

Aus dem Institut für Veterinär-Anatomie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Anatomische und histologische Untersuchungen des Verdauungstrakts des
Grünflossenbuntbarsches *Amatitlania nigrofasciata***

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Carsten Hopperdietzel
Tierarzt aus Berlin

Berlin 2017

Journal-Nr.: 3927

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Johanna Plendl
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Franz-Viktor Salomon
Dritter Gutachter: PD Dr. Kerstin Müller

Deskriptoren (nach CAB Thesaurus): *Amatitlania nigrofasciata*, animal anatomy, histology, body parts, digestive system, serosa, mucosa, digestive tract mucosa, eosinophils, effects, body weight, diet, food restriction, intestines, basement membrane (MeSH)

Tag der Promotion: 17.01.2017

“Everybody is a genius. But if you judge a fish by its ability to climb a tree, it will live its whole life believing that it is stupid.”

Albert Einstein

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 Vorstellung des Fisches.....	1
1.1.1 Der Grünflossenbuntbarsch als Aquarienfisch	1
1.1.2 Der Grünflossenbuntbarsch als Modelltier	2
1.2 Der Verdauungstrakt.....	2
1.3 Zielsetzung	3
1.4 Angewandte Methoden	4
2 Publikationen.....	5
2.1 Gross morphology and histology of the alimentary tract of the convict cichlid <i>Amatitlania nigrofasciata</i>	5
2.1.1 Abstract	6
2.1.2 Introduction	7
2.1.3 Materials and methods	8
2.1.3.1 Macroscopic examination.....	8
2.1.3.2 Light microscopic examination	8
2.1.3.3 SEM examination.....	9
2.1.4 Results	10
2.1.4.1 Gross morphology determined by macroscopic examination.....	10
2.1.4.2 Histology determined by light microscopy and SEM examination	12
2.1.5 Discussion	20
2.1.6 References	25
2.2 Distribution pattern of eosinophilic granular cells in the intestine of convict cichlid <i>Amatitlania nigrofasciata</i> (Günther, 1867).....	33
2.2.1 Abstract	34
2.2.2 Introduction.....	34
2.2.3 Material and methods	35

2.2.4 Results	36
2.2.5 Discussion	39
2.2.6 References	40
3 Diskussion	44
3.1 Segmentierung des Verdauungstrakts von <i>Amatitlania nigrofasciata</i> anhand morphologischer Aspekte	44
3.1.1 Besonderheiten des Oesophagus	44
3.1.2 Besonderheiten des Magens	45
3.1.3 Besonderheiten des Darmes	45
3.2 Vorkommen und Verteilung eosinophiler Granularzellen im Darm von <i>Amatitlania nigrofasciata</i>	46
3.2.1 Segmentierung des Darmes von <i>Amatitlania nigrofasciata</i> anhand der Verteilung intestinaler eosinophiler Granularzellen	46
3.2.2 Zusammenhang zwischen der Verteilung intestinaler eosinophiler Granularzellen und der Ausprägung der mukosalen Basalmembran	47
3.2.3 Zusammenhang zwischen dem Fütterungsregime und der Verteilung intestinaler eosinophiler Granularzellen	47
3.3 Studienübergreifende Interpretation der intestinalen Segmentierung von <i>Amatitlania nigrofasciata</i>	48
4 Zusammenfassung	50
5 Summary "Anatomical and histological examinations of the alimentary tract in convict cichlid <i>Amatitlania nigrofasciata</i> "	52
6 Literaturverzeichnis der Einleitung und Diskussion	53
7 Publikationsliste	61
7.1 Originalartikel	61
7.1.1 Beteiligung der Autoren an den Originalartikeln	61
7.2 Weitere Originalartikel	62
7.3 Kongressbeiträge	63

7.3.1 Vorträge.....	63
7.3.2 Poster.....	63
8 Danksagung.....	65
9 Selbständigkeitserklärung.....	66

1 Einleitung

1.1 Vorstellung des Fisches

Amatitlania nigrofasciata, der Grünflossenbuntbarsch oder Zebrabuntbarsch (Synonym), ist ein Vertreter aus der Familie der Buntbarsche (Cichlidae) (Schmitter-Soto, 2007). Als Süßwasserbewohner kommt er in verschiedenen Fließgewässern des nördlichen Mittelamerikas vor. Männliche Tiere haben eine Durchschnittsgröße von ca. 6,3 – 6,6 cm Standardlänge (Länge des Fisches exklusive Schwanzflosse). Weibliche Tiere erreichen in der Regel nicht diese Größe sondern bleiben mit 4,2 – 5,5 cm etwas kleiner (Wisenden, 1995). Ein Geschlechtsdimorphismus ist besonders bei adulten Tieren ausgeprägt. Während die männlichen Tiere auf ihrem grauen Grundton eine schwarze Streifung der gesamten lateralen und ventralen Körperwand aufweisen (daher auch die Namensgebung Zebrabuntbarsch), zeigen weibliche Exemplare im ventrolateralen Bereich zusätzlich eine orangefarbige Pigmentierung. Männliche Tiere haben zudem längere Flossen und können mit zunehmendem Alter einen Stirnbuckel entwickeln (Wisenden, 1995). Die Tiere werden durchschnittlich bis zu 11 Jahre alt (Barlow, 2002), sind mit ca. 6 Monaten geschlechtsreif und leben in der Regel monogam (Arnott & Elwood, 2009). Ein besonderes Merkmal ist ihr ausgeprägtes Revierverhalten sowie eine durch beide Geschlechter betriebene Brutpflege (Gumm & Itzkowitz, 2007). In seinem natürlichen Lebensraum ernährt sich der Grünflossenbuntbarsch als omnivore Fischart von kleinen Krebsen, Fischen, Insekten sowie Algen und Pflanzenmaterial (Winemiller et al., 1995).

1.1.1 Der Grünflossenbuntbarsch als Aquarienfisch

In Deutschland wurde im Jahr 2015 die Anzahl der Aquarien laut Zentralverband Zoologischer Fachbetriebe Deutschland e.V. auf ca. 2 Millionen geschätzt (ZZF, 2015). Über den Bestand des Grünflossenbuntbarsches in diesen Aquarien existieren keine konkreten Zahlen. Seine gute Adaption an verschiedene Umweltbedingungen (z.B. Wassertemperatur, Wasserhärte) macht den Grünflossenbuntbarsch zu einem robusten Aquarienfisch (Loiselle, 1994), der sich in Gefangenschaft gut nachzuchten lässt. Durch diese Anpassungsfähigkeit und seine anspruchslosigkeit in Bezug auf Futter (Mills & Vevers, 1989), ist er ein sehr beliebter so genannter „Anfängerfisch“ und dementsprechend häufig in Aquarien anzutreffen. Durch das dominante Auftreten des Grünflossenbuntbarsches ist eine Vergesellschaftung nur mit größeren Buntbarscharten möglich – eine Tatsache die gerade von Anfängern häufig missachtet wird. Aus diesem und weiteren Gründen wird der Fisch daher besonders häufig dem praktizierenden Fischtierarzt vorgestellt¹.

¹ Tierarzt Jan Wolter (persönliche Mitteilung, 1. Juni 2010)

1.1.2 Der Grünflossenbuntbarsch als Modelltier

Im Jahr 2014 wurden in Deutschland ca. 270.000 Fische in Tierversuchen eingesetzt (BMEL, 2014). Wie viele Grünflossenbuntbarsche national bzw. international eingesetzt wurden, ist nicht zu eruieren. Sein dominantes Auftreten zeigt der Grünflossenbuntbarsch, wie auch andere Vertreter aus der Familie der Cichlidae, vor allem bei der Brutpflege und der Revierbildung (Anthony & Coleman, 2010). Dieses Verhalten ist der Hauptgrund, warum *A. nigrofasciata* seit vielen Jahrzehnten als klassisches Modelltier im Bereich der piscinen Verhaltensforschung dient (Budaev et al., 1999; Gallagher et al., 1972). Als Beispiele hierfür seien genannt: Untersuchungen zu verschiedenen Formen der Interaktion, zu Aggressivität, zur Schwarmbildung (Moss et al., 2015) oder zur Bedeutung der Geschlechterverteilung in Bezug auf das Brutverhalten (Cleveland-Roberts & Itzkowitz, 2009). Darüber hinaus ist der Fisch auch auf anderen Gebieten ein häufig verwendetes Tiermodell. Dazu gehören u.a. Analysen von Hormonprofilen (van Breukelen et al., 2015) und Untersuchungen zur embryonalen Entwicklung des Dottersacks (Vlahos et al., 2015) sowie verschiedene genetische Fragestellungen (Chi et al., 2015; Chingjiang & Schröder, 1983).

1.2 Der Verdauungstrakt

Wie bei den meisten Säugetieren, Vögeln und Reptilien lässt sich auch der Verdauungstrakt von Fischen im Allgemeinen in einen Kopf-, Vorder-, Mittel- und Enddarm untergliedern (Harder, 1964). Der Kopfdarm inkludiert die Maul- sowie Rachenhöhle und ist primär für die Aufnahme und Weiterleitung der Nahrung verantwortlich. Diesem Abschnitt folgend, setzt sich der Vorderdarm ab Höhe der Kiemen aus Ösophagus und Magen zusammen. Der Ösophagus transportiert die Nahrung in den Magen. Bei Fischarten, denen ein Magen fehlt, wie zum Beispiel den Karpfenartigen (Farag et al., 2014), wird der erste Darmabschnitt dem Vorderdarm zugeordnet (Marel et al., 2014). Der sich anschließende Mitteldarm wird prinzipiell in einen vorderen und hinteren Abschnitt untergliedert. Mittel- und Enddarm weisen im Hinblick auf verschiedene Fischarten in ihrer Längenausprägung die höchste Variabilität auf (Day et al., 2014). Es können verschiedene Modifikationen, wie zum Beispiel intestinale Blindsäcke (Perruzzi et al., 2015) im vorderen Mitteldarmabschnitt, nachgewiesen werden. Die Hauptfunktion dieses Darmabschnittes sowie der intestinalen Blindsäcke besteht in der Resorption von Nährstoffen. Der folgende Enddarm stellt meist ohne besondere Modifikationen das kaudale Segment des Verdauungstrakts dar. Der Abschluss des Verdauungstrakts ist durch eine Ringmuskulatur des Anus charakterisiert (Gao et al., 2015).

Wie bei Säugetieren, Vögeln und Reptilien sind Aufbau und Funktion des Verdauungstrakts einer hohen Adaptation an Nahrungszusammensetzung und Lebensraum unterworfen (Karasov et al., 2011). Im Allgemeinen lässt sich die Struktur des Verdauungstrakts bei Fischen in karni-, herbi- sowie omnivor klassifizieren. Während bei karnivoren Fischen die Darmlänge

im Verhältnis zur Körperlänge am kürzesten ist, ist der Darm bei herbivoren Fischarten deutlich länger. Omnivore Arten, zu denen der Grünflossenbuntbarsch zählt, nehmen hierbei eine Zwischenstellung ein (Kramer & Bryant, 1995).

1.3 Zielsetzung

Voraussetzung der korrekten Therapie eines erkrankten Fisches ist eine exakte Diagnose. Diese kann vom Tierarzt nur gestellt werden, wenn es möglich ist, ein gesundes Tier von einem kranken bzw. gesunde Organsysteme, Organe, Gewebe und Zellen von erkrankten zu unterscheiden. Literatur zur Anatomie und Histologie von Aquarienfischen im Allgemeinen ist jedoch kaum (Genten et al., 2009) bzw. gar nicht vorhanden und bestehende Erkenntnisse beziehen sich vor allem auf unterschiedliche Nutzfischarten (Al-Hussaini, 1949; Roberts, 2012). Bedingt durch die enorme Artenvielfalt der Klasse der Fische mit über 20000 Vertretern (Bone & Moore, 2008), ist eine Übertragung oder gar Verallgemeinerung im Hinblick auf anatomische und histologische Merkmale schwer möglich. Obwohl der Grünflossenbuntbarsch eine in der Praxis und biomedizinischen Forschung häufig vertretene Fischart repräsentiert, fehlen grundlegende Arbeiten zu seiner Anatomie und Histologie. Durch lückenhafte Kenntnisse der anatomischen und histologischen Charakteristika sind Interpretationen morphologischer Merkmale sowie therapeutische Eingriffe von Momententscheidungen bzw. Erfahrungswerten geprägt und scheitern nicht selten. Häufige und in letzter Zeit zunehmende Anfragen von Zierfischspezialisten zu anatomisch-histologischen Details und Daten, um den physiologischen Zustand von pathologischen Veränderungen abzugrenzen, konnten und können nicht beantwortet werden.

Übergeordnetes Ziel dieser Arbeit war es daher, grundlegend zum Verständnis der Anatomie und Histologie von *A. nigrofasciata* beizutragen. Dafür wurde als erster Meilenstein der Verdauungstrakt gewählt, da diesem eine zentrale Bedeutung für den Organismus zukommt. Nahrungsaufnahme und Funktion des Verdauungstrakts hängen direkt mit der Tiergesundheit zusammen (Bonvini et al., 2015) und Erkrankungen des Verdauungstrakts stellen eines der häufigsten Probleme der Zierfischpraxis dar. Mit der Ausnahme einer makroskopischen Charakterisierung der Darmschleifung (Zihler, 1982), stehen bislang keine anatomischen und histologischen Daten zum Aufbau des Verdauungstrakts des Grünflossenbuntbarsches zur Verfügung.

Das erste Teilziel dieser Arbeit bestand darin, eine anatomische, histologische und morphometrische Beschreibung des Verdauungstrakts von *A. nigrofasciata* zu erstellen.

Im Verlauf dieser ersten anatomisch-histologischen Untersuchungen fiel das Vorkommen der sogenannten eosinophilen Granularzellen auf, Entzündungszellen, die bereit bei anderen Fischarten beschrieben wurden (Reite & Evensen, 2006).

Daher wurde in einer zweiten Studie das zweite Teilziel, nämlich die spezifische Verteilung dieser Zellen im Verdauungstrakt von *A. nigrofasciata* beschrieben und ergänzend untersucht, ob die Nahrungsaufnahme der Tiere einen Einfluss darauf hat. Für den Grünflossenbuntbarsch lagen bislang keine Daten über die Präsenz und die Verteilung dieser Zellen vor.

1.4 Angewandte Methoden

Die anatomisch-morphologischen Untersuchungen sollten die *in situ* Verhältnisse des Verdauungstrakts dokumentieren. Ein besonderer Schwerpunkt wurde hierbei auf die Topographie des Darmes sowie die Lageverhältnisse angrenzender Strukturen in der Leibeshöhle gelegt. Die histologische Untersuchung erfolgte mittels Lichtmikroskopie an Paraffinschnitten der einzelnen Abschnitte des Verdauungstrakts. Hierfür wurden Ösophagus, Magen und Darm in horizontaler und transversaler Ausrichtung geschnitten. Der Darm wurde seiner Schleifung folgend in fünf unterschiedliche Segmente unterteilt. Zur Darstellung wurden Hämatoxylin-Eosin (HE)-, Alcianblau (AB)-, Periodic Acid Schiff (PAS)-, Alcianblau-Periodic Acid Schiff (AB-PAS)- sowie Trichrom-Färbungen verwendet. Ergänzend zu der morphologischen Beschreibung wurden semiquantitative Analysen von Mukosubstanzen (Díaz et al., 2008) des Verdauungstrakts durchgeführt. Weiterhin wurden verschiedene morphometrische Parameter untersucht, wie beispielsweise der Durchmesser des Verdauungstrakts, Dicke der Tunica muscularis, Verhältnis der mukosalen Oberfläche zum korrespondierenden Abschnitt der Serosa sowie Höhe der Epithelien. Da sich die meisten morphometrischen Untersuchungen des piscinen Verdauungstrakts nur auf einzelne Längenangaben beziehen (Nandi & Saikia, 2015), sollten die gemessenen Parameter eine möglichst genaue Differenzierung der einzelnen Abschnitte ermöglichen. Zur räumlichen Orientierung und Darstellung der luminalen Oberflächenstrukturen wurden weitergehend Proben für die Rasterelektronenmikroskopie angefertigt und dokumentiert. Hierfür konnten mehrere Arbeiten von verschiedenen Fischarten als Vergleich herangezogen werden (Ezeasor & Stokoe, 1980; Grau et al., 1992).

2 Publikationen

2.1 Gross morphology and histology of the alimentary tract of the convict cichlid *Amatitlania nigrofasciata*

Hopperdietzel, C., Hirschberg, R. M., Hünigen, H., Wolter, J., Richardson, K. & Plendl, J. 2014. *Journal of Fish Biology*, **85**(5), 1707–1725.

Please find the original article via the following digital object identifier:

<http://dx.doi.org/10.1111/jfb.12530>

Gross morphology and histology of the alimentary tract of the convict cichlid *Amatitlania nigrofasciata*

C. Hopperdietzel¹, R. M. Hirschberg¹, H. Hünigen¹, J. Wolter², K. Richardson³ and J. Plendl¹

¹*Institute of Veterinary Anatomy, Department of Veterinary Medicine, Freie Universität Berlin, Koserstrasse 20, D-14195 Berlin, Germany,*

²*Ornamental Fish Veterinary Practice Jan Wolter, Tegeler Weg 24, D-10589 Berlin, Germany and*

³*College of Veterinary Medicine, School of Veterinary and Life Sciences, Murdoch University, 90 South St, Murdoch WA 6150, Australia*

(Received 6 September 2013, Accepted 6 August 2014)

2.1.1 Abstract

The primary objectives of this study were to document the macroscopic and histological structure of the alimentary tract (AT) of the convict cichlid *Amatitlania nigrofasciata*, because there are no data available for this omnivorous freshwater fish of the family Cichlidae. The morphology of the AT of *A. nigrofasciata* resembles that of related species. While having morphological criteria of the AT typical of most omnivorous fishes, such as a blind sac stomach and medium length intestine, *A. nigrofasciata* also has some structural peculiarities: the oesophagus is lined by a uniform stratified squamous epithelial layer with interspersed goblet cells along its entire length. Additionally, it has well-developed layers of the tunica muscularis including muscle fibre bundles that ascend into its mucosal folds. Occasionally, taste buds are present. In the transitional area between oesophagus and stomach, a prominent torus-like closure device is present. The mucosa of the stomach cannot be divided into different regions according to mucosal and morphological properties. The simple pattern of intestinal loops of *A. nigrofasciata* has few variations, irrespective of sex, mass and length of the individual fish. The first segment of the intestine is characterized by the largest mucoserosal ratio and the most complex mucosal surface architecture. A distinction of midgut and hindgut was not possible in *A. nigrofasciata* due to lack of defining structural components as described for other fish species.

