

Muligheter og problemer knyttet til avlsarbeid på aktuelle marine arter i oppdrett



Området for bioproduksjon og foredling

Muligheter og problemer knyttet til avlsarbeid på aktuelle marine arter i oppdrett



**Norges
forskningsråd**

© **Norges forskningsråd 2003**

Norges forskningsråd
Postboks 2700 St. Hanshaugen
0131 OSLO
Telefon: 22 03 70 00
Telefaks: 22 03 70 01
Publikasjonen kan bestilles via internett:
<http://www.forskningsradet.no/bibliotek/publikasjonsdatabase/>
eller grønt nummer telefaks: 800 83 001

Internett: bibliotek@forskningsradet.no
X.400: S=bibliotek;PRMD=forskningsradet;ADMD=telemax;C=no;
Hjemmeside: <http://www.forskningsradet.no/>

Forfattere:	Professor Gunnar Nævdal, Universitetet i Bergen (leder) Professor Svein-Erik Fevolden, Norges fiskerihøgskole, Universitetet i Tromsø Forsker, dr. Michael Møller Hansen, Danmarks Fiskeriundersøgelser Professor Odd Vangen, Norges landbrukshøgskole
Grafisk design omslag:	Creuna AS
Foto/ill. omslagsside:	Vidar Vassvik
Trykk:	AS Lettindustri
Opplag:	250

Oslo, januar 2003
ISBN 82-12- 01793-1

Innhold

Forord.....	5
1. Oppnevning og mandat.....	7
2. Sammendrag.....	9
3. Bakgrunn og formål med arbeidet.....	12
4. Aktuelle arter og igangværende FoU-aktivitet.....	13
4.1 Norske oppdrettsarter og nasjonal FoU-aktivitet.....	13
4.1.1 Kveite.....	13
4.1.2 Torsk.....	14
4.1.3 Piggvar.....	14
4.1.4 Steinbit.....	14
4.1.5 Andre fiskearter.....	15
4.1.6 Skjell.....	15
4.1.7 Andre arter.....	15
4.2 Internasjonale prosjekt.....	15
5. Avlsmål.....	17
6. Tekniske forutsetninger og forskningsbehov.....	19
7. Basispopulasjoner.....	21
8. Kvantitativ avl.....	22
8.1 Fenotypisk variasjon, variasjonsårsaker og arvegrad.....	22
8.2 Avlsmetoder.....	23
8.2.1 Reinavl.....	23
8.2.2 Krysningsavl.....	25
8.3 Innavlskontroll.....	25
8.4 Avlsstruktur.....	25
9. Bruk av molekylære markører i avlsarbeidet.....	26
9.1 Innledning.....	26
9.2 Typer av markører.....	26
9.2.1 Allozymer.....	26
9.2.2 Mitokondrisk DNA.....	27
9.2.3 Direkte analyse av kodende gener.....	27
9.2.4 Mikrosatellitt DNA.....	28
9.2.5 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA).....	29
9.2.6 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism).....	30
9.2.7 SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms).....	30
9.3 Anvendelse av molekylære markører.....	31
9.3.1 Valg av populasjoner som grunnlag for stamdyrpopulasjoner.....	31
9.3.2 Identifisering av individer og familier.....	31
9.3.3 Maksimering av genetisk diversitet.....	33
9.3.4 Maksimering av sjukdomsresistens.....	33
9.3.5 Genkartlegging, Quantitative Trait Loci (QTL) og markør-assistert seleksjon (Marker Assisted Selection, MAS).....	34
9.3.6 Funksjonell genomforskning.....	36
9.4 Hva er realistisk for avlsprogrammer for marine organismer?.....	37
9.5 Forholdet mellom klassisk avlsarbeid og molekylærbasert avl.....	37
10. Alternative metoder.....	39
10.1 Innledning.....	39

10.2	Triploider	39
10.3	Gynogenese	39
10.4	Kjønnskifte	40
10.5	Transgene organismer (GMO)	40
11.	Karakterer korrelerte til stress	41
12.	Miljøbetraktninger.....	43
13.	Etiske og markedsmessige aspekter	44
14.	FoU-utfordringer, oppsummering	46
14.1	Generelle betraktninger	46
14.2	Artsspesifikke FoU-utfordringer	47
14.2.1	Torsk	47
14.2.2	Kveite	48
14.2.3	Piggvar	48
14.2.4	Andre fiskearter	48
14.2.5	Skjell	49
15.	Litteraturhenvisninger	50

Forord

Det er økende oppmerksomhet og interesse for oppdrett av marine arter. Erfaringene fra lakseoppdrett og fra annet husdyrhold tilsier at avl er svært viktig for å få en lønnsom produksjon også av de marine artene, og at det er viktig å komme i gang med avlsarbeid så tidlig som mulig.

For å utrede muligheter og problemer knyttet til avlsarbeid på aktuelle marine arter samt utrede forskningsmessige utfordringer knyttet til temaet, oppnevnte Forskningsrådet våren 2002 en gruppe av fagpersoner. Resultatet av gruppens arbeid presenteres i denne rapporten.

Gruppen takkes for utført arbeid.

Oslo, januar 2003

Bioproduksjon og foredling
Norges forskningsråd

1. Oppnevning og mandat

Norges forskningsråd oppnevnte i brev av 3. mai 2002 en gruppe for å utrede muligheter knyttet til avlsarbeid på marine arter i oppdrett.

Medlemmer:

Professor Gunnar Nævdal, Universitetet i Bergen (leder)
Professor Svein-Erik Fevolden, Norges fiskerihøgskole, Universitetet i Tromsø
Forsker, dr. Michael Møller Hansen, Danmarks Fiskeriundersøgelser
Professor Odd Vangen, Norges landbrukshøgskole

Kontaktperson i Forskningsrådet: Rådgiver Rolf Giskeødegård.

Gruppen har hatt følgende mandat:

Utrede muligheter og problemer knyttet til avlsarbeid på aktuelle marine arter i oppdrett i Norge, samt å utrede forskningsmessige utfordringer knyttet til temaet.

Ifølge oppnevningensbrevet var det en forutsetning at gruppen skulle avslutte sitt arbeid og legge fram rapport i løpet av høsten 2002.

Gruppen hadde konstituerende møte 30. mai, og deretter tre møter i løpet av høsten 2002. Alle medlemmene pluss Forskningsrådets kontaktperson har vært tilstede på samtlige møter.

Innstillingen er basert på medlemmenes faglige kompetanse samt på sentrale dokumenter (utredninger, rapporter) og vitenskapelige publikasjoner.

Bergen/Silkeborg/Tromsø/ Ås november 2002

Svein-Erik Fevolden Michael Møller Hansen Odd Vangen

Gunnar Nævdal
(leder)

2. Sammendrag

Bakgrunnen for komiteens arbeid er en økende interesse for FoU-arbeid innenfor avl og genetikk (genetisk foredling) for nye oppdrettsarter, og at det derfor er et behov for en vurdering og en generell diskusjon om muligheter og begrensninger for slikt arbeid. En viktig side ved dette er å skissere FoU-behovet for å heve den generelle biologiske og tekniske kunnskapen som er nødvendig for å gjøre avlsarbeid mulig. Dernest å vurdere spesielle FoU-behov for å kunne starte avlsarbeid på de mest aktuelle artene. I dette dokumentet er muligheter og begrensninger for avl og genetikk på marine oppdrettsarter vurdert generelt uten at det blir tatt stilling til oppgavedeling. Det er blant annet tatt sikte på at det skal være et faglig dokument som kan være nyttig for utarbeidelse av prosjektsøknader og for søknadsbehandling.

