



La Anguila (*Anguilla anguilla*): Estudio de los principales patógenos en poblaciones salvajes de los ríos de Asturias

ISABEL MÁRQUEZ LLANO-PONTE. Área de Sanidad Animal. Ictiopatología. Centro de Biotecnología Animal. SERIDA-Deva. imarquez@serida.org



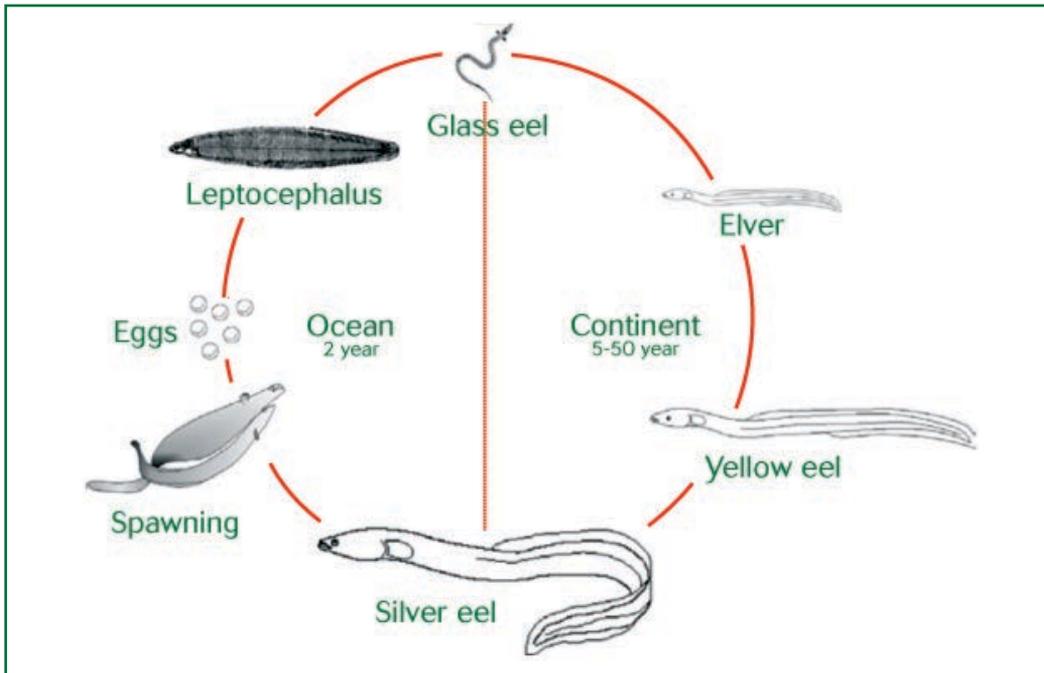
Pesca eléctrica de
anguilas en río.

Antecedentes

La anguila europea (*Anguilla anguilla*) es una especie con un ciclo vital sumamente complicado e interesante (Fig. 1). La mayor parte de su larga vida (se han referenciado ejemplares de más de 40 años de edad) la pasa en aguas continentales de Europa: ríos, lagunas, lagos y distintas masas de agua dulces y salobres. En la última etapa de su vida inicia el viaje de regreso al mar, y migra hacia el mar de los Sargazos a más de 5.900 Km. de las costas europeas (Fig. 2), único punto donde se realiza la reproducción

de la especie. Las pequeñas larvas son arrastradas por la corriente del golfo hacia las costas de Europa, que alcanzan en los meses de invierno. En los estuarios permanece en la forma cristalina conocida como angula y posteriormente coloniza todas las masas de agua dulce posibles incluso a más de 1.000 km. de la costa. Es una especie adaptada a resistir condiciones extremas para un pez, lo que le permite viajar incluso reptando fuera del agua durante algunos periodos de su migración. Pero la fuerte antropización de su hábitat continental ha llevado a esta especie a un alarmante declive de





las poblaciones en los últimos 25 años. El Consejo Internacional para la Exploración del Mar (CIEM) dictaminó ya en 2003 que la población de anguila europea está fuera de los límites biológicos de seguridad y la pesca no se ejercía de forma sostenible. El CIEM recomendó la

elaboración de un plan de recuperación para toda la población de anguila europea de forma urgente.

En el año 2007 el Consejo de la Unión Europea estableció El Reglamento (CE) No 1100/2007 del Consejo de 18 de

←
Figura 1.-Ciclo de vida de la anguila europea.