Key words: anatomy; Cichlidae; gasterointestinal; histology; morphometry; scanning electron microscopy.

2.1.2 Introduction

Fish-keeping has become more popular in recent years, especially in first world countries; for example, there are about 11.9 million freshwater aquariums in U.S. households (APPA, [2012](#)). Whilst the morphology and histological structures of the piscine alimentary tract (AT) has been well documented in several species, variations of the general morphological patterns due to differing habitats, feeding and social behaviour, body size and taxonomy have had little attention (Al-Hussaini, [1949](#); Harder, [1964](#); Kapoor *et al.*, [1975](#); Wilson & Castro, [2011](#)). Most of the detailed studies on the piscine AT focus on commercial aquaculture species, such as rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum 1792) (Ezeasor & Strokoe, [1981](#); Ostos-Garrido *et al.*, [1993](#); Khojasteh *et al.*, [2009](#)) and species of tilapia (Gargiulo *et al.*, [1998](#); Abdulahadi, [2005](#)). Only a few studies deal with the digestive tract of aquarium fish species (Hale, [1965](#); Caceci, [1984](#); Önal *et al.*, [2010](#)).

The convict cichlid (synonym zebra cichlid) *Amatitlania nigrofasciata* (Günther 1867) (order Perciformes, family Cichlidae) is an omnivore, ovipar teleost native to lakes and streams of Central America. As it is easily maintained and bred in captivity, this is a common and popular species kept by aquarists. It has been used for studies on small teleosts for evaluating the effects of sedative shipping additives under industrial conditions (Kilgore *et al.*, [2009](#)). *Amatitlania nigrofasciata* has also been frequently used in fish behaviour studies (Arnott *et al.*, [2011](#); Dechaume-Moncharmont *et al.*, [2011](#); Moscicki *et al.*, [2011](#); Chee *et al.*, [2012](#); van Breukelen, [2013](#)). In one behaviour study, social stress was reported to be associated with gallbladder hypertrophy and increased bile retention (Earley *et al.*, [2004](#)). This study aims to determine and document the detailed macroscopical and histological structure of the AT of *A. nigrofasciata*.

2.1.3 Materials and methods

In this study, 26 male and 13 female healthy adult *A. nigrofasciata* aged between 1 and 5 years were purchased from private aquarists and fish-keeping wholesalers following a visual health check. The fish were kept in small groups of five to eight individuals over a period of 10 days in a 300 l tank at a constant water temperature of 21° C. The fish were fed once a day ad libitum with conventional dehydrated food (NovoBel, JBL; www.jbl.de). After a 24 h fasting period to reduce subsequent post-mortem autolytic processes within the AT, each fish was anaesthetized using a 1500 mg l⁻¹ lidocaine bath (Carrasco et al., 1984) (Ursocain 5%, Serumwerk; www.serumwerk.com) and then euthanized by decapitation. Body length (mouth to base of the tail) and mass of each individual fish were measured prior to subsequent anatomical dissection and sampling. Buccal cavity and pharynx were not examined here. Care and use of the experimental animals of this study complied with all relevant local animal welfare laws, guidelines and policies, and were approved by local authorities (LaGeSo). Terminologies used in this study are based on the Nomina Histologia Veterinaria (1994).

2.1.3.1 Macroscopic examination

Seven fish (three males and four females) were used to examine their in situ macroscopic morphology. The left body wall was opened via a semicircular incision with a pair of fine scissors along the ventral side of the fish. The bodies were then fixed for 48 h in refrigerated Bouin's solution or 10% neutral buffered formalin (Romeis, 2010). After fixation, liver, gonads and mesentery were removed carefully. The AT comprising oesophagus, stomach and intestine was detached as far cranially and caudally as possible. The entire visceral mass was removed from the body cavity for further preparation. A reflected light microscope (Wild M3Z, Wild-Heerbrugg; www.wild-heerbrugg.com) was used for examining mesenteric attachments, pancreatic tissue, spleen, gallbladder and major blood vessels while dissecting and removing the viscera. Subsequently, the AT was photographed (Nikon DS-Ri1, Nikon Corporation; www.nikoninstruments.com) and its length was measured.

2.1.3.2 Light microscopic examination

For light microscopic examination, the ATs of 27 fish (20 males and seven females) were used. Each body cavity was opened as described above. The AT was rinsed with Bouin's solution and the bodies were transferred into refrigerated Bouin's solution for 48 h. The oesophagus, stomach and intestine were removed from the body cavity as described above. Subsequently, the AT was prepared using two methods: (1) the whole visceral mass was left undissected for determination of topographical relations (three males and one female) and (2) the AT was

removed and divided into seven segments of roughly 5–10 mm in length: oesophagus, stomach and five intestinal segments that were determined according to the distinct morphology of the intestinal loops as determined by the earlier macroscopic examination. The respective AT segments were labelled: AT1 = oesophagus, AT2 = stomach, AT3 = proximal segment of intestine, AT4–AT6 = middle segments of intestine and AT7 = distal segment of intestine. The segments were rinsed in distilled water, dehydrated in a series of ascending ethanol solutions (50% to absolute), cleared in xylene before being transferred to and embedded in paraffin wax for subsequent transverse sectioning. The undissected visceral mass and its associated AT was embedded for either horizontal or sagittal sectioning for topological studies. Four to 6 μm sections were cut using a microtome (Histoslide 2000 R, Leica Instruments GmbH; www.leica-biosystems.com) and mounted on glass slides. The slides were dewaxed with xylene and rehydrated in a descending series of ethanol solutions. Staining included histological routine procedures (Romeis, 2010) with haematoxylin and eosin (H&E), alcian blue (AB) (pH 1 and pH 2.5), periodic acid Schiff (PAS)-nuclear red solution, or combined AB–PAS (pH 2.5). In addition, a special trichrome stain developed at the Institute of Veterinary Anatomy, Freie Universität Berlin [modified trichrome stain according to Künzel: gallocyanin-chromotrope 2R-aniline blue, (GRA); Boehme, 1988] was used. After the respective staining processes, the slides were dehydrated again in an ascending ethanol series, transferred into xylene, covered with permanent mounting media and coverslipped (Eukitt, Roth GmbH; www.carlroth.com). The stained slides were examined using an incident light microscope (Zeiss Axioskop, Carl Zeiss MicroImaging GmbH; www.zeiss.com) and submitted to manual morphometry using imaging software (NIS-Elements, Nikon Corporation). The following morphometric data were taken for oesophagus, stomach and each intestinal segment: diameter of the AT, heights of the epithelia, mucosal folds and tunica muscularis. The serosomucosal ratio (i.e. length of the tunica serosa surface related to the mucosal surface determined within histological cross sections) and the nature of the goblet cell contents (according to respective staining properties) were also determined.

2.1.3.3 SEM examination

Five fish (three males and two females) were used for scanning electron microscopic (SEM) examination. After opening the body cavity and extracting the liver, gonads and mesenteric tissues, the AT was removed and divided into seven segments as described for light microscopy. Each segment was opened along its length to expose its mucosal surface. Segments with a luminal diameter too small to be opened were put into liquid nitrogen for a few seconds and fractured. Segments that contained visible food elements adhering to the mucosa were discarded. The samples were transferred into modified Karnovsky solution (7.5% glutaraldehyde and 3% paraformaldehyde buffered at pH 7.4) for 24 h at 7° C, washed four times in 0.1 M

cacodylate buffer at 21° C and post-fixed in 1% osmium tetroxide mixed with 0.2 M cacodylate buffer. The post-fixed samples were washed twice with buffer, dehydrated in an ascending series of ethanol (starting with 30% and finally into two changes of absolute ethanol) and then treated with hexamethyldisilazane (HMDS; Roth GmbH) twice for 15 min.

After drying overnight under a fume hood to remove HDMS, the samples were put onto aluminium stubs using conductive glue (Leit-C, Plano GmbH; www.piano-em.de), sputter-coated with gold-palladium for 2 min (c. thickness 2 nm) and viewed using a Zeiss DCM960 scanning electron microscope at an accelerating voltage of 10 kV. Digital images were taken with Orion 5.63 image capture software (E.L.I. sprl; www.orionmicroscopy.com).

2.1.4 Results

2.1.4.1 Gross morphology determined by macroscopic examination

The body length of the fish examined ranged from 4.9 to 8.1 cm (mean = 6.1 cm), and the mass ranged from 4.8 to 20.4 g (mean = 9.7 g). The common body cavity is limited dorsally by the swimbladder and cranially by a transverse septum which separates the heart from the visceral mass. The cavity is limited ventrally and laterally by the abdominal wall, and caudally by musculature [Fig. 1(a)]. An overview of the in situ morphology shows that the liver lies predominantly to the left side of the body cavity and obscures the distal oesophagus (AT1), stomach (AT2) and intestinal segments (AT3–AT7). These lie in the body cavity to the right of the mid-sagittal plane [Fig. 1(a)]. Liver dimensions vary between individuals. The liver lies within the ventral mesentery and is connected to the stomach via the lesser omentum and to the ventral body wall via the falciform ligament. The length of the AT is 4.0–7.2 cm (mean = 5.1 cm). The oesophagus is a short conical tube that bifurcates distally with one arm leading into the stomach and the second arm leading into the intestine. The stomach is either rounded or more elongated and lies laterally towards the right. The spleen lies between the Y-shaped division of the stomach and intestine, but may vary in its position. In some specimens, the spleen is attached to the mesentery of the first intestinal segment. The intestine runs at an oblique angle from the stomach in a ventrocaudal direction. Its initial segment (AT3) is ampoule-shaped and leads directly into a four-looped intestinal coil terminating in the anus. The initial intestinal segment has the same diameter as that of the stomach but the diameter of the remainder of the intestine is much smaller. The gallbladder lies ventral to the proximal intestine. In all specimens examined, the gallbladder is distended with bile (diameter of c. 2.5 mm). Both the bile duct and the pancreatic duct open laterally in the proximal intestinal lumen.

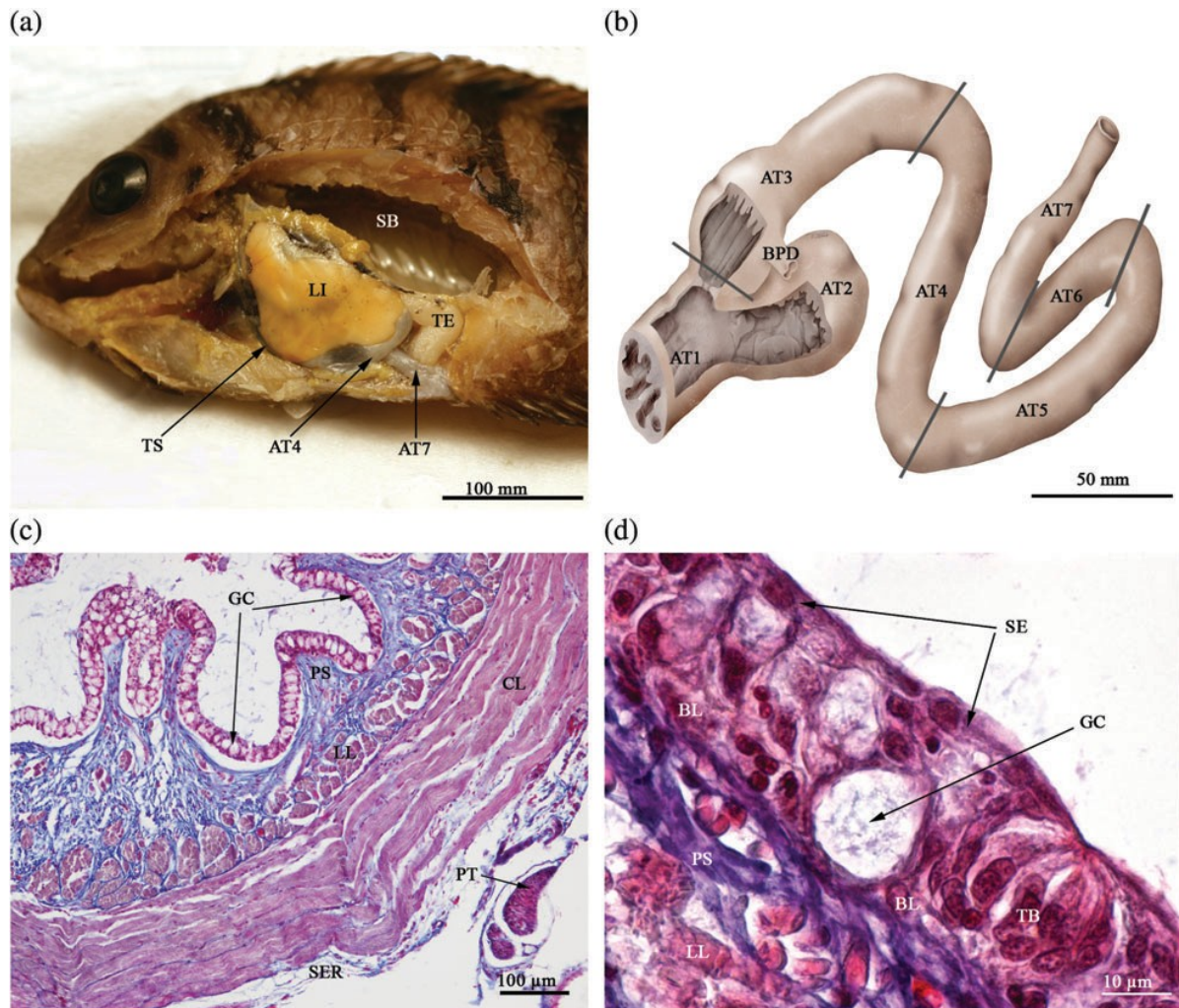


Figure 1.

Light microscopy of the alimentary tract (AT). (a) AT *in situ*, partly covered by the liver, of a male *Amatitlania nigrofasciata* fixed in Bouin's solution. Left body cavity opened: LI, liver; TE, testis; AT7, distal intestine; SB, swimbladder; TS, transverse septum; AT4, second intestinal segment. (b) Schematic representation of the AT without mesenteric attachments, and with the transition zone between oesophagus, stomach and intestine opened: AT1, oesophagus; AT2, stomach; BPD, bile and pancreatic duct; AT3–AT7, intestinal segments. (c) Transverse section of the oesophagus (AT1 segment): GC, goblet cells; PS, propria-submucosa; tunica muscularis with outer, circular layer (CL) and inner, longitudinal layer (LL); PT, pancreatic; SER, serosa. Trichrome stain. (d) Horizontal section of a proximal fold of the oesophageal stratified squamous epithelium. SE, squamous epithelial cell; BL, basal cell layer; GC, goblet cell; TB, taste bud; PS, propria-submucosa; LL, longitudinal layer of the tunica muscularis. Trichrome stain.

The topography of the intestinal tube is shown in Fig. 1(b). Caudal to the first loop, segment AT4 turns to the right side of the body cavity and runs cranially to the Y-formed division of the stomach and intestine. After the second loop, the gut (AT5) turns caudoventrally to form the third loop that reflects medially within the body cavity. Segment AT6 continues into the fourth loop, which is located ventrocaudally to the second loop. The distal segment of the gut (AT7) runs directly to the anus. Food remains are often found within the terminal part of the intestine. Segments AT4–AT7 have a nearly constant diameter along their whole length (Fig. 2).

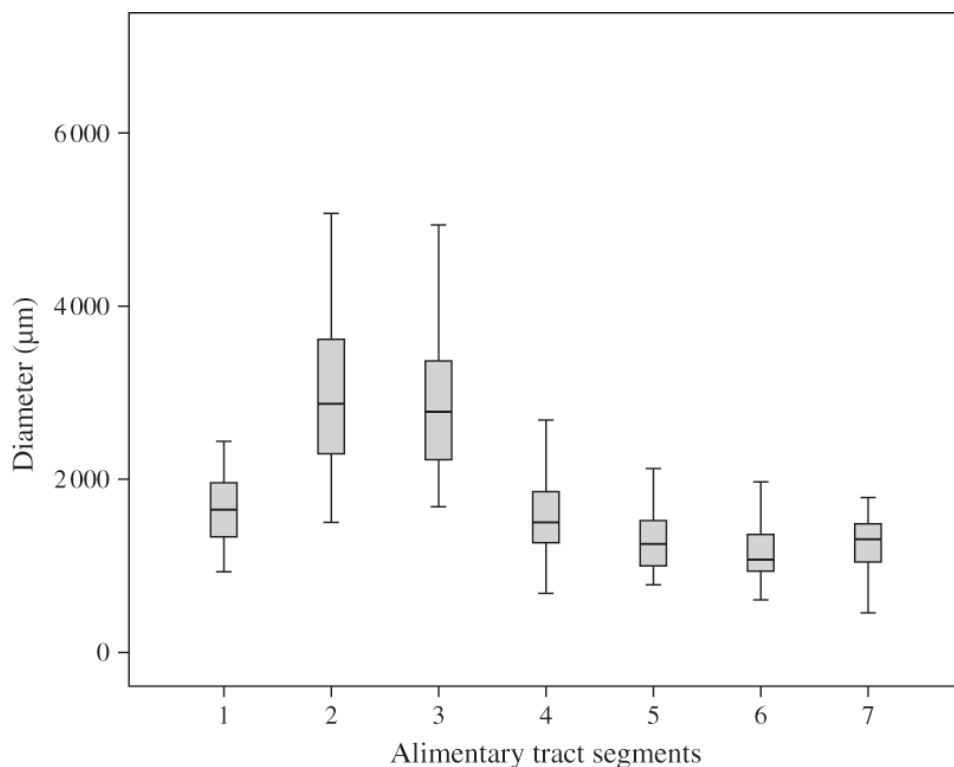


Figure 2.

Tube diameters within the different alimentary tract (AT) segments of *Amatitlania nigrofasciata*. 1, oesophagus (AT1); 2, stomach (AT2); 3–7, intestinal segments (AT3–AT7), ($n = 23$). The box is the interquartile range. The whiskers are the high and low values. The line across the box is the median.

2.1.4.2 Histology determined by light microscopy and SEM examination

Oesophagus

The oesophagus has a uniform structure along its length. The oesophageal mucosa has eight to 12 longitudinal primary folds with few secondary interconnecting folds. On SEM observation, the oesophageal mucosal surface has a uniform appearance along the length of the longitudinal folds. At the junction with the intestinal tube and stomach, the folds become smaller and more spread out.

