

Geslachtsdifferentiatie bij paling

door Vincent van Ginneken

Reeds eeuwen vroegen mensen zich af waar de palingen vandaan kwamen omdat nog nooit een geslachtsrijp dier werd gevangen. De Griekse wijsgeer Aristoteles die van 384-322 voor Christus leefde geloofde dat palingen geboren werden uit regenwormen die op hun beurt weer gewoon ontstonden uit modder (Aristoteles 350 AD). Pas deze eeuw zijn er nieuwe inzichten verkregen.

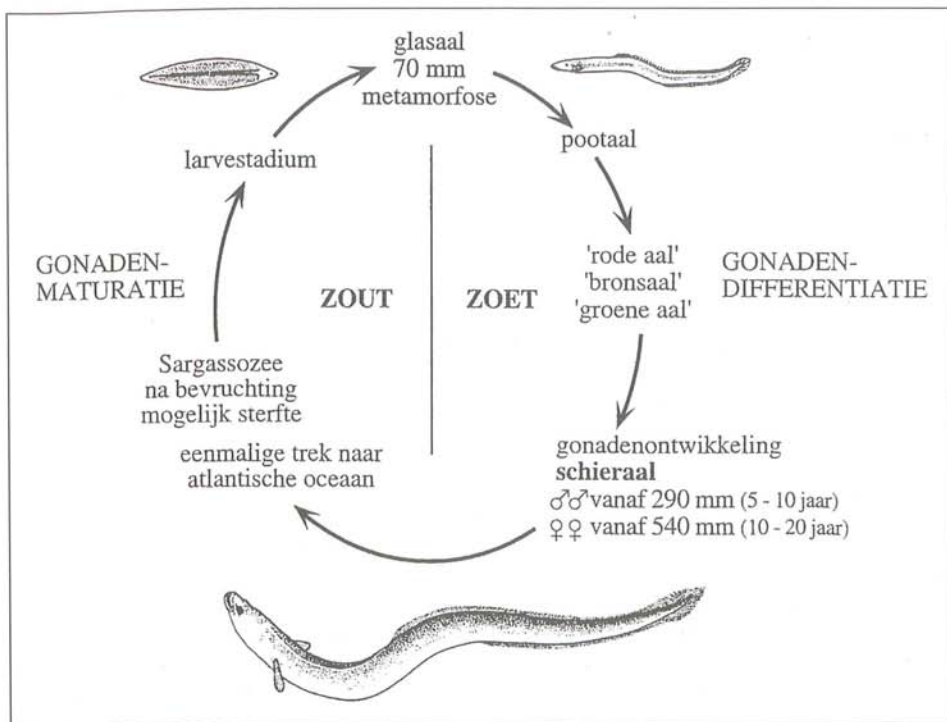
Levenscyclus paling

Het meeste is bekend over de Europese paling, voornamelijk door het werk van de Deense Ichthyoloog Schmidt (1923) die aan het begin van deze eeuw gedurende tientallen jaren via diverse cruises op de Atlantische Oceaan palinglarven bemonsterde. Naarmate hij dichterbij de Sargassozee kwam, een zee 6000 km van het Europese vasteland verwijderd in het Carabisch gebied, ving hij steeds kleinere larven en uiteindelijk ving hij op deze locatie pas uitgekomen leptocephalus larven (=wilgenbladlarven, leptos=dun, cephalus=kop). Sindsdien wordt dit gebied beschouwd als het paaigebied van zowel de Europese (*Anguilla anguilla* Linnaeus) als de Amerikaanse paling (*Anguilla rostrata* LeSueur) hoewel paradoxaal genoeg nog nooit een volwassen migrerende paling in de open Atlantische oceaan of in de Sargassozee is gevangen. De paling kent een ingewikkelde levenscyclus die zich zowel in zoet als zout water afspeelt. De wilgenbladlarven van de Europese paling worden vermoedelijk niet alleen passief met de zee- en rivierstromingen naar de kusten van Europa vervoerd, maar kunnen ook actief zwemmen zodat de transatlantische migratie niet de gedachte 3 jaar maar slechts 1 jaar duurt. Aangekomen voor de kust van Europa ondergaan de larven een transformatie naar glasaal. In maart/

