

PROGETTO DI RICERCA:

Messa a punto della riproduzione artificiale di *Anguilla anguilla* e relative prove di svezzamento larvale in ambiente controllato, e studio sulla sopravvivenza e sviluppo delle forme embrionali e larvali in ambiente naturale.



***Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie
Corso di Laurea in Acquacoltura ed Igiene dei Prodotti Ittici***



STATO DELL'ARTE

Il Regolamento (CE) N. 1100/2007 del 18 settembre 2007 definendo la popolazione dell'anguilla in forte diminuzione istituisce misure per la ricostituzione dello stock di anguilla europea, secondo le linee guida per la stesura dei loro Piani di Gestione Nazionale (Guidance Document for the Preparation of the Eel Management Plan).

Tale esigenza è stata recepita in modo concreto nel 2007 dalla Direzione Generale della Pesca Marittima e dell'Acquacoltura, Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali, che ha supportato il Progetto *“Indagine finalizzata alla costituzione di una base conoscitiva per l'elaborazione di un Piano di Gestione Nazionale della risorsa Anguilla anguilla”* (bando 06-03-7042 del 5 Dicembre 2006, che tematica A – Valutazione delle risorse biologiche).

L'Italia ha redatto un Piano di Gestione per l'anguilla secondo quanto richiesto dagli indirizzi del regolamento europeo indicando una strategia di gestione sostenibile per questa specie volta alla valutazione della risorsa, alla raccolta di dati ed allo sviluppo di metodologie in grado di accrescere le conoscenze sul ciclo biologico della specie focalizzando la ricerca sulla riproduzione e sulla sopravvivenza ed accrescimento delle forme giovanili.

Il piano è supportato soprattutto dalle strategie regionali dell' Emilia-Romagna, fra le più rappresentative a livello nazionale per le qualità ambientali delle zone umide costiere e dell'entroterra, dei corsi d'acqua sfocianti al mare e delle vie d'acqua interne. Questa Regione, oltre a definire i criteri di gestione dello sforzo di pesca della specie, hanno avviato i primi studi scientifici per accrescere le conoscenze relative alla vita delle anguille ed hanno, per prime, finanziato progetti di riproduzione artificiale in ambiente controllato.

La carenza di informazioni sulla vita dell'anguilla, viste le peculiarità biologiche e di sfruttamento di questa specie catadroma, porta a definire una serie di obiettivi a livello locale e la loro trasposizione in iniziative concrete all'interno di uno schema di riferimento scientifico di portata comunitaria.

La conservazione e la gestione della popolazione dell'anguilla sono due aspetti di un problema ampio e complesso che chiama in causa problematiche anche molto diverse fra loro che vanno dallo sfruttamento commerciale alla tutela di habitat naturali, dagli areali di crescita agli ambiti di risalita naturale, dai ripopolamenti allo sforzo di pesca. Senza dubbio, quando si ha a che fare con una specie come l'anguilla, con un ciclo biologico in molti aspetti sconosciuto soprattutto in ambito marino, risulta evidente la difficoltà nel programmare



mirate strategie di salvaguardia e tutela degli stock se non vengono supportate da sperimentazioni di carattere scientifico.

A questo riguardo la Regione Emilia-Romagna in collaborazione con il Centro Universitario di Cesenatico hanno avviato già da tempo ricerche e sperimentazioni sull'anguilla che sono state presentate nei principali congressi scientifici europei mentre i primi dati risultano in corso di pubblicazione in riviste scientifiche di rilevanza mondiale. Particolarmente interessanti sono state le indicazioni ottenute sul processo di maturazione gonadale in vari areali, su sistemi non invasivi di rilevazione dell'età degli animali e soprattutto sulla messa a punto di una tecnica di riproduzione indotta che ha permesso, primi in Europa, una cospicua produzione di uova feconde e di forme larvali.

I risultati incoraggianti ottenuti fino ad ora dal Centro di Ricerca universitario di Cesenatico in ambito riproduttivo, hanno portato ad un naturale proseguimento della ricerca in abito dello svezzamento larvale in ambiente controllato, e studio sulla sopravvivenza e sviluppo delle forme embrionali e larvali in ambiente naturale. Così come nella riproduzione, infatti, questo "passaggio" presenta solitamente elevate criticità che devono essere osservate e studiate in ambito scientifico per poter essere positivamente superate al fine di poter garantire produzioni di tipo acquacolturale.