The oesophageal mucosa has a stratified squamous epithelium [Fig. 1(c), (d)] characterized by large numbers of uniformly distributed goblet cells surmounting a deeper basal cell layer of small undifferentiated polygonal cells. The goblet cell cytoplasm stains lightly in routine H&E and GRA stains. Only a few intercalated cells are visible amongst the goblet cells. While the distribution of goblet cells is uniform over the whole length of the oesophagus [Fig. 1(d)], staining with PAS and AB-nuclear red solution differs along its length (Table 1). The number of goblet cells with neutral mucopolysaccharides is greater in the proximal oesophagus, whereas goblet cells with acid mucopolysaccharides are uniformly distributed along the entire length of the oesophagus.

Procedures	Oesophagus	Stomach	Intestine				
	AT1	AT2	AT3	AT4	AT5	AT6	AT7
AB (pH 1)	±	±	±	+	+	+	+
AB (pH 2-5)	++	+	++	++	++	++	++
PAS	±	±	++	++	++	++	++
AB-PAS (pH 2-5)	++	++	+	++	++	++	++

AB, Alcian blue; PAS, periodic acid Schiff; AT3-AT7, intestinal segments; ±, poorly stained; +, low staining; ++, medium staining.

Table 1. Histochemical reaction of mucosubstances in different segments of the alimentary tract (AT) of *Amatitlania nigrofasciata*

Taste buds [Fig. 1(d)] are sparsely and randomly distributed throughout the oesophageal mucosa. On SEM examination, uniform microridges are found throughout the entire oesophageal epithelial surface in some specimens [Fig. 3(a)] but in others these are irregular and bear microvilli [Fig. 3(b)]. Apical portions of goblet cells are found throughout the epithelium along the entire length of the oesophagus. Goblet cell pores and extruded mucus are present [Fig. 3(b)]. The transition of the oesophageal epithelium to the gastric epithelium is clearly marked by the absence of microridges and the presence of microvilli [Fig. 3(c)].

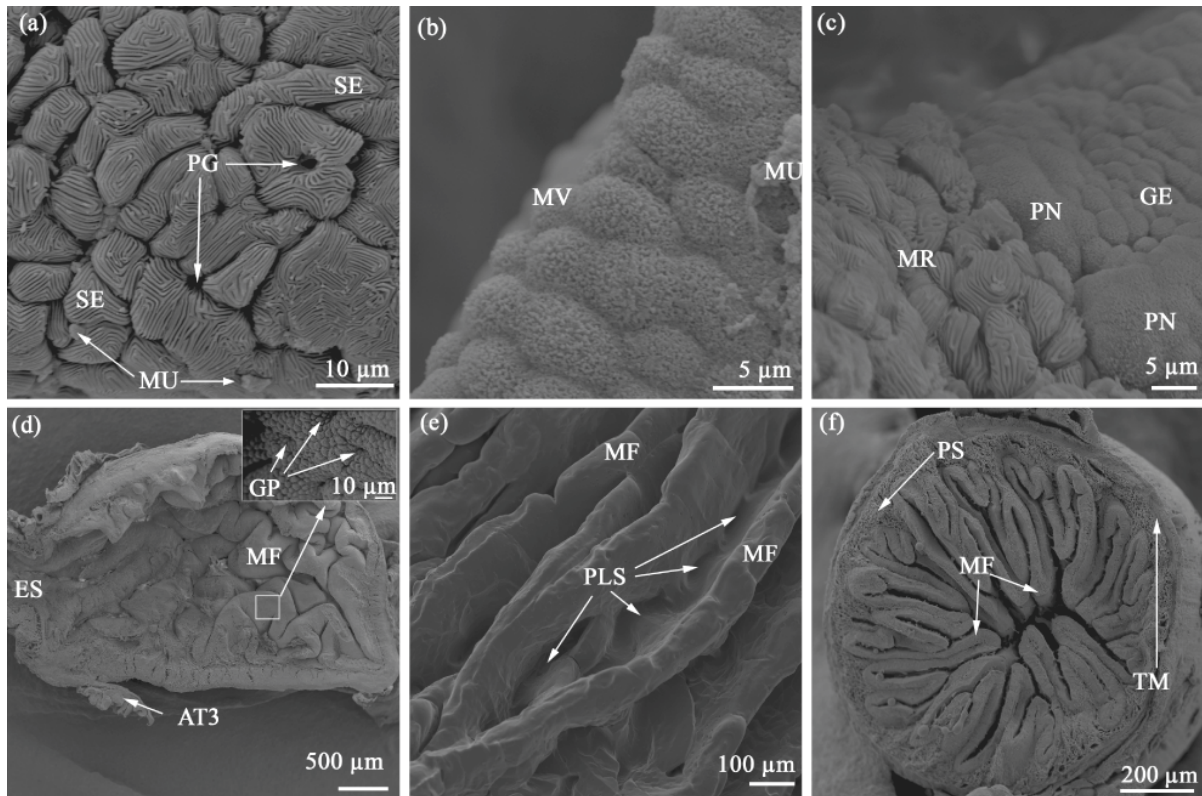


Figure 3.

Scanning electron microscopy of the alimentary tract (AT) of *Amatitlania nigrofasciata*. (a) Epithelial surface of the oesophagus: SE, squamous epithelium with microridges; PG, pores of goblet cells; MU, mucus. (b) Epithelial surface in the middle part of the oesophagus: MV, microvillus-like structures of the oesophageal epithelium; MU, mucus. (c) Transition area between oesophagus and stomach. GE, gastric epithelium; MR, microridges of oesophageal epithelium; PN, non-glandular mucosal area. (d) Sagittal section of the stomach (AT2 segment): MF, mucosal folds; ES, oesophagus; AT3, first intestinal segment. Small inset figure: GP, gastric pits. (e) AT3, first intestinal segment: MF, longitudinal mucosal fold; PLS, pocket-like structures at the basal mucosal side. (f) Cross-section of the second intestinal segment (AT4): MF, longitudinal mucosal fold; PS, propria-submucosa; TM, tunica muscularis.

Under light microscopy, the oesophageal lamina propria-submucosa contains closely packed connective tissue fibres, few blood vessels and striated muscle fibres that project from the stratum longitudinale of the tunica muscularis to the top of the mucosal folds. Due to the absence of a continuous lamina muscularis of the tunica mucosa in the oesophagus (and all other alimentary segments examined), distinct lamina propria mucosae or tela submucosa layers could not be defined. External to the submucosal region, the tunica muscularis consists of two layers of striated muscle: an inner longitudinal layer, the stratum internum and a considerably

thicker outer circular layer, the stratum externum [Fig. 1(c)]. Between these layers, large blood vessels are prominent. Distally, the stratum internum becomes thinner and disappears at the transition between oesophagus and stomach. At the junction of the stomach and intestine, the oesophageal stratum externum forms the core of an inwardly directed torus-like closure device. At the stomach and intestinal junction, smooth muscle replaces striated muscle. Stratification of the tunica serosa is irregular. In some areas, there is only a squamous epithelium with little underlying connective tissue. At other sites, the serosa is underlain by a thick connective tissue layer (lamina propria serosa) where blood vessels and elements of the subserosal nerve plexus can be observed. There are several serosal folds extending from the distal oesophageal wall that contain large blood vessels and pancreatic tissue [Fig. 1(c)].

Stomach

The stomach is a small blind sac adjacent to the junction of the oesophagus and intestine. Its tunica mucosa has large primary folds that run in a zigzag pattern along its length. From the entry into the stomach and moving towards the blind ending of the stomach, the folds increase in height [Fig. 3(d)]. On light microscopic examination, the transition from oesophagus to stomach is marked by a short (c. 200 μm in length) non-glandular mucosal area at the oesophagogastric junction [Figs 3(c) and 4(a)]. Most of the stomach is lined by tunica mucosa having a distinct gastric columnar epithelium and no goblet cells. The brush border of the simple columnar epithelium of the stomach is PAS-positive and AB-negative.

Oxynticoptic glands are observed throughout the entire lamina propria-submucosa of the gastric mucosa. They are unbranched tubular glands and occur in small clusters. The lamina propria-submucosa is extensive and contains connective tissue that surrounds the gastric glands. Mast cells and leucocytes are often visible within this layer. A lamina muscularis mucosae is missing. Thus, the determination of a discrete lamina propria mucosae or tela submucosa is not possible. SEM confirms the light microscopic observation that the mucosal folds of the stomach are tallest in the distal part of the stomach [Fig. 3(d)]. Gastric foveolae are interspersed between areas of gastric surface epithelium that have short microvilli [Fig. 3(d) inset]. The distribution pattern of these glandular openings is regular all over the gastric surface. No goblet cells could be observed.

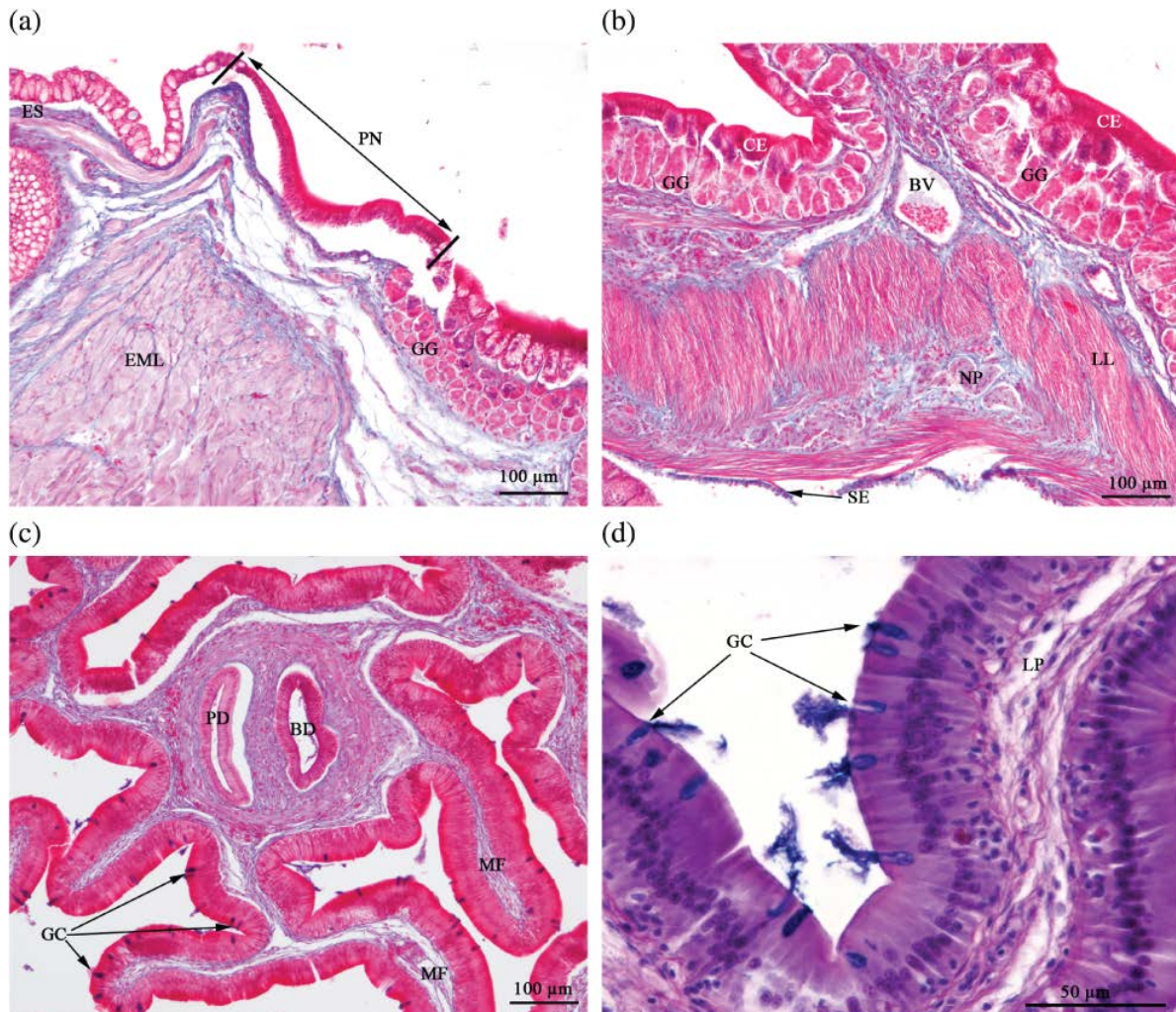


Figure 4.

Light microscopy of the alimentary tract (AT) of *Amatitlania nigrofasciata*. (a) Oesophagogastric junction: EML, extended striated muscle layer; GG, gastric glands; PN, non-glandular mucosal area; ES, oesophagus. Trichrome stain. (b) Stomach (AT2), horizontal section: CE, columnar epithelium; GG, gastric glands; LL, longitudinal muscle layer, NP, nerve plexus; SE, serosa; BV, blood vessel. Trichrome stain. (c) Horizontal section of the first intestinal segment (AT3): BD, bile duct; PD, pancreatic duct; MF, mucosal fold; GC, goblet cell. Trichrome stain. (d) Transversal section of the penultimate intestinal segment (AT6): GC, draining goblet cells; LP, lamina propria-submucosa. Alcian blue–periodic acid Schiff (AB–PAS) stain at pH 2.5.

The tunica muscularis is arranged into two layers of smooth muscle. There is an outer longitudinal layer of smooth muscle near the junction of the oesophagus and stomach, where it is very thin. It gradually thickens towards the distal part of the stomach (stratum externum sive longitudinale). The inner circular layer (stratum internum sive circulare) is relatively thick

throughout its extent. The thicknesses of the circular and longitudinal layers of the tunica muscularis have a ratio of c. 2:1 (Fig. 5). Blood vessels and elements of a myenteric plexus lie between the smooth muscle layers (stratum intermusculare) [Fig. 4(b)]. Close to the oesophago-gastric and oesophago-intestinal junction, the circular layer of the tunica muscularis widens. Both striated and smooth muscles are found here. The outer squamous epithelium of the lamina epithelialis serosae is underlain by thin connective tissue which contains few blood vessels.

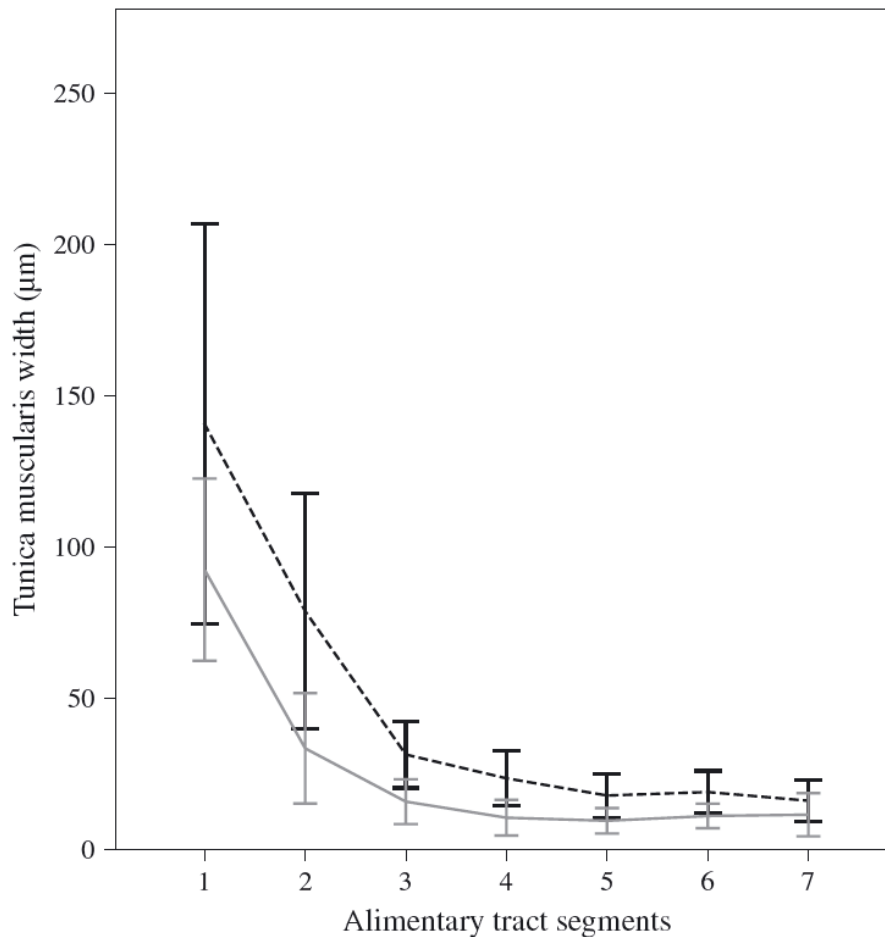


Figure 5.

Mean \pm s.d. tunica muscularis thickness (....., Stratum circulare; —, stratum longitudinale) within the different AT segments of *Amatitlania nigrofasciata*. 1, oesophagus (AT1); 2, stomach (AT2); 3–7, intestinal segments (AT3–AT7), ($n = 23$).

Intestine

The mucosa of the intestinal tract is characterized by a complex three-dimensional ridged surface-relief, presence of goblet cells and absence of propria glands. The surface relief of the intestinal mucosa is homogenous in all intestinal segments. The distinct histological layers of the intestinal wall do not vary along the length of the intestine. Light microscopic examination of transverse sections shows a series of mucosal folds that run parallel to the intestinal axis. These folds vary in height, with many low folds lying among larger, higher folds. There are no

true intestinal crypts. Samples sectioned in a horizontal or sagittal plane reveal a complex mucosal surface pattern. In the basal level of folds, the low folds form a regular zigzag pattern. These extend for the entire length of the intestine [Fig. 4(c): in two-dimensional representation; Fig. 3(e): in three-dimensional representation]. This basal network has pocket-like structures that communicate with the higher folds [Fig. 3(e)]. From the start of the intestine to its terminal segment, the height of all mucosal folds decreases (Fig. 6), the complex network of basal pockets disappears and the simple longitudinal folds disappear.

