

# Zwemmen, de natuurlijke prikkel voor het geslachtsrijp worden van de Europese paling

Guido van den Thillart, Arjan Palstra, Dehni Schnabel  
 Universiteit Leiden, Instituut Biologie  
 Email: g.van.den.thillart@biology.leidenuniv.nl

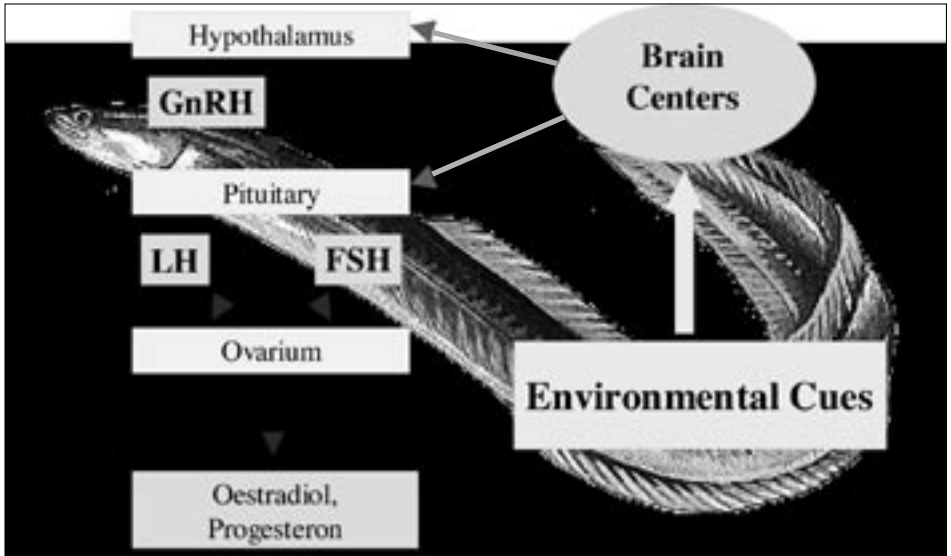
**In 2006 heeft het ministerie van LNV aan de Leidse Universiteit een subsidie toegekend voor onderzoek naar prikkels voor natuurlijke maturatie (geslachtsrijp worden). Al eerder waren aanwijzingen verkregen (EU project EELREP) dat zwemmen een sterke prikkel kan zijn; in het LNV-project werd dit aspect nader onderzocht. Er werd een zwemgoot gebouwd om een grote groep mannetjes en vrouwtjes (schieraal) gelijktijdig 3 maanden te laten zwemmen. De mannetjes vertoonden een 5-voudige GSI toename, bij vrouwtjes waren de veranderingen in de GSI gering, maar daar nam de hormoon gevoeligheid (vastgesteld middels moleculaire probes) toe. Deze resultaten tonen dus aan dat zwemmen van belang is als natuurlijke stimulans van het maturatieproces.**

De huidige stand van zaken met betrekking tot maturatie (afrijping) en reproductie van de Europese paling is uitgebreid beschreven in het eindrapport van het EU-project EELREP (co-ordinator G. vd Thillart). De aanbevelingen en het rapport zijn als PDF-files beschikbaar op: [www.fishbiology.net/silvereel.html](http://www.fishbiology.net/silvereel.html). De twee belangrijkste conclusies van dit project zijn:

1. Er zijn duidelijke parameters die aangeven wat de reproductie-capaciteit van een schieraal is, uitgedrukt in de maturatie index (MI). Het voordeel hiervan is dat we nu dieren met een hoge MI kunnen selecteren, wat de kans op reproductie-succes sterk vergroot.
2. Er is belangrijke vooruitgang geboekt tav reproductie. Met name is duidelijk dat zwemmen de rijping op gang brengt. In Leiden is recentelijk vastgesteld dat langdurig zwemmen een duidelijk effect

heeft op de hormoonhuishouding. De palingen uit het Balaton meer (tenminste 13 jaar oud) reageerden zelfs al na 4 dagen zwemmen, met een toename van de oog-diameter en vetafzetting in de oöcyten (eicellen).

