

# Gonadenontwikkeling bij de Europese paling (*anguilla anguilla* L.) door middel van de hypofysatietechniek

Door: dr. Vincent van Ginneken (Rijksuniversiteit Leiden)

De palingstand is de laatste 20 jaar wereldwijd enorm afgenomen door overbevissing, PCB's, virussen, zwemblaasparasieten en obstructie van de migratieroute door sluizen en elektriciteitscentrales en deze soort is door staatssecretaris Faber in 1999 op de 'rode lijst' van bedreigde diersoorten geplaatst (Haagse Courant 21 januari 1999). Vanuit dit oogpunt is het belangrijk om het afrijpingsproces (maturatie) van de paling te begrijpen omdat glasaal productie de visserijdruk zou verlichten, herbezettingsprogramma's zou toestaan en de aquacultuur zou stimuleren.

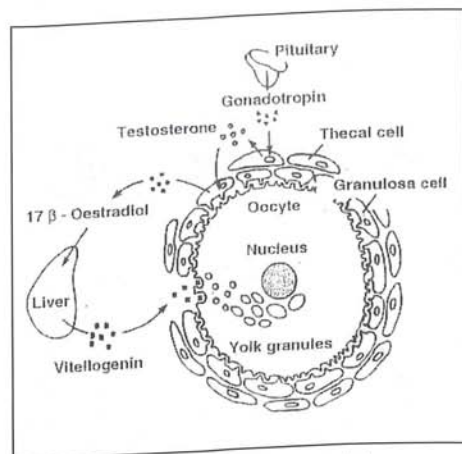
Indien het maturatieproces gecontroleerd kan worden zou dit een enorme doorbraak zijn. Larven kunnen dan in kwekerijen geproduceerd worden en in natuurlijke wateren uitgezet worden om de afname van de palingpopulatie tegen te gaan. Dit zou dan belangrijke consequenties

hebben voor de aalvisserij en aalkweek omdat vissers, kwekers en hengelaars niet meer afhankelijk zullen zijn van de natuurlijke intrek van glasaal.

## Regulatie van de reproductie bij vissen

Het belangrijkste obstakel voor de reproductie van paling is de vorming van geslachtsproducten: hom en kuit. Voor de reproductie van de meeste vissoorten moet alleen het laatste deel van de gametogenese (=vorming van geslachtsproducten) gestimuleerd worden; voor paling moet evenwel de gehele voortplantingscyclus worden geïnduceerd.

Via de hypothalamus-hypofyse-gonaden as vindt bij vissen een regulatie plaats van de reproductie (figuur 1). De hypothalamus kan op twee manieren de productie en afgifte van gonadotroop hormoon in de hypofyse beïnvloeden. Enerzijds door afscheiding van stimulerende hormonen: afgifte van GnRH (gonadotroop releasing hormoon, homoloog met



Figuur 1: Hypofyse-gonadenas bij vissen

zoogdier LHRH) vanuit de Nucleus Lateral Tubercis (NLT). Anderzijds door afscheiding van remmende hormonen de zogenaamde GRIF's (gonadotropin releasing inhibiting factors). Een voorbeeld van een stof met een dergelijke activiteit in de goudvis en ook de paling is dopamine. Er is een beperkte ontwikkeling van de gonade als de palingen naar zee migreren maar als we deze palingen in aquaria houden is er geen verdere ontwikkeling van de gonade. Hieruit kunnen we concluderen dat maturatie bepaald wordt door externe factoren die de dieren ondervinden tijdens hun migratie. Het is onbekend welke factoren een verdere maturatie (door het in gang zetten van de exogene vitellogenese) bewerkstelligen. Is dit de hoge druk in de diepzee, een lage temperatuur, of wordt maturatie bewerkstelligd door arbeid met corresponderende hoge cortisol niveaus.

In het laboratorium heeft de groep van Sylvie Dufour (MNHN, Parijs) recentelijk aangetoond bij paling dat er in het schierstadium nog steeds een prepuberale blokkade is op het neuroendocrien nivo. Allereerst is er een tekort van gonadotropin-releasing hormoon (GnRH) op het nivo van de hypothalamus en verder is er een inhibitie door dopamine. Beide factoren zijn verantwoordelijk voor het gebrek aan productie van gonadotropine (GTH) door de hypofyse en blokkade van de afgifte van GTH resulterend in een onrijpheid van de gonade.

