

Functional morphology of the feeding apparatus in first feeding larvae of the European eel (*Anguilla anguilla*, Linnaeus 1758): getting ready towards feeding!

Boulliart Mathias

Evolutionary Morphology of Invertebrates, Dept of Biology, University of Ghent
E-mail: mathias.boulliart@ugent.be

De Europese paling (*Anguilla anguilla* Linnaeus 1758; Actinopterygii, Anguillidae) is een catadrome vissoort wiens broedgebied gelegen is in de Sargasso Zee op ongeveer 5500km van de Europese kustlijn. Net zoals alle elpomorfe vissen, wordt deze soort gekenmerkt door het unieke leptocephalus larvale stadium dat kan worden herkend aan het transparante, lateraal samengedrukte, bladachtige lichaam voorzien van een relatief beperkt aantal lange, naar voren gerichte tanden. Van zodra deze eigenaardige larven de Europese kustlijn naderen metamorfoserend ze echter in glasalen om vervolgens verder te transformeren naar gele paling in de zoetwaterlopen van Europa. Uiteindelijk verlaten de adulte organismen als zilverpaling de rivieren om eenmalig terug te keren naar hun broedgebied.

De laatste vier decennia werden de natuurlijke populaties van deze soort op mysterieuze wijze gereduceerd tot slechts 1% van het oorspronkelijke totaal. Deze drastische vermindering heeft er in 2007 voor gezorgd dat de soort werd opgenomen in de CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Fauna and Flora) soortendatabank als een 'nog niet met uitsterven bedreigde diersoort, maar met strikte regels omtrent internationale handel'. Daarenboven heeft dit reducerende aantal, samen met het economische (handel en consumptie) en ecologische belang van deze soort, er in 2010 eveneens voor gezorgd dat een artificieel kweekprogramma (FP7 Pro-Eel project) van start is gegaan. Dit project heeft het uiteindelijke doel paling op een volledig artificiële manier te bekomen waardoor de natuurlijke populaties (deels) worden ontlast en herstel mogelijk wordt. Jammer genoeg stagneert het huidige kweekprogramma na het uitkomen van de artificieel opgekweekte preleptocephalus larven, aangezien wetenschappers er heden niet in slagen deze larven voor langer dan gemiddeld drie weken in leven te houden. Dit laatste impliceert dat het artificiële voedsel dat aan de larven wordt voorgeschoteld na het volledig absorberen van hun eigen dooiermateriaal duidelijk nog voor verbetering vatbaar is.

Met het oog op deze verbetering en de uitbreiding van de kennis omtrent de manier waarop exogeen voedende palinglarven met inert voedsel omgaan, wordt een onderzoek ingesteld naar de functionaliteit van hun voedselopname-apparaat. Hiertoe wordt specifieke aandacht besteed aan het 15 dagen postfertilisatie stadium vanwege de vergevorderde craniale ontwikkeling en de recente afwezigheid van dooiermateriaal in deze larven. De drie belangrijkste onderdelen van het voedingsmechanisme (de kaakmorfologie, de aanhechtingen van de spieren en de tanden) worden hierbij nauwkeurig onderzocht met als doel de hypothese te toetsen dat deze larven, anatomisch gezien, enkel in staat zijn om zich met kleine, zachte partikels te voeden. Aangezien de beperkte grootte van deze organismen (<1cm) het rechtstreeks observeren en opnemen van metingen bemoeilijkt, is een specifiekere aanpak nodig waarbij aan de hand van een computer-gegenereerde 3D reconstructie (Amira 5.4.1), gebaseerd op een serie histologische secties (= 1µm dik), data worden verzameld. Relevante parameters van deze reconstructie (omtrek posities van gewrichten, oriëntaties van spieren en aanwezige hefboomen) worden vervolgens ingevuld in een statisch bijtmodel om informatie te verkrijgen omtrent de grootte (en oriëntatie) van de gegenereerde bijtkrachten. De uitgerekenen bijtkrachten geven vervolgens een idee van hoe hard/zacht voedselpartikels mogen zijn om ze te kunnen bijten in zowel de natuur als in artificiële condities.

Om de onderzoekshypothese te ondersteunen met data omtrent bewegingen, snelheden en versnellingen van de betrokken kaakelementen werd initieel een kinematische analyse van video-opnames van *in vivo* larven toegevoegd aan het onderzoek. Door de lage hoeveelheid frames per seconde (± 12 fps) en de additionele, onverklaarbare wijzigingen in het aantal fps tussen opeenvolgende momenten in de opgenomen filmpjes wordt de bijdrage van deze analyse echter geminimaliseerd tot (1) het identificeren van de belangrijkste bijdragers tot het bewegen van de onderkaak en (2) de bewegingsvolgorde.