For alle arter som blir etablert som oppdrettsarter, er avlsarbeid aktuelt ut fra den generelle erfaring at det i naturen finnes arvelig variasjon som gjør at ulike populasjoner og individer er av ulik verdi når det gjelder muligheter for å tilpasse seg til og gi utbytte i en oppdrettssituasjon. For arter som kveite og torsk er det produsert et begrenset oppdrettsmateriale som egner seg for å vurdere graden av slik variasjon samt mulighetene for å utnytte den i praktisk oppdrett. Andre arter som kan være aktuelle er piggvar, steinbit, andre fiskearter samt skjellarter som kamskjell, østers og blåskjell. Det generelle kunnskapen i forbindelse med kontrollert produksjon står på høgst ulike nivå for disse artene, og i hvert fall for noen av dem er kunnskapsnivået ennå altfor lavt til at det er mulig å vurdere genetisk foredling.

Utvalget har forsøkt å registrere igangværende arbeid innen avl og genetikk nasjonalt samt listet et utvalg av internasjonale prosjekter. Nasjonalt er igangværende og planlagte arbeid med kveite og torsk sentrale, og blant de utenlandske prosjektene er det arbeid med kamskjell, østers, regnbueørret og channel catfish (maller) som er mest iøynefallende foruten arbeidet som er gjennomført vedrørende *Tilapia*.

Avlsmål bør vurderes før et avlsarbeid settes i gang. Veksthastighet og tilpasning til oppdrettsformål er viktig for så godt som alle arter. For fisk vil som regel alder ved kjønnsmodning være viktig fordi kjønnsmodning i løpet av en normal produksjonsyklus reduserer veksten og påvirker produktkvaliteten. Andre produksjonsegenskaper vil være knyttet til resistens mot sykdommer og parasitter samt ulike artsspesifikke mål for produktkvalitet. Det vil være ønskelig og nødvendig å registrere flere egenskaper ved forsøksmaterialet enn de som er aktuelle for genetisk foredling fordi dette vil gi grunnlag for å vurdere eventuelle uheldige sider ved avlsarbeidet (korrelerte karakterer).

En absolutt forutsetning for å starte et avlsarbeid eller avlsprogram for en ny art er at de teknisk/biologiske sidene ved oppdrettet beherskes så godt at en med rimelig grad av sikkerhet er i stand til å oppdrette familier eller andre mindre grupper og registrere de aktuelle egenskapene i et strukturert forsøksmateriale. Dette vil igjen si at en behersker reproduksjonsfasen under oppdrettsforhold for de aktuelle artene. For kveite, torsk og piggvar synes denne forutsetningen å være oppfylt, mens for de andre aktuelle artene kreves det fortsatte teknisk/biologisk FoU-arbeid for å kunne prediktere overlevingen for forsøksmaterialet som skal brukes. For arter der oppdrettsteknikken beherskes i en rimelig grad, vil FoU-behovet først og fremst være å definere avlsmål, undersøke variasjonen i de aktuelle karakterene, berekne den arvelige komponenten og andre genetiske parametre, og å planlegge det videre avlsarbeidet ut fra de resultatene som foreligger.

Et større avlsprogram må bygge på et rimelig stort basismateriale for å kunne ”fange opp” så mye som mulig av den genetiske variasjonen som finnes. Dessuten er det viktig at et slikt materiale er stort nok til at innavl ikke blir et stort problem i kommende generasjoner. Innledende undersøkelser kan baseres på et mer avgrenset materiale, men det er viktig at et større program baseres på et stort utgangsmateriale også fordi at av hygieniske grunner vil det som regel ikke være mulig eller ønskelig å supplere det avlsmateriale som et avlsprogram bygger på. Ulike stammer eller populasjoner bør være representerte i basismaterialet da de kan ha ulik verdi i oppdrett. Om stammene skal blandes vil være en vurderingssak i forbindelse med mulige framtidige miljøproblem og behovet for å bryte opp eventuelle koplinger mellom egenskaper. For kveite og torsk finnes det betydelige basispopulasjoner allerede. Det er usikkert om de er representative for den naturlige variasjonen som finnes, og om de representerer de aktuelle subpopulasjoner. Det antas at de bør suppleres før et større avlsprogram blir startet.

Klassisk avl bygger på å måle eller registrere egenskaper i et stort materiale som er strukturert med hensyn på slektskap. Dette gir grunnlag for å beregne arvelig variasjon i de egenskapene som er aktuelle å endre (jfr. avlsmål) samt andre viktige genetiske parametre som vil være avgjørende for det videre avlsarbeidet. Den viktigste parameteren er arvbarheten (arvegraden) som uttrykker hvor stor del av den fenotypiske variasjonen som er bestemt av uavhengige (additive) arveegenskaper. Dette forutsetter at individene kan identifiseres med hensyn på tilhørighet, enten ved at familier holdes atskilt eller at de kan merkes. Det første kan gi feil på grunn av systematiske miljøvariasjon, og det andre er arbeidskrevende, kostbart og det kan påvirke individene. Hypervariable molekulære markører (mikrosatellitter eller andre typer DNA variasjoner (AFLP, RFLP) kan brukes som genetiske merker for å kjenne igjen familier og andre grupper. Dermed kan ulike familier (grupper) oppdrettes sammen slik at en unngår å holde dem i separate enheter.

Verdien av de genetiske parametrene, antall karakterer som skal forbedres, muligheten for å måle egenskapene på levende organismer etc. avgjør videre planlegging av avlsarbeidet. Mange karakterer tilsier liten vekt på den enkelte karakterer og følgelig mindre forventning av arvelig framgang. I slike tilfeller vil det være naturlig å vekte egenskapene ved en indeks som fastlegges på grunnlag av betydningen de ulike karakterene har for utbyttet av produksjonen, samt av arvegraden. For egenskaper som bare kan registreres på døde dyr (for eksempel produktkvalitet), må utvalget av stamdyr for neste generasjon baseres på familiegjennomsnittet. Det mest effektive utvalget baseres på utvalg av individer innen de familiene som har høyest avlsverdi. Dette er imidlertid et komplisert opplegg som er mest aktuelt for de mest verdifulle artene, mens for mer marginale oppdrettsarter vil et enklere opplegg med utvalg (individutvalg) basert på et fåtall karakterer, være å foretrekke.

Det er uklart om og i hvilken grad ikke-additiv arv (arveegenskaper som virker sammen) kan utnyttes i avl for marine organismer. Dette vil i tilfelle være krysningsavl, det vil si sammenkryssning av linjer eller subpopulasjoner. Disse kan ha vært innavl gjennom generasjoner.

Molekulære metoder kan også brukes til å identifisere såkalte QTL (quantitative trait loci) som er markører som er tett koplet til gener som har betydning for produksjonskarakterer. Dermed kan utvalget baseres direkte på markørene, såkalt ”marker-assisted selection”. Denne typen avlsarbeid krever et omfattende forarbeid, og det er uklart i hvilken grad den på det nåværende teknologiske stadiet kan supplere klassisk avlsarbeid, men det må under alle omstendigheter antas å være metodikker med et stort

fremtidig potensiale. En omfattende registrering av egenskaper for å finne markørene er i alle fall nødvendig.

Som supplement og alternativ til klassisk avlsarbeid kan kromosommanipulasjoner og kjønnsforskyvning være aktuelt. Gynogenese (morarv) og triploidisering (tre sett kromosomer) er prosesser som har vært forsøkt for å løse problemene med tidlig kjønnsmodning. Populasjoner av bare hunndyr kan lages ved føring med kjønns-hormoner for å produsere genetisk hunnfisk som er funksjonelle hanner. Når disse pares med normale hunnfisk, produseres bare hunndyr. Disse metodene har vært forsøkt på laksefisk, og de brukes trolig i en viss utstrekning for regnbueørret i enkelte land. Skal de brukes for nye arter, krever dette tilpasningsarbeid, og bruk av slike metoder vil også ha etiske og markedsmessige aspekter.