april verschijnen ze in de Noordzee, in juli in de Oostzee. De naam glasaal heeft het diertje verkregen vanwege het transparante uiterlijk en zij krijgen hun pigmentatie als ze de kust en binnenwateren bereiken. Als zij hun volle pigmentatie bereikt hebben worden ze rode paling genoemd hetgeen de juveniele fase inluuidt waarin groei en voeding plaatsvindt. In deze fase die zich in het zoete water afspeelt vindt ook de geslachtsdifferentiatie plaats. De metamorfose van rode aal naar schieraal is de laatste transformatie/metamorfose in de levenscyclus van de paling waarna de lange tocht naar de Sargassozee kan beginnen. Deze fase van geslachtsorgaanafrijping voltrekt zich in het zoute water. Schematisch is in figuur 1 de levenscyclus van de paling weergegeven met beide levensfasen, de geslachtsdifferentiatie in het zoete water en de geslachtsorgaanafrijping in het zoute water.

GSD of ESD?

Tot in de Middeleeuwen was er weinig bekend over de levenscyclus (geslachtsdifferentiatie en maturatie) van paling. Adriaen Coenenzoon schreef in de 16e eeuw in zijn visboek "*Aelen en sijn wijkens noch mannekens ende sij hebben gheen eyeren maer si worden gheboort uten slijm ende vuylich der ander vische*". Mondini beschreef voor het eerst de



♦ fig. 1: Levenscyclus van de paling. De fase van de geslachtsdifferentiatie vindt plaats in het zoete water, de fase van de geslachtsorganenrijping in het zoute water (15).

vrouwelijke geslachtsorganen van paling in 1777 in zijn *Anguillae Ovaris*, terwijl de mannelijke geslachtsorganen een eeuw later werden ontdekt door Syrski (1874).

Uit de aalvisserij is het bekend dat het voorkomen van een bepaald geslacht gerelateerd is aan het type water. Mannetjes komen voornamelijk aan de kust voor in estuaria en lagunes. Karakteristiek voor deze wateren zijn hoge bezettingsdichtheden met aal en een gering voedselaanbod. Vrouwtjes daarentegen worden meer landinwaarts gevonden in zoete wateren met lage bezettingsdichtheden en een overmaat aan voedsel (1). De vraag kan nu gesteld worden of deze geografische verdeling naar geslacht berust op een voorkeur van de migrerende glasaal voor dat type water, of

dat de omgeving in sterke mate het uiteindelijk ke uiterlijke geslacht bepaalt.

De eerste mogelijkheid wordt beschreven door de theorie van *syngametische geslachtsbepaling*: het geslacht van de glasaal wordt bepaald op het moment van bevruchting in de Sargassozeë (oftewel Genotypic Sex Determination afgekort GSD; 50% vrouwtjes en 50% mannetjes) en de latere selectie en voorkeur van glasaal voor een type water is gekoppeld aan het geslacht (1). De laatste inzichten mede gebaseerd op materiaal uit kwekerijen (zie 2 en resultaten uit onze studie zie hieronder) tonen aan dat deze theorie voor paling niet zo waarschijnlijk is.

Een andere theorie die meer aannemelijk is, is

Groep	Beginbezetting gram/m ³	% mannetjes	% overleving	Biomassa kg/m ³
A1	800	69%	87%	10.97
A2	1600	78%	89%	10.24
A3	3200	96%	90%	8.44

♦ **Tabel 1:** Informatie over het voorkomen van mannetjes bij verschillende bezettingsdichtheden (2)

de theorie van de *metagametische geslachtsbepaling* ook wel ESD genoemd (Environmental Sex Determination). Deze theorie stelt dat er een willekeurige verdeling is van glasaal over de verschillende wateren en dat factoren uit de omgeving (bijvoorbeeld temperatuur, voedselaanbod, sociale interactie, bezettingsdichtheid) de uiteindelijke uiterlijke verschijning bepalen (1).