←
Figura 2.-Ruta migratoria de la Anguila europea (Anguilla anguilla). (Turtle Journal).



septiembre de 2007, para la recuperación de las poblaciones. El objetivo primordial del Plan es reducir la mortalidad antropogénica sobre las poblaciones de anguila de tal forma que, con una alta probabilidad, al menos el 40% de la biomasa de las anguilas maduras (anguila plateada o *Silveteel*) puedan regresar al mar para reproducirse. Se establece así la necesidad de abordar un plan de restauración poblacional con una reducción de la explotación de la anguila que abarca las tres ecofases (anguila, anguila amarilla y anguila plateada) y que debe incluir un plan de restauración de los hábitats.

Además, para implementar este Reglamento, la anguila ha sido incluida en el Apéndice II del CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres), con efectos a fecha de 13 de marzo de 2009.

El Reglamento de la anguila obliga a los Estados Miembros, en cuyo territorio nacional hay cuencas fluviales que constituyen hábitats para las anguilas, a establecer y aplicar planes de gestión para esta especie.

En el año 2009 se establecieron las medidas para la recuperación de la

anguila europea dentro del ámbito de la Comunidad Autónoma del Principado de Asturias. Mediante un "Plan de gestión de la anguila en Asturias", que se viene desarrollando desde el año 2010 y que está cofinanciado en el marco del Fondo Europeo Marítimo y de la Pesca, en la actualidad el Fondo Europeo Marítimo y de la Pesca (FEMP; Reglamento CE nº 508/2014).

Dentro de este Plan, se llevan a cabo medidas tendentes a reducir el esfuerzo pesquero sobre esta especie y reducir los impactos antropogénicos sobre sus poblaciones y su hábitat. En las principales cuencas fluviales, se realizan muestreos periódicos anuales para realizar estudios poblacionales como la densidad y ratio sexual de anguila en los cauces fluviales de Asturias y estimar el porcentaje de anguila plateada que puede retornar al mar para reproducirse en Asturias.

Uno de los factores identificados como responsable del declive de poblaciones de anguila en Europa son las patologías de diversa índole que amenazan a la especie. Por este motivo, el Centro de Experimentación Pesquera del Servicio de Ordenación Pesquera de la Dirección General de Pesca Marítima del Principado, en el año 2015, propuso al Servicio

→
Acuario de
experimentación
SERIDA-DEVA.



Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), la realización de un estudio sobre patógenos y patologías de las anguilas, para lo cual requirió de la colaboración del Laboratorio Autorizado para las enfermedades de los peces del Área de Sanidad Animal del SERIDA.

En el año 2015, se realizó un primer estudio, con el fin de obtener una visión general de la presencia de agentes patógenos de anguilas en los ríos de Asturias, para, en años posteriores, poder profundizar en el estudio de aquellos agentes etiológicos más relevantes.

Planteamiento del estudio

El objetivo del primer año de estudio fue realizar un muestreo general de anguilas en distintos ríos asturianos con el fin de detectar la presencia de diferentes patógenos de anguilas, estableciéndose una serie de criterios. Para la obtención de las muestras, se eligieron los puntos de muestreo más idóneos, los agentes etiológicos (causantes de enfermedad) que se iban a estudiar, y durante el verano y otoño de 2015 se tomaron las muestras y se realizaron los análisis laboratoriales.

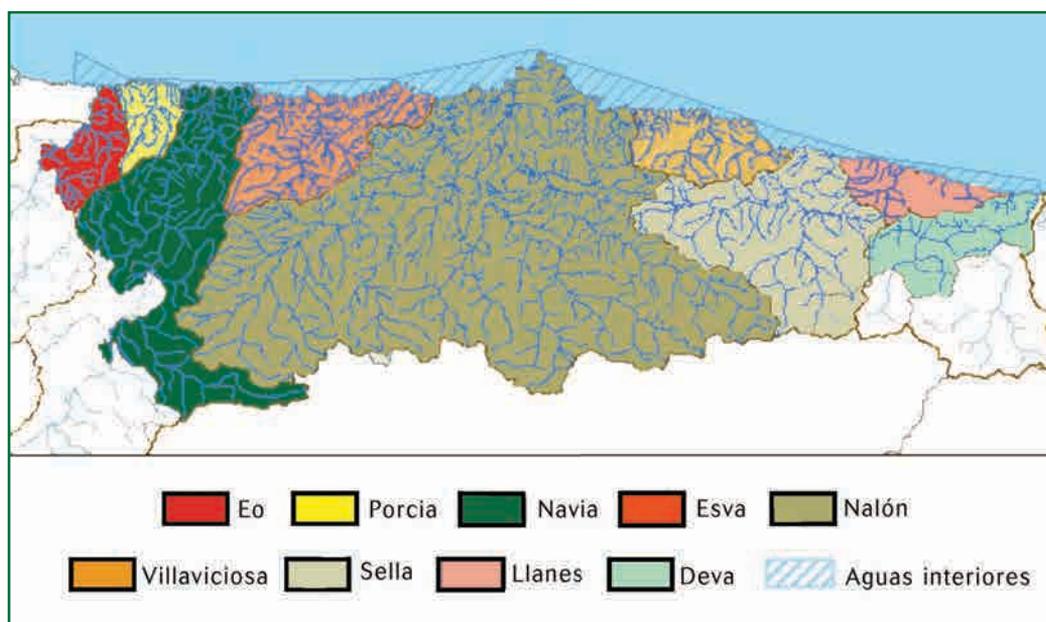
Basándonos en estudios epidemiológicos llevados a cabo en diferentes

