

Op weg naar een natuurlijke(r) voortplanting van de Europese aal

Tekst: Guido van den Thillart

Illustraties: Bram Bokkers,

Edgar Donkervliet en

Universiteit Leiden

Al meer dan 60 jaar zijn onderzoekers bezig om de aal kunstmatig tot reproductie te brengen. Onderzoek dat steeds belangrijker wordt, gezien de deplorabele toestand waarin de aal wereldwijd verkeert. Ook in Nederland wordt wetenschappelijk onderzoek verricht naar de voortplanting van de aal. Baanbrekend onderzoek waarbij het implanteren van hormoonproducerende cellen een hoofdrol speelt.

In 1976 lukte het in Japan voor het eerst om aallarven te produceren. Het grote probleem was echter om het broed in leven te houden. De eerste larfjes stierven al binnen enkele dagen, nog voordat ze begonnen te eten. Na meer dan 30 jaar onderzoek sterven de larfjes van de Japanse aal nog altijd zeer snel. Slechts enkele van de miljoenen exemplaren blijven in leven. Desondanks is het in Japan al wel gelukt om een aantal van die larfjes te laten doorgroeien tot rode (volwassen) aal. De hoge mortaliteit wijst echter op een slechte kwaliteit eitjes en sperma.

Tegenwoordig verschillen de methoden voor kunstmatige reproductie niet bijster veel van die van 60 jaar geleden, toen Fontaine in Parijs de eerste experimenten op dit gebied deed. Nog altijd worden schieralen gedurende een vrij lange periode met hormoonpreparaten ingespoten. De wetenschappelijke basis van deze hormonale behandelingen is echter zeer beperkt. Het is duidelijk dat een nieuwe benadering nodig is, maar het grote probleem blijft het gebrek aan kennis over de natuurlijke situatie in de Sargassozee, waar de Europese aal zich van nature voortplant.

Nieuwe aanpak

De Universiteit Leiden is circa tien jaar geleden gestart met een aanpak waarbij de schieralen via natuurlijke weg

tot geslachtsrijping worden gestimuleerd. Kern van dit onderzoek is het nabootsen van de migratie naar de Sargassozee. Het simuleren van langdurig zwemmen heeft inmiddels aangetoond dat geslachtsrijping inderdaad door langdurig zwemmen op gang wordt gebracht. Daar de rijping niet volledig doorzet, zijn nog meer prikkels van belang. Daarbij wordt gedacht aan de temperatuursprong van oceaan naar Sargassowater. Recentelijk is naast langdurig zwemmen een tweede techniek ontwikkeld, waarbij de stress van het injecteren wordt vermeden met behulp van hormoonproducerende implantaten.

Merkwaardige reproductiestrategie

Vanwege de extreme situaties waarin de aal kan (over)leven, maar vooral door zijn merkwaardige reproductiestrategie boeit de aal ons al eeuwenlang. De huidige kennis wijst erop dat deze vissoort slechts eenmaal in haar leven omschakelt naar reproductie. De dieren worden dan schier, wat aan de buitenkant te zien is aan een vergroting van de ogen, verandering van kleur en vergroting van de pectoraal vinnen. Een andere opvallende verandering is de sterke drang die de aal ontwikkelt om richting zee te zwemmen. Ook inwendig verandert de paling in deze fase spectaculair. Zo neemt het gewicht

van het maag-darmstelsel extreem af, terwijl het gonadegewicht juist enorm toeneemt. Verder treden er sterke veranderingen op in de hormoonniveaus.

Schieraal is, in tegenstelling tot de rode aal, gevoelig voor behandeling met geslachtshormonen. Toch blijkt het niet eenvoudig om een aal volledig te laten afrijpen. Zo duurt het al gauw drie tot zes maanden voordat een vrouwtjesaal tot volledige maturatie komt en de geovuleerde eieren kunnen worden gestript. Bij mannelijke schieraal gaat dit sneller, maar neemt het toch nog altijd zes weken in beslag voordat de spermaproductie op gang komt. Vervolgens duurt het dan nog twee maanden voordat er geschikt sperma kan worden verkregen. Om de dieren zover te krijgen, moeten vrouwtjesalen wekelijks worden ingespoten met een hypofyseextract. Bij de mannetjes dient hCG (humaan chorion gonadotropine) te worden toegediend.