Transgene organismer, det vil si overføring av arveegenskaper fra en art til en annen, er også forsøkt for laksefisk. Slike metoder vil i høg grad ha etiske, miljømessige og markedsmessige aspekter.

Bruk av korrelerte karakterer, det vil si å finne karakterer som er målbare og dernest forsøke å korrelere dem til viktige karakterer som er vanskelige å måle eller registrere, er forsøkt på laksefisk, spesielt for å forbedre sjukdomsresistensen. Arbeidet så langt har vist interessante korrelasjoner mellom enkelte egenskaper, men ikke alltid positive til flere egenskaper samtidig. Slike metoder vil derfor neppe bli sentrale for nye arter med det første.

Miljøkonsekvenser av avlsarbeid vil spesielt være knyttet til rømming av oppdrettsdyr. Utvalg for bedre tilpasning til oppdrettsforhold og for bedre økonomisk utbytte, er svært forskjellig fra naturlig utvalg i de ville populasjonene. Det vil derfor være rimelig å anta at foredla dyr (fisk og andre akvatiske organismer) vil være dårligere tilpasset naturlige forhold enn organismer som er selektert i naturen (samspill mellom genotype og miljø). Ved rømming kan de påvirke de naturlige populasjonene og ved innkrysning gjøre dem mindre godt tilpasset sitt naturlige miljø. Dette er konsekvenser som er omtrent umulige å forutse, og føre vår prinsippet bør ivaretas, spesielt ved overføring av organismer mellom regioner. Dette er muligens mest aktuelt for skjell der oppdretta organismer lever i spesielt nær kontakt med sine ville artsfrender. Under alle omstendigheter anbefales det å analysere den genetiske sammensetning av de ville populasjonene av de aktuelle artene før storstilt oppdrett finner sted. Dette vil sikre at vi seinere kan analysere den genetiske sammensetningen av bestandene på nytt og vurdere i hvilket omfang rømt fisk har forårsaket en genetisk påvirkning av de ville bestandene.

Det er en forutsetning at avlsarbeid ikke skal føre til markedsmessige og etiske konsekvenser for produsenten og produktet. Foredla produkter skal vise de karakteristiske trekk for arten, og de må ikke komme i vanry på grunn av uetiske produksjonsmetoder. Det vil alltid være nødvendig å måle og registrere viktige biologiske trekk ved oppdrettsorganismene uten at dette nødvendigvis inngår i utvalgsarbeidet. Dette vil gi tidlige varsel om uønska effekter av foredlingsarbeidet. Åpenhet i produksjonen, kunnskapsformidling og informasjon til markedet, forvaltningen og allmennheten er viktige elementer som bør sikre at produktene blir aksepterte.

FoU-behov er oppsummert i kapittel 14.

3. Bakgrunn og formål med arbeidet

Det synes å være en økende interesse for FoU-arbeid innenfor avl og genetikk for nye oppdrettsarter. Forskningsrådet ser et behov for en generell diskusjon om dette for aktuelle marine oppdrettsarter samt grunnlaget for avlsplaner, og følgelig for forskningsbehov, innenfor dette fagområdet, og derfor ble denne gruppen oppnevnt. I dette dokumentet er formålet å vurdere muligheter og begrensninger for avl og genetikk på marine oppdrettsarter generelt uten å ta stilling til oppgavedeling mellom FoU enhetene i Norge. Det kan blant annet være et faglig dokument som skal være nyttig for utarbeidelse av prosjektsøknader og for søknadsbehandling innen fagområdet.

Avlsarbeid tar sikte på å utnytte variasjoner som finnes i naturen til å oppnå bedre produksjonsegenskaper i ett for arten nytt miljø. I naturen foregår naturlig seleksjon, der de best tilpassede overfører genene sine til neste generasjon. Det er predasjon og konkurranse om mat, make og plass. I oppdrett blir det meste av denne konkurransen fjernet. I stedet gis det mulighet til å selektere for andre egenskaper; nemlig de som fra en økonomisk og produksjonsmessig synsvinkel er de beste.

Avlsarbeid er normalt basert på naturlig arvelig variasjon mellom individer innenfor samme art (reinavl), men kan også baseres på overføring av genetisk kontrollerte egenskaper mellom eller innen arter (transgene organismer) og kromosom-manipulasjoner (triploidi, tetraploidi, kjønnsforskyving). I oppdrettssammenheng er formålet å forbedre egenskaper som gir økt utbytte, enten i form av større produksjon, bedre kvalitet eller bedre tilpasning til oppdrettsforhold (overlevingssevne i oppdrett). Egenskaper som en ønsker å endre, må enten kunne registreres eller måles på levende dyr som er avlskandidater, og/eller på levende eller slakta søskengrupper eller andre nære slektninger av avlskandidatene. Bruk av kvantitativ genetikk i avlsarbeidet er basert på at det finnes en genetisk variasjon i de egenskapene som en er ute etter å endre. Egenskaper kan også endres gjennom seleksjon for egenskaper som er genetisk korrelert til den/de egenskapene en ønsker å endre. Avlsarbeidet er basert på å registrere variasjonen i egenskapene av interesse, gjøre utvalg av avlsdyr basert på informasjon om individet og/eller dets slektninger for en eller flere egenskaper, og å utnytte de selekterte individ for å produsere neste generasjon.

4. Aktuelle arter og igangværende FoU-aktivitet

4.1 Norske oppdrettsarter og nasjonal FoU-aktivitet

For alle arter som blir etablert som oppdrettsarter, er avlsarbeid aktuelt. Dette er basert på erfaring med etablerte arter, i Norge først og fremst laksefisk. Arter i naturen viser normalt stor variasjon i en rekke egenskaper både mellom individer og populasjoner, og en stor del av denne variasjonen har innvirkning på evnen til å tilpasse seg og til å gi høyt utbytte under oppdrettsforhold. Avlsarbeidet kan gjennomføres på ulike måter, blant annet avhengig av hvilke avlsmål, hvilke og hvor mange karakterer som inngår, hvor stor variasjon som finnes innen og mellom de naturlige populasjonene, og i hvor stor grad denne variasjonen er arvelig bestemt. Dette vil variere fra art til art, og dette vil bli nærmere behandlet i de følgende kapitlene. Dessuten vil det være naturlig å bruke størst ressurser på de mest verdifulle artene eller arter som antas å få stor betydning, mens innsatsen på mer marginale arter vil være mindre med et enklere opplegg.

En del relevante prosjekt og program er i gang i regi av Forskningsrådet og andre. Derfor fant gruppen at det er ønskelig og nødvendig å få en best mulig oversikt, fortrinnsvis dokumentert ved rapporter og publikasjoner, over relevant arbeid som er i gang, samt over den infrastruktur, kompetanse og ekspertise som finnes. Forskningsrådet har stilt disse rapportene og publikasjoner til disposisjon for gruppen. Gruppemedlemmene har også, så langt det har vært mulig, kartlagt utenlandske prosjekter og programmer som er relevante for tilsvarende arbeid hos oss, og spesielt lagt vekt på å finne fram til dokumenterte metodebeskrivelser og resultater.

4.1.1 Kveite

Kveite kan i dag sies å være etablert som oppdrettsart, men produksjonen er fremdeles liten. Yngeloppdrettet er fremdeles vanskelig og lite predikterbart. Den opprinnelige stamfiskpopulasjonen, basert på innfanget kveite, er begrenset, og trolig er den effektive stamfiskpopulasjonen ganske liten. De tekniske problemene med yngeloppdrett gjør klassisk avlsarbeid, med separat oppdrett av avkomsgrupper, vanskelig, arbeidskrevende og kostbart.