zonas de Europa y Norteamérica, establecimos en 10 el número de individuos a analizar en cada punto de muestreo. Para seleccionarlos se revisaron los estudios de poblaciones de anguilas que desde el año 2010 vienen realizándose en la red fluvial asturiana mediante pescas eléctricas (Mortera y Apilánez 2010-2014) dentro del Plan de Gestión de la Anguila en el Principado de Asturias.

Para la gestión de la especie se había definido previamente desde el Servicio de Ordenación Pesquera, la Unidad de Gestión de la Anguila en el Principado de Asturias (UGAPA): zona terrestre y marítima compuesta por el conjunto de cuencas hidrográficas o aguas de transición y costeras asociadas a dichas cuencas. El UGAPA se subdivide en 9 cuencas hidrográficas, 3 de las cuales tienen una gestión dividida con comunidades limítrofes (Fig. 3).

Con el fin de obtener muestras lo más representativas de toda la red fluvial asturiana, se tuvieron en cuenta para la selección, las distintas cuencas fluviales, los tramos de los ríos, la abundancia y el tamaño de las anguilas obtenidos en años anteriores.

Con estos criterios se eligieron para estos primeros muestreos del año 2015, las siguientes cuencas y ríos (Tabla 1).



←
Figura 3.-Unidades de Gestión de la Anguila en el Principado de Asturias (Dirección General de Pesca Marítima).

→
Tabla 1.-Cuencas fluviales y ríos muestreados en 2015.

Cuenca Fluvial	Río
Llanes	Bedón
Sella	Zardón
Nalón	Pigüeña Cubia
Villaviciosa	Linares
Esva	Esva
Eo	Eo

Elección de agentes etiológicos (causales) estudiados

Dado que no todos los patógenos que pueden ser detectados en las anguilas salvajes tienen la misma relevancia, ni económica ni ecológica, se establecieron, mediante una revisión bibliográfica de los principales agentes etiológicos (parásitos, virus y bacterias y hongos) causantes de enfermedades en las anguilas en Europa y la incidencia/importancia de cada uno de ellos en el medio ambiente.

Sin lugar a duda, el parásito *Anguillicola crassus* es el más relevante para las poblaciones de anguilas. *Anguillicola crassus* es considerado como una de las principales causas del dramático descen-

so de las poblaciones de anguila europea (Sures y cols., 2004).

Se trata de un pequeño gusano nemátodo, que parasita anguilas de distintas especies. El anguilicola es un parásito habitual de las anguilas japonesas (*Anguilla japonica*), tanto es así que éstas han desarrollado su sistema inmune para combatir este parasitismo, de manera que las poblaciones de *A. crassus* se mantienen en el sudeste asiático relativamente bajas. El problema en Europa se produjo en los años 80 del siglo XX. Se importaron anguilas japonesas, sin los debidos controles sanitarios, a las primeras piscifactorías de anguilas que se estaban implantando en Centro Europa. El parásito entró en contacto con la especie europea (*Anguilla anguilla*), que no posee ninguna defensa específica contra este parásito. *Anguillicola* tiene un ciclo de vida peculiar, en su última fase se fija a la vejiga natatoria de las anguilas y se alimenta de su sangre produciendo daños hematológicos graves (Benajiba y cols., 1994). Allí maduran los machos y las hembras y se reproducen eclosionando dentro de la vejiga natatoria miles de huevos que migran al aparato digestivo de la anguila y desde allí se liberan al medio ambiente. Inmediatamente los huevos son depredados por pequeños crustáceos (Copépodos)

