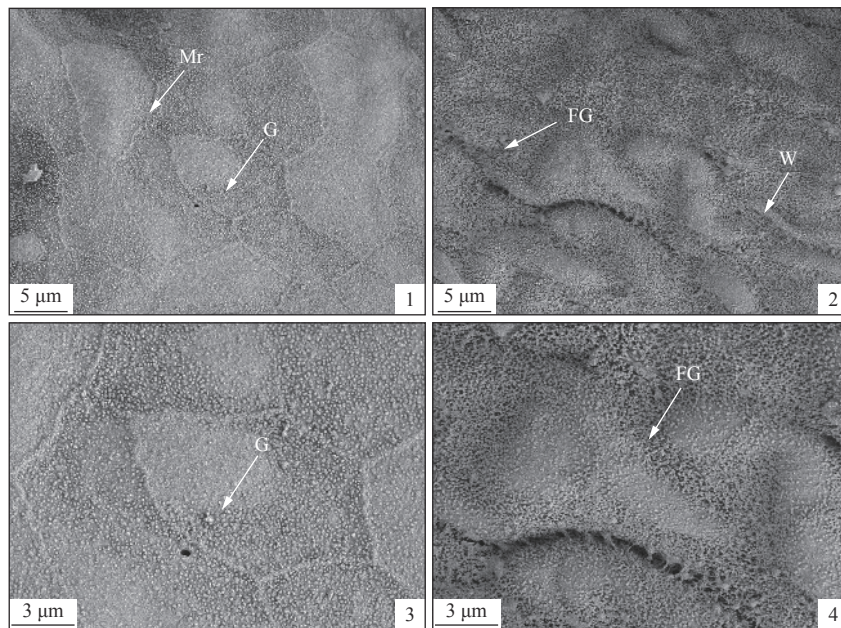


图版 X 中肠黏膜上皮扫描电镜图

B. 突起; \*表示出现明显皱缩

**Plate X Scanning electron micrograph (SEM) of middle intestine epidermis**

B. bumps; \* indicates wrinkles obviously appear



图版 XI 后肠黏膜上皮扫描电镜图

G. 颗粒; FG. 絮状颗粒; 下同

**Plate XI Scanning electron micrograph (SEM) of posterior intestine epidermis**

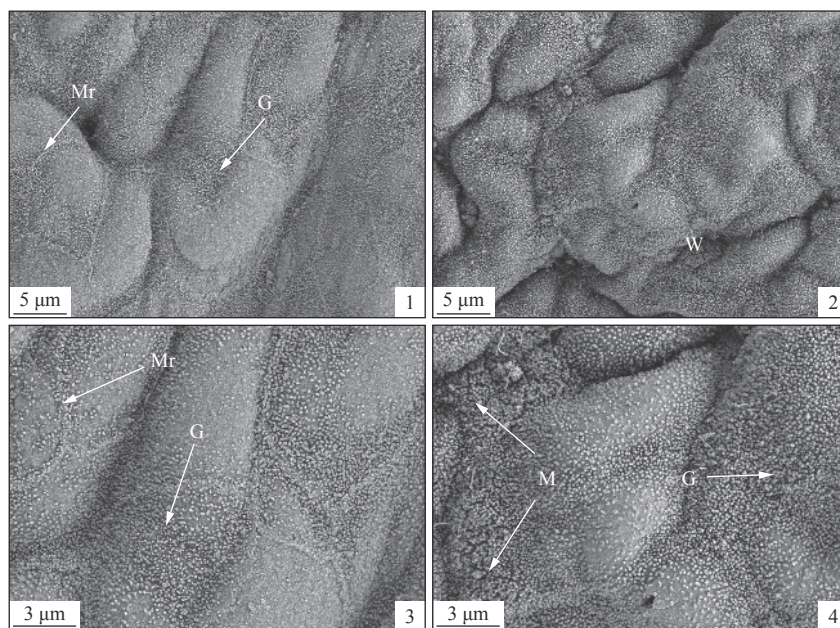
G. granule; FG. flocculent granule; the same below

关于抑制肠道气呼吸后大鳞副泥鳅的致病机理, 学者们不仅做了泥鳅后肠的组织病理分析, 而且还对不同时期的后肠进行转录组测序结果分析, 发现抑制肠道气呼吸行为会导致泥