Biologen hebben zich al vaak afgevraagd waarom alen zo moeilijk tot reproductie gebracht kunnen worden. Er zijn hiervoor twee verklaringen die elkaar aanvullen: een evolutionaire en een mechanistische. De evolutionaire verklaring is intuïtief goed te begrijpen, maar daarentegen niet eenvoudig te bewijzen. De aal zwemt al milje-



De aal boeit de mens al eeuwenlang.

nen jaren naar de paaiplaatsen in de Sargassozee. Deze ligt op een afstand van 5000 tot 6000 km van de Europese kust. Het overzwemmen van de Atlantische Oceaan kost daarom niet alleen veel energie, maar ook veel tijd. Het is dus goed denkbaar dat het voor het dier weinig zinvol is om voor vertrek de gonaden al volledig te laten ontwikkelen. De rijping van de gonaden kost immers vrij veel energie. Daarbij zitten de gonaden ook nog eens behoorlijk in de weg bij het zwemmen.

De geslachtsrijping zorgt bij een vrouwtjesaal normaal gesproken voor

een gewichtstoename van maar liefst 100 procent. Voor vrouwtjesalen is het daarom energetisch een stuk voordeliger om eerst te zwemmen en daarna pas af te rijpen.

Om dit onderdeel te begrijpen is in Leiden gekeken naar de energiebehoefte die het zwemmen vraagt. De vraag

hoeveel energie (oftewel gram vet) het vergt om naar de andere kant van de oceaan te zwemmen, stond daarbij centraal. Een heel belangrijke vraag, want dit getal bepaalt hoeveel vet het dier minimaal mee moet nemen op zijn tocht.

Tot in de jaren '60 van de vorige eeuw waren er zelfs wetenschappers die

Een aal van 1 kilo bestaat voor circa 200 gram uit vet. Daarvan is ongeveer 60 gram nodig om naar de overkant van de oceaan te zwemmen.

beweerden dat de Europese aal niet in staat was om naar de andere kant van de Atlantische Oceaan te zwemmen. Dit werd evenwel weerlegd op grond van genetische markers. De vraag hoeveel vet een aal moet hebben om deze tocht af te leggen, werd hiermee echter niet beantwoord. De kwestie werd zelfs

nog ingewikkelder vanwege de beweringen van diverse biomechanici dat de zwembewegingen van de aal bijzonder inefficiënt zouden zijn. De zwemproeven die in Leiden zijn uitgevoerd, hebben onomstotelijk aangetoond dat alen, in tegenstelling tot andere vissoorten, bijzonder efficiënte zwemmers zijn. Alen zwemmen eenzelfde afstand voor

slechts 20 procent van de energie die zalmen en forellen hiervoor nodig hebben. Een aal van 1 kilo bestaat voor circa 200 gram uit vet. Daarvan is ongeveer 60 gram nodig om naar de overkant van de oceaan te zwemmen.

Indien de aal dezelfde efficiëntie zou hebben als een forel, dan zou dus 300 gram vet per kilo lichaamsgewicht nodig zijn. In dat geval zouden ze de overtocht niet eens kunnen volbrengen.

Het moge duidelijk zijn dat alen die efficiënter zwemmen, meer energie

in de vorm van vet en eiwitten overhouden voor reproductie. Dus alen die pas in de Sargassozee afrijpen, hebben minder energie verbruikt voor de oversteek en hebben daardoor een grotere kans om hun genen over te dragen aan de volgende generatie. Alen met een uitgestelde maturatie worden dus via natuurlijke weg geselecteerd.