Praktijk gegevens

De opkomst van de kwekerijen heeft onze inzichten in de factoren die de uiteindelijke uiterlijke verschijning van paling bepalen vergroot. In kwekerijen of vijvers bezet met paling worden 75-90% mannetjes gevonden. Uit de studie van Roncarati *et al.* (2) zijn meer gedetailleerde gegevens bekend weergegeven in tabel 1. Aan het begin van de proef werden 168 kg elvers (gemiddeld 0.45 gram) uitgezet in drie bezettingsdichtheden (A1, A2 en A3).

De conclusie van Roncarati *et al.* (2) is dat de geslachtsdifferentiatie in sterke mate bepaald wordt door de beginbezettingsdichtheid van de elvers vóór het afmesten. Hogere begin bezettingsdichtheden resulteren uiteindelijk in meer mannetjes. Gegevens uit een nog niet gepubliceerde studie uitgevoerd in Leiden in samenwerking met Hans Komen en Ep Eding (Vakgroep Visteelt & Visserij, LUW) tonen aan dat het geslacht van paling in kwekerijen ook afhankelijk is van het al of niet schier zijn van de dieren. Het materiaal werd verkregen van de palingkwekerij, Royaal BV (Helmond) van Jan van Rijsingen. In deze kwekerij zijn de dieren gescheiden naar leeftijd en grootte. Dieren werden verzameld van 3 jaarklassen (glasaal

oorsprong: 1994, 1995 en 1996) en drie grootte klassen (circa 20 gram, circa 60 gram en circa 120 gram). Daarnaast werden de dieren door een ervaren palingroker onderverdeeld in schier en niet-schier ('rood'). Criteria hiervoor waren:

- *niet-schier* (zijkant geel-groene glans, geen scherpe overgang tussen boven en onderkant, zacht vel);
- *schier* (zilverkleurige glans, scherpe overgang naar de witte onderkant, harder vel en vergrote ogen).

De onderzoeksvragen waren:

- 1) Hoe kan het geslachtsorgaan histologisch onder de microscoop worden geclassificeerd: in ongedifferentieerd, mannelijk, vrouwelijk of intersex?
- 2) Wordt de geslachtsorganenontwikkeling bepaald door de grootte of de leeftijd van het dier?

Onze (3) eindconclusies uit deze studie zijn de volgende:

- 1) Schiere dieren zijn altijd mannelijk, incidenteel vrouwelijk behalve voor de kleinste groepen.
- 2) Voor rode paling zijn is de sex ratio willekeurig verdeeld tussen de verschillende stadia mannelijk, vrouwelijk, ongedifferentieerd en intersex.
- 3) Intersex geslachtsorganen zijn over het algemeen mannelijk met enkele vrouwelijke kiemcellen in meiosis.

Intersex

De vraag of er werkelijk een intersex geslachtsorgaan voorkomt is een moeilijke vraag.

In de studie van Beullens *et al.* (4) vond men bij 1-jarigen zelfs een zeer hoog percentage van 90,6 % intersexen. De onderzoeker Kuhlmann (10) poneerde de volgende hypothese over intersexualiteit bij Europese paling (*Anguilla anguilla*): de uiteindelijke seksuele ontwikkeling naar gonochoristische¹ individuen houdt de maturatie in van of mannelijke of vrouwelijke geslachtscellen met een daarmee gepaard gaande degeneratie van tegenovergestelde geslachtscellen. Gonochorisme is verder te verdelen in ongedifferentieerd of gedifferentieerd gonochorisme. In het eerste geval ontwikkelen de geslachtsorganen zich eerst tot ovariumachtige geslachtsorganen en wordt vervolgens ongeveer de helft van de individuen een mannetje en de andere helft een vrouwtje. In het laatste geval differentiëren de geslachtsorganen zich direct naar een testis of een ovarium. Volgens Beullens *et al.* (4) kan een ongedifferentieerd geslachtsorgaan van een paling direct in een ovarium transformeren. Differentiatie naar het mannelijke geslacht gaat via een intersexueel stadium (4). De manier waarop deze mogelijke intersexuele fase ontstaat blijft een vraag die we nog niet kunnen beantwoorden. Men denkt dat deze transitie ofwel door omgevingsfactoren ontstaat ofwel dat dit een natuurlijke overgang is. Volgens Francis (5) gaan de geslachtsorganen van de meeste vissoorten door een vrouwelijke fase waarbij het voorkomen van een mannetje uiteindelijk het gevolg is van een uiteindelijke geslachtsverandering.