<http://www.sxuebao.cn>

鳅肠道与营养吸收相关的基因表达量下调, 认为该行为会对机体的营养吸收产生负面影响<sup>[13]</sup>。本研究分析了抑制肠道气呼吸后泥鳅主要呼吸器官的组织病理变化情况, 猜测除了这些主要

中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries



图版 XII 直肠黏膜上皮扫描电镜图

M. 微绒毛

## Plate XII Scanning electron micrograph (SEM) of the epidermis of rectum

M. microvilli

呼吸器官受到影响之外, 机体的肾、肝等器官也可能受到影响, 这些猜测还有待进一步探究。

综上所述, 抑制大鳞副泥鳅肠道气呼吸会引发其主要呼吸器官上皮组织出现黏液细胞增多、血红细胞溢出等病理变化, 严重情况下会导致机体死亡, 表明肠道气呼吸行为是大鳞副泥鳅的必要生理活动。本研究将为大鳞副泥鳅的健康养殖及幼苗培育提供新的参考。

王玫秀和秦真东为并列第一作者。

## 参考文献:

- [1] 鲜雪梅. 温度对南方鲇幼鱼皮肤呼吸代谢的影响[D]. 重庆: 重庆师范大学, 2011.  
Xian X M. Effects of temperature on cutaneous respiration of juvenile southern catfish (*Silurus meridionalis*)[D]. Chongqing: Chongqing Normal University, 2011 (in Chinese).
- [2] Lefevre S, Wang T, Jensen A, *et al*. Air-breathing fishes in aquaculture. What can we learn from physiology?[J]. *Journal of Fish Biology*, 2014, 84(3): 705-731.
- [3] Park J Y. Structure of the skin of an air-breathing mudskipper, *Periophthalmus magnuspinnatus*[J]. *Journal of Fish Biology*, 2002, 60(6): 1543-1550.
- [4] Park J Y, Kim I S, Kim S Y. Structure and mucous histochemistry of the intestinal respiratory tract of the mud loach, *Misgurnus anguillicaudatus* (Cantor)[J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2003, 19(4): 215-219.
- [5] Podkowa D, Goniakowska-Witalińska L. Morphology of the air-breathing stomach of the catfish *Hypostomus plecostomus*[J]. *Journal of Morphology*, 2003, 257(2): 147-163.
- [6] 邱楚雯, 陈迪虎, 刘晓东, 等. 台湾泥鳅人工繁育技术初步研究[J]. 水产科技情报, 2017, 44(5): 236-240.  
Qiu C W, Chen D H, Liu X D, *et al*. Preliminary study on the artificial breeding techniques of *Paramisgurnus dabryanus*[J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2017, 44(5): 236-240(in Chinese).
- [7] 刘晓敏, 代见全, 张厚国. 大鳞副泥鳅秋季仔稚鱼规模化培育技术研究[J]. 科学养鱼, 2015, 31(7): 6-7.  
Liu X M, Dai J Q, Zhang H G. Study on the mass breeding technique of the juvenile of *Paramisgurnus dabryanus* in autumn[J]. *Scientific Fish Farming*, 2015, 31(7): 6-7(in Chinese).
- [8] Ghosh S K, Ghosh B, Chakrabarti P. Fine anatomical structures of the intestine in relation to respiratory function of an air-breathing loach, *Lepidocephalichthys guntea* (Actinopterygii: Cypriniformes: Cobitidae)[J]. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 2011, 41(1): 1-5.