Strategier for avlsarbeid på kveite er utredet av AKVAFORSK (1999), og innledende forsøk på å registrere variasjoner i produksjonskarakterer er gjennomført ved samme instituttet (Strategisk program 113052/140, *Avlsforskning på kveite*, sluttrapport av 5. januar 2001). Instituttet har 22 familier under oppvekst (8 klekka i 1997 og 14 klekka i 1998). Resultatene så langt viser stor variasjon mellom familier i vekst og overleving, og dette gir klare perspektiver på framtidige muligheter selv om utgangsbestanden neppe er stor nok til å fange opp variasjonen som finnes, og heller ikke som grunnlag for et framtidig avlsprogram. Genetisk merking og forøvrig klassisk avlsarbeid kan være en vei å gå for å kunne planlegge et systematisk langsiktig avlsprogram. Markører (mikrosatellitter) som egner seg for slikt arbeid, er utviklet og tilgjengelige, blant annet ved Havforskningsinstituttet. Det vil være en utfordring i kommende år å videreutvikle og tilrettelegge for avl, fortrinnsvis basert på genetisk merking, utvide basispopulasjonene og estimere de viktigste populasjonsgenetiske parametrene.

I det videre arbeidet for å etablere et nasjonalt kveiteavlslararbeid deltar representanter for AKVAFORSK, Havforskningsinstituttet, Høgskolen i Bodø, Nordlandsforskning og oppdrettsnæringen.

Innledende forsøk med produksjon av gynogenetisk kveite (SIP 113052/140) ga så lav overleving at forsøkene foreløpig ble avsluttet. Men tatt i betraktning at hunnkveite synes langt mer verdifull som oppdrettsfisk enn hannkveite, ligger det her en utfordring for fortsatt FoU-arbeid.

4.1.2 Torsk

Intensivt oppdrett av torsk har fått fornyet interesse de siste to årene, og det er nå lagt planer for omfattende avlsarbeid med denne arten. Også for torsk har yngeloppdrettet, spesielt første fôropptak, vært flaskehalsen, men synes nå å være predikterbart, og det er derfor mulig å oppdrette avkomstgrupper separat. Genetisk merking med hypervariable mikrosatellitter kan også her være et godt hjelpemiddel, og tilrettelegging av denne metoden er en FoU utfordring. I og med at tidlig kjønnsmodning er et hovedproblem for torsk i oppdrett, vil utvikling av etisk og markedsmessig forsvarlige metoder for sterilisering av produksjonsdyr være en framtidig utfordring.

Forskning vedrørende avl og genetikk på torsk, intensiveres i Tromsø, både ved Norsk institutt for fiskeri- og havbruksforskning (Fiskeriforskning) og ved Norges fiskerihøgskole (Universitetet i Tromsø), med bakgrunn i Stortingsproposisjon nr. 1 for 2001/2002 og 2002/2003. En ny avlsstasjon for torsk ved Havbruksstasjonen i Tromsø er under prosjektering av Statsbygg. Det er også i gang innledende forsøk med avkomsgrupper av torsk knyttet til det strategiske instituttprogrammet (SIP) 139630/140 *Reproduction and breeding in marine fish* (2000-2004) der Havforskningsinstituttet (Austevoll havbruksstasjon) har et formelt samarbeid med AKVAFORSK og Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet (NTNU). Så langt er det produsert ca. 50 familier av skrei og kysttorsk, og dette synes å være et godt utgangspunkt for videre avlsarbeid.

Hovedformålet med dette programmet er å øke kunnskapen om reproduksjonsbiologi hos torsk og kveite og dermed legge et grunnlag for utvikling av effektive avlsprogram.

4.1.3 Piggvar

Det er fremdeles usikkert om piggvar har framtid som oppdrettsfisk i Norge, og i tilfelle synes denne arten bare å være aktuell ved oppdrett i oppvarmet vann; det vil i praksis si utnytting av spillvarme fra store industrianlegg (Tjeldbergodden, Øie Smelteverk, Mongstad o.l.). Problemene med oppdrett av små grupper (avkomsgrupper) er mindre enn for kveite, men ikke ubetydelige, og også her er markørassistert klassisk avlsarbeid aktuelt. I det store og hele er de forskningsmessige utfordringene omtrent de samme som for kveite; det vil si etablering av basispopulasjoner, estimering av genetiske parametre, bruke genetiske markører som redskap i avlen (primere for en rekke mikrosatellitter er beskrevet), og eventuelt legge til rette for å produsere bare hunnfisk.

4.1.4 Steinbit

Steinbit er ennå ikke etablert som oppdrettsart i Norge, men det er antatt at i hvert fall flekksteinbit har et potensiale her. Første fôropptak er enklere enn for de andre marine fiskeartene, og klassisk avl synes derfor å ha muligheter selv om markørassistert avlsarbeid også her er aktuelt. Forøvrig er det nødvendig å heve det generelle kunnskapsnivået før videre avlsarbeid kan planlegges. Muligens ligger det en utfordring i å under-

søke produksjonspotensiale for steinbit fra ulike områder i Nord-Atlanteren (Barentshavet, Island, Grønland, Vest-Atlantiske farvann).

4.1.5 Andre fiskearter

Det utføres FoU-arbeid med en del andre fiskearter som hyse, lysing, berggylte m.m. Oppdrettsteknologien må etableres før det er aktuelt med avlsarbeid, men dersom noen av disse artene viser seg å være aktuelle for oppdrett (etablert teknologi og økonomi) vil avlsarbeid bli aktuelt. Det antas at de andre torskefiskene, i likhet med torsken, vil bli tidlig kjønnsmodne i oppdrett, og metoder for å utsette kjønnsmodningen eller produsere steril fisk, vil bli en forskningsmessig utfordring.

4.1.6 Skjell

Kamskjell

Teknikken for oppdrett av kamskjell er ennå for lite prediktiv for å drette opp avkomsgrupper av denne arten. Genetisk merking og kanskje markørassistert avl er aktuelt, og denne arten viser usedvanlig stor variasjon både på protein- og mtDNA-nivå. Foruten tilvekst synes overleving under oppdrettsforhold å være en viktig egenskap å arbeide med.

Østers

Også for østers er det vanskelig å etablere rasjonell teknikk for oppdrett av små grupper. I hvert fall flatøsters synes å vise lite individuell variasjon både på protein og DNA-nivå, og bruk av genetiske markører trenger et omfattende forarbeid. Erfaring fra andre land (se nedenfor) antyder at det finnes genetisk variasjon både i vekstevne og i resistens mot parasitter.

Blåskjell

Blåskjell for oppdrett "fanges" normalt ved naturlig påslag av yngel. Denne metoden egner seg ikke for avlsarbeid da en ikke kan kontrollere reproduksjonsfasen. Imidlertid viser blåskjell stor variasjon i veksthastighet og form, og dersom noe av denne variasjonen er arvelig kontrollert, gir det muligheter for å etablere oppdrettspopulasjoner med forbedrede produksjonsegenskaper. Dette krever imidlertid utvikling av teknologi for gyting og yngelpåslag under kontrollerte betingelser. Dersom dette er aktuelt, er det muligheter for å etablere foredlede oppdrettspopulasjoner av denne arten.

4.1.7 Andre arter

Sjøpiggsvin er delvis etablert som oppdrettsarter, men hittil mest for oppfôring av innfanga dyr. Dersom det etableres teknikk for intensivt oppdrett av hele livssyklusen, kan avlsarbeid bli aktuelt. Dette gjelder også hummer, og andre arter som foreløpig bare er på "idéstadiet" (sjøpølser, ulike krepsdyr).