ARTICOLAZIONE GESTIONALE DEL PROGETTO

Il progetto di ricerca sarà suddiviso in 2 esperimenti e gestito da un unico gruppo di lavoro incardinato presso il *Corso di Laurea in Acquacoltura ed Igiene delle Produzioni Ittiche* di Cesenatico (Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Bologna) e sotto la responsabilità scientifica del Dott. Oliviero Mordenti che coordinerà ciascun operatore impegnato nello studio.

Le funzioni delle unità operative coinvolte vengono di seguito sinteticamente descritte:

Dott. Oliviero mordenti, dott. Andrea di biase, dott. Giuseppe Bastone:

Predisposizione dei bacini di prova, riproduzione artificiale, semina degli animali, carotaggi in punti campione dei fondali, raccolta periodica della biomassa e dei campioni di benthos di plancton ed e dell'acqua, raccolta periodica di campioni di giovanili, valutazioni zootecniche dei risultati ottenuti.

Dott.ssa Annalisa Zaccaroni, dott. Andrea Di Biase, dott. Giuseppe Bastone:

Analisi periodiche delle principali caratteristiche chimico-fisiche delle acque, valutazione quali-quantitativa della biomassa e determinazione del benthos e del plancton, valutazione di eventuali presenze di inquinanti sui tessuti delle anguille mantenute nei bacini vallivi.



Prof.ssa Albamaria Parmeggiani, dott.ssa Rubina Sirri

Studio della fisiologia della riproduzione, verifica dello stato sanitario e nutrizionale delle forme larvali per tutta la durata della sperimentazione, valutazioni di carattere gonadico durante lo sviluppo delle anguille.

Prof. Pierpaolo Gatta, dott. Alessio Bonaldo, dott. Luca Parma

Stesura dei protocolli alimentari per larve con particolare riferimento a micronutrienti come acidi grassi, vitamine e minerali, alla richiesta amminoacidica e alla richiesta energetica, ottimizzazione dell'allevamento (svezzamento, alimentazione, condizioni ambientali).

Esperimento 1:

Messa a punto della riproduzione artificiale di *Anguilla anguilla* e relative prove di svezzamento larvale in ambiente controllato

OBIETTIVI

La sperimentazione si propone di mettere a punto la riproduzione artificiale dell'anguilla e dare avvio ad una seconda fase progettuale che preveda:

- *il confronto di popolazioni di anguilla presenti nell'area valliva di Comacchio da sottoporre alla pratica della riproduzione artificiale;*
- *la ricerca di un programma alimentare in grado di garantire la sopravvivenza delle forme larvali e post-larvali di anguilla mantenuti in cattività.*

Tale obiettivo potrebbe essere raggiunto attraverso una serie di operazioni che vengono di seguito schematicamente elencate:

- *Reperimento dei riproduttori in 2 aree vallive di Comacchio,*
- *Induzione alla maturazione gonadica in ambiente controllato,*
- *Spremitura dei riproduttori e fecondazione delle uova,*
- *Incubazione e schiusa delle uova embrionale.*

METODICA

Per la prova verranno utilizzate femmine e maschi adulti catturati all'interno delle valli di Comacchio provenienti da comprensori diversificati, presumibilmente **Fondo Valle** e



Fattibello. Le due popolazioni sembrano, infatti, essere caratterizzate da taglia, indice di argentinizzazione e alimentazione differenti.

Nel caso in cui non fossero catturati in natura un numero di anguille sufficiente per la sperimentazione, l'Università potrebbe reperire i soggetti di sesso maschile acquistandoli presso aziende della Regione Emilia-Romagna che operano nel settore, mentre le femmine potrebbero essere pescate presso altre valli dislocate nel medio-alto Adriatico.

Gli animali saranno trasportati presso il Centro Sperimentale del Corso di Laurea in Acquacoltura ed Igiene dei Prodotti Ittici dell'Università di Bologna con sede a Cesenatico (Forlì-Cesena) e mantenuti in cattività.

Dalla raccolta verranno selezionate le femmine di maggiori dimensioni dei 2 comprensori vallivi e tutti i soggetti di sesso maschile. Immediatamente prima dell'inizio dell'esperimento tutte le anguille verranno sottoposte ad analisi biometrica in modo da ottenere i principali indici esterni indicatori dello stato di maturazione gonadico (indice di argentinizzazione, indice oculare, indice della pinna pettorale, ecc). Campioni di sangue verranno prelevati al fine di determinare alcuni importanti parametri ematici (estradiolo, testosterone, cortisolo) ed un campione di anguille verrà immediatamente sacrificato così da poter valutare l'*indice gonadosomatico (GSI)*, il grado di maturazione oocitario ed il contenuto lipidico ed profilo acidico delle carni.