→
 Vejiga natatoria de anguila con anguillicolas.



que viven en las aguas dulces o salobres y, dentro de ellos, se produce la eclosión de los huevos de *Anguillicola*. Los copépodos “reellenos” de larvas a su vez son depredados por anfibios o reptiles y peces, entre ellos, anguilas, donde se completa el ciclo. Aunque el parásito puede causar daños directamente a las anguilas en la fase de agua dulce, es en la fase migratoria cuando realmente se convierte en un problema para la especie. En estudios recientes se conoció como las anguilas en su largo viaje oceánico descienden hasta 600 metros de profundidad durante el día y suben a superficie durante la noche, estos recorridos en vertical son posibles gracias a la regulación de la presión atmosférica a través de la vejiga natatoria, siempre que esta no esté ocupada por parásitos (Pelster B., 2015).

Las anguilas parasitadas por *Anguillicola* son más susceptibles a la aparición de otras enfermedades infecciosas, que están causando daños adicionales a las poblaciones. En nuestro estudio se eligieron ocho agentes causales de enfermedad que están causando problemas en las poblaciones europeas de anguilas (Tabla 2). Entre los **agentes víricos**, el aquabirnavirus **E** el **virus Europeo (EVE)**, el rhabdovirus **E** el **Virus Europeo X (EVEX)** y el alloherpesvirus **Anguillid herpesvirus 1 (AngHV1)**. Estos tres virus patógenos de la anguila están presentes tanto en poblaciones salvajes como en piscifactorías (Van Beurden, S. J. y cols., 2012), y son causantes de mortalidades, tanto es así que estudios recientes han constado que estos virus pueden desempeñar un papel muy importante en el descenso de las poblaciones salvajes de anguilas (Bandín, I. y cols., 2014). Por otro lado se estudió también la presencia/ausencia del **Rhabdovirus (VHSH)** (López-Vázquez, C. y cols., 2006). Este virus no está relacionado con grandes mortalidades de anguilas europeas, pero las anguilas pueden funcionar como reservorio y dado que la Septicemia Hemorrágica Viral es una enfermedad de crucial importancia económica en la salmicultura y de la cual Asturias mantiene el Estatuto de Zona Libre mediante el *Programa anual obligatorio de control de enfermedades víricas de los animales acuáticos*,



←
Ecografía de anguilas.

fue considerado en este estudio. También decidimos estudiar el **Virus IPNV**, ya que se trata de un birnavirus relativamente frecuente en piscifactorías industriales de salmónidos. En las piscifactorías de Asturias se ha detectado en múltiples ocasiones (I. Márquez y cols., 2014) y puede ser vehiculado por anguilas salvajes (Lee, M. K., 1996).

En cuanto a los **agentes bacterianos**, se han descrito más de una decena de bacterias que pueden causar enfermedad y mortalidades en poblaciones de anguilas, tanto salvajes como de cría en cultivos intensivos en Europa y, que pueden estar directamente relacionadas con el descenso de las poblaciones de anguilas (Pedersen y cols., 1996; E. Alcaide y cols., 2006; Austin y Austin, 2007; Frans I. y cols., 2011, Diamanka y cols., 2013). También pueden jugar un papel como transmisoras de estas enfermedades a otras especies de peces como los salmónidos con los que comparten hábitat. Por su importancia, nosotros elegimos para nuestro estudio: *Edwardsiella tarda*, *Aero-*

→
Tabla 2.-Agentes etiológicos estudiados en *Anguilla anguilla* en 2015.

Agentes víricos	Agentes bacterianos	Agentes parasitarios
Virus European (EVE)	<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Anguillicola crassus</i>
Virus European X (EVEX)	<i>Aeromonas salmonicida</i>	
Herpesvirus 1 (Ang HV1)	<i>Vibrio (Listonella) anguillarum</i>	
Rhabdovirus (VHSH)		
Birnavirus (IPNV)		

monas salmonicida y *Vibrio (Listonella) anguillarum* (Tabla 2).

Toma y procesado de muestras

En cada uno de los puntos de muestra se recogieron 10 anguilas de distintos tamaños y se trasladaron a las instalaciones del acuario del Centro de Biotecnología Animal del SERIDA (Deva-Gijón), donde se mantuvieron en estanques separados con aireación y con una temperatura de agua de 14-16°C, antes de proceder a la necropsia.