Volgens Yamamoto (6) is de paling een ongedifferentieerde gonochorist wat inhoudt dat het geslachtsorgaan via een ovariumachtig stadium differentieert. Onze waarnemingen tonen daarentegen aan (conclusie 3) dat het intersex geslachtsorgaan van paling meestal mannelijk is met enkele vrouwelijke cellen in meiose. Ook Colombo *et al.* (7) vermeldt dat het testisachtige geslachtsorgaan van rode paling een zeer primitief orgaan is dat mogelijk reversibel is. In de studie van Beullens *et al.* (4) wordt gesuggereerd dat mogelijk een tijdelijke

inbalans in androgeen/oestrogeen niveaus een testis-ova induceert. De studie van Lokman & Young (8) toont aan dat ook incidenteel bij volwassen dieren intersexualiteit voorkomt. In volwassen dieren van de Nieuw-Zeelandse paling *Anguilla dieffenbachii* werd microscopisch testiculair weefsel aangetroffen tussen het ovariumweefsel. Macroscopisch was dit niet waarneembaar. Behandeling met zalmhy-pofyse extract bracht zowel de spermatogenese op gang als de ontwikkeling van de eicellen.

Ook in de Japanse paling (*Anguilla japonica*) zijn bij volwassen dieren intersex geslachtsorganen aangetroffen. De organisatie van zo'n geslachtsorgaan kan verschillend zijn: het testis en ovarium weefsel kan door elkaar gelegen zijn of bestaan uit duidelijk gescheiden gebieden.

Omgevingsfactoren

Men kan zich afvragen waarom het uiteindelijke geslacht van vissen zo labiel is en zo sterk afhankelijk van omgevingsfactoren. Hiervoor zijn voor palingen maar ook voor de meeste vissoorten twee verklaringen aan te dragen.

De eerste verklaring heeft met de geslachtschromosomen te maken. Bij zoogdieren zijn er morfologisch duidelijk geslachtschromosomen: XY voor mannetjes en XX voor vrouwtjes. Bij vissen zijn niet zoveel soorten met verschillende geslachtschromosomen te vinden. Uit karyologisch onderzoek blijkt dat paling waarschijnlijk geen geslachtschromosomen bezit. Dit houdt in dat de *syngametische* geslachtsbepaling niet opgaat en dat de *metagametische* geslachtsbepaling (ESD) meer waarschijnlijk is. Bij de bepaling van het uiteindelijke geslacht van het dier is waarschijnlijk de ratio van geslachtshormonen in het dier van belang. Francis (5) gaat nog verder in zijn uitspraken en stelt dat op het niveau van de hersenen bij een individu de uiteindelijke geslachtsdifferentiatie op niveau van de geslachtsorganen moet worden gezocht. Terwijl in zoogdieren vooral het Y chromosoom gro-

tendeels de organiserende factor is die het uiteindelijke geslacht bepaald, zijn er geen duidelijke heteromorfe geslachtschromosomen in paling aangetroffen. Volgens Francis (5) worden vooral in de hersenen bepaalde gebieden blootgesteld aan olfactorische en visuele omgevingsinvloeden en wordt via de hersen-hypofyse-geslachtsorgaan pas de uiteindelijke geslachtsbepaling bewerkstelligd.