4.2 Internasjonale prosjekt

De fleste internasjonale publiserte arbeidene gjelder ulike skjellarter, og gjennomgående er det estimert moderate til høye verdier for arvegrad (arvbarhet) for størrelse (0,08-0,55, i ett tilfelle helt opp i 0,92), positiv respons på seleksjon og indikasjoner på innavlsdepresjon (Gjedrem 2001). Dette skulle tilsi at det er mulig å øke produksjonen av disse artene ved genetisk foredling. I det følgende er spesielt nevnt noen internasjonale programmer som er knyttet til avlsarbeid på marine arter eller enkeltarbeider som er relevante med hensyn på å vurdere muligheter og begrensninger for slike programmer i Norge.

I Irland er påvist ulik prevalens, ulik grad av infisering og ulik dødelighet av parasitten *Bonamia ostreae* blant tre stammer av flatøsters, *Ostrea edulis*. Den mest resistente stammen hadde vært i kontakt med parasitten i nærmere 20 år, og stamdyr var tatt fra de som overlevde (Culloty et al. 2001). Dette synes å vise at det finnes arvelig variasjon i resistens mot parasitter, noe som antyder at det kan være mulig å avle fram oppdrettsstammer som er motstandsdyktige mot en viktig parasitt som *Bonamia ostreae*.

Fra Australia er beskrevet avlsarbeid både for stillehavsøsters, *Crassostrea gigas*, og ”steinøsters”, *Saccostrea glomerata*. For den sistnevnte arten er påvist effekt av seleksjon når det gjelder vekst (18 % forbedret vekst etter to generasjoner). Dessuten er de påvist hurtigere vekst etter triploidisering, og det er antydnet forbedret motstandsevne mot en encellet parasitt (Nell et al. 2000). Hos stillehavsøsters er påvist QTL, og det er også satt i gang konvensjonelle avlsprogram samt produsert triploide dyr (Ward et al. 2000). Det er for tidlig å evaluere resultatene fra programmet som startet i 1996/97.

I Frankrike er påvist stor variasjon i reproduksjonsevne hos stillehavsøsters, og i hvert fall en del av denne variasjonen synes å være arvelig bestemt (Boudry et al. 2002). Forsøksdyra ble genetisk merket (mikrosatellitter).

Det synes å være gjennomført eller startet langt færre avlsprosjekter med fisk enn med mollusker. Noe arbeid har vært gjort på maller og regnbueørret, og det er gjennomført foredling av oppdrettstilapia (Nile *Tilapia*) på Filippinene (Bentsen et al. 1997). I dette prosjektet ble det benyttet en annen basepopulasjon-strategi enn hva som ble gjort for oppdrettslaksen i Norge. De ulike linjene/subpopulasjonene ble krysset, og det ble ikke selektert intensivt de første generasjonene. Slik ble det sikret stor genetisk bredde i basepopulasjonen sammenliknet med da basepopulasjonen for norsk oppdrettslaks der det ble gjort relativt sterk seleksjon mellom populasjonene fra de ulike elvene.

5. Avlsmål

Alt avlsarbeid har som formål å få fram populasjoner som i gjennomsnitt er mer produktive i oppdrett enn det som kan oppnås ved innsamling av stamdyr i naturen. For alt oppdrett er forbedring av tilvekst og fôrutnytting aktuelt, men en rekke andre karakterer kan være aktuelle. Avlsarbeidet for laks inkluderer sju egenskaper, men for de nye artene er det trolig ikke aktuelt å arbeide med så mange, i hvert fall ikke i første omgang.

For at egenskaper skal tas med i avlsmålet for nye arter, må tre kriterier være oppfylt: (1) egenskapen må kunne måles eller bedømmes til en akseptable kostnad, (2) egenskapen må ha økonomisk betydning for den enkelte oppdretter eller for næringen som helhet og (3) egenskapen må vise arvelig variasjon. Den genetiske framgangen per egenskap blir redusert med økende antall egenskaper i avlsmålet, og det er naturlig for nye arter å starte med basisegenskapene, og så gjøre oppleggene mer sofistikerte, dvs. gjennom å addere nye egenskaper etter hvert.

For hver art er det nødvendig å definere avlsmål basert på de krav som markedet setter og de ønsker som næringen har. Det vil så være en utfordring for FoU og for nærmere utredning å finne hvilke avlsmål som er realistiske og økonomisk forsvarlige samt om i hvilken grad de enkelte ønskene skal prioriteres.

Tilvekst og fôrutnytting

For alle fiskeartene er forbedret tilvekst aktuelt. Det er aldri bekreftet, men det antas at bedre vekst betyr bedre fôrutnytting, og i og med at fôret representerer de største variable utgiftene i oppdrett, er fôrutnytting trolig den viktigste egenskapen for god økonomi i oppdrett. Forbedret tilvekst er også aktuelt for skjell, men i og med at disse organismene tar maten direkte fra sjøen, er fôrutnytting ikke så viktig som for fisk som fôres. For alle artene betyr forbedret vekst kortere livsløp og dermed bedre utnyttning av oppdrettsfasilitetene.

Alder ved kjønnsmodning

Alder ved kjønnsmodning er også en viktig karakter fordi kjønnsmodning i løpet av produksjonstiden stopper eller forsinker veksten og har negativ innvirkning på produktkvaliteten. Det er derfor viktig å undersøke om alder ved første kjønnsmodning viser arvelig variasjon, og i tilfelle selektert bort den delen av populasjonen som viser tidlig kjønnsmodning. Bruk av kromosommanipulasjoner kan være spesielt aktuelt for denne egenskapen.

Produktkvalitet

Kvalitet er et generelt begrep som kan innbefatte mange egenskaper, og som bør komme tidlig inn i avlsarbeidet. For laks er det særlig muskelpigment og fettinnhold/fettfordeling som har vært aktuelt for genetisk seleksjon. Det siste er trolig aktuelt også for nye fiskearter, og for torsk er det minst like aktuelt med muskelfiberstruktur etc. som fettmengde/fettfordeling. Også kroppsform kan få betydning, for eksempel for torsk kan det være aktuelt å avle fram den lange og relativt tynne "skreitypen" eller den mer butte og runde "kysttorsktypen". Avlsmålene bestemmes her langt på veg av hva markedet ønsker forutsett at det gjelder egenskaper som er arvelige og som kan måles eller registreres for et stort antall individer med rimelig ressursbruk.

Sjukdomsresistens

Resistens mot de viktigste sjukdommene er viktig for alle artene. Dette representerer imidlertid et viktig forskningsfelt. For laks er variasjonen i resistensen mot noen sykdommer så klar at denne egenskapen kan brukes som seleksjonskriterium. For nye arter krever dette imidlertid et omfattende forskningsarbeid der individuell variasjon i resistensen må undersøkes for hver art og for hver enkelt av de mest aktuelle sykdommene. Hvorvidt det er aktuelt å arbeide med korrelerte karakterer som stressrespons, antistoffproduksjon eller liknende, er usikkert (se side 39-40).

Andre egenskaper

Det er ikke bare de egenskaper en velger å gjøre utvalg for, en må sørge for å registrere/overvåke. En rekke korrelerte egenskaper kommer til syne etter hvert som seleksjonen for f.eks. tilvekst er vellykket. Det bør legges opp til en overvåking/periodisk registrering av egenskaper som ikke legges inn i avlsarbeidet i første omgang.