- [9] 栾雅文. 细鳞泥鳅消化系统组织学的初步研究[J]. 水产学报, 1988, 12(3): 277-282.  
Luan Y W. A preliminary study on digestive system of loach (*Misgurnus mizolepis* Gunther)[J]. Journal of Fisheries of China, 1988, 12(3): 277-282(in Chinese).
- [10] Park J Y, Kim I S. Histology and mucin histochemistry of the gastrointestinal tract of the mud loach, in relation to respiration[J]. *Journal of Fish Biology*, 2001, 58(3): 861-872.
- [11] 刘文生, 王凤麟. 胡子鲇、月鳢、泥鳅具气呼吸作用器官呼吸上皮的电镜观察[J]. *水生生物学报*, 2004, 28(5): 519-525.  
Liu W S, Wang F L. An electron microscopic study of the respiratory epithelium in the air respiration organs of *Clarias fuscus*, *Channa asiatica* and *Misgurnus anguillicaudatus*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, 28(5): 519-525(in Chinese).
- [12] 马洪博. 泥鳅消化道组织结构特征及消化与肠气呼吸功能的协调性研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.  
Ma H B. Study on the histological structures of digestive tract and the coordination between digestion and respiration in *Misgurnus anguillicaudatus*[D]. Chongqing: Huazhong Agricultural University, 2017 (in Chinese).
- [13] Huang S Q, Cao X J, Tian X C. Transcriptomic analysis of compromise between air-breathing and nutrient uptake of posterior intestine in loach (*Misgurnus anguillicaudatus*), an air-breathing fish[J]. *Marine Biotechnology*, 2016, 18(4): 521-533.
- [14] Tay Y L, Loong A M, Hiong K C, *et al.* Active ammonia transport and excretory nitrogen metabolism in the climbing perch, *Anabas testudineus*, during 4 days of emersion or 10 minutes of forced exercise on land[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2006, 209(22): 4475-4489.
- [15] Ip Y K, Zubaidah R M, Liew P C, *et al.* African sharptooth catfish *Clarias gariepinus* does not detoxify ammonia to urea or amino acids but actively excretes ammonia during exposure to environmental ammonia[J]. *Physiological and Biochemical Zoology*, 2004, 77(2): 242-254.
- [16] Ip Y K, Randall D J, Kok T K T, *et al.* The giant mudskipper *Periophthalmodon schlosseri* facilitates active  $\text{NH}_4^+$  excretion by increasing acid excretion and decreasing  $\text{NH}_3$  permeability in the skin[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2004, 207(5): 787-801.
- [17] Chew S F, Hong L N, Wilson J M, *et al.* Alkaline environmental pH has no effect on ammonia excretion in the mudskipper *Periophthalmodon schlosseri* but inhibits ammonia excretion in the related species *Boleophthalmus boddarti*[J]. *Physiological and Biochemical Zoology*, 2003, 76(2): 204-214.
- [18] 张建业, 杨瑞斌, 杨学芬, 等. 泥鳅仔稚鱼消化道黏液细胞的发育[J]. 华中农业大学学报, 2014, 33(4): 93-98.  
Zhang J Y, Yang R B, Yang X F, *et al.* Development of mucous cells in digestive tract of larvae and juvenile of mud loach, *Misgurnus anguillicaudatus*[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2014, 33(4): 93-98(in Chinese).
- [19] Noya M, Lamas J. Morphology and histochemistry of a pas-positive granular cell in the gills of the Gilthead seabream, *Sparus aurata* L.[J]. *Journal of Anatomy*, 1996, 189(2): 439-443.
- [20] Dunel-Erb S, Sébert P, Chevalier C, *et al.* Morphological changes induced by acclimation to high pressure in the gill epithelium of the freshwater yellow eel[J]. *Journal of Fish Biology*, 1996, 48(5): 1018-1022.
- [21] Lewis S V. A scanning electron microscope study of the gills of the air-breathing catfish, *Clarias batrachus* L.[J]. *Journal of Fish Biology*, 1979, 15(4): 381-384.
- [22] Lewis S V. The morphology of the accessory air-breathing organs of the catfish, *Clarias batrachus*: a SEM study[J]. *Journal of Fish Biology*, 1979, 14(2): 187-191.
- [23] Hughes G M, Datta Munshi J S. Scanning electron microscopy of the respiratory surfaces of *Saccobranthus (=Heteropneustes) fossilis* (Bloch)[J]. *Cell and Tissue Research*, 1978, 195(1): 99-109.
- [24] Munshi J S D, Olson K R, Ojha J, *et al.* Morphology and vascular anatomy of the accessory respiratory organs of the air-breathing climbing perch, *Anabas testudineus* (Bloch)[J]. *American Journal of Anatomy*, 1986, 176(3): 321-331.
- [25] Suzuki Y, Osada M, Watanabe A. Cytologic and electron microscopic studies on the intestinal respiration of the loach (*Misgurnus anguillicaudatus*)[J]. *Archivum Histologicum Japonicum*, 1963, 23(5): 431-446.
- [26] Lane E B, Whitear M. Sensory structures at the surface of fish skin: I. putative chemoreceptors[J]. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 1982, 75(2): 141-151.