Dopo un periodo di acclimatazione i 2 gruppi sperimentali verranno sottoposti ad un unico processo di induzione ormonale/ambientale, già utilizzato proficuamente dall'Unità Operativa in sperimentazioni precedenti, della durata stimabile in:

- *15-30 settimane per le femmine,*
- *6-15 settimane per i maschi.*

La tecnica prevede l'utilizzo di differenti principi ormonali presenti in commercio e la variazione temporale di parametri ambientali quali la temperatura dell'acqua, il fotoperiodo e l'intensità luminosa.

Al termine del programma di induzione, tutte le femmine ed i maschi che avranno raggiunto la piena maturazione gonadica verranno utilizzati per effettuare prove tese a:

- *testare differenti tipologie di fecondazione tese a migliorare la percentuale di uova feconde,*
- *individuare una tecnica in grado di favorire l'emissione spontanea dei gameti in vasca ("riproduzione naturale"),*



- *testare differenti tipologie di incubazione tese ad identificare l'impiantistica e l'ambiente migliore per la stabulazione delle uova in termini di temperatura salinità dell'acqua e intensità luminosa,*
- *mettere a confronto i risultati riproduttivi delle 2 differenti popolazioni di anguilla.*

Una volta ottenuta la schiusa delle uova, prenderà avvio la seconda fase sperimentale che prevede lo studio riguardante l'individuazione di una dieta alimentare in grado di garantire la sopravvivenza delle forme larvali nel momento in cui è terminato il riassorbimento del sacco vitellino ed è avvenuta l'apertura dell'apparato buccale.

Nell'occasione verranno testate alcune diete alimentari adottando:

- *tecniche standardizzate per lo svezzamento di specie ittiche marine di allevamento,*
- *tecniche mediante l'utilizzo del mesocosmo,*
- *tecniche di svezzamento innovative in cui saranno previsti nuovi principi alimentari sia di natura organica che prodotti specifici del commercio.*

I risultati ottenuti, sia nella fase di riproduzione artificiale che nella fase di incubazione saranno sottoposti ad elaborazione statistica e relativa valutazione critica.

Lo studio potrebbe dare un forte contributo alla messa a punto della riproduzione artificiale in ambiente controllato. Nonostante i buoni risultati ottenuti dal gruppo di ricerca di Cesenatico, risultano, infatti, ancora numerosi gli aspetti che possono essere migliorati (qualità delle uova, percentuale di fecondazione, tecnica di incubazione, riproduzione naturale in vasca, ecc) al fine di garantire una produzione larvale migliore sia in termini qualitativi che in termini quantitativi. Utilizzando due popolazione differenti, si potrebbero, inoltre, ottenere indicazioni importanti relative ai fattori ambientali che influiscono sulla riproduzione.

La sperimentazione, infine, potrebbe portare a conoscenze relative all'alimentazione e all'accrescimento delle forme larvali in ambiente controllato. Così come nella riproduzione, infatti, questo "passaggio" presenta notoriamente elevate criticità che devono essere osservate e studiate in ambito scientifico per poter essere positivamente superate al fine di poter garantire produzioni di tipo acquacolturale.

TEMPISTICA DEL PROGETTO

Le singole operazioni vengono indicate sinteticamente in Tabella. La durata prevista del progetto è di 12 mesi. La tempistica potrebbe subire delle variazioni durante la realizzazione del progetto in relazione all'evoluzione della sperimentazione ed ai risultati ottenuti.

Tempistica esperimento 1

	N	D	G	F	M	A	M	G	L	A	S	O
<i>Predisposizione impianto, reperimento riproduttori, analisi morfometriche</i>	X	X										
<i>Programma di riproduzione artificiale</i>		X	X	X	X	X	X	X				
<i>Valutazione ed elaborazione dei dati ottenuti (indici, incrementi gonadici, risultati ematici ed istologici, risultati riproduttivi.)</i>					X	X	X	X	X			
<i>Programma di incubazione, schiusa e svezzamento larvale</i>						X	X	X	X	X		
<i>Valutazione ed elaborazione dei dati ottenuti (fecondazione, sviluppo embrionale, schiusa, svezzamento, accrescimenti, ecc.)</i>								X	X	X	X	
<i>Relazione finale, produzione di articoli scientifici</i>												X

DIVULGAZIONE

Oltre alla relazione tecnico-scientifica intermedia e finale, al fine di rendere noti i risultati ottenuti a seguito delle attività della presente ricerca, potranno essere redatti scritti di carattere scientifico da presentare in occasione di congressi o da pubblicare su riviste di prestigio di carattere internazionale.