De tweede verklaring ligt in de embryonale oorsprong van het geslachtsorganen weefsel: de geslachtsorganen van alle gewervelde dieren zijn opgebouwd uit twee basale componenten: de kiemcellen en de somatische cellen. Bij alle gewervelden (met uitzondering van de beenvissen) ontwikkelt een ovarium zich door een reductie van de medulla en een proliferatie van de cortex. Bij een testis vindt het omgekeerde plaats. Bij de beenvissen, waar toe ook de paling behoort, ontwikkelt het geslachtsorganenweefsel zich uit één type weefsel: de cortex. Dit is mogelijk de verklaring waarom men in beenvissen zo vaak intersexualiteit aantreft.

Environmental Sex Determination

De volgende factoren zijn mogelijke veroorzakers van Environmental Sex Determination (ESD): temperatuur, sociale interacties, en voeding.

Temperatuur

Holmgren *et al.* (9) liet paling opgroeien bij 17, 20 en 26°C maar vond geen effect van de temperatuur op de geslachtsratio van de populaties. Kuhlmann (10) daarentegen vond een verschoven geslachtsverhouding ten gunste van de vrouwtjes bij een relatief hoge temperatuur van 26°C.

Sociale interacties

Verschillende onderzoeken wijzen uit dat er bij hoge dichtheden meer mannetjes ontstaan. Uit veldstudies blijkt dat bij een toename van de dichtheid het aantal mannetjes toeneemt terwijl het aantal vrouwtjes toeneemt bij een

afname van de recrutering van pootaal. De sociale interacties zijn onderzocht door de Israëliëse onderzoekers Degani & Kushnirov in 1992 (14). Men vond dat bij dieren gehuisvest in groepen, 77% een mannetje werd terwijl in isolement gehuisvest, 60% een vrouwtje werd. Sociale interactie beïnvloedt individuele groeipatronen en voedselopname hetgeen weer zijn weerslag kan hebben op de groei, voedingstoestand en grootte en via deze factoren een rol kan spelen bij de geslachtsbepaling. Sociale interactie kan mogelijk ook direct een rol spelen. Degani (11) stelt de hypothese dat het houden van dieren in dichte concentraties de excretie van steroïden verhoogt. Dit resulteert in een lagere groeisnelheid, wat leidt tot een langere periode van ongedifferentieerdheid hetgeen uiteindelijk resulteert in een mannetje. Klein Breteler *et al.* (12) vond bij vijverstudies met rode aal bij bezettingsdichtheden van 20-60 kg/ha dat bij hogere biomassa het percentage vrouwtjes afnam.

Voeding

Uit de studie van Lammens & Visser (13) blijkt een verband tussen het type voedsel, bekgrootte en geslacht bij paling. Dieren met een smalle bek aten voornamelijk muggenlarven, hadden een geringe lengte en waren over het algemeen mannetjes. Dieren met een brede bek aten voornamelijk vis, waren groter en waren over het algemeen vrouwtjes.

Samenvattend kan gesteld worden dat bij ESD een scala van factoren mogelijk de geslachtsdifferentiatie bepaalt. Dit zijn abiotische factoren als temperatuur, licht, saliniteit en zuurstof maar ook biotische factoren als de beschikbaarheid van voedsel, competitie en rangorde. Al deze hiervoor genoemde factoren kunnen invloed hebben op de groeisnelheid. Groeisnelheid kan mogelijk een belangrijke rol spelen in de geslachtsdifferentiatie. Ook stress kan mogelijk een rol spelen. Degani & Kushnirov (14) stellen de hypothese dat een verhoogde corticosteroid afscheiding ten gevolge van stress het geslacht in mannelijke richting kan sturen.