De voortplanting is bij palingen sterk onderdrukt, hetgeen samenhangt met hun eenmalige paai in de Sargasso Zee. De onderdrukking geschiedt via remmende zenuwbanen die naar de endocrine regelcentra in de hersenen lopen nl de hypothalamus en hypofyse (figuur 1). Bij de veel vissen (en zoogdieren) bestaan soortgelijke remmende zenuwbanen die de reproductie controleren, maar tot nu toe spant de aal de kroon. Reproductie via eigen FSH en LH kan niet worden opgewekt, zelfs niet door gebruik te maken van dopamine-receptor blokkers in combinatie met GnRH. Daarom



Figuur 1: Het voortplantingsprobleem bij de paling is de sterke rem vanuit hersencentra (dopaminerge zenuwbanen) op zowel de hypothalamus als de hypofyse, waardoor de vorming en afgifte van FSH en LH niet op gang komt. In de natuur valt deze rem alleen weg onder onder zeer uitzonderlijke omstandigheden (tijdens de oversteek naar de Sargasso Zee).

moet bij de aal rijping op gang worden gebracht door wekelijkse injecties met hypofyse-extract. Het kan wel 12-25 weken duren voordat een vrouwtje volledig rijp is, een periode van 3-6 maanden dus. Doordat de rijping zo sterk is onderdrukt zijn de gonaden van schieraal ook onderontwikkeld. Het gonadegewicht ligt bij schieraal slechts tussen 1 en 2% van het lichaamsgewicht. Bij vrouwtjes moet niet alleen de vitellogenese (afzetting van vitellogenine in de oocyten) nog op gang komen, maar ook het vettransport van de vetdepots naar de lever en de oocyten. Dat proces van vitellogenese en eicelrijping vindt plaats ergens op de oceaan, onderweg naar de Sargasso Zee. Kunstmatige rijping van alen kan alleen op gang worden gebracht door injecties met hypofyse extract, waarvoor hypofyses van karpers of zalm wordt gebruikt. Door de relatief korte halfwaardetijd van de toegediende

hormonen, is de effectiviteit echter beperkt. Binnen 24 uur is de hormoonspiegel weer bijna tot nul gedaald. De wekelijkse injecties zorgen dus voor enorme wisselingen in hormoonspiegels. Het is dan ook niet vreemd dat Japanse onderzoekers in de oocyten wekelijkse afzettingen van vitellogenine konden aantonen. Aan de andere kant is het ook goed voor te stellen dat degelijke protocollen een bijzonder onnatuurlijke situatie veroorzaken en dus dat de kunstmatige maturatie mogelijk niet in de goede volgorde verloopt. Dat blijkt o.a. door de afzetting van vetdruppeltjes in de oöcyt. Dat geschiedt bij de meeste vissoorten voorafgaand aan de afzetting van vitellogenine, maar met de CPE injecties verloopt dat gelijktijdig met vitellogenine. Het zal duidelijk zijn dat toepassing van natuurlijke prikkels een gunstige ontwikkeling zou zijn, niet alleen omdat het goedkoper is, maar ook omdat

daardoor het rijpingsproces natuurlijker en wellicht succesvoller kan verlopen.

### **Balaton Meer**

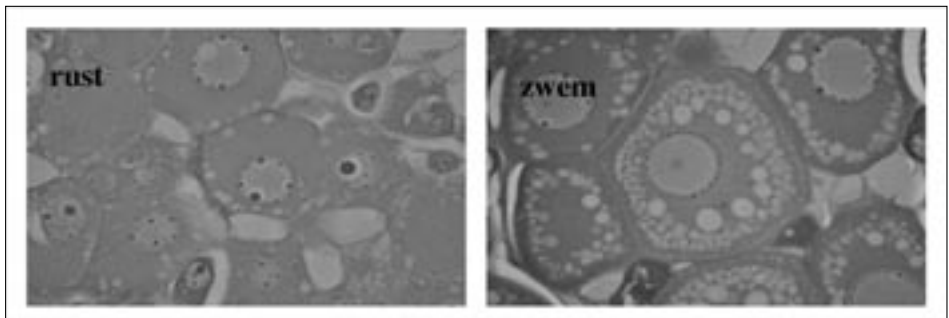
Enkele jaren geleden werden er in Leiden zwemexperimenten gedaan met Balaton palingen, die waren uitgekozen met name omdat die dieren minimaal 13 jaar oud waren (toen vonden de laatste uitzetting van glasaal in het meer plaats). Histologisch onderzoek van de gonaden na zwemexperimenten toonde aan dat binnen enkele weken vetdruppeltjes werden afgezet in de oöcyten, maar alleen in de dieren die hadden gezwommen (figuur 2). Ook andere zwemexperimenten hadden daarvoor al aangetoond dat zwemmen een verandering van de hormonale status kan bewerkstelligen.