Esperimento 2:

Studio sulla sopravvivenza e lo sviluppo naturale di forme embrionali e larvali di anguilla europea (*Anguilla anguilla*, L.) mantenute in bacini chiusi vallivi

OBIETTIVI

La ricerca propone una valutazione di carattere biologico al fine di studiare lo sviluppo embrionale e la dieta naturale di larve di anguilla europea (*Anguilla anguilla*, L.) mantenute in bacini chiusi vallivi nonché di valutare la sopravvivenza e la crescita in relazione alle potenzialità alimentari fornite dalla biomassa zooplanctonica esistente.



Dallo studio si potrebbero ricavare numerose informazioni relative a:

- *livelli di sopravvivenza ed eventuali tempi di accrescimento delle forme larvali di anguilla in ambiente naturale-vallivo,*
- *approfondimenti relativi alla dieta naturale dei soggetti.*

METODICA DELLA RICERCA

Al termine del programma di induzione ormonale/ambientale, già utilizzato proficuamente dall'Unità Operativa in sperimentazioni precedenti, tutte le femmine ed i maschi che avranno raggiunto la piena maturazione gonadica saranno sottoposti alla pratica della riproduzione artificiale per l'ottenimento di uova feconde.

Raggiunta questa fase, prenderà avvio la sperimentazione con la semina in campo aperto sia delle forme embrionali che delle forme larvali.

La prova prevede l'utilizzo di bacini in terra naturali e/o aree vallive comacchiesi all'interno delle quali saranno messe in posa apposite "gabbie galleggianti" create appositamente in cui verranno introdotte sia le uova feconde prossime alla schiusa che le forme larvali (leptocefali).

La tempistica delle immissioni avverrà con modalità scalare in relazione al programma di induzione ormonale adottato sui riproduttori all'interno della serra ittiologica dell'Università; il quantitativo di materiale utilizzato (uova e larve) dipenderà dai risultati ottenuti dalle anguille durante la temporalità del processo di riproduzione indotta.

All'interno di bacini in terra verranno fissate piccole reti (forma a barca) della capacità di alcuni metri cubi costituite da maglie da plancton sporgenti 20 cm dal livello massimo dell'acqua. All'interno di ciascuna "gabbia" verranno seminati i rispettivi i lotti (uova embrionale o leptocefali) provenienti dall'attività riproduttiva eseguita presso il Centro di ricerca di Cesenatico.

Per tutta la durata della sperimentazione verranno eseguiti dei campionamenti periodici in ciascuna area all'interno della quale verrà eseguita:

- una valutazione della sopravvivenza, dello stato di salute e nutrizionale degli animali;
- uno studio quali-quantitativo del benthos presente nella colonna d'acqua circostante le aree in cui sono state posizionate le reti;
- uno studio sulle principali caratteristiche fisico-chimiche delle acque.

In particolare, si preleveranno dei campioni di acqua utilizzando bottiglie in polietilene immerse ad una profondità di 15 cm e trasportate nel laboratorio dell'Università per le analisi della qualità (sostanze azotate, ammoniaca, pH, salinità ecc.).

Per i campioni del benthos verranno utilizzate reti da plancton poste nelle vicinanze delle reti contenenti il materiale larvale.

La sperimentazione dovrebbe garantire la possibilità di reperire informazioni riguardanti la possibilità di sopravvivenza delle forme larvali in relazione alla presenza di zooplancton delle aree lagunari testate ed eventualmente di ottenere informazioni dettagliate sui livelli di accrescimento.

Tempistica del progetto

Le singole operazioni, indicate in Tabella, saranno sviluppate in funzione della fase di accettazione del presente progetto che prevede una durata di 8 mesi. La tempistica potrebbe subire delle variazioni durante la realizzazione del progetto in relazione all'evoluzione della sperimentazione ed ai risultati ottenuti.