Estudios Anatómo-patológicos

Las anguilas se eutanasiaron con una sobredosis de anestésico MS 222 disuelto en agua. Todos los ejemplares fueron identificados con un código. Posteriormente se pesaron, se midieron y se realizó la necropsia, con una inspección detallada y disección de los diferentes órganos. De cada ejemplar se extrajeron

la vejiga natatoria y las branquias para ser examinadas posteriormente mediante lupa binocular. En algunos casos, algunos órganos de algunos de los ejemplares fueron fijados en formol y en líquido de Bouin durante 12 horas a 4°C, para realizar estudios histopatológicos. Estos tejidos se procesaron mediante tinciones de hematoxilina-eosina y Azul de toluidina. Como ensayo preliminar, se estudió la presencia/ausencia de *Anguillicola crassus* mediante la utilización de ecografías. Estos trabajos se llevaron a cabo en el departamento de Anatomía Patológica Veterinaria de la Universidad de Santiago de Compostela (Campus Universitario de Lugo).

Por otra parte, una porción de hígado, riñón, bazo y corazón fueron recogidas por duplicado en tubos estériles de 5cc. y se enviaron a la Unidad de Ictiopatología del Departamento de Enfermedades Infecciosas de la Universidad de Zaragoza y a Alquiz-Vetek para su estudio molecular.

Estudios moleculares

Fueron procesadas un total de 64 muestras de tejidos extraídos de las anguilas (hígado, riñón, bazo y corazón). Las muestras fueron procesadas en "pool" de 3, 4 ó 5 muestras, dependiendo del número total de muestras recogidas en un mismo punto de muestreo. De cada "pool" se extrajeron los ácidos nucleicos de forma independiente (DNA y RNA). Se realizó una PCR múltiple a tiempo Real (Real time Polymerase Chain Reaction) para determinar la presencia o la ausencia de los agentes etiológicos a estudiar.

Para cada agente se diseñaron dos pares de cebadores que tenían como dia-

↓
 Anguilas.





na dos zonas conservadas específicas de cada familia o de un gen específico de especie.

Para los agentes víricos RNA (familias Aquabirnavirus Familia y Rhabdovirus) se procedió de la manera siguiente: del RNA extraído individualmente de los 14 pools obtenidos, se realizó una transcripción inversa con Random Hexamers, para obtener DNA de cadena sencilla de todos los RNA en la muestra. Posteriormente se realizó la PCR a tiempo real para cuantificar los agentes víricos RNA en dos réplicas.

A los agentes DNA (bacterias y el Herpesvirus) al igual que los virus RNA a partir de cDNA obtenidos de transcriptasas inversa previa, se les realizó la PCR a tiempo real con dos réplicas.

Resultados preliminares y discusión

En general, el estado de las poblaciones salvajes de anguila en cuanto a presencia/ausencia de agentes patógenos, en las 6 principales cuencas asturianas es bueno. Los resultados de este trabajo confirman en primer lugar, la ausencia de los principales virus que pueden afectar a las anguilas en las cuencas de ríos asturianas estudiadas. La presencia de estos virus ha sido constatada en muchos ríos de Europa, incluso en la Península Ibérica (Van Beurden, S. J. y cols., 2012; López-Vázquez, C. y cols., 2006; Lee, M. K., 1996). De hecho se trata de agentes patógenos en expansión en todo el mundo (Munro, S. y cols., 2011), relacionados con la disminución de las poblaciones de anguila.

Por otra parte, sólo se ha detectado la presencia de dos agentes patógenos bacterianos: *Edwardsiella tarda* y *Aeromonas salmonicida*, en el 4,3% de las anguilas estudiadas. Aparecieron en los ríos Bedón, Esva y Cubia. En todos los casos las copias de DNA presentes eran muy bajas y los individuos en donde fueron detectados no presentaban ninguna alteración anatómico-patológica característica de enfermedad. Esta presencia es significativamente menor que la detectada en otros estudios en anguilas sal-



←
Estudio microscópico.

vajes de Europa, donde la prevalencia oscila entre el 9 y el 22,8% (Alcaide y cols., 2012). Se puede pensar que estas anguilas actuaron sólo como reservorio-portadores de la enfermedad, no obstante, la presencia de estos agentes patógenos debe de ser tenida en cuenta ya que se ha demostrado que pueden ser causantes de infecciones graves cuando las condiciones ambientales son adversas (Biosca y cols., 1991; Esteve y cols., 1993).