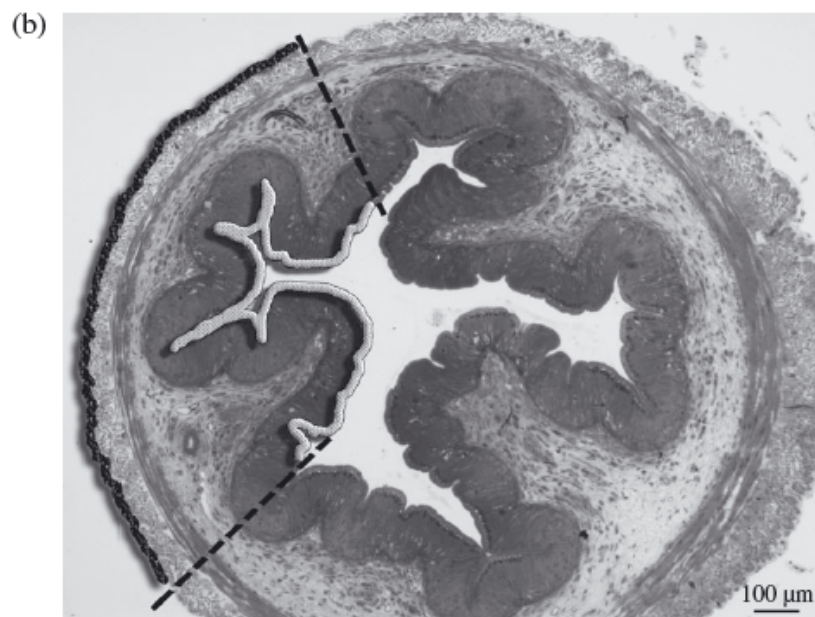
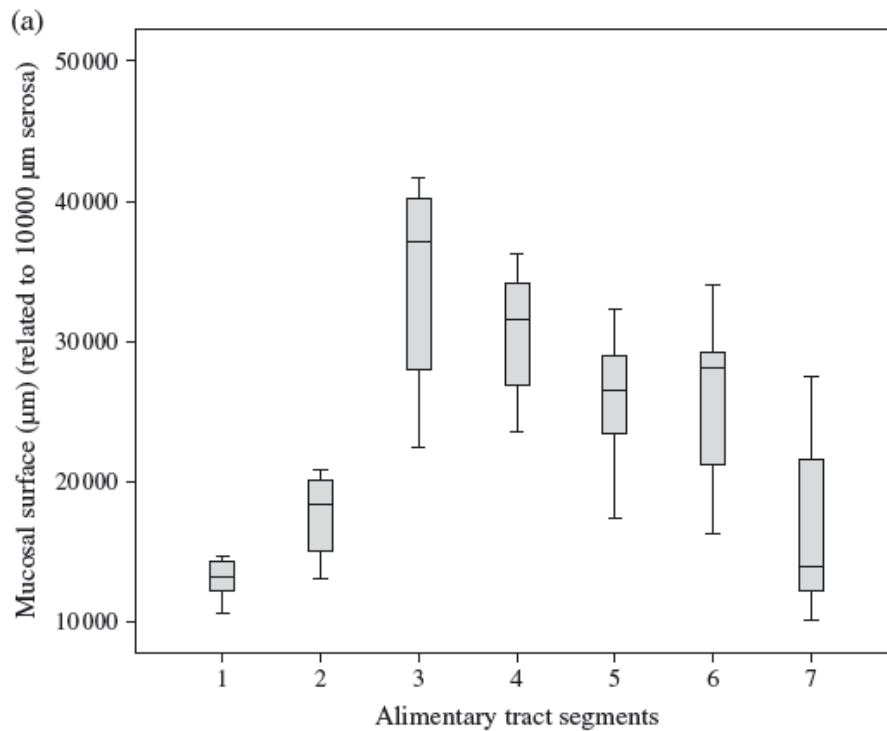
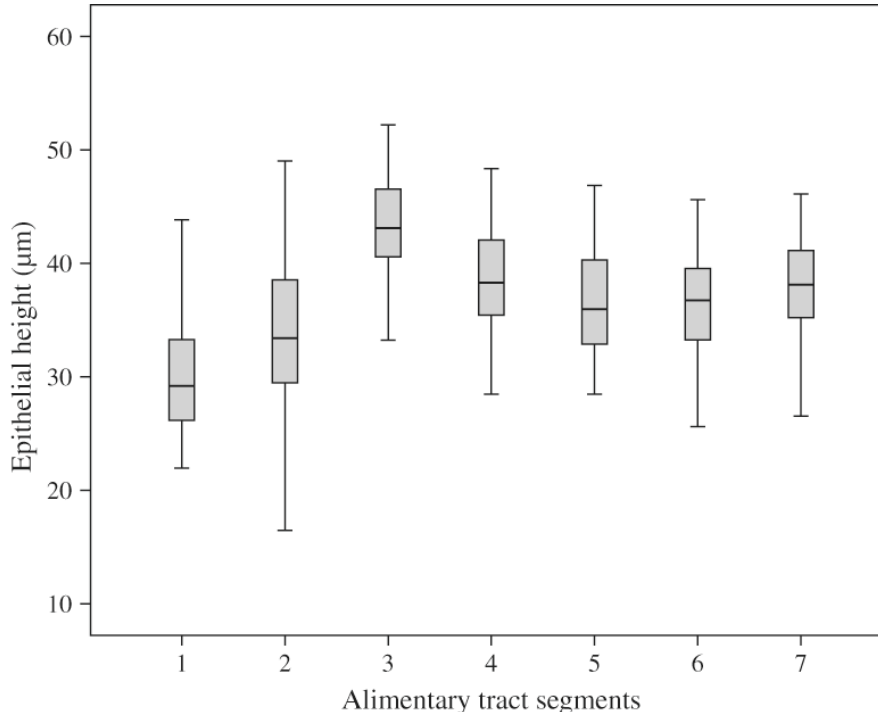


Figure 6.

Mucoserosal ratio of *Amatitlania nigrofasciata*. (a) Mucosal surface within the different alimentary tract (AT) segments. 1, oesophagus (AT1); 2, stomach (AT2); 3–7, intestinal segments (AT3–AT7) ($n = 23$). The box is the interquartile range. The whiskers are the high and low values. The line across the box is the median. (b) Schematic representation of morphometrical method used for (a). Mucosal surface (—) related to tunica serosa (—).

SEM observation of the fractured cross-section surface of the first intestinal segment [Fig. 1(b), AT3] confirms the straight longitudinal arrangement of the high mucosal folds. Short folds are not visible in the surface view SEM examinations because they are hidden by the densely arranged higher folds [Fig. 3(f)]. Distally along sequential intestinal segments, the high folds become more loosely arranged and their pattern becomes more irregular. The height of the folds decreases distally along the intestinal tube. Under light microscopy, the intestinal lamina epithelialis mucosae is a simple columnar epithelium (predominately enterocytes) with interspersed goblet cells (caliciform cells) with similar heights along the length of the intestine (Fig. 7).

**Figure 7.**

Epithelial height within the different alimentary tract (AT) segments of *Amatitlania nigrofasciata*. 1, oesophagus (AT1); 2, stomach (AT2); 3–7, intestinal segments (AT3–AT7), ($n = 23$). The box is the interquartile range. The whiskers are the high and low values. The line across the box is the median.

The epithelial surface of all segments is covered by a dense mat of microvilli (brush border). The oval-shaped nuclei of the enterocytes lie within the basal third of the cells. In the distal intestine, large clear vacuoles are found in the apical cytoplasm of the enterocytes. Goblet cells, containing acid and mixed acid-neutral mucopolysaccharides, are found as isolated cells or in small groups on the side or base of the mucosal folds in all intestinal segments [Fig. 4(d)]. Little variation in histochemical properties of goblet cell's cytoplasm is found when comparing the sequential segments of the intestine (Table 1). Some of the goblet cells, however, vary in their colour responses to the stains from deep blue to purple-magenta. The underlying connective tissue is interspersed with blood vessels and nerve bundles. Due to the absence of a lamina muscularis mucosae, the lamina propria mucosae and tela submucosa could not be distinguished. The tunica muscularis consists of an inner, thick, circular layer (stratum internum sive circulare) and an outer, thin, longitudinal layer of smooth muscle fibres (stratum externum sive longitudinale) (Fig. 5). The dimensions of the tunica muscularis decrease slightly along the length of the intestine (Fig. 5). An ileorectal valve is not present. The intestinal serosa consists of a simple squamous epithelial cell layer (lamina epithelialis serosae) while a distinct lamina propria serosa is absent. Pancreatic tissue is scattered within the mesenteries and extends into the serosal layer from the caudal part of the oesophagus to the final descending distal segment of the intestine (AT7). Pancreatic tissue is also found interspersed within the liver tissue and within the perivascular tissue of the portal veins, the so-called hepatopancreas.

2.1.5 Discussion

The primary objectives of this study were to document the macroscopic and histological structure of the AT of *A. nigrofasciata*. Results reveal morphological peculiarities of the AT including a rather uniform structure of the oesophagus, the stomach and the intestine. A distinction of midgut and hindgut was not possible due to lack of defining structural components.

Oesophagus

The fish oesophagus is characterized by a series of longitudinal mucosal folds (Wilson & Castro, 2011) lined by a stratified squamous epithelium that has large numbers of goblet cells interspersed along its entire length. In *A. nigrofasciata*, the distribution of goblet cells appears uniform but their mucopolysaccharide content varies along the length of the oesophagus. Unlike many other species of fish (e.g. sea bream *Sparus aurata* L. 1758, Cataldi et al., 1987; common dentex *Dentex dentex* (L. 1758), Carrasson et al., 2006), *A. nigrofasciata* does not have a squamous epithelium or columnar epithelium in its oesophageal mucosa. It has a stratified squamous epithelium whose cells have either fingerprint-like microridges or microvilli,

without any distinct distribution pattern. Investigations in some other species, e.g. *Anguilla anguilla* (L. 1758), however, described microvilli on the oesophageal columnar epithelium, with a tendency for them to be localized in the middle and posterior part of the oesophagus only (Meister et al., 1983). Microridges and microvilli as epithelial surface modifications presumably improve mucus adherence and spread, thus protecting the surface from mechanical and chemical trauma (Sperry & Wassersug, 1976; Meister et al., 1983; Murray et al., 1996; Wilson & Castro, 2011). In *A. nigrofasciata*, AB–PAS staining at pH 2.5 showed goblet cells with neutral mucopolysaccharides to be located particularly in the proximal oesophagus, whereas goblet cells with acid mucopolysaccharides were uniformly distributed along the entire length of the oesophagus. Also, in other fish species, subpopulations of different types of mucous cells secreting acid and neutral sulphomucins are obvious (Reifel & Travill, 1977; Domeneghini et al., 2005; Wilson & Castro, 2011). In this study, taste buds, that are common in various teleosts (Mohsin, 1962; Clarke & Witcomb, 1980; Ezeasor & Stokoe, 1980; Gentile et al., 1993), were only found occasionally in the lamina epithelialis mucosae of the oesophagus of *A. nigrofasciata*. It has been suggested that oesophageal taste buds are involved in final food selection and food orientation during its passage towards the stomach (Oliveira-Ribeiro & Fanta, 2000). As the entire oesophageal tube of *A. nigrofasciata* has two layers of striated muscle, antiperistalsis facilitating food rejection from here is probable. In other perciforms, e.g. species of the amberjack genus *Seriola*, oesophageal taste buds are absent. This feature has been explained by additional secondary mucosal villi in these species, that when coupled with longitudinal folds allows mechanical sorting of food based on the size and surface properties of the food rather than due to taste bud responses (Grau et al., 1992). The structure of the lamina propria-submucosa and tunica muscularis is uniform along the entire length of the oesophagus in *A. nigrofasciata* except for the transition zone to the stomach. The stratum compactum and stratum granulosum described by Wilson & Castro (2011) were not found in *A. nigrofasciata*. As described for other fishes (Harder, 1964; Wilson & Castro, 2011), the muscle layers consist of striated and not smooth muscle, and the outer circular layer of the tunica muscularis is thicker than the inner longitudinal layer (Harder, 1964; Wilson & Castro, 2011). Isolated muscle fibre bundles originating from the longitudinal striated muscle in the propria-submucosa extend into the longitudinal mucosal folds in *A. nigrofasciata*. These may produce contractions for peristaltic and antiperistaltic transportation of food (Reifel & Travill, 1977). In this study, these ascending muscle fibres were found to arise from the inner longitudinal layer of the tunica muscularis at areas immediately adjacent the higher mucosal ridges. Using morphometric and histological variables, the oesophagus of some species of fishes, such as *Seriola dumerili* (Risso 1810) (Grau et al., 1992), can be subdivided into distinct proximal and distal parts. This is not the case, however, in *A. nigrofasciata* where the oesophageal structure is uniform throughout.

Stomach

The piscine stomach can be classified according to shape and is not clearly demarcated from the oesophagus (Wilson & Castro, 2011). The stomach in perciforms has been described as 'caecal' (Noaillac-Depeyre & Gas, 1978) and 'Y-shaped' (Harder, 1964; Caceci et al., 1997). In this study, *A. nigrofasciata* was found to have a blind ending saccular stomach. It has been suggested that a caecal stomach allows storage of large quantities of food (Wilson & Castro, 2011). Given the large variety of caecal forms, the use of the term caecal as a descriptor is ambiguous and misleading. It is suggested here that a more appropriate descriptor for such a simple blind ending tube is blind sac. The mucosa of the piscine stomach may be divided up to three regions, i.e. cardiac, proper gastric (fundic) and pyloric regions, according to mucosal morphological and secretory properties (Al-Hussaini, 1949; Reifel & Travill, 1978; Caceci et al., 1997; Morrison & Wright, 1999). Such a distinction, however, is not possible in *A. nigrofasciata*. The entry to the stomach is defined by the abrupt change in mucosal structure from oesophageal glandular stratified squamous epithelium to a narrow zone of simple columnar non-glandular epithelium of the stomach. This in turn leads to the body of the stomach that is lined by columnar epithelium interspersed with gastric pits (foveolae) leading from the regularly arranged tubular gastric glands situated within the lamina propria-submucosa. The histological structure of this region in *A. nigrofasciata* resembles that of other teleosts (Reifel & Travill, 1978; Clarke & Witcomb, 1980; Domeneghini et al., 2005; Carrasson et al., 2006). Both light microscopy and SEM show extensive mats of microvilli on the apices of the columnar epithelium of *A. nigrofasciata*, suggesting an absorptive function as described in other teleosts (Noaillac-Depeyre & Gas, 1978; Carrasson et al., 2006; Wilson & Castro, 2011). Both a lamina muscularis mucosae and a stratum compactum have been described in the stomachs of freshwater stingrays (Chatchavalvanich et al., 2006), as well as in some teleosts (Yokote, 1982; Ostos-Garrido et al., 1993) where they have been implicated as serving as a protective layer against perforation by the exoskeletons of ingested prey. Their absence in *A. nigrofasciata* suggests that the diet of this species requires no such particular gastric mucosa protection. At the transition zone between oesophagus and stomach in *A. nigrofasciata*, the oesophageal inner longitudinal striated muscle layer becomes thinner while the outer circular striated muscle thickens. This muscular arrangement possibly functions as a sphincter to prevent regurgitation of food from the stomach into the oesophagus. Rather than acting as a true sphincter, this muscular structure may function similar to the pyloric torus of pigs *Sus domesticus* (Bal & Ghoshal, 1972) by forming a muscular bulge lined by mucosa protruding into the lumen. This would allow for either flow or blocking of digesta. At the terminal region of the stomach, the transition to the intestine is clearly marked by a substantially taller intestinal epithelium and the presence of goblet cells. Although a distinct narrowing caused by a thickened mucosal fold, separates

the intestine from the stomach, a real sphincter was not observed in *A. nigrofasciata*, as reported in other fish species (Bergman et al., 2003; Wilson & Castro, 2011). A mucosal fold at this gastrointestinal transition zone has been suggested to serve as a valve-like structure (Wilson & Castro, 2011).

Intestine

The intestinal surface area is increased significantly by lengthening of the intestinal canal with specific looping or coiling within the body cavity, and by folding of its mucosal surface together with apical plasma membrane modifications of enterocytes forming a brush border of microvilli. Some studies describe villous-like and filiform mucosal surface modifications (Bucke, 1971; Khojasteh et al., 2009) of the piscine intestine, whereas others describe rugae or folded surfaces (Kapoor et al., 1975; Reifel & Travill, 1979; Grau et al., 1992; Wang et al., 2006; Wilson & Castro, 2011). This study confirms the latter for *A. nigrofasciata*. This study also shows that *A. nigrofasciata* has a small, non-glandular zone of columnar epithelium between the oesophageal junction and the first segment of the intestine. Such a transition zone has also been termed 'oesogaster' (Kapoor et al., 1975; Wilson & Castro, 2011). The arrangement of the intestinal loops of *A. nigrofasciata* varies little along its course and is not correlated to the sex, mass or length of individual fish. The intestinal looping of *A. nigrofasciata* is similar to that of other members of the family of Cichlidae (Zihler, 1982; Reinthal, 1989). *Amatitlania nigrofasciata* has a simple intestinal looping pattern when compared with the complex pattern of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L. 1758) (Smith et al., 2000). The short intestine with simple loops in *A. nigrofasciata* does not impede the passage of ingesta. Gross anatomical examination of the intestinal tract of *A. nigrofasciata* showed the initial segment having a similar diameter to that of the stomach. The rest of the intestine is considerably narrower in diameter. The transition from the first to the second intestinal segment is not clearly demarcated. Histologically, the first segment of *A. nigrofasciata* has the largest mucoserosal ratio of all intestinal parts. As in all vertebrates, the first intestinal segment has a major role in the digestive processes, facilitated by its complex surface modification and greatly expanded mucosal surface (Canan et al., 2012). As described for other perciforms (Grau et al., 1992; Cao et al., 2011), the pancreatic and bile ducts of *A. nigrofasciata* drain into this part of the intestine, so that the digestive processes are facilitated within this segment. Microscopic analysis and morphometric measurements show that the mucoserosal ratio continually decreases along the intestinal tract of *A. nigrofasciata*, due to a decrease in mucosal fold height. The tunica muscularis is constant in ratio and orientation along its entire intestinal course. This has been reported in some teleosts (e.g. species of tilapia; Gargiulo et al., 1998), while in other species of fishes variation in the tunica muscularis has been used as a feature to distinguish the hindgut and midgut (Krementz & Chapman, 1975; Reifel & Travill, 1979). Variations in the thickness of the