Voor het mechanisme van de uitgestelde maturatie is recent een plausible verklaring naar voren gebracht. Arbeid heeft een sterk effect op de hormoonbalans – bij mensen kan overmatig veel sporten zelfs leiden tot (tijdelijke) onvruchtbaarheid. Dit komt omdat via de hersenen zowel remmende als stimulerende zenuwen naar de hormoonregelcentra hypothalamus en hypofyse lopen. Bij vissen blijkt dit mechanisme niet heel veel anders in elkaar te steken dan bij zoogdieren en mensen. Het is dan ook goed voor te stellen dat de zeer lange zwemperiode van palingen invloed heeft op de natuurlijke geslachtsrijping, met name indien daarmee de rem op de reproductie wegvalt. Diverse zwemproeven hebben al aangetoond dat de eitjes-inaanleg (oocyten) van vrouwelijke schieraalen zich tijdens het zwemmen verder ontwikkelen, terwijl in rust regressie optreedt. Recentelijk is ook vastgesteld dat bij mannetjes een periode van drie maanden zwemmen een nog veel sterker effect heeft op de geslachtsrijping. Het is bekend dat het hormoon cortisol een ontremmende werking heeft op de productie van geslachtshormonen, ook is bekend dat cortisol aangemaakt wordt tijdens zwemmen. Het is dus waarschijnlijk dat zwemmen via dit mechanisme de maturatie geleidelijk op gang brengt.

Dat omgevingsfactoren een groot effect hebben op de voortplanting van vissen, is bekend. Zo is voor de paai van karpers in het voorjaar een snelle temperatuurstijging (met name in ondiep water) een absolute voorwaarde voor reproductie. Dit betekent dus dat de karper is voorgeprogrammeerd. In de kwekerij wordt daar nuttig gebruik van gemaakt. Het is dus goed mogelijk dat een dergelijke

programmering ook bestaat bij de aal, maar dan met betrekking tot de langdurige zwemarheid. Er bestaat hierover echter nog veel onduidelijkheid, omdat het nog steeds niet is gelukt om aal te vangen in de Atlantische oceaan. Om te weten te komen wat er tijdens de reis gebeurt, is het nog steeds onze enige optie om deze reis na te bootsen in het laboratorium.

Hormonale beïnvloeding

Het is kenmerkend voor alle aalsoorten dat zij hun paaiplaatsen ver op de oceaan hebben. Voor zover we weten is die van de Europese aal met circa 6000 kilometer wel de meest ver weg gelegen bestemming. De lange migratie in combinatie met het feit dat reproductie eenmalig is, vormt waarschijnlijk de oorzaak van de sterke onderdrukking van de reproductie. De onderdrukking op het niveau van de hersenen is recentelijk door een onderzoeksgroep uit Parijs aangetoond. Zoals bij alle gewervelden wordt de rijping bij de paling gecontroleerd door de hypothalamus. Dit gebeurt door de afgifte van het hormoon GnRH (gonadotropin releasing hormone), dat de hypofyse stimuleert. GnRH wordt veel gebruikt in viskwekerijen om de eindfase van de reproductie op gang te brengen. GnRH heeft echter geen effect bij de schieraal. Voor het geslachtsrijp maken van de aal is daarom een langdurige behandeling met hypofysehormonen nodig. Het wekelijks injecteren veroorzaakt echter veel stress. Dit heeft mogelijk weer een negatief effect op de rijping.

Deze overweging is voor de Universiteit Leiden aanleiding geweest een geheel nieuwe wijze van hormonale beïnvloeding te ontwikkelen: implantaten die bestaan uit hormoonproducerende cellen. In samenwerking met de onderzoeksgroep Moleculaire Celbiologie van professor Herman Spaink, hebben we embryonale cellijnen kunnen maken die zelfs soortspecifieke hormonen kunnen produceren.

Het effect van cel-implantaten met cellen die FSH (follikelstimulerend hormoon) produceren is getoond rechts bovenaan pagina 11. Er werden genen

voor de aanmaak van FSH ingeplant in embryonale cellijnen. De grote voordelen van het gebruik van dit soort cellijnen, die maar een korte tijd kunnen overleven in de gastheer of -vrouw, zijn dat zij geen bedreiging vormen voor het milieu en niet worden afgestoten. Tijdens de testen wordt er gebruik gemaakt van cellijnen die herkenbaar zijn door een fluorescent eiwit en een enzym dat ze blauw kleurt. Van de cellen is nu ook vastgesteld dat ze een effect hebben op de geslachtsrijping.