Op basis van deze verkennende kinematische analyse worden slechts twee kraakbenige elementen voorgedragen als grote betrokkenen in de beweging van de onderkaak; namelijk het kraakbeen van Meckel (= onderkaak) en het ceratohyale van de hyoidboog. Een koppeling van deze bevindingen aan de anatomische details verkregen uit de driedimensionale reconstructie, doet een hyoid-mondopeningsmechanisme herkennen binnen deze larven. Dit mechanisme houdt in dat de hyoidboog

zich eerst posteroventraal verplaatst door de contractie van de, aan de pectorale gordel verankerde, musculus sternohyoideus, waarna door toedoen van een mandibulo-hyoid ligament tussen het caudale uiteinde van de ceratohyale en de processus retroarticularis aan het caudale uiteinde van het kraakbeen van Meckel een gelijke posteroventrale verplaatsing van deze laatste wordt bekomen. Hierdoor wordt de onderkaak dus geopend door toedoen van de verplaatsing van de hyoidboog. De verplaatsing van de hyoidboog resulteert eveneens in een verschuiving van de werklijn van de musculus protractor hyoidei. Deze lange smalle spier die de voorste tip van de onderkaak verbindt met de voorste punt van de hyoidboog verschuift namelijk mee met de hyoidboog, waardoor de spier, die initieel boven het kaakgewricht gelegen is, nu ventraal verplaatst wordt ten opzichte van het gewricht. Hierdoor kan de protractor hyoidei actief bijdragen aan het kaak openingsmechanisme tijdens contractie, maar of ze dit ook werkelijk doet (waardoor het mechanisme dus musculair zou worden ondersteund) kan op basis van de kinematische analyse helaas niet duidelijk worden afgeleid.

Na het maximaal openen van de onderkaak (over een hoek van 15 tot 20°) zorgt de musculus adductor mandibulae, een van de meest krachtige spieren aanwezig in het organisme, voor het sluiten van de mond. Tijdens deze actie worden bijtkrachten gegenereerd waarvan de grootte, volgens het overeenkomstige bijtmodel, ongeveer een tiental μN bedraagt en afneemt met een toenemende afstand van het kaakgewricht. In ieder onderzocht bijtpunt is de reactiekracht het kleinst wanneer deze loodrecht op de onderkaak is gepositioneerd. Elke afwijking van deze loodrechte oriëntatie, zowel naar voor als naar achter toe, resulteert in een toename van de bijtkracht in beide richtingen. De geassocieerde kaakgewrichtskrachten hebben eveneens dezelfde grootteorde als de bijtkrachten. De reactiekracht in het kaakgewricht is het kleinst voor de anterior georiënteerde bijt-reactie-krachten en neemt toe naarmate de oriëntatie van de bijt-reactie-kracht naar achteren wordt verplaatst. Uit deze kleine bijt- (en kaakgewricht-) krachten kan worden afgeleid dat de voedselpartikels eerder zacht moeten zijn, een conclusie die in lijn is met onze onderzoekshypothese. Bovendien hebben recente analyses van het dieet van de *Anguilla* larven uitgewezen dat meer dan 95% van hun dieet bestaat uit Hydrozoa, Thaliacea, Ctenophora en koloniale vormen van Polycystenia. Aangezien deze organismen gelatineus van structuur zijn, of op zijn minst omgeven zijn door een gelatineuze matrix, voldoen ze helemaal aan het 'zachte voedsel' criterium opgelegd door onze resultaten van het bijtmodel.

De functie van de tanden blijft echter nog steeds een mysterie. De aanwezige tanden zijn lang (tussen de 430 en de 155 μm), naar voren gericht (met een hoek van ongeveer 20° tussen de tanden en het onderliggende been), naaldachtig en steken meer en meer lateraal uit de mondholte wanneer ze dichter tegen het kaakgewricht zijn gelokaliseerd. Deze gegevens, in combinatie met de afwezigheid van enige vorm van tandverstevingingen ter hoogte van hun bevestigingsplaatsen op het been, suggereren dat de tanden eerder zouden worden verplaatst, of zelfs afbreken, indien er een kracht op wordt uitgeoefend, waardoor hun rol in het effectief bijten van prooien in vraag kan worden getrokken. Zowel het eerste dentale paar tanden, alhoewel hier de kleinste bijtkrachten worden verwacht (tussen 30 en 90 μN), als de praemaxillaire tanden spelen blijkbaar een belangrijkere rol gedurende het bijten dan de overige tanden door het vormen van een tangetje aan het uiteinde van de mond. Kijkend naar de bijbehorende anatomische kenmerken van deze tanden, wordt het duidelijk dat beide paren een contra-intuïtieve bevestigingsplaats hebben. De praemaxillaire tanden staan bevestigd op de dorsale zijde van de rostrum, terwijl de ventraal gebogen dentale tanden ventraal bevestigd zijn aan de onderkaak. In hoeverre deze eigenaardige bevestigingsplaatsen een toename van de bijtkracht en/of een verbeterde resistentie tegen rotatiekrachten veroorzaken moet echter nog worden onderzocht.

Op basis van dit onderzoek en de beschikbare literatuur kan de volgende, plausibele, hypothese omtrent de voedingswijze van de Europese palinglarve worden geformuleerd. Daar waar de voorste tanden (het tangetje) worden gebruikt voor het grijpen van/naar prooien, worden de achterste tanden gebruikt voor het vasthouden/gevangenhouden van prooien aangezien hun eigenaardige positie het contactgebied met voedselpartikels vergroot. Hierdoor hebben deze larven echter wel de mogelijkheid om met meer glibberige prooien om te gaan. Opnieuw is dit in lijn met het gelatineuze karakter (lees: zacht, maar glibberig) van de heden in de natuur teruggevonden preferentiële prooi items van deze soort.