muscular layer of the intestinal tract have been attributed to an increase in intestinal motility, optimizing intestinal absorption in carnivorous fishes with irregular intakes of large quantities of food (Grau et al., 1992). Such an adaptation is presumably not needed for the omnivorous and more regular feeding behaviour of *A. nigrofasciata*. The more continuous feeding patterns of *A. nigrofasciata* may also explain the absence of an ileorectal valve. These sphincter-like structures, however, have been described in other species of fishes and have been used to define the transition from midgut to hindgut to rectum (Harder, 1964; Sis et al., 1979; Clarke & Witcomb, 1980; Martin & Blaber, 1984; Wilson & Castro, 2011). In *A. nigrofasciata*, the number and distribution of goblet cells are almost consistent along the whole intestinal course. Histochemical analysis of the goblet cells using AB staining indicates that the intestinal goblet cells of *A. nigrofasciata* contain much acidic mucin, including sulphated glycoconjugates. PAS staining, however, shows that they also contain non-sulphated or neutral mucin. This has also been reported in other perciform species such as *S. aurata* (Domeneghini et al., 1998). In *A. nigrofasciata*, goblet cells displayed almost uniform staining with AB–PAS at pH 2.5. Some of the goblet cells, however, varied in their colour responses to these stains from deep blue to purple-magenta. This may correspond to different stages of goblet cell development and differentiation. Poor staining intensity of goblet cells with AB at pH 1 within the first intestinal segment could be related to their localization, i.e. their relative proximity to the stomach (production of gastric acid) and local regulation of luminal pH at the mucosal surface (Clarke & Witcomb (1980). In contrast with the proximal intestine, in the distal intestine, large clear vacuoles were found in the apical cytoplasm of the enterocytes of *A. nigrofasciata*. Similarly, clear vacuoles have also been found in other species of fishes, such as channel catfish *Ictalurus punctatus* (Rafinesque 1818) (Krementz & Chapman, 1975), *Tilapia spp.* (Gargiulo et al., 1998) or top-mouth culter *Culter alburnus* Basilewsky 1855 (Cao et al., 2011), and are probably related to diet and food digestion. On the basis of the current macroscopic, microscopic and SEM observations, the intestinal tract of *A. nigrofasciata* can be divided into a short oral and much longer aboral part. A transmission electron microscopy study could determine whether the intestine has regional specializations, as described for other teleost species (Yamamoto, 1966; Ezeasor & Stokoe, 1981). For the first time, the macroscopic and microscopic anatomy of the AT of *A. nigrofasciata*, a species that is important both to aquarists and to behavioural science, is described. The AT morphology corresponds to omnivorous feeding. The small blind ending stomach and simple intestine are in accord with the criteria used to define the visceral morphology associated with omnivory in fishes (Kapoor et al., 1975). In fishes, relative intestinal length is often used as a morphological indicator of trophic level in nutritional ecology (Horn, 1997). Apart from the influence of feeding habits, however, intestinal length is influenced by many factors such as fish size, body shape and phylogeny (Wilson & Castro, 2011). While length and relative mass of the intestine are greater in herbivores than in carnivores, there is no clear

relationship between intestinal morphology and feeding type (Al-Hussaini, 1949; Harder, 1964; Kramer & Bryant, 1995; Wilson & Castro, 2011). Structural peculiarities of the oesophagus, such as a well-developed tunica muscularis of striated muscle, muscle fibre bundles traversing from the tunica muscularis into the mucosal folds and a torus-like closure device for the oesophago–gastro–intestinal junction, may all facilitate food selection in *A. nigrofasciata*. Further studies should be aimed at the ultrastructure of the AT and liver. A more profound examination of the liver is very important, as altered gallbladder morphology and function have already been associated with social stress in *A. nigrofasciata* (Earley et al., 2004), and hepatic lipoidosis is a common finding in captive fed fishes in general (Wolf & Wolfe, 2005) especially in cichlids (Penrith et al., 1994).

Acknowledgements

The authors would like to thank K. Briest-Forch and V. Holle for excellent technical support and D. Starke and M. Werner for graphical support and K. Dietze for language editing. This publication is part of the dissertation thesis of C.H.

2.1.6 References

Abdulahadi, H. A. (2005). Some comparative histological studies on alimentary tract of Tilapia fish (*Tilapia spilurus*) and sea bream (*Mylio cuvieri*). *Egyptian Journal of Aquatic Research* **31**, 387–397.

Al-Hussaini, A. H. (1949). On the functional morphology of the alimentary tract of some fish in relation to differences in their feeding habits: anatomy and histology. *Quarterly Journal of Microscopical Science* **90**, 109–139.

APPA (2012). *2011–2012 APPA National Pet Owners Survey*. Greenwich, CT: American Pet Products Association.

Arnott, G., Ashton, C. & Elwood, R. W. (2011). Lateralization of lateral displays in convict cichlids. *Biology Letters* **7**, 683–685. doi: 10.1098/rsbl.2011.0328

- Bal, H. S. & Ghoshal, N. G. (1972). Histomorphology of the torus pyloricus of the domestic pig (*Sus scrofa domestica*). *Zentralblatt für Veterinärmedizin C* **1**, 289–298. doi: 10.1111/j.1439-0264.1972.tb00968.x
- Bergman, A. N., Laurent, P., Otiang'a-Owiti, G., Bergman, H. L., Walsh, P. J., Wilson, P. & Wood, C. M. (2003). Physiological adaptations of the gut in the Lake Magadi tilapia, *Alcolapia grahami*, an alkaline- and saline-adapted fish. *Comparative Biochemistry and Physiology A* **136**, 701–715. doi: 10.1016/S1095-6433(03)00223-X
- Boehme, G. (1988). Formation of the central canal and dorsal glial septum in the spinal cord of the domestic cat. *Journal of Anatomy* **159**, 37–47.
- van Breukelen, N. A. (2013). Androgen receptor antagonist impairs courtship but not aggressive behavior in the monogamous cichlid, *Amatitlania nigrofasciata*. *Hormones and Behavior* **63**, 527–532. doi: 10.1016/j.yhbeh.2013.01.008
- Bucke, D. (1971). The anatomy and histology of the alimentary tract of the carnivorous fish the pike *Esox lucius*. *Journal of Fish Biology* **3**, 421–431. doi: 10.1111/j.1095-8649.1971.tb05914.x
- Caceci, T. (1984). Scanning electron microscopy of goldfish, *Carassius auratus*, intestinal mucosa. *Journal of Fish Biology* **25**, 1–12. doi: 10.1111/j.1095-8649.1984.tb04845.x
- Caceci, T., El-Habback, H. A., Smith, S. A. & Smith, B. J. (1997). The stomach of *Oreochromis niloticus* has three regions. *Journal of Fish Biology* **50**, 939–952. doi: 10.1111/j.1095-8649.1997.tb01620.x
- Canan, B., Nascimento, W. S. D., Silva, N. B. D. & Chellappa, S. (2012). Morphohistology of the digestive tract of the Damsel Fish *Stegastes fuscus* (Osteichthyes: Pomacentridae). *Scientific World Journal* **2012**, Article ID 787316, 9. doi: 10.1100/2012/787316
- Cao, X. J., Wang, W. M. & Song, F. (2011). Anatomical and histological characteristics of the intestine of the topmouth culter (*Culter alburnus*). *Anatomia, Histologia, Embryologia* **40**, 292–298. doi: 10.1111/j.1439-0264.2011.01069.x
- Carrasco, S., Sumano, H. & Navarro-Fierro, R. (1984). The use of lidocaine–sodium bicarbonate as anaesthetic in fish. *Aquaculture* **41**, 395–398. doi: 10.1016/0044-8486(84)90207-2

Carrasson, M., Grau, A., Dopazo, L. R. & Crespo, S. (2006). A histological, histochemical and ultrastructural study of the digestive tract of *Dentex dentex* (Pisces, Sparidae). *Histology and Histochemistry* **21**, 579–593.

Cataldi, E., Cataudella, S., Monaco, G., Rossi, A. & Tancioni, L. (1987). A study of the histology and morphology of the digestive tract of the sea bream, *Sparus aurata*. *Journal of Fish Biology* **30**, 135–145. doi: 10.1111/j.1095-8649.1987.tb05740.x

Chatchavalvanich, K., Marcos, R., Poonpirom, J., Thongpan, A. & Rocha, E. (2006). Histology of the digestive tract of the freshwater stingray *Himantura signifer* Compagno and Roberts, 1982 (Elasmobranchii, Dasyatidae). *Anatomy and Embryology* **211**, 507–518. doi: 10.1007/s00429-006-0103-3

Chee, S. S. A., Espinoza, W. A., Iwaniuk, A. N., Pakan, J. M., Gutiérrez-Ibáñez, C., Wylie, D. R. & Hurd, P. L. (2012). Social status, breeding state, and GnRH soma size in convict cichlids (*Cryptoheros nigrofasciatus*). *Behavioural Brain Research* **237**, 318 – 324. doi: 10.1016/j.bbr.2012.09.023

Clarke, A. J. & Witcomb, D. M. (1980). A study of the histology and morphology of the digestive tract of the common eel (*Anguilla anguilla*). *Journal of Fish Biology* **16**, 159 – 170. doi: 10.1111/j.1095-8649.1980.tb03695.x

Dechaume-Moncharmont, F. X., Cornuau, J. H., Keddar, I., Ihle, M., Motreuil, S. & Cézilly, F. (2011). Rapid assessment of female preference for male size predicts subsequent choice of spawning partner in a socially monogamous cichlid fish. *Comptes Rendus Biologies* **334**, 906 – 910. doi: 10.1016/j.crv.2011.08.004

Domeneghini, 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 Histochemistry* **13**, 359–372.

Domeneghini, C., Arrighi, S., Radaelli, G., Bosi, G. & Veggetti, A. (2005). Histochemical analysis of glycoconjugates secretion in the alimentary canal of *Anguilla anguilla* L. *Acta Histochemica* **106**, 477–487. doi: 10.1016/j.acthis.2004.07.007

Earley, R. L., Blumer, L. S. & Grober, M. S. (2004). The gall of subordination: changes in gall bladder function associated with social stress. *Proceedings of the Royal Society B* **271**, 7–13. doi: 10.1098/rspb.2003.2558

Ezeasor, D. N. & Stokoe, W. M. (1980). Scanning electron microscopic study of the gut mucosa of the rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology* **17**, 529–539. doi: 10.1111/j.1095-8649.1980.tb02784.x

Ezeasor, D. N. & Stokoe, W. M. (1981). Light and electron microscopic studies on the absorptive cells of the intestine, caeca and rectum of the adult rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology* **18**, 527–544. doi: 10.1111/j.1095-8649.1981.tb03794.x

Gargiulo, A. M., Ceccarelli, P. & Pedini, V. (1998). Histology and ultrastructure of the gut of the *Tilapia* (*Tilapia* spp.), a hybrid teleost. *Anatomia, Histologia, Embryologia* **27**, 89–94. doi: 10.1111/j.1439-0264.1998.tb00162.x

Gentile, R., Abbate, F., di Summa, A., Germanà, G. P., Vita, G., Germanà, G. & Passantino, G. F. (1993). Comparative anatomo-microscopic observations on the esophagus of teleosts with different feeding habits. *Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale* **69**, 137–144.

Grau, A., Crespo, S., Sarasquete, M. C. & González de Canales, M. L. (1992). The digestive tract of the amberjack *Seriola dumerili*, Risso: a light and scanning electron microscope study. *Journal of Fish Biology* **41**, 287–303. doi: 10.1111/j.1095-8649.1992.tb02658.x

Hale, P. A. (1965). The morphology and histology of the digestive system of the two freshwater teleosts, *Poecilia reticulata* and *Gasterosteus aculeatus*. *Journal of Zoology* **146**, 132–149. doi: 10.1111/j.1469-7998.1965.tb05206.x

Harder, W. (1964). Anatomie der Fische. In *Handbuch der Binnenfischerei Mitteleuropas* (Demoll, R. & Maier, H. N., eds), Bd. 11, pp. 70–99. Stuttgart: Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung.

Horn, M. H. (1997). Feeding and digestion. In *The Physiology of Fishes* (Evans, D. H., ed), pp. 41–60. New York, NY: CRC Press.

Kapoor, B. G., Smith, H. & Verighina, I. A. (1975). The alimentary canal and digestion in teleosts. *Advances in Marine Biology* **13**, 109–139.

Khojasteh, S. M. B., Sheikhzadeh, F., Mohammadnejad, D. & Azami, A. (2009). Histological and ultrastructural study of the intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *World Applied Sciences Journal* **6**, 1525–1531.

Kilgore, K. H., Hill, J. E., Powell, J. F. F., Watson, C. A. & Yanong, R. P. E. (2009). Investigational use of metomidate hydrochloride as a shipping additive for two ornamental fishes. *Journal of Aquatic Animal Health* **21**, 133–139. doi: 10.1577/H08-030.1

Kramer, D. L. & Bryant, M. J. (1995). Intestine length in the fishes of a tropical stream: 2. Relationships to diet – the long and short of a convoluted issue. *Environmental Biology of Fishes* **42**, 129–141. doi: 10.1007/BF00001991

Krementz, A. B. & Chapman, G. B. (1975). Ultrastructure of the posterior half of the intestine of the channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Journal of Morphology* **145**, 441 – 482. doi: 10.1002/jmor.1051450405

Martin, T. J. & Blaber, S. J. M. (1984). Morphology and histology of the alimentary tracts of Ambassidae (Cuvier) (Teleostei) in relation to feeding. *Journal of Morphology* **182**, 295–305. doi: 10.1002/jmor.1051820305

Meister, M. F., Humbert, W., Kirsch, R. & Vivien-Roels, B. (1983). Structure and ultrastructure of the oesophagus in seawater and fresh-water teleosts (Pisces). *Zoomorphology* **102**, 33 – 51. doi: 10.1007/BF00310731

Mohsin, S. M. (1962). Comparative morphology and histology of the alimentary canal in certain groups of Indian teleosts. *Acta Zoologica* **63**, 79–133. doi: 10.1111/j.1463-6395.1962.tb00069.x

Morrison, C. M. & Wright, J. R. Jr. (1999). A study of the histology of the digestive tract of the Nile tilapia. *Journal of Fish Biology* **54**, 597–606. doi: 10.1006/jfbi.1998.0890

Moscicki, M. K., Reddon, A. R. & Hurd, P. L. (2011). Lateralized behaviour of a non-social cichlid fish (*Amatitlania nigrofasciata*) in a social and a non-social environment. *Behavioural Processes* **88**, 27–32. doi: 10.1016/j.beproc.2011.07.004

Murray, H. M., Wright, G. M. & Goff, G. P. (1996). A comparative histological and histochemical study of the postgastric alimentary canal from three species of pleuronectid, the Atlantic halibut, the yellowtail flounder and the winter flounder. *Journal of Fish Biology* **48**, 187 – 206. doi: 10.1111/j.1095-8649.1996.tb01112.x

Noaillac-Depeyre, J. & Gas, N. (1978). Ultrastructural and cytochemical study of the gastric epithelium in a freshwater teleostean fish (*Perca fluviatilis*). *Tissue and Cell* **10**, 23–37.

Nomina Anatomica Veterinaria (1994). *International Committees on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature, Veterinary Histological Nomenclature and Veterinary Embryological Nomenclature*. Zürich and Ithaca, NY.

Oliveira-Ribeiro, C. A. & Fanta, E. (2000). Microscopic morphology and histochemistry of the digestive system of a tropical freshwater fish *Trichomycterus brasiliensis* (Luetken) (Siluroidei, Trichomycteridae). *Revista Brasileira Zoologia* **17**, 953 – 971. doi: 10.1590/S0101-81752000000400007

Önal, U., Çelik, I. & Cirik, S. (2010). Histological development of digestive tract in discus, *Symphysodon spp.* larvae. *Aquaculture International* **18**, 589–601. doi: 10.1007/s10499-009-9278-y

Ostos-Garrido, M. V., Nunez-Torres, M. I. & Abaurrea-Equisoain, M. A. (1993). Lipid absorption by enterocytes of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: diet induced changes in the endomembranous system. *Aquaculture* **110**, 161–171. doi: 10.1016/0044-8486(93) 90270-9

Penrith, M. L., Bastianello, S. S. & Penrith, M. J. (1994). Hepatic lipoidosis and fatty infiltration of organs in a captive African stonefish, *Synanceja verrucosa* Bloch & Schneider. *Journal of Fish Diseases* **17**, 171–176. doi: 10.1111/j.1365-2761.1994.tb00210.x

Reifel, C. W. & Travill, A. A. (1977). Structure and carbohydrate histochemistry of the oesophagus in ten teleostean species. *Journal of Morphology* **152**, 303 – 314. doi: 10.1002/jmor.1051520303

Reifel, C. W. & Travill, A. A. (1978). Structure and carbohydrate histochemistry of the stomach in eight species of teleosts. *Journal of Morphology* **158**, 155 – 168. doi: 10.1002/jmor.1051580203

Reifel, C. W. & Travill, A. A. (1979). Structure and carbohydrate histochemistry of the intestine in 10 teleostean species. *Journal of Morphology* **612**, 343 – 360. doi: 10.1002/jmor.1051620305

Reinthal, P. N. (1989). The feeding habits of a group of rock-dwelling cichlid fishes (Cichlidae, Perciformes) from Lake Malawi, Africa. *Environmental Biology of Fishes* **27**, 215 – 233. doi: 10.1007/BF00001674

Romeis, B. (2010). Fixanzien für die Licht- und Elektronenmikroskopie and Paraffinschnitte. In *Mikroskopische Technik*, 18th edn (Mulisch, M. & Welsch, U., eds), pp. 89–191. Berlin: Spektrum Akademischer Verlag.

Sis, R. F., Ives, P. F., Jones, D. M., Lewis, D. H. & Haensly, W. E. (1979). The microscopic anatomy of the oesophagus, stomach and intestine of the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Journal of Fish Biology* **14**, 179–186. doi: 10.1111/j.1095-8649.1979.tb03508.x

Smith, B. J., Smith, S. A., Tengjaroenkul, B. & Lawrence, T. A. (2000). Gross morphology and topography of the adult intestinal tract of the tilapia fish, *Oreochromis niloticus* L. *Cells, Tissues, Organs* **166**, 294–303. doi: 10.1159/000016743

Sperry, D. G. & Wassersug, R. J. (1976). A proposed function for microridges on epithelial cells. *Anatomical Record* **185**, 253–257. doi: 10.1002/ar.1091850212

Wang, J. X., Shi, G., Li, P., Liu, M. Y. & Wang, R. X. (2006). Morphology and histology of digestive tract in *Oplegnathus fasciatus*. *Journal of Fisheries of China* **30**, 618 – 626. doi: 10.3969/j.issn.1673-2227.2010.06.011

Wilson, J. M. & Castro, L. F. C. (2011). Morphological diversity of the gastrointestinal tract in fishes. In *Fish Physiology*, Vol. 30 (Grosell, M., Farrell, A. P. & Brauner, C. J., eds), pp. 1–55. Amsterdam: Elsevier Inc. doi: 10.1016/S1546-5098(10)03001-3

Wolf, J. C. & Wolfe, M. J. (2005). A brief overview of nonneoplastic hepatic toxicity in fish. *Toxicologic Pathology* **33**, 75–85. doi: 10.1080/01926230590890187

Yamamoto, T. (1966). An electron microscopic study on the columnar epithelial cell of fresh-water teleosts: goldfish (*Carassius auratus*) and rainbow trout (*Salmo irideus*). *Cell and Tissue Research* **72**, 66–87. doi: 10.1007/BF00336898

Yokote, M. (1982). Digestive system. In *An Atlas of Fish Histology-Normal and Pathological Features* (Hibiya, T., ed), pp. 74–93. Tokyo: Kodansha Ltd.