6. Tekniske forutsetninger og forskningsbehov

En forutsetning for å kunne planlegge og gjennomføre et avlsarbeid eller avlsprogram er at oppdrettsteknologien for den aktuelle arten ligger på et nivå som tilsier at det med stor sannsynlighet er mulig å samle inn de data som kreves for å beregne genetiske parametre og estimere gruppenes eller individenes avlsverdi. Hittil har dette vært vanskelig for de marine artene fordi overlevingen synes langt på vei å være tilfeldig, det vil si at det er mange ukjente eller lite kjente faktorer som virker inn på overlevingen, spesielt på de tidlige stadiene. Etter hver er dette blitt bedre, og i dag er overlevingen for torsk, piggvar og kveite så god at en med rimelig grad av sikkerhet kan anta at en vil få data for de gruppene eller individene som inngår i et forsøksoppsett. Genetisk merking vil til en viss grad gjøre denne forutsetningen mindre viktig da mange avkomsgrupper kan blandes alt fra eggstadiet og holdes i et felles miljø og identifiseres i forbindelse med datainnsamling. Større grupper gjør den tekniske delen av oppdrettsvirksomheten enklere samtidig som systematiske miljøeffekter unngås og påliteligheten av data, og dermed estimatene av genetiske parametre, blir bedre.

Det er nødvendig å beherske reproduksjonen under kontrollerte betingelser for å starte et effektivt avlsarbeid. For marine arter har dette vært et stort problem, spesielt fordi første næringsopptak under oppdrettsforhold er vanskelig å beherske. Overlevingen er oftest liten, variabel og tilsynelatende tilfeldig. Det eksisterer ingen optimal metode eller protokoll for yngeloppdrett for marine arter, og derfor er det nødvendig å ”ta høyde for” stor avgang av familier og andre grupper som inngår i avlsforsøkene. Hos AKVAFORSK er det de siste årene oppnådd separat oppdrett av et betydelig antall familiegrupper av kveite og torsk (se s. 9-10), men bare en del av de innlagte gruppene var mulig å få gjennom startfôringsstadiet. Vi er her på omtrent samme stadiet når det gjelder kveite og torsk som lakseoppdrettet var tidlig på 70-tallet. I tillegg til merarbeid og merkostnader ved at det er nødvendig å starte med et langt større antall familier enn det som er planlagt å føre fram, knytter det seg usikkerhet til den variable overlevingen. Det synes uklart om dette reflekterer arvelig variasjon i evnen til å tilpasse seg oppdrettsmiljø, eller om det er så marginale forskjeller mellom ”liv og død” i de tidlige stadiene at det er mer eller mindre tilfeldigheter som er avgjørende.

Det er et vurderingsspørsmål i hvert enkelt tilfelle om det generelle kunnskapsnivået er høgt nok til at det anses regningssvarende å sette i gang arbeid med utnyttelse av kvantitativ arvelig variasjon. Dersom det er praktisk mulig, vil det gi verdifull informasjon å kjenne slektskapet i et forsøksmateriale. Som regel vil dette si å bruke genetiske markører til å merke familier eller grupper av ulike opphav, og å registrere viktige produksjonskarakterer for å få et førsteinntrykk av variasjon og variasjonsårsaker til hjelp for videre planlegging.

Før det etableres et stort og langvarig avlsprogram for en art, er det nødvendig å vurdere antatt omfang av framtidig virksomhet; ikke minst hvor mange og hvilke egenskaper det tas sikte på å forbedre. Dersom det er snakk om en eller et par egenskaper, kan opplegget være enkelt. Men om en bare skal drive avlsarbeid for én egenskap, kreves kunnskap om arvbarhetens størrelse for å optimalisere bruk av informasjon om dyret og eller slektinger. Uansett er det nødvendig å starte med en bredt anlagt basispopulasjon for å fange opp mest mulig av den genetiske variasjonen som finnes hos arten, og det er

absolutt nødvendig å vurdere resultatene opp mot en ikke selektert kontrollpopulasjon. Videre er det nødvendig å ta skritt for å unngå innavl i kommende generasjoner, og derfor vil det være ønskelig, og på lengere sikt helt nødvendig, å kjenne slektskapet innen basispopulasjonen for å unngå sammenparing av nære slektninger. Markørassistert avl vil være nyttig, men det vil være et kostnadsspørsmål om og i hvilken grad dette vil lønne seg.

Ethvert avlsarbeid som utnytter den arvelige variasjonen, og som har som mål å endre en eller flere egenskaper, er avhengig av kunnskap om de genetiske parametrene. Dette vil være grunnlaget for å utarbeide avlsmål, registreringssystem, avlsverdier (indekser) og seleksjonsprogram, samt for å oppnå genetisk framgang i populasjonene. Særlig viktig vil det være å kjenne de genetiske og miljømessige sammenhengene mellom egenskapene og å kunne vurdere samspill mellom arv og miljø, det vil si om de samme genotypene er best i de ulike miljøforhold eller om en bør ha separate avlsprogram for ulike produksjonsmiljø.

7. Basispopulasjoner

Det er ønskelig for et effektivt avlsarbeid at basispopulasjonene, det vil si grunnpopulasjonene som samles inn fra naturlige populasjoner, representerer den variasjonen som finnes i naturen. Dette kriteriet kan aldri oppfylles fullstendig, men det er viktig at en starter med så bredt grunnlag som mulig både for å ha representert mest mulig av den naturlige variasjonen i de aktuelle karakterene, og for å ha tilstrekkelig grunnlag for å unngå sterkt innavl i kommende generasjoner. En god basis for en populasjon til å starte avlsarbeidet ut fra, bør bestå av flere hundre individer. Dette er godt mulig når det gjelder arter som torsk, kamskjell, østers o.l., men er vanskelig for eksempel for kveite. Når det gjelder kveite, finnes det i Norge i dag både stamfisk som er innfanget villfisk, og oppdrettet stamfisk. Imidlertid er det store sjanser for at den delen av stamfisken som er oppdrettet, representerer beslektete individer da den totale oppdrettspopulasjonen av kveite i Norge har bestått av relativt få individer, og bare en del av disse har gitt avkom. Et avlsarbeid på kveite bør derfor ikke baseres på eksisterende stamfiskbestander alene.

For torsk, som for annen oppdrettsfisk, må det for valg av stamfisk tas hensyn til den genetiske variasjonen som eksisterer mellom ulike naturlige bestander av arten. Dette er viktig av flere grunner, for det første at fisken bør være best mulig genetisk tilpasset det miljøet den skal oppdrettes i. Videre bør en søke å opprettholde samme grad av genetisk variasjon i oppdrettsfisken som i de naturlige bestander, og en må også ta hensyn til problem som kan oppstå hvis lokale stammer påvirkes genetisk ved rømming av oppdrettsfisk med en annen genstruktur. Når det gjelder torsk er det nå dokumentert særdeles store forskjeller i genfrekvenser mellom kysttorsk og skrei (Fevolden & Pogson 1997, Fevolden & Sarvas 2001), og nylig er det også vist at torsk i ulike fjorder i Nord-Norge skiller seg genetisk fra hverandre (Pogson & Fevolden 2002). Det pågår for tiden et intenst arbeid for om mulig å kunne skille torsk i aktuelle oppdrettsfjorder fra hverandre ved hjelp av mikrosatellitter (se nedenfor). I et avlsprogram for torsk bør en derfor i tillegg til å ta hensyn til genetiske forskjeller mellom kysttorsk og skrei også ta i betraktning den genetiske struktureringen som kan finnes på et langt mer lokalt nivå.

For torsk finnes det betydelige stamfiskbestander allerede. For oppdrettet torsk som har vært i gjennom en reproduksjonsfase basert på kollektiv gyting i gytepose, er sannsynligvis det genetiske grunnlaget betydelig redusert. Vanligvis benyttes eggene fra noen få døgn i gyteperioden, og det er vist (Havforskningsinstituttet og Universitetet i Bergen) en betydelig genetisk drift for enkelte genetiske markører (enzymkarakterer) mellom avkommet. Dette kommer trolig av at selv om en gytepose inneholder flere hundre stamfisk, vil den effektive populasjonen ved den praksis som brukes, være langt mindre. Også for torsk vil det derfor være nødvendig å basere et avlsarbeid delvis på nyinn-samlet materiale. Det samme gjelder trolig piggvar og steinbit.