Tempistica esperimento 2

	M	A	M	G	L	A	S	O
<i>Individuazione delle aree idonee alla semina delle forme embrionali e/o larvali</i>	X							
<i>Installazioni delle reti</i>		X	X	X				
<i>semina delle forme embrionali e/o larvali</i>			X	X	X			
<i>Analisi periodiche delle principali caratteristiche delle acque e del benthos</i>		X	X	X	X	X		
<i>Valutazione ed elaborazione dei dati ottenuti</i>						X	X	
<i>Relazione finale, produzione di articoli scientifici</i>								X

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Il progetto risulta altamente innovativo in quanto si configura come una ricerca in grado di garantire la produzione di uova e forme larvali di anguilla.

Al momento attuale, infatti, non risultano studi che riguardino tentativi su larga scala di svezzamento di larve di anguilla europea in quanto la ricerca, fino ad oggi, non era stata in



grado di garantire, con la riproduzione indotta, produzioni consistenti di biomassa larvale tali da giustificare questo tipo di sperimentazione.

In letteratura, inoltre, il materiale informativo relativo alla dieta alimentare delle forme larvali di anguilla risulta essere molto ridotto e fa solitamente riferimento o alle aree atlantiche di riproduzione (Mar dei Sargassi) oppure prendono in considerazione l'anguilla giapponese (*Anguilla japonica*) pesce con caratteristiche differenti rispetto all'anguilla europea.

A livello funzionale, inoltre, le ricerche presentate possono essere di enorme interesse in quanto rispondono pienamente alle direttive europee di salvaguardia di questa specie e rientrano negli obiettivi di tutela della Regione Emilia-Romagna compatibilmente con le esigenze produttive e quindi economiche della vallicoltura estensiva costiera. Nel caso in cui i risultati attesi (la possibilità di fare sviluppare forme larvali di anguilla in aree vallive) fossero confermati, le ricadute applicative sarebbero di enorme importanza sia in ambito protezionistico (programmi di ripopolamento) che nel settore zootecnico (riduzione degli acquisti sul mercato di giovanili selvatici per dare avvio all'allevamento).

Cesenatico, ___/___/_____

*Il Responsabile Scientifico**
Dott. Oliviero Mordenti

BIBLIOGRAFIA CONSULTATA

- Beullens, K., Eding, E.H., Gilson, P., Ollevier, F., Komen, J., Richter, C.J.J., 1997a. Gonadal differentiation, intersexuality and sex ratios of European eel (*Anguilla anguilla* L.) maintained in captivity. *Aquaculture* 135, 150.
- Beullens, K., Eding, E.H., Ollevier, F., Komen, J., Richter, C.J.J., 1997b. Sex differentiation, changes in length, weight and eye size before and after metamorphosis of European eel (*Anguilla anguilla* L.) maintained in captivity. *Aquaculture* 153, 151-162.
- Boëtius, I., Boëtius, J., 1967. Studies in the European eel, *Anguilla anguilla* (L.). Experimental induction of the male sexual cycle, its relation to temperature and other factors. *Medd Danm Fiskeri- og Havunders N S* 4, 339-405.
- Boubée, J.A.T., Williams, E.K., 2006. Downstream passage of silver eels at small hydroelectric facility. *Fish. Manag. and Ecol.* 13, 165-176.
- Casselman, J.M., 2003. Dynamics of resources of American eel, *Anguilla rostrata*: declining abundance in 1990s. In: Aida, K., Tsukamoto, K., Yamauchi, K. (Eds.), *Eel Biology*. Springer-Verlag, Tokyo, pp. 237-254.