Zihler, F. (1982). Gross morphology and configuration of digestive tracts of Cichlidae (Teleostei; Perciformes): phylogenetic and functional significance. *Netherlands Journal of Zoology* **32**, 544–571.
doi: 10.1163/002829682X00210

2.2 Distribution pattern of eosinophilic granular cells in the intestine of convict cichlid *Amatitlania nigrofasciata* (Günther, 1867).

Hopperdietzel, C., Hirschberg, R. M., Hünigen, H., Wolter, J. & Plendl, J. 2015. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, **35**(4), 123-130.

https://www.researchgate.net/publication/266150003_Gross_morphology_and_histology_of_the_alimentary_tract_of_the_convict_cichlid_Amatitlania_nigrofasciata

Distribution pattern of eosinophilic granular cells in the intestine of the convict cichlid *Amatitlania nigrofasciata* (Günther, 1867)

C. Hopperdietzel^{1*}, R. M. Hirschberg^{1,2}, H. Hünigen¹, J. Wolter³, J. Plendl¹

¹ Institute of Veterinary Anatomy, Department of Veterinary Medicine, Freie Universität Berlin, Koserstrasse 20, D-14195 Berlin, Germany

² current address: SFB 112, Institute of Chemistry and Biochemistry - Physical and Theoretical Chemistry, Department of Biology, Chemistry and Pharmacy, Freie Universität Berlin, Takustrasse 3, D-14195-Berlin, Germany

³ Ornamental Fish Veterinary Practice Jan Wolter, Tegeler Weg 24, D-10589 Berlin, Germany

(Received 19 December 2014, Accepted 7 August 2015)

3 Diskussion

3.1 Segmentierung des Verdauungstrakts von *Amatitlania nigrofasciata* anhand morphologischer Aspekte

Der makroskopische sowie histomorphologische Aufbau des Verdauungstrakts von *A. nigrofasciata* ist mit anderen omnivoren Fischarten aus der Familie der Cichlidae vergleichbar (Smith et al., 2000; Zihler, 1982). So zeigte sich bei allen untersuchten Fischen eine blinddarmähnliche Struktur des Magens, wodurch auch bei *A. nigrofasciata* eine Unterteilung des Verdauungstrakts in einen kranial des Magens liegenden Oesophagus und einen sich kaudal des Magens anschließenden Darm möglich war. Darüber hinaus wiesen diese Abschnitte des Verdauungstrakts einige spezifische Besonderheiten auf, die im Folgenden diskutiert werden.

3.1.1 Besonderheiten des Oesophagus

Der Schichtaufbau des Oesophagus wies bei den untersuchten Fischen eine durchgehend einheitliche Struktur mit einer mehrschichtigen Lamina epithelialis mucosae, Lamina propria-submucosa, Tunica muscularis (Stratum longitudinale, Stratum circulare) sowie einer Tunica serosa/adventitia auf. Daher ließ sich der Oesophagus nicht wie bei anderen Fischarten in einen proximalen bzw. distalen Abschnitt untergliedern (Cataldi et al., 1987; Grau, 1992). Die Lamina propria-submucosa wies longitudinale Falten auf, in die quergestreifte Muskelfasern aus dem Stratum circulare der Tunica muscularis einstrahlten. Dieses Phänomen wurde bislang für keine andere Fischart beschrieben.

Das Vorkommen von Geschmacksknospen in der Lamina epithelialis mucosae des Oesophagus wird für einige Fischarten, wie beispielsweise Graskarpfen, beschrieben (Abd El Hafez et al., 2013). Die Funktion dieser piscinen Geschmacksknospen wird dabei mit denen von Säugetieren verglichen (Yoshida et al., 2007). Das bedeutet, dass diese Fischarten in der Lage sind, selektiv Futter aufzunehmen, indem sie nach der Geschmackserfassung im Oesophagus dieses gegebenenfalls regurgitieren können. Bei den untersuchten *A. nigrofasciata* waren Geschmacksknospen nur vereinzelt bei 6 der untersuchten 27 Tiere in der Lamina epithelialis mucosae des Oesophagus nachweisbar. Es gibt Hinweise, dass das Vorkommen von Geschmacksknospen genetisch determiniert und für jede Fischart individuell ist (Fishelson & Delarea, 2004). Des Weiteren haben Schadstoffe im Wasser, die Wassertemperatur sowie der pH-Wert einen negativen Effekt auf die Anzahl der Geschmacksknospen (Kasumyan & Döving, 2003; Raderman-Little, 1979). Bedingt durch die verschiedenen Abstammungen und Haltungssysteme der für diese Arbeit verwendeten Fische, könnte dies eine Erklärung bieten, warum Geschmacksknospen nur bei einigen Grünflossenbuntbarschen nachgewiesen werden konnten. Zur Sicherung dieser Hypothese wäre ein Vergleich mit der Wildform von *A. nigrofasciata* erforderlich. Hierzu liegen jedoch bislang keine Untersuchungen vor. Aufgrund des

Fehlens bzw. des geringen Vorkommens von Geschmacksknospen kann aber angenommen werden, dass der muskuläre Oesophagus nicht in erster Linie der Selektion der Nahrung dient, sondern für die schnelle Weiterleitung der Nahrung in die nachfolgenden Segmente fungiert. Der Übergangsbereich zum Magen sowie zum Darm ist durch die Veränderung der Lamina epithelialis mucosae von mehrschichtig zu einschichtig und der Verdrängung quergestreifter Muskulatur durch glatte Muskulatur in der Tunica muscularis gekennzeichnet.

3.1.2 Besonderheiten des Magens

Im Anfangsabschnitt des Magens, der in den Verdauungskanal mündet, war bei allen untersuchten Tieren eine ringförmige Verstärkung der Tunica muscularis erkennbar. Davon ausgehend, dass dieser kräftige Ringmuskel aufgrund seiner Form und Funktion einen Schließmuskel darstellt, ist anzunehmen, dass die Nahrung unter Umgehung des Magens in den anschließenden Darm weiter geleitet werden kann, wie es bei anderen artverwandten Fischen beschrieben wird (Marufu & Chifamba, 2013). Die Tunica mucosa des Magens erscheint in ihrer Schichtung und der Verteilung der Magendrüsen morphologisch einheitlich und lässt somit keine Differenzierung verschiedener Magenabschnitte, wie sie für andere Fischarten beschrieben wird (Chakrabarti & Ghosh, 2014), zu. Lediglich das Schleimhautrelief zeigt graduelle Unterschiede innerhalb des Magens, wobei die Schleimhautfalten am Mageneingang eine geringe und im distalen Magenbereich die stärkste Ausprägung erfahren. Arrington et al. (2002) gehen davon aus, dass Mägen omnivorer Fische grundsätzlich eine temporäre Speicherfunktion besitzen, wobei diese bei karnivoren/piscivoren Fischen nicht so deutlich ausgeprägt ist.

3.1.3 Besonderheiten des Darmes

Der Darm des *A. nigrofasciata* weist keine morphologischen oder strukturellen Merkmale auf, die eine Unterteilung in einen Mittel- und Enddarm erlauben, wie sie bei anderen Fischarten beschrieben wird (Løkka & Koppang, 2016). Hingegen zeigte der Darm des *A. nigrofasciata* bei allen untersuchten Fischen ein sich nach kaudal kontinuierlich verjüngendes Rohr, welches unabhängig vom Gewicht und Geschlecht der Tiere vier Flexuren aufwies. Dadurch lässt sich der Darm unter makroskopischen Gesichtspunkten in 5 Darmsegmente unterteilen. Dabei wies das erste Darmsegment stets einen deutlich größeren Durchmesser im Vergleich zu den nachfolgenden Segmenten auf. Die histologisch-morphometrischen Untersuchungen zeigten, dass in diesem ersten Segment die Schleimhautfalten deutlich höher waren als in den folgenden Segmenten. Die Zunahme der Höhe der Schleimhautfalten ist häufig assoziiert mit einer erhöhten enzymatischen Aktivität in dem Darmabschnitt, wie beispielsweise bei *Oreochromis niloticus* L. beschrieben (Tengjaroenkul et al., 2000). Somit deuten die Ergebnisse darauf hin, dass die enzymatische Aufspaltung der Nahrung insbesondere in dem ersten der definierten Darmsegmente stattfindet.

3.2 Vorkommen und Verteilung eosinophiler Granularzellen im Darm von *Amatitlania nigrofasciata*

Mastzellen (MCs) – in Fischen auch als eosinophile Granularzellen (EGCs) bezeichnet, werden in allen Klassen von Wirbeltieren nachgewiesen (Crivellato & Ribatti, 2010). Die Bezeichnung EGCs bei Fischen lehnt sich an das Färbeverhalten ihrer Granula an, wobei es diesbezüglich sehr starke artspezifische Unterschiede in der Zusammensetzung des Zellinhaltes und der Sensibilität zu Fixativen gibt (Reite, 1998).

Eosinophile Granularzellen (EGCs) wurden bei vielen Fischarten, wie zum Beispiel beim Seewolf (Hellberg et al., 2013), in unterschiedlichen Organen und Geweben nachgewiesen. Ihre Funktion als Immunzelle ist mit denen von Säugetiermastzellen vergleichbar (Reite, 1998). Daher werden EGCs u.a. im Zusammenhang mit Entzündungen beobachtet (Powell et al., 2014).

Ziel der zweiten Studie war es, EGCs im Darm von *A. nigrofasciata* nachzuweisen und Daten über die Verteilung dieser Zellen zu erheben. EGCs wurden hauptsächlich in der Lamina propria-submucosa und vereinzelt in der Lamina epithelialis mucosae sowie Tunica muscularis nachgewiesen. Die mittlere Dichte der EGCs pro mm² Darmfläche in *A. nigrofasciata* unterschied sich interindividuell und wies gleichzeitig einen bei allen untersuchten Individuen signifikanten Unterschied in der Verteilung im Hinblick auf die untersuchten Darmsegmente auf. Dabei zeigte sich, dass das unterschiedliche Fütterungsregime der beiden Gruppen keinen Einfluss auf die Verteilung und Dichte von EGCs im Darm von *A. nigrofasciata* hatte.

3.2.1 Segmentierung des Darmes von *Amatitlania nigrofasciata* anhand der Verteilung intestinaler eosinophiler Granularzellen

Unter morphologischen Gesichtspunkten wurde der Darm von *A. nigrofasciata* in fünf Segmente unterteilt. Diese Unterteilung spiegelte sich nicht in der Verteilung der EGCs wider. Hier waren nur 3 verschiedene Abschnitte erkennbar. Der erste Abschnitt erstreckte sich über das erste Segment und die erste Hälfte des zweiten Segmentes. Der zweite Abschnitt begann mit der zweiten Hälfte des zweiten Segmentes und endet in etwa in der Mitte des vierten Segmentes. Diesem schloss sich der dritte Abschnitt an, welcher den Rest des vierten und das fünfte Segment einnahm. Während sich die Dichte der EGCs im ersten und dritten Abschnitt nicht signifikant voneinander unterschied, war im zweiten Abschnitt ein signifikanter Anstieg der EGCs nachweisbar. Neueste Untersuchungen im Fischsektor setzen sich fokussiert mit dem Nachweis und der Funktion des Immunsystems auseinander. Hierbei wurden u. a. neue Iso Typen von Immunglobulinen im piscinen Darm nachgewiesen (Zhang et al., 2010). Eine besondere Stellung scheint in diesem Kontext der mittlere Darmabschnitt der untersuchten Tiere einzunehmen, welcher als wichtigster Bereich für die intestinale Antigenaufnahme gesehen

wird (Fuglem et al., 2010). Die Art der Verteilung, der in *A. nigrofasciata* nachgewiesenen EGCs, könnte hierbei mit der immunologischen Funktion dieses zweiten Darmabschnittes im Zusammenhang stehen.

3.2.2 Zusammenhang zwischen der Verteilung intestinaler eosinophiler Granularzellen und der Ausprägung der mukosalen Basalmembran

Die Umsetzung, eine abrupte Veränderung der Wasserwerte sowie der Kontakt zu chemischen Stoffen (z.B. Metalle) kann bei Fischen zu nachweisbarem Stress führen (Kim & Kang, 2016). Gleichzeitig wird beschrieben, dass derartige Noxen Veränderungen der mukosalen Basalmembran bei Fischen induzieren können. (Begum et al., 2013). Insbesondere lässt sich eine einhergehende Veränderung der mukosalen Basalmembran in der Haut und den Harnorganen nachweisen (Elger & Hentschel, 1981; Ojeda et al., 2008). Vor diesem Hintergrund erschien es wichtig, die Ausprägung der mukosalen Basalmembran bei *A. nigrofasciata* im Hinblick auf das Auftreten von EGCs zu untersuchen. Eine durchgängige, einheitliche mukosale Basalmembran konnte bei keinem der untersuchten Tiere nachgewiesen werden. Dabei standen Verdickungen der mukosalen Basalmembran in keinem Zusammenhang mit dem Geschlecht, Gewicht oder der EGC-Dichte. Basierend auf der Tatsache, dass eine Erhöhung der EGC-Dichte und eine Verdickung der mukosalen Basalmembran als Reaktion auf pathologische Prozesse (Hassaninezhad et al., 2014; Santos et al., 2015) bzw. Adaptation gedeutet wird, scheinen beide morphologischen Parameter (EGC Dichte und Charakteristik der mukosalen Basalmembran) nicht in einem direkten Zusammenhang zu stehen.

3.2.3 Zusammenhang zwischen dem Fütterungsregime und der Verteilung intestinaler eosinophiler Granularzellen

Im Rahmen der zweiten Studie stellte sich die Frage, in wie weit unterschiedliche Fütterungsregimes einen Einfluss auf die Histomorphologie des Darmgewebes sowie die Verteilung von intestinalen EGCs haben. Für die Fütterung von *A. nigrofasciata* gibt es bezüglich der Menge und Frequenz keine verbindlichen Empfehlungen. Durch den Artenreichtum von Zierfischen in der Aquaristik ist eine grundlegende Standardisierung in Bezug auf Haltungs- und Fütterungsbedingungen schwer möglich. Vielmehr werden Empfehlungen und Erfahrungen über die zu pflegende Art unter versierten Haltern ausgetauscht². Nur wenige Studien setzten sich mit dem Bedarf einer spezifischen Nährstoffzusammensetzung bei Zierfischen auseinander (Sales, 2003). Valide Daten über Fütterungsqualität und Frequenz finden sich nur im Bereich der Nutzfische (Bauman et al., 2016). Hierbei wird der Fokus auf den Zuwachs an Lebendgewicht zum Verhältnis des eingesetzten Futters gesetzt. Dieser ökonomische Faktor ist in der Zierfisch-aquaristik nicht relevant. Vielmehr fokussiert man sich auf die Reproduktionsfähigkeit und den

² Tierarzt Jan Wolter (persönliche Mitteilung, 1. Juni 2010)

Tierschutz bzw. das Tierwohl. In der vorliegenden Studie wurden über einen Zeitraum von drei Wochen zwei verschiedene Fütterungsregimes überwacht. Hierbei wurde der ersten Gruppe jeden zweiten Tag und der zweiten Gruppe jeden neunten Tag Futter zur Verfügung gestellt. Die Tiere zeigten über diesen Zeitraum keine adspektorischen Veränderungen. Im Hinblick auf Fütterungsversuche bei Fischen, kann man einen kurzfristigen Nahrungsentzug sowie ein längerfristiges Fasten/Hungern unterscheiden (siehe unten). Effekte, welche in diesen Studien untersucht wurden, sind eine Regulation von Genen (Liu et al., 2013), der Nachweis von oxidativen Stresses mittels Biomarker (z.B. Malondialdehyd) (Pascual et al., 2003; Zhang et al., 2008) sowie pathologische Veränderungen des Darmtraktes (Bozić et al., 2000). In den vorliegenden Studien konnten pathologische Effekte wie eine Atrophie der Mukosafalten, eine Hyperplasie der Lamia propria sowie ein Anstieg des oxidativen Stresses nur bei einem längerfristigen Fasten und einer Nahrungskarenz von mindestens 21 Tagen beobachtet werden. Bei einem kurzfristigen Nahrungsentzug ließen sich durchaus positive Effekte, wie zum Beispiel eine deutliche Reduzierung von Pathogenen (Mohapatra et al., 2015) nachweisen. Die Ergebnisse der zweiten Studie von *A. nigrofasciata* zeigten im Vergleich keine nachweisbaren Veränderungen der histologischen Struktur des Darmtraktes. Insbesondere die Verteilung intestinaler EGCs war bei beiden Gruppen gleich.

3.3 Studienübergreifende Interpretation der intestinalen Segmentierung von *Amatitlania nigrofasciata*

Die Einteilung einzelner Darmabschnitte der verschiedenen Fischarten erfolgt auf der Basis makroskopisch-topografischer (Farag et al., 2014) oder histologisch-morphometrischer Merkmale (Stevens et al., 1999). Hierbei wird vergleichend zur Säugetieranatomie versucht, den eigentlichen Darm in einen Mittel- und Enddarm zu untergliedern. In Ergänzung zur eigentlichen Verdauungsfunktion des Darmes konzentrieren sich aktuelle Arbeiten auf die verschiedenen Funktionen dieses Organs. (Hoseinifar et al., 2014, Wilson & Castro, 2011). Diese Studien zeigen, ähnlich wie vergleichende Arbeiten am Säugetierdarm (Mowat & Agace, 2014), dass die anatomische Einteilung der Darmabschnitte nicht mit der Funktionalität der betreffenden Abschnitte im Zusammenhang stehen muss. Im Fall des piscinen Darmes hat sich grundsätzlich die Unterteilung des Mitteldarmes in einen vorderen und hinteren Abschnitt sowie eines Enddarmes etabliert. Diese Unterteilung basiert auf der mikroskopischen Anatomie der Darmmukosa (Rombout et al., 2011) sowie immunologischen Untersuchungen (Fuglem et al., 2010). Die Ergebnisse der ersten Studie von *A. nigrofasciata* können unter histologischen Gesichtspunkten diese Beobachtungen nicht bestätigen. Betrachtet man die morphometrischen Daten, so präsentierten diese einen wenig differenzierbaren Verlauf der fünf Darmsegmente und dazu gehörigen Darmschichten, insbesondere das Mukosaepithel. Allein der Darmdurchmesser und die Oberflächenvergrößerung der mukosalen Falten ließen den Rückschluss zu,

dass der Darm in einen kleineren vorderen sowie längeren hinteren Abschnitt untergliedert werden könnte. Ein Übergang zum eigentlichen Enddarm war nicht darstellbar.