Los datos más relevantes del estudio se refieren a la presencia de *Anguillicola sp.* en los ríos asturianos. Como es conocido desde hace años en los ríos europeos, la infestación producida por este parásito se extiende rápidamente una vez que el nematodo llega al río y se estabiliza en una determinada prevalencia (porcentaje de anguilas infectadas) y de intensidad de la infección (número de parásitos por vejiga natatoria) (Kennedy y cols., 1990; Molnar y cols., 1994, Barus y cols., 1996, Würtz y cols., 1998; Lefebvre y cols., 2002; Audenaert y cols., 1998, Schabuss y cols., 2005).



La presencia de *Anguillicola sp.* se detectó en todos los ríos estudiados excepto en el río Eo. La tasa de prevalencia osciló entre el 10% en el río Esva y el 50% en los ríos Cubia y Bedón. Los ríos Pigüña, el Bedón y el Cubia, superaron un 40% de infestación. Según varios autores (Audeneart y cols., 2003; Shabus y cols., 2005), un río se clasifica como río con población de nematodos estabilizada cuando las anguilas presentes superan un 30% de prevalencia de *Anguillicola sp.* Esto significa que la presencia geográfica de *Anguillicola sp.* está en aumento con lo que ello conlleva.

En un estudio realizado en Asturias en el 2007 (García-Flórez y cols., 2007) de 6 cuencas estudiadas coincidentes con el presente trabajo: Eo, Esva, Nalón, Sella, Bedón, Villaviciosa, aparecieron únicamente como infestadas Nalón, Sella y Villaviciosa. En el presente trabajo aparecen como infestadas las cuencas del Esva, Nalón, Sella, Bedón y Villaviciosa y sólo aparece libre la cuenca del Eo.

En cuanto al grado de infestación la tasa de prevalencia en el estudio de 2007 era alta, por encima del 30% en las cuencas de Villaviciosa y del Nalón. En el presente estudio las más altas se detectan en la cuenca del Nalón y del Bedón.

En cuanto a la intensidad de la infección, en nuestro trabajo sólo aparece elevado en la cuenca del Nalón y en el Bedón, por encima de lo que se considera alta intensidad en otros trabajos (Audeneart y cols. 2003; Aguilar y cols. 2005). De alguna manera esto confirmaría la hipótesis lanzada en el estudio de 2007 en el que se sugería que en la cuenca del Nalón la infección no estaba aún estabilizada sino en fase de expansión (García-Flórez y cols., 2007). Actualmente ya estaría estabilizada.

Conclusiones y recomendaciones:

1- De las inspecciones macroscópicas y microscópicas, se deduce que el estado general de las anguilas es bueno, si se

exceptúa la presencia de *Anguillicola sp.* en las vejigas natatorias.

2- En general, la detección de agentes patógenos de origen bacteriano y viral que pueden afectar a las poblaciones salvajes de anguila fue muy baja, lo que indica que el estado sanitario de esta especie en los ríos asturianos es actualmente bueno.

3- No se detecta la presencia de ninguno de los principales virus patógenos de anguila en ninguna de los ríos estudiados.

4- Se detecta la presencia de los agentes patógenos bacterianos *Edwardsiella tarda* y *Aeromonas salmonicida* en anguilas procedentes de las cuencas del río Nalón, Bedón y Esva. Las bajas concentraciones de DNA de estos patógenos encontradas y el buen estado de las anguilas donde se detectaron sugiere que éstas actuaban como portadoras.

5- Se comprueba la presencia del parásito *Anguillicola crassus* en las cuencas del Nalón, Sella, Villaviciosa, Bedón y Esva. Desde el 2007, año en que se había realizado otro estudio en Asturias de características similares, se constata que este nemátodo afecta a más cuencas, concretamente a la del Bedón y el Esva. En el caso de la Cuenca del Nalón *Anguillicola* ha experimentado una expansión.

6- Dado que se constata que aún existen ríos sin presencia de *Anguillicola crassus* se recomienda evitar los traslados de angulas y anguilas procedentes de cuencas infectadas, a otras que aún pueden estar libres, como la cuenca del Eo, y otros ríos costeros.

7- Se propone profundizar en los estudios de patógenos de anguilas en otros ríos asturianos, por una parte, en ríos costeros de los que aún no se tienen datos y, por otra parte, en zonas altas de las principales cuencas asturianas para tratar de conocer la presencia/ausencia de *Anguillicola crassus* y los distintos grados de infestación (durante el año 2016 hemos continuado los estudios).