- Castonguay, M., Hodson, P.V., Moriarty, C., Drinkwater, K.F., Jessop, B.M., 1994. Is there a role of ocean environment in American and European eel decline. *Fish Oceanogr* 3, 197–20.
- Colombo, G., Grandi, G., 1996. Histological study of the development and sex differentiation of the gonad in the European eel. *J. Fish Biol.* 48, 493-512.
- Cucherousset, J., Paillisson, J.M., Carpentier, A., Thoby, V., Damien, J.P., Eybert, M.C., Feunteun, E., Robinet, T., 2007. Greshwater protected areas: an effective measure to reconcile conservation and exploitation of the threatened European eels (*Anguilla Anguilla*)? *Ecol. of Freshwater Fish*, 1-11.
- Dekker, W., 2003. Status of the European eel stock and fisheries. In: Aida, K., Tsukamoto, K., Yamauchi, K. (Eds.), *Eel Biology*. Springer-Verlag, Tokyo, pp. 237–254.
- Dou, S.Z., Yamada, Y., Okamura, A., Tanaka, S., Shinoda, A., Tsukamoto, K., 2007. Observation on the spawning behavior of artificially matured Japanese eel *Anguilla japonica* in captivity. *Aquaculture* 266, 117–129.
- Dou, S.Z., Yamada, Y., Okamura, A., Tanaka, S., Shinoda, A., Tsukamoto, K., 2008. Temperature influence on the spawning performance of artificially-matured Japanese eel, *Anguilla japonica*, in captivity. *Environ. Biol. Fish* 82, 151–164.
- Dufour, S., Lopez, E., Le Menn, F., Le Belle, N., Baloche, S., Fontaine, Y.A., 1988. Stimulation of gonadotropin release and of ovarian development by the administration of a gonadolibertine agonist and dopamine antagonists, in female silver eel pretreated with estradiol. *Gen. Comp. Endocrinol.* 70, 20–30.
- Durif, C., Gosset, C., Rives, J., Travade, F. & Elie, P., 2003. Behavioral study of downstream migrating eels by radio-telemetry at a small hydroelectric power plant. In *Biology, Management, and Protection of Catadromous Eels* (Dixon, D. A., eds.). Bethesda, MD: American Fisheries Society, Symposium 33, pp. 343–356.
- Durif, C., Dufour, S., Elie, P., 2005. The silvering process of the eel: a new classification from the yellow resident stage to the silver migrating stage. *J. Fish Biol.* 66, 1–19.
- Durif, C.M.F., Dufour, S., Elie, P., 2006. Impact of silvering stage, age, body size and condition on the reproductive potential of the European eel. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 327, 171–181.
- Durif, C., 2003. La migration d'avalaison de l'anguille europe'enne *Anguilla anguilla*: Caract'risation des fractions de'valantes, phe'nome`ne de migration et franchissement d'obstacles. The'se de doctorat, Universite' Paul Sabatier, Toulouse.
- Edel, R.K., 1976. Activity rhythms of maturing American eels (*Anguilla rostrata*). *Mar. Biol.* 36, 283–289.
- EELREP, 2005. Estimation of the reproduction capacity of European eel. Final report. <http://www.fishbiology.net/eelrepsum.html>
- Feunteun, E., 2002. Management and restoration of European eel population (*Anguilla anguilla*): An impossible bargain. *Ecol. Engineering* 18, 575-591.
- Fontaine, M., Bertrand, E., Lopez, E., Callamand, O., 1964. Sur la maturation des organes g'nitaux de l'anguille femelle (*Anguilla anguilla* L.) et l'´mission spontan'ee des oeufs en aquarium. *C R Hebd S'ances Acad Sci* 259, 2907–2910.