Die Ergebnisse der zweiten Studie ließen unter dem Aspekt der Verteilung intestinaler EGCs vermuten, dass eine Einteilung des Darmes in einen vorderen Mitteldarm, hinteren Mitteldarm und Enddarm möglich ist.

Studienübergreifend lässt sich sagen, dass der Verdauungstrakt von *A. nigrofasciata*, insbesondere der Darm, anatomisch-histologisch keine eindeutige Untergliederung aufwies, es aber auf zellulärer Ebene Hinweise gab, die eine in der Literatur beschriebene Unterteilung ermöglichen.

4 Zusammenfassung

Der Grünflossenbuntbarsch, *Amatitlania nigrofasciata*, ist eine in Aquarien sehr häufig gehaltene Buntbarschart. Darüber hinaus wird er durch sein ausgeprägtes Revier- und Brutverhalten als Modelltier, insbesondere im Bereich der piscinen Verhaltensforschung, eingesetzt. Da bislang nur wenige anatomische sowie keine histologischen Daten zur Morphologie des Verdauungstrakts bei dieser Fischart vorliegen, ist eine Diagnose pathologischer Veränderungen oftmals schwer möglich. Daher war es das Ziel dieser Arbeit, den Verdauungstrakt von *A. nigrofasciata* unter anatomischen sowie histologisch-morphometrischen Aspekten zu untersuchen und zu charakterisieren sowie vergleichend mit Literaturstudien an anderen Fischarten Parameter für eine Einteilung der einzelnen Segmente des Verdauungstrakts zu definieren. In der ersten Studie wurden insgesamt 39 adulte Fische untersucht. Für eine makroskopische Dokumentation der *in situ*-Verhältnisse der Leibeshöhle wurden 7 Tiere präpariert. Bei der makroskopischen Untersuchung konnte der Verdauungstrakt in Ösophagus, Magen und 5 verschiedene Darmsegmente untergliedert werden. Die Untergliederung der Darmsegmente erfolgte anhand der Schleifung des Darmes.

Für die Lichtmikroskopie wurden Proben von 27 Tieren in Paraffin eingebettet und mittels verschiedener histologischer Färbungen aufgearbeitet. Anschließend wurden die einzelnen Segmente morphometrisch untersucht. Hierbei wurden Epithelhöhe, Oberfläche der Schleimhaut, Schichtdicke der Tunica muscularis und Durchmesser gemessen. Ergänzend erfolgte eine semi-quantitative Analyse der intestinalen Becherzellen. Für die rasterelektronenmikroskopische Analyse des Verdauungstrakts wurden die einzelnen Segmente bei 5 Tieren untersucht. Die Ergebnisse der einzelnen Verfahren konnten vereinzelt Geschmacksknospen im Ösophagus nachweisen und deuteten darauf hin, dass der Darm von *A. nigrofasciata* eine einheitliche Struktur zeigt, wobei die Oberflächenmodifikation in Form der Schleimhautfalten eine Unterteilung in einen kürzeren vorderen sowie längeren hinteren Abschnitt ermöglicht.

Für die zweite Studie wurden 14 adulte Tiere untersucht. Es wurde der Schwerpunkt auf den quantitativen Nachweis intestinaler eosinophiler Granularzellen (EGCs) sowie einen möglichen Einfluss der Fütterung auf diese Zellen gelegt. Diese Zellen sind ein wichtiger Teil des piscinen Immunsystems. Die Fische wurden mit zwei unterschiedlichen Regimes gefüttert. Die Analyse der EGC Morphologie sowie deren intestinale Dichte erfolgte lichtmikroskopisch anhand von Semidünnschnitten. Die Resultate dieser zweiten Studie zeigten, unabhängig vom Fütterungsregime, ein spezifisches Verteilungsmuster der EGCs in den Därmen der untersuchten Tiere. Während in den mittleren Segmenten eine signifikant höhere Dichte von EGCs nachweisbar war, zeigte sich in dem ersten sowie dem letzten Segment eine geringere Dichte dieser Zellen. Dieses ermöglicht die Einteilung des Darmes in drei verschiedene Abschnitte.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass sich der Darm von *A. nigrofasciata* bei makroskopischer Beurteilung in 5 Segmente unterteilen lässt. Unter anatomisch-morphologischen Gesichtspunkten lassen sich die einzelnen Segmente jedoch wenig differenzieren. Im Hinblick auf die Verteilung von intestinalen EGCs, ist eine Unterteilung in drei verschiedene Abschnitte möglich.

5 Summary “Anatomical and histological examinations of the alimentary tract in convict cichlid *Amatitlania nigrofasciata*”

Specimens of the convict cichlid, *Amatitlania nigrofasciata*, are frequently kept as aquarium fish. Moreover, this species is used as an animal model, especially in piscine behavioral science, due to its distinct territorial and breeding behaviour. Since there is only limited data regarding anatomy and histology of the digestive tract of this species, pathological processes are difficult to diagnose. Thus, the objective of this study was to examine the alimentary tract of *A. nigrofasciata* with regard to anatomical and histological-morphometric aspects and to define individual segments of the digestive tract in comparison to other fish species.

In the first study, 39 adult fish were examined. Seven animals were prepared for macroscopic documentation of *in situ* characteristics. For light and scanning electron microscopy, the alimentary tract was divided into esophagus, stomach, and five intestinal segments. This classification of the intestine was based on macroscopic features, e.g. intestinal looping.

Samples of 27 animals were embedded in paraffin and processed with different histological staining for light microscopy. Subsequently, individual segments were examined and epithelial height, surface area of the mucous membrane, thickness of the tunica muscularis, and diameter were established. In addition, a semi-quantitative analysis of the intestinal goblet cells was carried out. The individual intestinal segments of five animals were analyzed by scanning electron microscopy. Results of the different methods indicate isolated taste buds in the esophagus and a uniform structure of the intestinal tract of *A. nigrofasciata*. However, surface modifications, i.e. mucosal folds, allow for a subdivision into a short cranial and a longer caudal section. Fourteen adult animals were examined in the second study. The main focus was the quantitative confirmation of intestinal eosinophilic granulocytes (EGCs) and a possible effect of the feeding regime on these cells, which represent an important part of the piscine immune system. Fish were placed into two groups, which were fed according to two different feeding regimes. EGC morphology and their intestinal abundance were examined by light microscopy and semi-thin sections. A specific distribution of EGCs in the intestinal tract of the fishes was detected. The feeding regime did not have any effect. Whereas a significantly higher abundance of EGCs was present in the middle segments, a lower frequency of EGCs was found in the first and last segment. Accordingly, a classification into three parts was established.

Macroscopic examination of the gastrointestinal tract of *A. nigrofasciata* allows for a division into five segments. However, there is little anatomical morphological difference between the individual segments. Based on the distribution of intestinal EGCs, the gastrointestinal tract can be subdivided into three segments.

6 Literaturverzeichnis der Einleitung und Diskussion

Abd El Hafez, E. A., Mokhtar, D. M., Abou-Elhamd, A. S. & Hassan, A. H. S. (2013). Comparative histomorphological studies on oesophagus of catfish and grass carp. *Journal of Histology*, **2013** (2013), 1-10.

Al-Hussaini, A. H. (1949). On the functional morphology of the alimentary tract of some fish in relation to differences in their feeding habits: anatomy and histology. *Quarterly Journal of Microscopical Science*, **90**(2), 109-139.

Anthony, J. & Coleman, R. M. (2010). Habitat structure directly affects aggression in convict cichlids *Archocentrus nigrofasciatus*. *Zoology*, **56**(1), 52-56.

Arnott, G., & Elwood, R. W. (2009). Gender differences in aggressive behaviour in convict cichlids. *Animal behaviour*, **78**(5), 1221-1227.

Arrington, D. A., Winemiller, K. O., Loftus, W. F. & Akin, S. (2002). How often do fishes "run on empty"? *Ecology*, **83**(8), 2145-2151.

Barlow, G. W. (2002). The cichlid fishes: nature's grand experiment in evolution. Basic Books, New York, United States.

Bauman, J. M., Woodward, B. M., Baker, E. A., Marsh, T. L. & Scribner, K. T. (2016). Effects of Family, Feeding Frequency, and Alternate Food Type on Body Size and Survival of Hatchery-Produced and Wild-Caught Lake Sturgeon Larvae. *North American Journal of Aquaculture*, **78**(2), 136-144.

Begum, S. A., Banu, Q. & Hoque, B. (2013). Histopathology of the intestine of *Clarias batrachus* L. under Heavy metal stress. *Chittagong University Journal of Biological Sciences*, **5**(1), 45-53.

Bone, Q. & Moore, R. (2008). *Biology of fishes*, 3rd edn. Taylor & Francis, New York, USA.

Bonvini, E., Parma, L., Mandrioli, L., Sirri, R., Brachelente, C., Mongile, F. & Bonaldo, A. (2015). Feeding common sole (*Solea solea*) juveniles with increasing dietary lipid levels affects growth, feed utilization and gut health. *Aquaculture*, **449**, 87-93.

Bozić F., Srebocan E. & Kozarić Z. (2000). Starvation-induced pathobiology in the gut of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, **114**(3-4), 134-138.

Budaev, S. V., Zworykin, D. D. & Mochek, A. D. (1999). Individual differences in parental care and behaviour profile in the convict cichlid: a correlation study. *Animal Behaviour*, **58**(1), 195-202.

Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL). Tierschutz in der Forschung. Versuchstierzahlen 2014. Abgerufen am 29.01.2016, von http://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/Tier/Tierschutz/2014-TierversuchszahlenGesamt.pdf?__blob=publicationFile

Cataldi, E., Cataudella, S., Monaco, G., Rossi, A. & Tancioni, L. (1987). A study of the histology and morphology of the digestive tract of the sea bream, *Spurus aurata*. *Journal of Fish Biology* **30**, 135-145.

Chakrabarti, P. & Ghosh, S. K. (2014). A comparative study of the histology and microanatomy of the stomach in *Mystus vittatus* (Bloch), *Liza parsia* (Hamilton) and *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Journal of Microscopy and Ultrastructure*, **2**(4), 245-250.

Chi, J. R., Liao, L. S., Wang, R. G., Jhu, C. S., Wu, J. L. & Hu, S. Y. (2015). Molecular cloning and functional characterization of the hepcidin gene from the convict cichlid and its expression pattern in response to lipopolysaccharide challenge. *Fish Physiology and Biochemistry*, **2**(41), 449-461.

Chingjiang, W. & Schröder, J. H. (1983). The occurrence of a regulatory mutation in postirradiation offspring of convict cichlid fish, *Cichlasoma nigrofasciatum* (Pisces, Perciformes). *Biochemical Genetics*, **21**(11), 1115-1120.

Cleveland-Roberts, A. & Itzkowitz, M. (2009). The role of sex ratios and resource availability on the pre-mating behavior of a monogamous fish. *Behavioural Processes*, **80**(1), 46-50.

Crivellato, E. & Ribatti, D. (2010). The mast cell: an evolutionary perspective. *Biological Reviews*, **85**(2), 347-360.

- Day, R. D., Tibbetts, I. R. & Secor, S. M. (2014). Physiological responses to short-term fasting among herbivorous, omnivorous, and carnivorous fishes. *Journal of Comparative Physiology B*, **184**(4), 497-512.
- Díaz, A. O., García, A. M. & Goldemberg, A. L. (2008). Glycoconjugates in the mucosa of the digestive tract of *Cynoscion guatucupa*: A histochemical study. *Acta Histochemica*, **110**(1), 76-85.
- Elger, M. & Hentschel, H. (1981). The glomerulus of a stenohaline fresh-water teleost, *Carassius auratus gibelio*, adapted to saline water. *Cell and Tissue Research*, **220**(1), 73-85.
- Ezeasor, D. N. & Stokoe, W. M. (1980). Scanning electron microscopic study of the gut mucosa of the rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology*, **17**(5), 529-539.
- Farag, F. M. M., Wally, Y. R., Daghash, S. M. & Ibrahim, A. M. (2014). Some gross morphological studies on the internal anatomy of the scaled common carp fish (*Cyprinus carpio*) in Egypt. *Journal of Veterinary Anatomy*, **7**(1), 15-29.
- Fishelson, L. & Delarea, Y. (2004). Taste buds on the lips and mouth of some blenniid and gobiid fishes: comparative distribution and morphology. *Journal of Fish Biology*, **65**(3), 651-665.
- Fuglem, B., Jirillo, E., Bjerkås, I., Kiyono, H., Nochi, T., Yuki, Y. & Koppang, E. O. (2010). Antigen-sampling cells in the salmonid intestinal epithelium. *Developmental & Comparative Immunology*, **34**(7), 768-774.
- Gallagher, J. E., Herz, M. J. & Peeke, H. V. (1972). Habituation of aggression: The effects of visual social stimuli on behavior between adjacently territorial convict cichlids (*Cichlasoma nigrofasciatum*). *Behavioral Biology*, **7**(3), 359-368.
- Gao, X., Hong, L., Liu, Z., Guo, Z., Wang, Y. & Lei, J. (2015). An integrative study of larval organogenesis of American shad *Alosa sapidissima* in histological aspects. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, **34**, 1-17.
- Genten, F., Terwinghe, E. & Danguy, A. (2009). *Atlas of fish histology*. Science Publishers, Enfield, England.

- Grau, A., Crespo, S., Sarasquete, M. C. & González de Canales M. L. (1992). The digestive tract of the amberjack *Seriola dumerili*, Risso: a light and scanning electron microscope study. *Journal of Fish Biology*, **41**, 287-303.
- Gumm, J. M. & Itzkowitz, M. (2007). Pair-bond formation and breeding-site limitation in the convict cichlid, *Archocentrus nigrofasciatus*. *Acta Ethologica*, **10**(1), 29-33.
- Harder, W. (1964). Anatomie der Fische. In *Handbuch der Binnenfischerei Mitteleuropas* (Demoll, R. & Maier, H. N., eds), Bd. 11, pp. 70–99. Stuttgart: Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung.
- Hassaninezhad, L., Safahieh, A. R., Salamat, N., Savari, A. & Majd, N. E. (2014). Histopathological alterations of mercuric chloride toxicity in marine fish (*Acanthopagrus latus*). *Indian Journal of Veterinary Pathology*, **38**(1), 61-64.
- Hellberg, H., Bjerås, I., Vågnes, Ø. B. & Noga, E. J. (2013). Mast cells in common wolffish *Anarhichas lupus* L.: Ontogeny, distribution and association with lymphatic vessels. *Fish & Shellfish Immunology*, **35**(6), 1769-1778.
- Hoseinifar, S. H., Sharifian, M., Vesaghi, M. J., Khalili, M. & Esteban, M. Á. (2014). The effects of dietary xylooligosaccharide on mucosal parameters, intestinal microbiota and morphology and growth performance of Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*) fry. *Fish & Shellfish Immunology*, **39**(2), 231-236.
- Karasov, W. H., Martínez del Rio, C. & Caviedes-Vidal, E. (2011). Ecological physiology of diet and digestive systems. *Annual Review of Physiology*, **73**, 69-93.
- Kasumyan, A. O. & Döving, K. B. (2003). Taste preferences in fishes. *Fish and Fisheries*, **4**, 289-347.
- Kim, J. H. & Kang, J. C. (2016). The toxic effects on the stress and immune responses in juvenile rockfish, *Sebastes schlegelii* exposed to hexavalent chromium. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **43**, 128-133.
- Kramer, D. L. & Bryant, M. J. (1995). Intestine length in the fishes of a tropical stream: 2. Relationships to diet—the long and short of a convoluted issue. *Environmental Biology of Fishes*, **42**(2), 129-141.

- Liu, L., Li, C., Su, B., Beck, B. H. & Peatman, E. (2013). Short-term feed deprivation alters immune status of surface mucosa in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *PloS One*, **8**(9), e74581.
- Loiselle, P. V. (1994). *The Cichlid Aquarium*, 2nd edn. Tetra-Press, Melle, Germany.
- Løkka, G. & Koppang, E. O. (2016). Antigen sampling in the fish intestine. *Developmental & Comparative Immunology*, **64**, 138-149.
- Marel, M., Pröpsting, M. J., Battermann, F., Jung-Schroers, V., Hübner, A., Rombout, J. H. W. M. & Steinhagen, D. (2014). Differences between intestinal segments and soybean meal-induced changes in intestinal mucus composition of common carp *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture Nutrition*, **20**(1), 12-24.
- Marufu, L. T., & Chifamba, P. C. (2013). A comparison of diel feeding pattern, ingestion and digestive efficiency of *Oreochromis niloticus* and *Oreochromis macrochir* in Lake Chivero, Zimbabwe. *African Journal of Aquatic Science*, **38**(2), 221-228.
- Mills, D. & Vevers, G. (1989). *The Tetra encyclopedia of freshwater tropical aquarium fishes*. Tetra-Press, New York, USA.
- Mohapatra, S., Chakraborty, T., Shimizu, S., Urasaki, S., Matsubara, T., Nagahama, Y. & Ohta, K. (2015). Starvation beneficially influences the liver physiology and nutrient metabolism in *Edwardsiella tarda* infected red sea bream (*Pagrus major*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, **189**, 1-10.
- Moss, S., Tittaferante, S., Way, G. P., Fuller, A., Sullivan, N., Ruhl, N. & McRobert, S. P. (2015). Interactions between aggression, boldness and shoaling within a brood of convict cichlids (*Amatitlania nigrofasciatus*). *Behavioural Processes*, **121**, 63-69.
- Mowat, A. M. & Agace, W. W. (2014). Regional specialization within the intestinal immune system. *Nature Reviews Immunology*, **14**(10), 667-685.
- Nandi, S. & Saikia, S. K. (2015). Role of morphometry in determining the feeding success of small freshwater fish species: Multivariate analysis of *Amblypharyngodon mola*, *Puntius ticto*, and *Esomus danricus*. *Archives of Polish Fisheries*, **23**(2), 79-90.