Deze resultaten waren de reden om meer in detail een onderzoek te starten naar veranderingen tijdens zwemmen. Daarvoor was in het in de eerste plaats nodig om een grote groep dieren gelijktijdig te laten zwemmen, en ten tweede om nieuwe testen te ontwikkelen die vroege ontwikkelingen in het maturatieproces kon detecteren. De constructie van een zwemgoot (foto) had wel wat voeten in aarde, maar bleek prima

te werken voor langdurige zwemproeven. De opstelling gebouwd door Willy Fleuren cs, is geplaatst in een klimaatcel en is aangesloten op een recirculatie/filter systeem; de waterstroom wordt aangedreven door 2 zware pompen die er voor zorgen dat het water stroomt met een snelheid van 0.4 m/s in het compartiment met vrouwtjes, en van 0.2 m/s in het compartiment met mannetjes.

### **Leverfunctie bij maturatie**

Zowel bij het vettransport als bij de productie van vitellogenine speelt de lever een hoofdrol. Met andere woorden: een van de eerste processen die worden aangezet bij maturatie is de stofwisseling van de lever waarbij de reservestoffen worden aangemaakt voor inbouw in de oöcyten. Het algemeen geldende model daarvoor is als volgt. Stimulering van de gonaden door FSH en LH (afkomstig van de hypofyse) brengt de productie van estradiol op gang. In de levercellen zitten estradiol-receptoren die een specifieke gentranscriptie activeert met als resultaat de vorming van vitellogenine. In 2005 en 2006 hebben wij in Leiden gewerkt aan de ontwikkeling van kwantitatieve meetmethoden voor de expressie van



*Figuur 2: Oocyten van palingen uit het Balaton meer. Dieren die enkele weken hadden gezwommen vertoonden grote hoeveelheden vetdruppeltjes in de oöcyten (eicellen) i.t.t. de rustende dieren. Hieruit blijkt dat zwemmen vetmobilisatie op gang brengt, die niet alleen voor arbeid maar tegelijk ook voor depositie in de oocyten gebruikt wordt. (Vetdruppeltjes zijn de lichte bolletjes in de periferie van de cellen)*

estradiol-receptoren en van vitellogenine. Voor alle drie de genen hebben we een zgn q-PCR bepaling ontwikkeld. In figuur 3 wordt getoond dat door behandeling met hypofyse-extract de genexpressie voor de estradiol-receptor en voor vitellogenine zeer sterk toeneemt. Dat betekent dus dat het beide goede parameters zijn om het begin van maturatie te volgen. Uiteraard zijn de genoemde genen typisch voor de rijping van vrouwtjes, voor mannetjes hebben we nog geen moleculaire probe ontwikkeld, maar het plan is om de LH en FSH receptor daarvoor te gaan gebruiken.

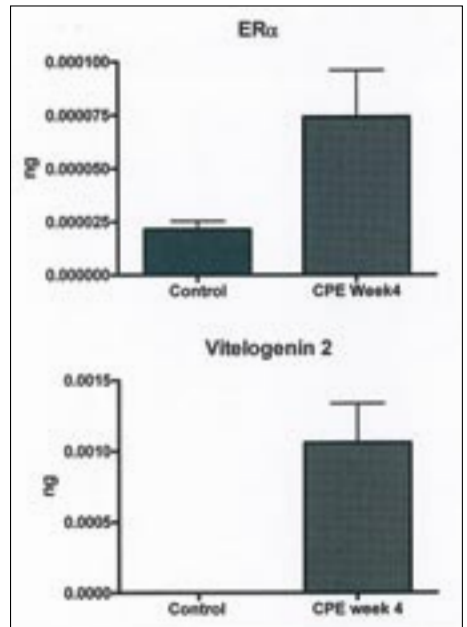
### Zwemeffecten

Hoewel we nog druk bezig zijn met de verwerking van alle gegevens, kunnen we al wel een paar resultaten noemen. In de eerste plaats hebben we nu voor het eerst zwemtesten gedaan met mannetjes. Omdat die veel kleiner zijn dan de schiere vrouwtjes, kunnen ze ook niet zo snel zwemmen. In onze zwemgoot hebben we ze op de helft van de snelheid laten zwemmen door de goot voor de mannetjes eens zo breed te maken. Zoals te zien is in figuur 4, is er een zeer sterk effect van zwemmen op het gonade gewicht. Ten opzichte van de rustgroep is na 3 maanden zwemmen het gewicht meer dan 5 maal toegenomen. Dit effect was ook goed te zien in de histologische preparaten, de testis van de zwemdieren was in alle gevallen veel verder ontwikkeld.