- Furuita, H., Hori, K., Suzuki N., Sugita, T., Yamamoto, T., 2007. Effect of n-3 and n-6 fatty acids in broodstock diet on reproduction and fatty acid composition of broodstock and eggs in the Japanese eel *Anguilla japonica*. *Aquaculture* 267, 55-61.
- van Ginneken, V., Haenen, O., Coldenhoff, K., Willemze, R., Antonissen, E., van Tulden, P., Dijkstra, S., Wagenaar, F., van den Thillart, G., 2004. Presence of eel viruses in eel species from various geographic regions. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 24.,268–271.
- van Ginneken, V., Ballieux, B., Coldenhoff, K., Lentjes, E., Antonissen, E., Haenen, O., van den Thillart, G., 2005a. Hematology patterns of migrating European eels and the role of EVEX virus. *Comp Biochem. Physiol C* 140, 97-102.
- van Ginneken, V., Antonissen, E., Muller, U.K., Booms, R., Eding, E., Verreth, J., van den Thillart, G., 2005b. Eel migration to the Sargasso: remarkably high swimming efficiency and low energy costs. *J. Exp. Biol.* 208, 1329–1335.
- van Ginneken, V., Vianen, G., Muusze, B., Palstra, A., Verschoor, L., Lugten, O., Onderwater, M., van Schie, S., Niemantsverdriet, P., van Heeswijk, R., Eding, E., van den Thillart, G., 2005c. Gonad development and spawning behaviour of artificially-matured European eel (*Anguilla anguilla*). *Anim. Biol.* 55, 203–218.
- van Ginneken, V., Maes, G.E., 2005. The European eel (*Anguilla anguilla*, Linnaeus), its lifecycle, evolution and reproduction: a literature review. *Rev. Fish Biol. Fish.* 15, 367–398.
- van Ginneken, V., Durif, C., Balm, S.P., Boot, R., Verstegen, M.W.A., Antonissen, E., van den Thillart, G., 2007. Silvering of European eel (*Anguilla Anguilla* L): seasonal changes of morphological and metabolic parameters. *Anim. Biol.* 57(1), 63–77.
- Grandi, G., Poerio, F., Colombo, G., Chicca, M., 2000. Effects of diet supplementation with carp ovary on gonad differentiation and growth of the European eel. *J. of Fish Biol.* 57, 1505-1525.
- Haenen, O.L.M., 1995. *Anguillicola crassus* (Nematoda, Dracunculoidea) infections of European eel (*Anguilla anguilla*) in the Netherlands: epidemiology, pathogenesis and pathobiology. Ph.D. thesis, Agricultural University Wageningen, pp. 127.
- Kagawa, H., 2003. Artificial induction of oocyte maturation and ovulation. In: Aida, K., Tsukamoto, K., Yamauchi, Y. (Eds.), *Eel Biology* Springer, Tokyo, pp. 401–414.
- Kagawa, H., 2005. Estimation of gonadal status of Japanese female eel *Anguilla japonica* by a single injection of salmon pituitary extract. *Fisheries Science* 71, 1084–1090.
- Kagawa, H., Iinuma, N., Tanaka, H., Ohta, H., Okuzawa, K., 1998. Effects of rearing period in seawater on induced maturation in female Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Fish. Sci.* 64, 77–82.
- Kagawa, H., Tanaka, H., Ohta, H., Unuma, K., Nomura, N., 2005. The first success of glass eel production in the world: basic biology on fish reproduction advances new applied technology in aquaculture. *Fish Physiol. Biochem.* 31, 193–199.
- Kagawa, H., Kasuga, Y., Adachi, J., Nishi, A., Hashimoto, H., Imaizumi, H., Kaji, S., 2009. Effects of continuous administration of human chorionic gonadotropin, salmon pituitary extract, and gonadotropin-releasing hormone using osmotic pumps on induction of sexual maturation in male Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Aquaculture* 296, 117–122.



- Knights, B., 2003. A review of the possible impacts of long-term oceanic and climate changes and fishing mortality on recruitment of anguillid eels of the Northern Hemisphere. *Sci. Total Environ.* 310, 237–244.
- Lokman, P.M., George, K.A.N., Divers, S.L., Algie, M., Young, G., 2007. 11-Ketotestosterone and IGF-I increase the size of previtellogenic oocytes from shortfinned eel, *Anguilla australis*, in vitro. *Reproduction* 133, 955-967.
- Lokman, P.M., Young, G., 2000. Induced spawning and early ontogeny of New Zealand freshwater eels (*Anguilla* spp.). *N.Z. J. Mar. Freshw. Res.* 34, 135–145.
- Murua, H., Saborido-Rey, F., Tomkiewicz, J., King, P., Rideout, R., 2006. Female Reproductive Strategies of Marine Fish Species of the North Atlantic. Abstract of 3rd Workshop of Gonadal Histology of Fishes, 11-12 July, New Orleans.
- Nilsson, L., Nyman, L., Westin, L., Ornhagen, H., 1981. Simulation of the reproductive migration of European eels (*Anguilla anguilla* (L.)) through manipulation of some environmental factors under hydrostatic compression. *Specul. Sci. Technol.* 4, 475–484.
- Ohta, H., Kagawa, H., Tanaka, H., Okuzawa, K., Hirose, K., 1996. Changes in fertilization and hatching rates with time after ovulation induced by 17, 20 β -dihydroxy-4- pregnen-3-one in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Aquaculture* 139, 291–301.
- Ohta, H., Kagawa, H., Tanaka, H., Okuzawa, K., Inuma, N., 1997. Artificial induction of maturation and fertilization in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Fish Physiol. Biochem.* 17, 163–169.
- Okamura, A., Yamada, Y., Mikawa, N., Horie, N., Utoh, T., Kaneko, T., Tanaka, S., Tsukamoto, K., 2009. Growth and survival of leptocephali (*Anguilla japonica*) in low-salinity water. *Aquaculture* 296, 367–372.
- Palstra, A.P., Cohen, E.G.H., Niemantsverdriet, P.R.W., van Ginneken, V.J.T., van den Thillart, G.E.E.J.M., 2005. Artificial maturation and reproduction of European silver eel: development of oocytes during final maturation. *Aquaculture* 249, 533–547.
- Palstra, A., Curiel, D., Fekkes, M., de Bakker, M., Székely, C., van Ginneken, V., van den Thillart, G., 2007. Swimming stimulates oocyte development in European eel (*Anguilla anguilla* L.). *Aquaculture* 270, 321–332.
- Palstra, A., Schnabel, D., Nieveen, M.C., Spaink, H.P., van den Thillart, G.E.E.J.M., 2010. Temporal expression of hepatic estrogen receptor 1, vitellogenin1 and vitellogenin2 in European silver eels. *General and Comparative Endocrinology* 166, 1-11.
- Pedersen, B.H., 2003. Induced sexual maturation of the European eel *Anguilla anguilla* and fertilisation of the eggs. *Aquaculture* 224, 323–338.
- Pedersen, B.H., 2004. Fertilisation of eggs, rate of embryonic development and hatching following induced maturation of the European eel *Anguilla anguilla*. *Aquaculture* 237, 461–473.
- Prokhorchik, G.A., 1986. Postembryonic development of European eel, *Anguilla anguilla*, under experimental conditions. *J. Ichthyol.*, 26, 121-127.
- Riemann, L., Alfredsson H., Hansen M.M., Als T.D., Nielsen T.G., Munk P., Aarestrup K., Maes G.E., Sparholt H., Petersen M.I., Bachler M., Castonguay M., 2010. Qualitative assesment of the diet of European eel larvae in the Sargasso Sea resolved by DNA barcoding. *Biol. Lett.* Published online <http://www.rsbl.royalsocietypublishing.org>.