- Ojeda, J. L., Wong, W. P., Ip, Y. K. & Icardo, J. M. (2008). Renal corpuscle of the African lungfish *Protopterus dolloi*: structural and histochemical modifications during aestivation. *The Anatomical Record*, **291**(9), 1156-1172.
- Pascual, P., Pedrajas, J. R., Toribio, F., López-Barea, J. & Peinado, J. (2003). Effect of food deprivation on oxidative stress biomarkers in fish (*Sparus aurata*). *Chemico-biological Interactions*, **145**(2), 191-199.
- Peruzzi, S., Hagen, Ø. & Jobling, M. (2015). Gut morphology of diploid and triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture International*, **23**(4), 1105-1108.
- Powell, M. D., Yousaf, M. N., Rasmussen, K. J., Köllner, B., Zou, J., Secombes, C. & Speare, D. J. (2014). Immunohistochemical localization of inflammatory cells and cell cycle proteins in the gills of *Loma salmonae* infected rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, **40**(1), 91-98.
- Raderman-Little, R. (1979). The effect of temperature on the turnover of taste bud cells in catfish. *Cell Proliferation*, **12**(3), 269-280.
- Reite, O. B. (1998). Mast cells/eosinophilic granule cells of teleostean fish: a review focusing on staining properties and functional responses. *Fish & Shellfish Immunology*, **8**(7), 489-513.
- Reite, O. B. & Evensen, Ø. (2006). Inflammatory cells of teleostean fish: a review focusing on mast cells/eosinophilic granule cells and rodlet cells. *Fish & Shellfish Immunology*, **20**(2), 192-208.
- Roberts, R. J. (2012). *Fish Pathology*, 4rd edn. Wiley-Blackwell, Chichester, England.
- Rombout, J. H., Abelli, L., Picchiatti, S., Scapigliati, G. & Kiron, V. (2011). Teleost intestinal immunology. *Fish & Shellfish Immunology*, **31**(5), 616-626.
- Sales, J. (2003). Nutrient requirements of ornamental fish. *Aquatic Living Resources*, **16**(06), 533-540.

Santos, D., Falcão, A., Luzio, A., Fontainhas-Fernandes, A. & Monteiro, S. M. (2015). Neuroendocrine and Eosinophilic Granule Cells in the Gills of Tilapia, *Oreochromis niloticus*: Effects of Waterborne Copper Exposure. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **69**(4), 566-576.

Schmitter-Soto, J. J. (2007). A systematic revision of the genus *Archocentrus* (Perciformes: Cichlidae), with the description of two new genera and six new species. *Zootaxa*, **1603**, 1-78.

Smith, B. J., Smith, S. A., Tengjaroenkul, B. & Lawrence, T. A. (2000). Gross morphology and topography of the adult intestinal tract of the tilapia fish, *Oreochromis niloticus* L. *Cells, Tissues, Organs*, **166**, 294–303.

Stevens, E. D., Wagner, G. N. & Sutterlin, A. (1999). Gut morphology in growth hormone transgenic Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology*, **55**(3), 517-526.

Tengjaroenkul, B., Smith, B. J., Caceci, T. & Smith, S. A. (2000). Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, **182**(3), 317-327.

van Breukelen, N. A., Snekser, J. L. & Itzkowitz, M. (2015). Male convict cichlid 11-ketotestosterone levels throughout the reproductive cycle: an exploratory profile study in laboratory and field populations. *PeerJ*, **3**, e949.

Vlahos, N., Vasilopoulos, M., Mente, E., Hotos, G., Katselis, G. & Vidalis, K. (2015). Yolk-sac larval development of the substrate-brooding cichlid *Archocentrus nigrofasciatus* in relation to temperature. *Integrative Zoology*, **10**(5), 497-504.

Wilson, J. M. & Castro, L. F. C. (2010). Morphological diversity of the gastrointestinal tract in fishes. *Fish physiology*, **30**, 1-55.

Winemiller, K. O., Kelso-Winemiller, L. C. & Brenkert, A. L. (1995). Ecomorphological diversification and convergence in fluvial cichlid fishes. *Environmental Biology of Fishes*, **44**(1-3), 235-261.

Wisenden, B. D. (1995). Reproductive behaviour of free-ranging convict cichlids, *Cichlasoma nigrofasciatum*. *Environmental Biology of Fishes*, **43**(2), 121-134.

Yoshida, Y., Saitoh, K., Aihara, Y., Okada, S., Misaka, T. & Abe, K. (2007). Transient receptor potential channel M5 and phospholipaseC- β 2 colocalizing in zebrafish taste receptor cells. *Neuroreport*, **18**(15), 1517-1520.

Zentralverband Zoologischer Fachbetriebe Deutschland e. V. (ZZF). *Der deutsche Heimtiermarkt 2015*. Zentralverband Zoologischer Fachbetriebe Deutschland e. V., Wiesbaden, Germany. Abgerufen am 29.06.2016, von https://www.zzf.de/fileadmin/files/ZZF/Marktdaten/Der_Deutsche_Heimtiermarkt_2015.pdf

Zhang, X. D., Zhu, Y. F., Cai, L. S. & Wu, T. X. (2008). Effects of fasting on the meat quality and antioxidant defenses of market-size farmed large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Aquaculture*, **280**(1), 136-139.

Zhang, Y. A., Salinas, I., Li, J., Parra, D., Bjork, S., Xu, Z. & Sunyer, J. O. (2010). IgT, a primitive immunoglobulin class specialized in mucosal immunity. *Nature Immunology*, **11**(9), 827-835.

Zihler, F. (1982). Gross morphology and configuration of digestive tracts of Cichlidae (Teleostei; Perciformes): phylogenetic and functional significance. *Netherlands Journal of Zoology*, **32**, 544–571.

7 Publikationsliste

7.1 Originalartikel

Hopperdietzel, C., Hirschberg, R. M., Hünigen, H., Wolter, J., Richardson, K. & Plendl, J. (2014). Gross morphology and histology of the alimentary tract of the convict cichlid *Amatitlania nigrofasciata*. *Journal of Fish Biology*, **85**(5), 1707–1725.

Hopperdietzel, C., Hirschberg, R. M., Hünigen, H., Wolter, J. & Plendl, J. (2015). Distribution pattern of eosinophilic granular cells in the intestine of convict cichlid *Amatitlania nigrofasciata* (Günther, 1867). *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, **35**(4), 123–130.

7.1.1 Beteiligung der Autoren an den Originalartikeln

Gross morphology and histology of the alimentary tract of the convict cichlid *Amatitlania nigrofasciata*

C.H. war an der Konzeption des Versuches beteiligt und entwickelte überwiegend das Versuchsdesign. Es oblag C.H. die Proben vollständig zu präparieren und aufzuarbeiten. Die Daten sind vollständig von C.H. erhoben worden. Die Auswertung der histo-morphologischen Daten sind überwiegend von C.H. durchgeführt worden. C.H. war an der Ergebnisdiskussion und an der Erstellung des Manuskriptes beteiligt. **R.H.** war maßgeblich an der Ergebnisdiskussion sowie der Erstellung des Manuskriptes beteiligt. **H.H.** war an der Konzeption des Versuches sowie der Erstellung des Manuskriptes beteiligt. H.H. war an der morphologischen Datenauswertung beteiligt. **J.W.** war an der Konzeption des Versuches sowie dem Versuchsdesign beteiligt. **K.R.** war an der Ergebnisdiskussion sowie der Erstellung des Manuskriptes beteiligt. **J.P.** war an der Konzeption des Versuches, dem Versuchsdesign, der Ergebnisdiskussion und der Erstellung des Manuskriptes beteiligt. **Alle Autoren** waren an der kritischen Durchsicht und Überarbeitung des Manuskriptes beteiligt.

Distribution pattern of eosinophilic granular cells in the intestine of convict cichlid *Amatitlania nigrofasciata* (Günther, 1867)

C.H. war überwiegend an der Konzeption des Versuches und dem Versuchsdesign beteiligt. Die Proben sind vollständig von ihm gesammelt worden. Die Datenerhebung wurde vollständig von C.H. durchgeführt. Die Datenauswertung führte C.H. überwiegend durch. An der Ergebnisdiskussion und der Erstellung des Manuskriptes war C.H. überwiegend beteiligt. **R.H.** war maßgeblich an der Ergebnisdiskussion und Erstellung des Manuskriptes beteiligt. **H.H.** war an der Konzeption des Versuches sowie der Erstellung des Manuskriptes beteiligt. H.H. war an

der statistischen Datenauswertung beteiligt. **J.W.** war an der Konzeption des Versuches und dem Versuchsdesign beteiligt. **J.P.** war an der Konzeption des Versuches, dem Versuchsdesign, der Ergebnisdiskussion und der Erstellung des Manuskriptes beteiligt. **Alle Autoren** waren an der kritischen Durchsicht und Überarbeitung des Manuskriptes beteiligt.

7.2 Weitere Originalartikel

Kuhfahl, S., Baum, A., Kehlen, A., **Hopperdietzel, C.**, Gemeinhardt, O., Jung, F., Hiebl, B. (2016). Influence of polymerized siloxanes on nosocomial aerobic bacterial growth. *Journal of Cellular Biotechnology*, **2**(1), 69-75.

Dietze, K., Slosarek, I., Fuhrmann-Selter, T., **Hopperdietzel, C.**, Plendl, J. & Kaessmeyer, S. (2014). Isolation of equine endothelial cells and life cell angiogenesis assay. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, **58**(1), 127–146.

Hiebl, B., **Hopperdietzel, C.**, Hünigen, H., Dietze, K., Jung, F. & Niehues, S. M. (2014). Tissue reaction induced by implanted venous access ports in adult patients after infection of the implantation site. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, **58**(1), 107–113.

Hiebl, B., **Hopperdietzel, C.**, Hünigen, H., Dietze, K., Klein, S., Schreier, B. & Jung, F. (2013). Influence of iodine-containing radiographic contrast media on the phenotype of erythrocytes from different laboratory animal species. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, **55**(4), 473–479.

Hiebl, B., **Hopperdietzel, C.**, Hünigen, H., Jung, F. & Scharnagl, N. (2013). Influence of a silicon (Si¹⁴)-based coating substrate for biomaterials on fibroblast growth and human C5a. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, **55**(4), 491–499.

7.3 Kongressbeiträge

7.3.1 Vorträge

Dietze, K., Slosarek, I., Fuhrmann-Selter, T., Hopperdietzel, C., Plendl, J. & Käßmeyer, S. (2014). Ein Angiogenese-Assay zur Wirkungsanalyse intravenöser Eingriffe an equinen makrovaskulären Endothelzellen. *33th Annual Conference of the German Association for Clinical Microcirculation and Haemorheology*, Villingen-Schwenningen – 14.11.-15.11.2014.

Hopperdietzel, C. & Plendl, J. (2014). Identification of subpopulations of endothelial cells during in vitro angiogenesis by live cell imaging. *18th Congress of the Federation of Asian Veterinary Associations*, Singapore – 28.11.-30.11.2014.

Hopperdietzel, C. & Plendl, J. (2013). Life Cell Imaging: spatial representation of in vitro angiogenesis. *7th Meeting of the Young Generation of Veterinary Anatomists*, Leipzig – 17.07.-20.07.2013. In: *Proceedings of the 7th Meeting of the Young Generation of Veterinary Anatomists*, Lehmanns Media-Verlag Berlin, S. 24 ISBN: 978-3-86541-548-6

7.3.2 Poster

Dietze, K., Hopperdietzel, C., Slosarek, I., Fuhrmann-Selter, T. & Plendl, J. (2016). Equine melanoma in vivo and in vitro. *24. Jahrestagung der FG Innere Medizin und klinische Labordiagnostik der DVG (InnLab)*, Berlin – 29.01.-30.01.2016. In: *Tierärztliche Praxis / Ausgabe K, Kleintiere, Heimtiere*, **1**, 1.

Dietze, K., Peer, P., Hopperdietzel, C., Slosarek, I., Fuhrmann-Selter, T. & Plendl, J. (2015). Equine melanoma cells in vitro. *8th Meeting of the Young Generation of Veterinary Anatomists*, Poznan, Poland – 15.07.-18.07.2015.

Hopperdietzel, C. & Plendl, J. (2015). Rodlet and mast cell appearance in piscine intestine. *8th Meeting of the Young Generation of Veterinary Anatomists*, Poznan, Poland – 15.07.-18.07.2015.

Hopperdietzel, C. Plendl, J. & Richardson, K. C. (2014). Teaching Crocodilian Anatomy to Undergraduates. *The XXXth Congress of the European Association of Veterinary Anatomists*, Cluj-Napoca, Romania – 23.07.-26.07.2014. In: *Anatomia, Histologia, Embryologia*, **43**(Suppl. 1), 51.

Hopperdietzel, C. & Plendl, J. (2013). Life Cell Imaging: Räumliche Darstellung endothelialer in vitro Angiogenese. *32. Annual Conference of the German Society of Hemorheology and Microcirculation*, Dresden – 24.05.-25.05.2013.

Plendl, J., Hopperdietzel, C. & Richardson, K. C. (2013). Teaching anatomy of crocodiles to students of veterinary medicine. *World Crocodile Conference*, Negombo, Sri Lanka – 20.05.-23.05.2013.

Plendl, J., Wendel, H. & Hopperdietzel, C. (2013): Plastination of a crocodile: a methodological contribution. *World Crocodile Conference*, Negombo, Sri Lanka – 20.05.-23.05.2013.

Hopperdietzel, C. & Plendl, J. (2012). Ein virtuelles Navigationssystem für den Gefäßbaum des Hundes. *7. Doktorandensymposium & DRS Präsentationsseminar "Biomedical Sciences"*, Berlin – 13.07.2012. In: *Von Doktoranden für Doktoranden - 7. Doktorandensymposium & DRS Präsentationsseminar "Biomedical Sciences"* – Freie Universität Berlin; Dahlem Research School (DRS) (Hrsg.), Berlin: mensch und buch Verlag, S. 41, ISBN: 978-3-86387-153-6

Hopperdietzel, C., Huenigen, H., Wolter, J. & Plendl, J. (2011). Der Grünflossenbuntbarsch: eine morphologische Untersuchung des Gastrointestinaltrakts. *6. Doktorandensymposium & DRS Präsentationsseminar "Biomedical Sciences"*, Berlin – 01.07.2011.

In: *Von Doktoranden für Doktoranden - 6. Doktorandensymposium & DRS Präsentationsseminar "Biomedical Sciences"* am Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin; Programm & Abstracts – Freie Universität Berlin ; Dahlem Research School (DRS) (Hrsg.), Berlin: mensch und buch verlag, S. 51, ISBN: 978-3-86664-980-4

Hopperdietzel, C. (2008). Makroskopische und mikroskopische Anatomie des Gastrointestinaltrakts ausgewählter Süßwasser-Fischarten: Status quo.

3. Doktoranden-Symposium am Fachbereich Veterinärmedizin Berlin an der Freien Universität Berlin, Berlin – 27.06.2008. In: *3. Doktoranden-Symposium am Fachbereich Veterinärmedizin Berlin an der Freien Universität Berlin*; Programm und Abstracts Berlin: Mensch und Buch Verlag Berlin, S. 39, ISBN: 978-3-86664-412

8 Danksagung

Ein großes Dankeschön geht vorab an alle Mitarbeiter bzw. ehemaligen Mitarbeiter des Institutes für Veterinär-Anatomie, die mir in den vielen Stunden Freude und Kraft vermittelt haben. Ich bedanke mich bei Frau Prof. Dr. Plendl für die flexible Wahl meiner Themen und die Toleranz, meiner Kreativität freien Lauf zu lassen. Des Weiteren danke ich ihr für die stetig schnelle und konstruktive Überarbeitung meiner Texte. Frau Dr. Hünigen möchte ich in erster Linie für die vielen Ideen bei der Umsetzung des Studiendesigns, technische Hilfestellungen bei den statistischen Fragen, die vielseitigen Korrekturvorschläge sowie ihren unerschütterlichen Optimismus über die Jahre am Institut danken. Herrn Prof. Richardson gebührt mein Dank für seine orthografischen Ratschläge und sein bewunderungswürdiges Wissen über die Welt der Wirbeltiere. Ein ganz besonderes Dankeschön geht an Frau Dr. Hirschberg, die mir nicht nur sprachlich unter die Arme gegriffen hat, sondern mir vor allem durch ihre konsequente, energische und sehr präzise Art, das wissenschaftliche Schreiben erleichtert hat und mir die Zuversicht gegeben hat, dass alles irgendwann zum Ende kommen kann (und muss). Herrn Wolter danke ich für die vielen praxisnahen Gespräche im Vorfeld und während meiner Arbeit sowie die Benutzung seiner Räumlichkeiten, Ausrüstung und seines Erfahrungsschatzes. Frau Briest-Forch stand im gesamten Zeitraum mit vielen tollen Ideen und einer unglaublichen Motivation, Probleme zu lösen, an meiner Seite und hat im Wesentlichen dazu beigetragen, dass ich eine ungeheure Faszination für die Histologie entwickelt habe. Frau Holle danke ich für die Vermittlung des tiefgreifenden Verständnisses der Elektronenmikroskopie sowie der Stärkung meiner technischen Affinität zu den elektronischen Geräten am Institut für Veterinär-Anatomie. Herrn Werner danke ich für die Hilfe bei der Lösung graphischer Probleme und Frau Dr. Dietze und Frau Gentner für die Zeit, mich in der englischen Ausdrucksweise zu verbessern. Bei Frau Prof. Dr. Bahramsoltani möchte ich mich für die schnellen und kurzfristigen Korrekturen und bei Frau Dr. Rieger für die Formatierungshilfe dieser Druckfassung bedanken. Zu guter Letzt möchte ich meinen Eltern danken, die mich über all die Jahre nicht nur finanziell unterstützt haben sondern auch wohlwollend jene Phasen ignoriert haben, an denen ich Zähne knirschend kein so guter Gesprächspartner war.

Diese gesamte Erfahrung im Zusammenhang mit meiner Arbeit am Institut wird mir zeitlebens positiv im Gedächtnis verbleiben.

9 Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich alle Studien selbständig durchgeführt und die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, 23.01.2017

Carsten Hopperdietzel