8- Dado el éxito de detección mediante ecógrafo de la presencia de *Anguillicola* mediante ecografía sin el sacrificio de los peces, se propone probar la utilidad de esta metodología en algún río con anguilas de gran tamaño para detectar la presencia/ausencia de este parásito.

Agradecimientos

Al Centro de Experimentación Pesquera (CEP) de la Dirección General de Pesca de Asturias: Lucía García Flórez, M^a del Pino Fernández Rueda y Fernando Jiménez. Al equipo de muestreo en los ríos: Hugo Mortera, Ignacio Apilánz y Laureano Prieto. A la Unidad de Ictiopatología del Departamento de Enfermedades Infecciosas de la Universidad de Zaragoza y a la Empresa Alquiz-Vetek. Al Departamento de Anatomía Patológica de la Universidad de Santiago de Compostela (Campus de Lugo) especialmente al Dr. Roberto Bermúdez, y a los operarios de campo del Centro de Biotecnología Animal del SERIDA-Deva.

Referencias bibliográficas

- ALCAIDE, E.; HERRAIZ, S.; ESTEVE, C. (2006). Occurrence of *Edwardsiella tarda* in wild European eels *Anguilla anguilla* from Mediterranean Spain. *Dis Aquat. Organ.* 73(1): 77-81.
- AGUILAR, A.; ÁLVAREZ, M. F.; LEIRO, J. M.; SANMARTÍN, M. L. (2005). Parasite populations of the European eel (*Anguilla anguilla* L.) in the Rivers Ulla and Tea (Galicia). *Aquaculture*, 249, 85-94.
- AUDENAERT, V.; HUUYSE, T.; GOEMANS, G.; BELPAIRE, C.; VOLCKAERT, F. A. M. (2003). Spatiotemporal dynamics of the parasitic nematode *Anguillicola crassus* in Flanders, Belgium. *Diseases of Aquatic Organisms* 56: 223-233.
- AUSTIN, B.; AUSTIN, D. D. A. (2007). *Bacterial fish pathogens: diseases of farmed and wild fish*. Springer, Chichester, UK.
- BANDÍN, I.; SOLITO, S.; CUTRÍN, J. M.; LÓPEZ-VÁZQUEZ, C.; OLVEIRA, J. G.; ESTEVE, C.; ALCAIDE, E.; DOPAZO, C. P. (2014). Presence of viruses in wild eels *Anguilla anguilla* L, from the Albufera Lake (Spain). *Journal Fish Diseases* 37(7):597-607.
- BARUS, V.; PROKES, M. (1996). Length-weight relations of uninfected and infected eels (*Anguilla anguilla*) by *Anguillicola crassus* (Nematoda). *Folia Zoologica* 45, 183-189.
- BENAJIBA, M. H.; ROMESTAND, B. (1994). Effect of the swin bladder nematode *Anguillicola crassus* on the haematological parameters on the European eel *Anguilla anguilla* Linnaeus 1758. *Ichthyophysiology Acta*, 17, 91-102.
- BIOSCA, E. G.; AMARO, C.; ESTEVE, C.; ALCAIDE, E.; GARAY, E. (1991). First record of *Vibrio vulnificus* biotype 2 from diseased European eel, *Anguilla anguilla* L. *J. Fish Dis* 14:103-109.
- DIAMANKA, A.; LOCH, T. P.; CIPRIANO, R. C.; FAISAL, M. (2013). Polyphasic characterization of *Aeromonas salmonicida* isolates recovered from salmonid and non-salmonid fish. *Journal of Fish Diseases*. 36, 949-963.
- ESTEVE, C.; BIOSCA, E.G.; AMARO, C. (1993). Virulence of *Aeromonas hydrophila* and some other bacteria isolated from European eels *Anguilla anguilla* reared in freshwater. *Dis. Aquat. Org* 16:15-20.
- FRANS I.; MICHIELS, C. W.; BOSSIER, P.; WILLEMS, K. A.; LIEVENS, B.; REDIER, H. (2011). *Vibrio* pathogen: virulence factors, diagnosis and prevention. *Journal of Fish Diseases*. 34 (9), 643-61.
- GARCÍA-FLOREZ, L.; FERNÁNDEZ-RUEDA, M. P.; MÁRQUEZ, I. (2007). Informe sobre la presencia del Nematodo *Anguillicola crassus*, parásito de la anguilla (*Anguilla anguilla*) en los ríos asturianos. Informe de la Dirección General de Pesca de Asturias. No publicado.
- KENNEDY, C. R.; FITCH, D. J. (1990). Colonization, larval survival and epidemiology of the nematode *Anguillicola crassus* parasitic in the eel, *Anguilla anguilla*, in Britain. *Journal of Fish Biology*, 36, 117-131.
- LÓPEZ-VÁZQUEZ, C.; RAYNARD, R.S.; BAIN, N.; SNOW, M.; BANDÍN, I.; DOPAZO, C. P. (2006). Genotyping of marine viral haemorrhagic septicaemia virus isolated from the Flemish Cap by nucleotide sequence analysis and restriction fragment length polymorphism patterns. *Diseases Aquatic Organism* 73(1):23-31.
- LEE MK1; BLAKE, S. L.; SINGER, J. T.; NICHOLSON, B. L. (1996). Genomic variation of aquatic birnaviruses analyzed with restriction fragment length polymorphisms. *Appl. Environ. Microbiol* 62(7):2513-20.
- LEFEBVRE, F.; CONTOURNET, P.; PRIOUR, F.; SOULAS, O.; CRIVELLI, A. J. (2002). Spatial and temporal variation in *Anguillicola crassus* counts: results of a 4 years survey of eels in Mediterranean lagoons. *Disease of Aquatic Organisms* 50: 181-188.
- MÁRQUEZ, I. (2009) Evolución histórica de las principales patologías asociadas a la sal-