- Rodriguez, A., Castellò-Orvay, F., Gisbert, E., 2009. Somatic growth, survival, feed utilization and starvation in European elver *Anguilla anguilla* (Linneus) under two different photoperiods. *Aquaculture Research* 40, 551-557.
- Schiavina, M., Melia, P., Casagrandi, R., Bonaventura, L., Gatto, M., 2010. A coupled physical-biological model of european eel larval migration. In Atti Workshop XX Congresso Nazionale Società Italiana Ecologia "Le Scienze Ecologiche Oggi", 27-30 Sept., Rome, 78.
- Sebert, P., Vettier, A., Amérand, A., Moisan, C., 2009. High pressure Resitance and Adaptation of European Eels. *Fish and Fisheries Series* 30(3), 99-127.
- Sorensen, P.W., Winn, H.E., 1984. The induction of maturation and ovulation in American eels, *Anguilla rostrata* (Le Seur), and the relevance of chemical and visual cues to male spawning behaviour. *J. Fish Biol.* 25, 261–268
- Svedäng, H., Wickström, H., 1997. Low fat contents in female silver eels: indications of insufficient energetic stores for migration and gonadal development. *J. Fish Biol.* 50, 475–486.
- Tanaka, H., Kagawa, H., Ohta, H., Unuma, K., Nomura, N., 2003. The first production of glass eel in captivity: fish reproductive physiology facilitates great progress in aquaculture. *Fish Physiol. Biochem.* 28, 493–497.
- Tatsukawa, K., 2003. Eel resources in East Asia. In: Aida, K., Tsukamoto, K., Yamauchi, K. (Eds.), *Eel Biology*. Springer-Verlag, Tokyo, pp. 293–298.
- Unuma, T., Kondo, S., Tanaka, H., Kagawa, H., Nomura, K., Ohta, H., 2004. Determination of the rates of fertilization, hatching and larval survival in the Japanese eel, *Anguilla japonica*, using tissue culture microplates. *Aquaculture*, 241, 345-356.

Cesenatico, ___/___/_____

*Il Responsabile Scientifico**
Dott. Oliviero Mordenti

***Ricercatore presso la Facoltà di Medicina Veterinaria di Bologna – Docente in Acquacoltura presso il Corso di Laurea in Acquacoltura ed Igiene delle Produzioni Ittiche (Cesenatico) - e-mail: oliviero.mordenti@unibo.it - Tel: 0547 – 338944 - Cell: 3397806015**