Verwacht wordt dat op korte termijn de huidige (omslachtige en stressvolle) methode kan worden vervangen door implantaten. In combinatie met natuurlijke prikkels zoals zwembewegingen, wordt er vanuit gegaan dat eieren en sperma van een betere kwaliteit zullen zijn en dat zo de hoge mortaliteit van de aallarvjes voorkomen kan worden. Om zwemmen als conditionering mogelijk te maken, is een grote zwembak gebouwd. Daarmee kunnen grote groepen dieren op een natuurlijke wijze worden gestimuleerd. We verwachten dat combinaties van zwemmen met implantaten in de nabije toekomst zullen resulteren in een meer natuurlijke reproductie en dus een (veel) grotere kans op een succesvolle voortplanting in gevangenschap. **V**

Over de auteur

Dr. Guido van den Thillart is universitair hoofddocent in Leiden en gespecialiseerd in



visfysiologie, met name in de energiehuishouding. Daarbij is dr. Van den Thillart coördinator van een recent opgerichte werkgroep voor reproductie van de Europese aal (onder de paraplu van de European Aquaculture Society) en co-editor van een boek over de maturatie van de Europese aal (Springer 2008).

Nederlands aalonderzoek

Het aalonderzoek in Leiden wordt mogelijk gemaakt via diverse Europese subsidies. De Universiteit Leiden werkt hierbij samen met acht Europese onderzoeksgroepen. In het kader van het palingonderzoek zijn onder leiding van Guido van den Thillart in 2006 twee AIO's gepromoveerd: dr. Vincent van Ginneken en dr. Arjan Palstra.

Geraadpleegde literatuur

- Palstra A, Curriel D, Fekkes M, de Bakker M, Székely C, van Ginneken V, van den Thillart G (2007) Swimming stimulates oocyte development in European eel. *Aquaculture* 270, 321-332
- Palstra A, Cohen E, Niemantsverdriet P, Van Ginneken V, Van den Thillart G (2005). Artificial reproduction of wild European silver eel (*Anguilla anguilla* L.): clues for higher fertility rates from oocyte maturation. *Aquaculture*, 249, 533-547
- Palstra A, Van Ginneken V, Murk A, Van den Thillart G (2006) Are dioxin-like contaminants responsible for the eel (*anguilla anguilla*) drama? *Natuurwissenschaften* 93, 145-148
- Van den Thillart G, Palstra A, Van Ginneken V (2007); Simulated migration of European Silver Eel; swim capacity and cost of transport. *J.Mar.Sci. Technology* 15, 1-16
- Van den Thillart G, Van Ginneken V, Körner F, Heijmans R, van der Linden R, Gluvers A (2004) Endurance swimming of European eel. *J Fish Biology* 65, 312-318
- Van Ginneken V, Durif C, Balm P, Boot R, Versteegen M, Antonissen E, Van Den Thillart G (2007) Silvering of European eel (*Anguilla Anguilla* L.): Seasonal changes of morphological and metabolic parameters. *Animal Biology*, 57, 63-77
- Van Ginneken V, Van den Thillart G (2000). Eel fat stores are enough to reach the Sargasso. *Nature* 403, 156-157.
- Van Ginneken V, Dufour S, Sbaihi M, Balm P, Noorlander K, de Bakker M, Doornbos J, Palstra A, Antonissen E, Mayer I, van den Thillart G. (2007) Does a 5,500-km swim trial stimulate early sexual maturation in the European eel (*Anguilla anguilla* L.)? *Comp Biochem and Physiol A* 147. 1095-1103.
- Van Ginneken V, Vianen G, Muusze B, Verschoor L, Lugten O, Onderwater M, Van Schie S, Niemantsverdriet, P, Van Heeswijk R, Eding E, Van den Thillart G (2005) Gonad development and spawning behavior of artificially matured European eel (*Anguilla anguilla* L.). *Animal Biology*, 55, 203-218
- Van Ginneken V, Antonissen E, Müller U, Booms R, Eding E, Verreth J, van den Thillart G (2005) Eel migration to the Sargasso: remarkably high swimming efficiency and low energy costs. *J.Exp.Biol.* 208, 1329-1335

Hiernaast, van boven naar beneden:

- **Levende embryonale zebravis-cellen met fluorescentie indicatoren gefotografeerd mbv confocale microscopie. De groene achtergrond is een kenmerk van de ZF4 cellijn; de rode stippen tonen aan dat het follikel stimulerend hormoon (FSH) is geproduceerd door de cel. (foto Dehni Schnabel)**
- **De zwemtunnel waarin de experimenten worden uitgevoerd.**
- **Het zwemgedrag wordt op een zo natuurlijke mogelijke wijze gestimuleerd in een grote bak.**