For å sikre en størst mulig genetisk bredde for avlsarbeid med *Tilapia* på Filippinene (Bentsen et. al. 1997), ble det i utgangspunktet krysset fisk fra forskjellige linjer/subpopulasjoner, og det ble ikke selektert intensivt de første generasjonene (se s. 12). Dermed kunne variasjonen i utgangsmaterialet bli beholdt, og genetiske koplinger mellom karakterer innenfor linjene, kunne bli oppløst (segregasjon, crossing-over). Dermed kan karakterer som måtte være koplet sammen innenfor linjer/populasjoner, opptre som uavhengige karakterer. Denne strategien kan brukes også for nye arter, for eksempel hvis en ønsker å selektere for en egenskap som finnes i skrei og en annen som finnes i kysttorsk. Dette vil være avhengig av om det skal etableres en eller flere selekterte oppdrettspopulasjoner, og strategien trenger nøyere utredning.

8. Kvantitativ avl

8.1 Fenotypisk variasjon, variasjonsårsaker og arvegrad

Et grunnleggende krav for genetisk foredling er at det finnes variasjon i viktige egenskaper, og at denne variasjonen, i hvert fall delvis, er kontrollert av arvelige faktorer. Variasjonen måles eller registreres som varians mellom individer. For å estimere den delen av variasjonen som har genetisk bakgrunn, kan vi bruke følgende formel eller modell:

$$\sigma^2_T = \sigma^2_G + \sigma^2_D + \sigma^2_I + \sigma^2_C + \sigma^2_E + \sigma^2_M + \text{covarians}$$

der: σ^2_T : total fenotypisk varians for en egenskap i en populasjon

σ^2_G : varians forårsaket av additivt virkende gener, det vil si at effekten av de ulike genene adderes

σ^2_D : dominans og σ^2_I : epistasi, variasjon forårsaket av gener som skjuler eller forsterker effekten av hverandre, henholdsvis på samme og på ulike loci.

σ^2_C : systematisk miljøvariasjon

σ^2_E : tilfeldig miljøvariasjon

σ^2_M : variasjon forårsaket av målefeil

covarians: variasjon forårsaket av samvirkning mellom de ulike variasjonsårsakene.

Ut fra formlene overfor kan vi definere begrepet **arvegrad (arvbarhet, vanligvis kalt h^2)**, i utvidet betydning, som den delen av den fenotypiske variasjonen som er forårsaket av arvelige karakterer:

$$h^2 = (\sigma^2_G + \sigma^2_D + \sigma^2_I) / \sigma^2_T$$

Eller i mer snever betydning som den delen av den fenotypiske variansen som er forårsaket av additivt virkende arvefaktorer, og som utnyttes i reinavlsprogram:

$$h^2 = \sigma^2_G / \sigma^2_T$$

Arvegraden er en faktor som varierer mellom 0 og 1. $h^2 = 0$ vil si at ingenting av den observerte variasjonen er forårsaket av arvelige faktorer, mens $h^2 = 1$ betyr at hele den observerte variasjonen har arvelig bakgrunn. Arvegraden gjelder for en bestemt egenskap hos en bestemt populasjon eller gruppe under veldefinerte miljøforhold.

For å kjenne til hvor stor andel av den fenotypiske variasjonen i egenskapene som er genetisk kontrollert, er det behov for å beregne arvbarheten for de egenskapene det skal drives avl på. Uten kunnskap om arvbarhetenes størrelser er det vanskelig å optimere avlsoppleggene, dvs. ta i bruk de rette avlsmetoder, testingstiltak, seleksjonsmetoder etc. Den additive genetiske komponenten er viktig for seleksjon innen linjer/populasjoner, mens den ikke-additive genetiske komponenten kan utnyttes i krysningsopplegg mellom linjer/populasjoner. Arvbarhetene kan beregnes som likhet mellom ulike typer slektninger, og krever store grupper med kjent avstamning (fullsøskengrupper/halvsøskengrupper). Når en kjenner arvbarhetene for de viktige egenskapene, kan en gå videre med å designe avlsmetoder etc.

Som regel vil et avlsprogram omfatte flere egenskaper, og da vil det være nødvendig å vite om de aktuelle egenskapene er knyttet sammen, det vil si om det finnes samvirkning (korrelasjon) mellom dem. Korrelasjoner beregnes på en skala fra -1 over 0 til $+1$. Høye korrelasjoner finner vi i begge endene av skalaen. Fenotypiske korrelasjoner måler samvariasjonen mellom fenotypene, og kan ha både genetiske og miljømessige årsaker. Genetiske korrelasjoner skyldes at to egenskaper har felles genetisk bakgrunn og kan skyldes pleiotopi (et arveanlegg virker på flere egenskaper) eller kopling. Genetiske korrelasjoner som skyldes koplingsulikevekt, er ikke stabile over generasjoner, mens de stabile genetiske korrelasjonene måler hvor stor andel av felles gener som påvirker de to egenskapene.

Simuleringsstudier (Gjerde et. al. 1996, Bentsen og Olesen, 2002) har vist at det er viktig å bruke mange nok familier og å standardisere antall avkom som testes fra hver familie for å gi pålitelige estimat av de populasjonsgenetiske parametrene. Bruk av moderne avlsdyrevaluering, spesielt BLUP-metoder (*Best Linear Unbiased Prediction*), krever genetiske forbindelser i dataene i avlsdatabasen (genotyper på tvers av miljø etc.). Dette vil også være en utfordring for avl på nye arter, for eksempel ved at bare en del av familiene i avlspopulasjonen oppdrettes i alle testenhetene (økonomiske årsaker); familier produseres til ulike tider på året eller flere ganger i løpet av året, genetisk materiale utveksles mellom avlseenhetene for å redusere innavl, gjentatt bruk av fedre og mødre over år/generasjoner etc. For nye arter er det et behov for å utrede bruk av modeller (bl.a. BLUP-modellen) for å optimalisere estimat av genetiske parametre og for å effektivisere seleksjonsarbeidet.

8.2 Avlsmetoder

8.2.1 Reinavl

Masseseleksjon, seleksjon etter individets prestasjon, er mest egnet for egenskaper med moderat til høye arvbarheter. Tilvekst er en typisk slik egenskap. Masseseleksjon kan være effektivt, spesielt hvis det selekteres for én eller et fåtall egenskaper, men den innebærer stor risiko for innavl og innavlsdepresjon særlig hvis det fører til at enkelte familier selekteres bort og avlen snevres inn til et fåtall familier.

Familieseleksjon, seleksjon på grunnlag av familiegjennomsnitt, er det eneste som er praktisk mulig for en del karakterer, for eksempel sjukdomsresistens. Søkenseleksjon er vanlig for egenskaper som ikke kan måles på levende fisk, f. eks. slaktekvalitet og produktkvalitet.

Avkomsgransking er særlig interessant alternativ der en har arter med gyting flere ganger. Avkomsgransking med stor sikkerhet krever store familiegrupper, større enn hva som er optimalt ut fra masseseleksjon eller søkenseleksjon. Risiko for innavl og innavlsdepresjon er vesentlig større ved avkomsgransking og BLUP-metoder der informasjon om alle slektninger benyttes for å regne avlsverdier, enn der en benytter fenotypeseleksjon. Avkomsgransking er mest effektivt ved lave arvbarheter og kjønnsbegrensede egenskaper.