## Pathological studies of the major respiratory organs of *Paramisgurnus dabryanus* with the inhibition of intestinal aerial respiration

WANG Wenxiu<sup>1</sup>, QIN Zhendong<sup>1</sup>, Sarath Babu V<sup>1</sup>, ZHOU Meng<sup>1</sup>, LIANG Rishen<sup>1</sup>,  
MO Jinfeng<sup>1</sup>, WU Zaohe<sup>1</sup>, ZHANG Xuan<sup>2</sup>, ZHAO Lijuan<sup>1\*</sup>, LIN Li<sup>1\*</sup>

(1. Guangdong Provincial Water Environment and Aquatic Products Security Engineering Technology Research Center,  
Guangzhou Key Laboratory of Aquatic Animal Diseases and Waterfowl Breeding,  
College of Animal Science and Technology, Zhongkai University of  
Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China;  
2. Guangzhou Huaxuan Fishery Company Co., Ltd., Guangzhou 528200, China)

**Abstract:** To clarify the physiological effects of intestinal aerial respiration on *Paramisgurnus dabryanus*, the histopathology of the main respiratory organs of *P. dabryanus* was investigated by inhibiting the intestinal aerial respiration in this study. The results showed that the inhibition of intestinal aerial respiration could cause the death of *P. dabryanus* around one week post inhibition. When the fish from the experimental group were moribund, the gills, dorsal skin, anterior intestine, mid intestine, posterior intestine, and rectum were collected and subjected to Hematoxylin-eosin (H.E) staining, Alcian-Blue Periodic Acid-Schiff (AB-PAS) staining and scanning electron microscopy (SEM). The results showed that: ① by H.E staining, the gill terminal of the fish from the experimental group was congested, the blood capillary in the epidermis of dorsal skin were contracted and decreased, and dermis cells were deformed. The plicamucosa of anterior intestine was enlarged; meanwhile the connective tissues were denser in the rectum as well as with the exudation of red blood cells (RBC) in the serosa of posterior intestine. ② by AB-PAS staining, the gills, dorsal skins, posterior intestine, and rectum of the fish from the experimental group revealed an increase in acidophilic vacuoles. Besides, the amount of acid mucoprotein on the lamina propria of the anterior and middle intestines increased in the experimental group. By contrast, the neutrophil mucoprotein in submucosa layer decreased in the experimental group. ③ by SEM, the surface of the gill lamellae was damaged and detached, resulting in wrinkling, together with the increased number of secretory pores on the surface of dorsal skin. More bumps were observed on the inner surface of middle intestine of fish from the experimental group. In addition, the granules on the inner surface of the posterior intestine and the rectum of the fish from the experimental group were increased. Taken together, inhibition of intestinal aerial respiration could cause an increase of the mucous cells and exudation of RBCs in the main respiratory organs, and eventually it could lead to death. In summary, intestinal aerial respiration is the necessary physiological activity of *P. dabryanus*. The current results will shed a new light on the seeding cultivation and sustainable culture of *P. dabryanus*.

**Key words:** *Paramisgurnus dabryanus*; aerial respiration; inhibition; respiratory organs; histopathology

**Corresponding authors:** ZHAO Lijuan. E-mail: 406856929@qq.com;

LIN Li. E-mail: linli@zhku.edu.cn

**Funding projects:** China-ASEAN Maritime Cooperation Fund (CAMC-2018F); National Natural Science Foundation of China (31872606, 31572657, U1701233); Funds from the Administration of Ocean and Fisheries of Guangdong Province (GDME-2018C006, D21822202, A201512C003, 2015-115); Department of Education of Guangdong Province (KA170500G, TK222001G, KA18058B3, KA1819604); Guangdong Provincial Special Fund For Modern Agriculture Industry Technology Innovation Teams