Het effect van zwemmen op de gonaden van de vrouwtjes was minder extreem, hoewel er wel een lichte toename was, en ook het levergewicht was licht toegenomen. Belangrijker was dat er een duidelijke toename was van de estradiolreceptor bij zwemmende vrouwtjes, en daarmee samenhangend ook het gehalte van estradiol in het plasma.

### Conclusie

De voorlopige resultaten van het onderzoek tonen aan dat zwemmen van belang is voor

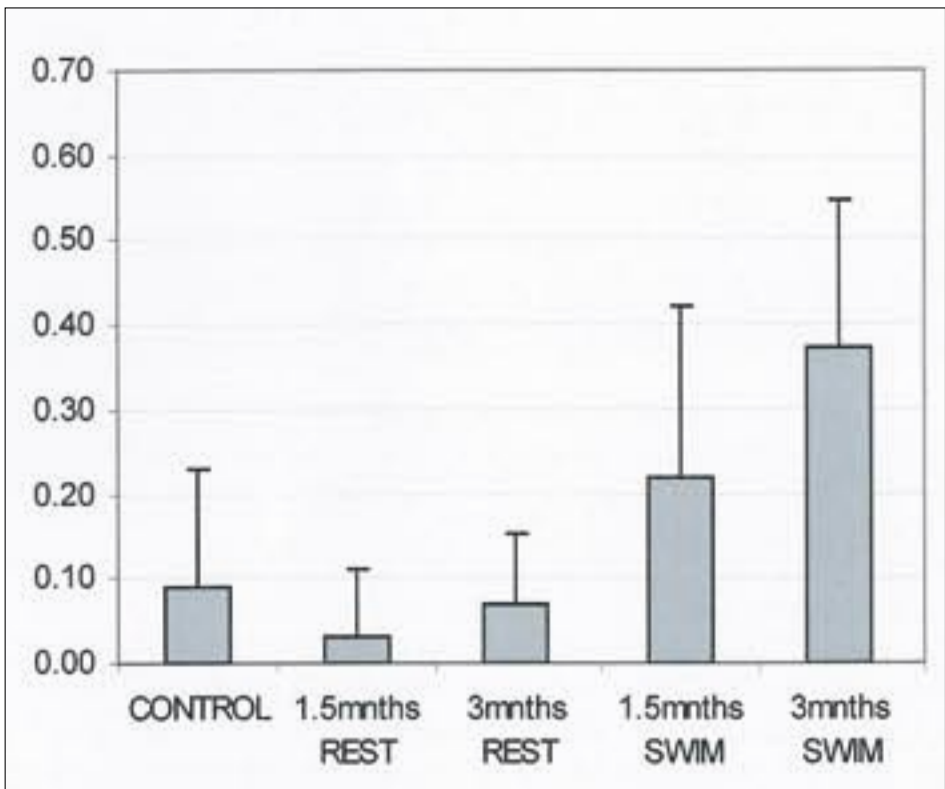


*Figuur 3: Effect van hypofyse extract op de leverfunctie. Door injecties met hypofyse-extract wordt de maturatie op gang gebracht met een daarbijhorende verhoging van vitellogenine in het plasma. De stimulering van de lever kan worden gevolgd door het meten van gen-expressie voor estradiol receptor (ER $\alpha$ - boven) en voor de expressie van vitellogenine (onder). In onbehandelde dieren ("Control") was de expressie van vitellogenine volledig afwezig.*

de natuurlijk rijping van de paling. Zowel bij schiere mannetjes als vrouwtjes hebben we aan kunnen tonen dat zwemmen geslachtrijping stimuleert. De verwachting is derhalve dat we zwemmen kunnen gebruiken in combinatie met hormonale prikkels om daarna de dieren versneld af te laten rijpen.



Montage van een zwembad in het Gorlaeus laboratorium. Een grote 7000-L bak met rechte stukken van 2-meter werd gebruikt voor langdurige proeven (3 maanden), om vast te stellen in welke mate zwemmen een invloed heeft op de geslachtsrijping van schieraal.



Figuur 4: Het effect van langdurig zwemmen op het testisgewicht van schiere mannetjes (in % van totaalgewicht). Er is een bijzonder significant effect van zwemmen: terwijl rust een lichte daling geeft, veroorzaakt zwemmen een vijfvoudige toename van het gonadegewicht.