Grootte en leeftijd

Met betrekking tot de vraag of geslachtsorganenontwikkeling in kwantitatieve zin bepaald wordt door leeftijd en grootte zijn in onze studie multi variantie analyses (ANOVA's) uitgevoerd voor geslachtsorganengewicht en GSI ((geslachtsorganengewicht/lichaamsgewicht) x 100%). Hieruit kan geconcludeerd worden dat het geslachtsorganengewicht in sterke mate (P0.0001) afhankelijk is van de grootte van het dier en niet van de leeftijd (P0.1153). Voor de afgeleide parameter GSI kan geconcludeerd worden dat de GSI deels afhankelijk is van de leeftijd (P0.0172) van het dier maar eveneens in sterke mate van de grootte (P0.0002) van de dieren (3).

Een probleem bij het ontwerpen van studies naar de geslachtsdifferentiatie is dat deze studies vanwege het voorkomen van langzame groeiers enkele jaren kunnen duren. In deze periode kan een selectieve mortaliteit onder de langzame groeiers optreden die de conclusies mogelijk kunnen vertroebelen. Verder kunnen er verschillen in groeisnelheden optreden tussen de geslachten (zie hieronder). Verdere problemen zijn dat de beginpopulatie een goede representatie van de werkelijkheid moet zijn; en dat het houden van dieren onder verschillende dichtheden niet van invloed mag zijn op secundaire factoren als waterkwaliteit en voedergift. Al deze secundaire factoren kunnen verstrend werken.

Groeieigenschappen mannetjes en vrouwtjes

Uit het artikel van Holmgren & Mosegaard (9) waarin de individuele groei van paling werd bepaald met geïmplanteerde microchips blijkt de volgende informatie die misschien voor kwekers van belang is:

- 1) beneden de 40-60 gram vertonen mannetjes een snellere groei dan vrouwtjes;
- 2) de groei van mannetjes stopt voortijdig terwijl vrouwtjes door blijven groeien boven 150 gram.

Met andere woorden vrouwtjes investeren in

lengtegroei en groeien langer door terwijl mannetjes eerder in gewicht investeren en niet zozeer in lengte. In biologische termen gesproken zijn mannetjes dus 'time minimizers', zij rijpen af in zo kort mogelijke tijd terwijl vrouwtjes 'size maximizers' zijn, zij investeren in lichaamsgrootte. Dit blijkt ook uit een veldstudie. Uit observaties van migrerende schieraal, uitgezet als elvers in 1980 in een Zweeds meer blijkt dat 64.5% van de kleine mannetjes na 4-5 jaar migreert terwijl dit voor 86.3% van de grotere vrouwtjes na 10-15 jaar was. Verschillen tussen mannetjes en vrouwtjes worden veroorzaakt door het in gang zetten van de metamorfose bij mannetjes.

Strategie kweker

Voor kwekerijen is het belangrijk om inzicht te krijgen welke factoren het uiteindelijke geslacht van de dieren bepalen vanwege de groeikarakteristieken van de verschillende geslachten. Nu de groeieigenschappen van mannetjes ('time minimizer') en vrouwtjes ('size maximizer') bekend zijn kan de kweker daar op inspelen. Door met bezettingsdichtheden te spelen kan de kweker het aandeel vrouwtjes in zijn kwekerij vergroten en zo dieren creëren voor een bepaald marktsegment (bijvoorbeeld de markt in Duitsland). De groei van mannetjes



◆ Zojuist gevangen glasaal.

is beneden de 40-60 gram gunstiger dan bij vrouwtjes maar gaan deze dieren in metamorfose (schier worden) dan worden de groeieigenschappen ongunstiger. De dieren worden ook vetter. In de toekomst gaan wij samen met Jan van Rijsingen onderzoek doen hoe het vroegtijdig schier worden kan worden voorkomen. Samenvattend kan gesteld worden dat de factoren die de geslachtsdifferentiatie van paling bepalen zijn nog niet opgelost. Door middel van vervolproeven hopen wij hier in Leiden meer inzicht te krijgen in deze materie.