monicultura en el Principado de Asturias. Tesis Doctoral.

MÁRQUEZ, I.; GARCÍA-VÁZQUEZ, E.; BORRELL, Y. J. (2014) Possible effects of vaccination and environmental changes on the presence of disease in northern Spanish fish farms. *Aquaculture* 431: 118-123.

MUNRO, E. S.; STEWART, K. J.; MURRAY, W. J. AND HAENEN (2011). Characterization of a virus isolated from farmed European eel elvers (*Anguilla anguilla*) undergoing a mortality event in The Netherlands. Oral Presentation O-140. 15 th International Conference on Diseases of Fish and Shellfish, Split, Croatia.

MOLNAR, K.; SZEKELY, C.; PERENYI, M. (1994) Dynamics of *Anguillicola crassus* (Nematoda, Dracunculoidea) infection in eels of I Lake Balaton. *Folia Parasitologica* 41, 193-199.

PAGGI, L.; ORECCHIA, P.; MINERVINI, R.; MATTIUCCI, S. (1982). Sulla comparsa di *anguillicola australiensis* Johnston e Mawson, 1940 (Dracunculoidea: Anguillicolidae) in *Anguilla anguilla* del Lago di Bracciano. *Parassitologia* 24: 139-144.

PEDERSEN, K.; LARSEN, J. L. (1996). First report on outbreak of furunculosis in turbot *Scophthalmus maximus* cause by *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* in

Denmark. *Bulletin of European Association of Fish Pathologists*. 16: 129-133.

PELSTER, B. Swimbladder function and the spawning migration of the European eel *Anguilla anguilla* *Front Physiol.* 2015; 5: 486.

SURES, B.; KNOFF, K. (2004). Parasites as a threat to freshwater eels? *Science*, 304: 209-2011.

SCHABUSS, M.; KENNEDY, CR.; KONECNY, R.; GRILLISCH, B.; RECKENDORFER, W.; SCHIEMER, F.; HERZIG, A. (2005). Dynamics and predicted decline of *Anguillicola crassus* infection in European eels, *Anguilla anguilla*, in Neusiedler See, Austria. *Journal of Helminthology* 79: 159-167.

VAN BEURDEN SJ1; ENGELSMA, M. Y.; ROOZENBURG, I.; VOORBERGEN-LAARMAN, M. A.; VAN TULDEN, P. W.; KERKHOFF, S.; VAN NIEUWSTADT, A. P.; DAVIDSE, A.; HAENEN, O. L. (2012). Viral diseases of wild and farmed European eel *Anguilla anguilla* with particular reference to the Netherlands. *Dis Aquatic Organism*. 10;101(1):69-86.

WÜRTZ, J.; KNOFF, K.; TARASCHEWSKI, H. (1998). Distribution and prevalence of *Anguillicola crassus* (Nematoda) in eels *Anguilla anguilla* of the rivers Rhine and Naab, Germany. *Disease of Aquatic Organisms* 32: 137-143. ■

→
Muestreo de anguilas en el río.