### **Chronologisch overzicht hormoonbehandeling paling**

Kunstmatige maturatie is het met behulp van hormonen artificieel geslachtsrijp maken van de schieraal. Dit kan op verschillende niveaus van de hypothalamus-hypofyse-gonaden as gebeuren en is door de jaren heen (van 1936-heden) bij een aantal soorten palingen (*A. anguilla*,

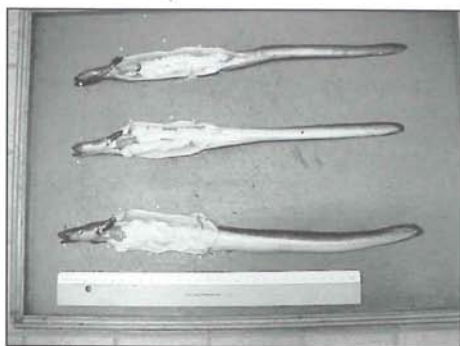


Foto 1: Geslachtsrijpe mannetjes behandeld met hCG.

*A. rostrata*, *A. japonica*, *A. australis* en *A. dieffenbachii*) gedaan. Indien we het onderzoek chronologisch bekijken zien we dat de techniek zich in de loop der jaren ontwikkeld heeft doordat nieuwe fysiologische en endocronologische inzichten zich aandienen. Al in 1936 werd bij met Human Chorionic Gonadotropin HCG behandelde mannetjes sperma gewonnen door Fontaine. Human Chorionic Gonadotropine (HCG) oplossingen werden geïnjecteerd in mannelijke schiere paling en deze gaven sperma af. De Japanners waren de eerste die larven verkregen van de Japanse paling *Anguilla japonica*. De larven waren echter niet vitaal, ondergin-



Foto 2: Geslachtsrijp vrouwtje

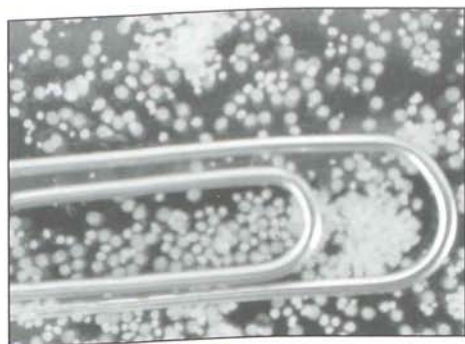


Foto 3: palingeieren

gen geen metamorfose en stierven binnen twee weken. Boetius & Boetius (1980), injecteerden palingen met hypofyseextract. Vervolgens fotografeerden zij in een aquarium een mannetje wat sperma afgaf bij een zwemmend vrouwtje; helaas ovuleerde het vrouwtje niet.

Nieuwe inzichten uit de aquacultuur gaven aan dat niet alleen de groei van de gonade maar ook ovulatie een essentieel onderdeel van het maturatieproces is hetgeen direct een effect had op de uitkomstpercentages van eieren. Ohta et al. (1996)

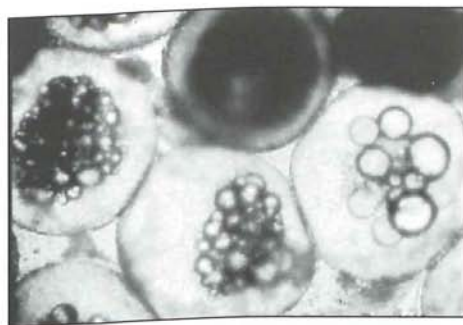


Foto 4: Palingoocyt waarbij het eerste poollichaampje wordt uitgestoten. Dit is het doorzichtige rondje links tegen de rand van het middelste ei. De geclusterde bolletjes zijn vetvesicles

beschreven in een artikel gebaseerd op 20 jaar empirisch werk in Japan de uitkomstpercentages van de Japanse paling gebaseerd op een inductie van het ovulatieproces met DHP (dosis 2 ug/g BW). Lokman & Young (2000) kopieerden exact het protocol van Ohta voor Nieuw-Zeelands paling (*A. dieffenbachi* 5 kg) en demonstreerden dat het protocol van Ohta met DHP (2 ug/g BW) ook werkte voor Nieuw-Zeelands paling.

#### Resultaten experiment in Leiden

In het uitgevoerde onderzoek hebben we het protocol wat Ohta et al. (1996) op *Anguilla japonica* heeft toegepast en Lokman et Young (2000) op *Anguilla dieffenbachi* op de Europese paling *Anguilla anguilla* toegepast.