Dankbetuiging

Deze studie werd gefinancierd door een subsidie van de Stichting Technische Wetenschappen (STW), project no. LBI66.4199. Jan van Rijsingen was sponsor in de gebruikerscommissie. Hans Komen en Ep Eding worden bedankt voor advies en steun.

Literatuur

- Bertin, 1956. Eels, a biological study. Cleaverhume, London.
- Roncarati, A., Melotti, P., Mordenti, O. en Gennari, L. 1997. Influence of stocking density of European eel (*Anguilla anguilla* L.) elvers on sex differentiation and zootechnical performances. *Journal of Applied Ichthyology* 13:131-136.
- Van Ginneken, V., Noorlander, C., Sommandas, V., Boot, R., Komen, J., Eding, E.H., Goos, H., en Van den Thillart, G. 1998. Gonadal differentiation and levels of sex steroids in plasma of yellow and silver eel from a hatchery. In preparation.
- Beullens, K., Eding, E.H., Gilson, P., Ollivier, F., Komen, J., en Richter, C.J.J. 1997. Gonadal differentiation, intersexuality and sex ratio of European eel (*Anguilla anguilla* L.) maintained in captivity. *Aquaculture* 153:135-150.
- Francis, R.C. 1992. Sexual lability in teleost: developmental factors. *The Quarterly Review of Biology* 67:1-18.
- Yamamoto, T.O. 1969. Sex determination. In: Hoar, W. en Randall, D.J. *Fish Physiology*. Vol. 111. Pp. 117-175. Academic Press, London.
- Colombo, G., Grandi, G. en Rossi, G. 1984. Gonadal differentiation and body growth in *Anguilla anguilla* L. *Journal of Fish Biology* 24:215-228.
- Lokman, P.M. en Young, G. 1998. An intersexual migratory (silver) longfinned New Zealand eel and its gonadal response to treatment with salmon pituitary homogenate. *Journal of Fish Biology*: 52:547-555.
- Holmgren, K. en Mosegaard, H. 1996. Implications of individual growth status on the future sex of the European eel. *Journal of Fish Biology*: 49:910-925.
- Kuhlmann, H. 1975. Der einfluss von Temperatur, Futter, Größe und Herkunft auf die sexuelle Differenzierung von Glasaalen (*Anguilla anguilla*). *Helgoländer wiss. Meeresunters* 27:139-155.
- Degani, G. 1986. Effect of combined dietary 17- β -estradiol and 17- α -methyltestosterone on growth and body composition of European eels (*Anguilla anguilla*). *Aquaculture* 59:169-175.
- Klein Breteler, J.G.P., Dekker, W. en Lammens, E.H.R.R. 1990. Growth and production of yellow eels and glass eels in ponds. *Int. Rev. Ges. Hydrobiologie* 75:189-205.
- Lammens, E.H.R.R. en Visser, J.T. 1990. Variability in mouth width in European eel, *Anguilla anguilla*, in relation to varying feeding conditions in three Dutch lakes. *Environmental Biology of Fishes* 6:63-75.
- Degani, G. en Kushnirov, D. 1992. Effect of 17- β -estradiol and grouping on sex determination of European eel. *Progressive Fish Culturist* 54:88-91.
- De Nie, H.W. 1988. Food, feeding and growth of the eel (*Anguilla anguilla* L.) in a Dutch eutrophic lake. PhD-thesis, Wageningen Agricultural University, 130 pp.

1 Het geslacht van het geslachtsorgaan is in twee richtingen te verdelen: hermafroditisme en gonochorisme. Bij gonochorisme zijn óf testisweefsel óf ovariumweefsel aanwezig in één enkel individu en bij hermafroditisme zijn beiden aanwezig in hetzelfde individu.

(Advertentie)

TE KOOP AANGEBODEN:
**complete viskwekerij,
 incl. woonhuis**
 Productie 25 ton.
**Reacties onder vermelding
 van B.O.N. 6/01 naar het secretariaat
 van Aquacultuur.**