Begin april 2001 zijn ongeveer 60 schiere mannetjes afkomstig uit de Grevelingen en gevangen tijdens hun zeewaartse migratie (najaar 2000) wekelijks met HCG behandeld.

Na zes weken gaven de eerste mannetjes sperma af. Rijpe mannetjes die op de hormoonbehandeling reageerden gaven wekelijks gedurende een periode van 3-4 maanden wekelijks 1 tot 1.5 ml sperma af. De bereikte GSI's varieerde tussen de 3.1 en de 17.5 (gemiddeld 10.9 (3.39 (n=11))). De oogdiameter, een extern kenmerk voor afrijping, van deze dieren varieerde tussen de 7.0 en 8.8 (gemiddeld 7.96 (0.57)).

Op foto 1 is een afbeelding van geslachtsrijpe mannetjes te zien.

GSI waarden van de geïnjecteerde vrouwtjes varieerden tussen de 12 en 40. De gemiddelde eiddiameter was 0.59 (0.10 mm). Dit is zo'n 0.3 mm lager als gerapporteerd door andere auteurs en zou de oorzaak kunnen zijn waarom in dit experiment geen larven geproduceerd zijn. Een oorzaak kunnen we niet aangeven. Geba-

seerd op de GSI's en de eidiameters hebben we bepaald dat het aantal eieren per paling varieerde tussen de 772.000 en 3.945.000 eieren.

Op foto 2 is een geslachtsrijp vrouwtje te zien met uitgeprepareerd ontwikkeld ovarium.

Op foto 4 is een palingei te zien is waar Germinal Vesicle Migration optreedt (uitstoting van het eerste poollichaampje). Het ei wordt haploid.

#### **Aanbevelingen voor vervolgonderzoek**

Voor vervolgonderzoek kunnen de volgende aanbevelingen worden gedaan:

- a Er moet een methode gevonden worden om de karperryhypofyse gedurende de periode van 3 tot 4 maanden op meer regelmatige wijze te doseren.
- b Indien het rechtstreeks inspuiten van het ovulatiehormoon 17(-20) dihydroxyprogesteron in het ovarium in de toekomst niet tot bevredigende resultaten leidt moet overwogen worden op het niveau van de hypothalamus-hypofyse te gaan werken door het toedienen van gonadotropine-releasing hormoon (GnRH) en dopamine blokkers.
- c We hebben al eerder gesteld dat het moment van bevruchting van de eieren zeer cruciaal is. In Japan heeft men geslachtsrijpe dieren door middel van afstrijken (eieren geforceerd uit het lichaam strijken) tot voortplanting gebracht. Mogelijk dat het synchroniseren van de cycli bevordert kan worden door de dieren niet te strippen (af te strijken) maar de gedragscomponent een rol te laten spelen en de dieren in een grote bak zelf te laten afpaaieren. Vele hormonen zoals dihydroxyprogesteron werken als feromonen en sociale interacties kunnen deze stoffen doen vrijkomen en de maturatieprocessen bevorderen. Ook dit jaar zijn nieuwe maturatie-expe-

rimenten in Leiden met paling gepland en hopelijk komen we dit jaar weer een stapje verder.

#### **Dankbetuiging**

De auteur dankt Dr. Lex Raat en Drs. Jan Klein Breteler (OVb) voor ondersteuning van het onderzoek. Deze studie was gebaseerd op een subsidie van het ministerie van LNV en de Technologiestichting (STW) projectnummer LBI66.4199. Ir.J.van Rijsingen (Royaal BV, Helmond) was medesponsor en lid van de gebruikerscommissie.

#### **Literatuur**

- 1) Vincent van Ginneken<sup>1</sup>, Gerjanne Vianen<sup>1</sup>, Bie Muusze<sup>1</sup>, Louise Verschoor<sup>1</sup>, Marjolijn Onderwater<sup>1</sup>, Sjoerd van Schie<sup>1</sup>, Patrick Niemantsverdriet<sup>1</sup>, Richard van Heeswijk<sup>1</sup>, Ep Eding<sup>2</sup>, Guido van den Thillart<sup>1</sup>. Gonad development of the European eel (*Anguilla anguilla* L.) by the hypohysation technique and its spawning behaviour in the aquarium. Hormones and behavior, in preparation.

(Advertentie)

# GLASAAL

*-bij ons alleen de beste kwaliteit -*

Visteeltcentrum Heerhugowaard  
tel. 0226-321099 gsm 06-21562439  
fax 0226-420778 vtc@xs4all.nl