Sikkerhet ved de ulike seleksjonsmetodene for ulike arvbarheter er vist i tabell 1 (Vangen et al. 1995).

Tabell 1. Sikkerhet (i prosent) på slektskapsinformasjon

Type slektskapsinformasjon	Arvbarhet		
	0,1	0,3	0,5
Dyret selv	10	30	50
Far + mor	5	15	25
Alle aner	8	20	29
Helsøsken			
4 søsken	8	20	28
Halvsøsken			
20 søsken	8	15	19
Avkom			
5 avkom	12	28	42
10 avkom	20	49	59
20 avkom	32	60	76
40 avkom	50	76	85
120 avkom	76	90	94

Kontrollpopulasjoner er et viktig element da genetisk foredling som regel vil ”gå hånd i hånd” med tekniske, miljømessige og ernæringsmessige forbedringer, og dessuten vil det sannsynligvis finne sted en halvnaturlig seleksjon som tilpasning til liv under kulturforhold. All genetisk framgang må måles i forhold til kontrollpopulasjoner av ikke selektert materiale, enten ved at det etableres populasjoner der individene krysses tilfeldig, det etableres populasjoner som selekteres ”negativt”, det vil si motsatt av det som egentlig vil oppnås, eller at foredlet materiale sammenliknes med nytt materiale som samles inn i naturen.

Genetisk endring som resultat av avlsarbeidet, måles som regel i prosent endring per år. Seleksjonsintensiteten er definert som forskjellen mellom gjennomsnittet av selekterte dyr og det totale gjennomsnittet i populasjonen dividert med variansen. Forventet genetisk endring per år blir da seleksjonsintensiteten multiplisert med arvbarheten og variansen dividert på generasjonsintervallet. Arvbarheten estimert på et begrenset materiale, justeres for sikkerhet (se tabell 1), og eventuell innavlsdepresjon må trekkes fra.

Genetisk endring per år blir da som følger:

$$\text{Genetisk endring/år} = ((\text{seleksjonsintensitet} \times \text{variasjon} \times \text{sikkerhet}) / \text{generasjonsintervall}) - \text{innavlsdepresjon}$$

Seleksjon for én eller et fåtall egenskaper gir anledning til sterk seleksjon for den enkelte egenskapen, og dermed stor forventet framgang. Seleksjon for mange egenskaper vil gi mindre effekt på den enkelte egenskapen. Hvor mange og hvilke egenskaper som tas med i et avlsprogram, er avhengig av formålet med avlsarbeidet og arvegraden av de mest aktuelle egenskapene. Som sagt tidligere, vil det være naturlig å starte med få egenskaper og et enkelt opplegg for nye arter, og eventuelt utvide antallet (og kompleksiteten) etterhvert.

Indekser angir vektlegging av de enkelte egenskapene som det skal selekteres for. Indeksene er avhengig av markedet (forbrukernes ønsker), økonomiske og etiske hensyn, av arvegraden for de aktuelle egenskapene og av eventuelle korrelasjoner mellom egenskapene.

8.2.2 Krysningsavl

Krysningsavl utnytter den ikke-additive genetiske variasjonen. Det er de siste årene publisert ny informasjon om omfanget av ikke-additiv arv på laksefisk (Rye og Mao, 1998; Pante et al. 2000). Hvis dette også gjelder for de nye artene, vil det for eksempel bety at faktorielle paringsystem bør velges framfor nøsta paringsystem, og at utvikling av spesielle foreldrelinjer som passer godt sammen i ”krysning”, kan videreutvikles i et ”reciprocal recurrent selection (RRS)”-avlsprogram (kalles også ”seleksjon med tilbakevirkende utvalg”).

8.3 Innavlkontroll

Innen all husdyravl har innavl og slektskapsavl fått vesentlig større oppmerksomhet de senere år enn tidligere. Dette er blant annet fordi BLUP-seleksjon, bruk av informasjon om alle slektninger i avlsdatabanken, tenderer til å selektere slektninger i større grad enn vanlig fenotypeseleksjon. Innavlkontroll er derfor et viktig element i alle nye avlsopplegg. Det er viktig å implementere innavlsrestriksjoner i avlsoppleggene som baseres på reinavl. Et klart FoU-behov er optimalisering av avlsoppleggene i balansen mellom økt genetisk framgang og restriksjoner på innavlsutviklingen. Det finnes mye ny teori innen husdyrforskningen, det er behov for forskningsmessig utvikling av disse teoriene til avlsprogrammene på fisk, inkl. nye arter. Det er særlig viktig å være klar over at mange av de viktige egenskapene på fisk ikke er normalfordelte, for eksempel overlevingsevne, slaktekvalitet og sykdomsresistens (Gjerde 2002).

8.4 Avlsstruktur

En typisk avlsstruktur for familiebaserte avlsprogram inneholder avlsnucleus (”kjernepopulasjon”), testenheter og oppformeringsenheter. For nye arter kan en starte med et enklere opplegg, for eksempel slå sammen testenheter og oppformeringsenheter. En FoU-utfordring her vil være å undersøke om det finnes samvariasjon mellom arv og miljøpåvirkning, det vil si om det er mest aktuelt å utvikle én foredlet oppdrettspopulasjon for hele landet, eller om det er nødvendig å arbeide med oppdrettspopulasjoner for enkelte regioner eller klimasoner. For torsk kan det tenkes at lokal tilpassing til naturlige forhold er så sterk at dette vil være avgjørende også for oppdrettspopulasjoner. Et annet argument for å utvikle lokale oppdrettspopulasjoner, vil være at det minker sjansene for genetisk påvirkning av ville populasjoner ved eventuell masserømming.

Optimal paringsdesign (enkeltpar, hierarkisk, faktorielt, blanda hierarkisk/faktorielt) er avhengig av mange parametere, blant annet effekt på innavl og seleksjonsintensitet. DNA-markører vil gjøre det mulig å slå sammen familier helt fra rognstadiet (fullsøskenfamiliene er tradisjonelt oppdrettet separat fram til fysisk merking). Alle fiskeartene, med sin høye reproduksjonsevne, gir store muligheter for intensiv seleksjon og stor avlsframgang. Nye arter vil ha sine optimale design. Til forskjell fra laksefisk vil, for eksempel torsk, som kan gyte flere sesonger, gi muligheter for avkomsgrupper over flere årganger. Det vil endre optimal design av avlsstrukturen, og det vil være en FoU-utfordring å utarbeide og justere avlsplaner som bygger på resultater fra innledende undersøkelser.

9. Bruk av molekylære markører i avlsarbeidet

9.1 Innledning

Avlsprogrammer for marine fisk må klart baseres på metoder og avlsstrategier som er fundert i kvantitativ genetik. Selv om den igangværende utviklingen innenfor molekylærgenetiske metoder nærmest må karakteriseres som revolusjonerende, og fokus i stigende grad flyttes fra enkeltgener til hele genomet (genomics), kan molekylære metoder *ikke* erstatte klassisk kvantitativ genetik i avlsprogrammer. Derimot kan bruk av molekylære markører utgjøre et meget nyttig og tids- og arbeidssparende supplement i avlsarbeidet. Dette kan være *indirekte*, f.eks. ved å gjøre det mulig å identifisere hvilke foreldre som er opphav til den enkelte fisk. På denne måten kan individer fra mange familier holdes i samme tank fra et tidlig alderstrinn, der det ellers ikke ville være mulig å merke fiskene med ytre merker. Dessuten kan molekylære teknikker *direkte* integreres i avlsprogrammer. Dette kan skje ved å identifisere loci (eller i praksis markører, som er koplet til slike loci), som har en effekt på et kvantitativt trekk (Quantitative Trait Loci – QTL). Ved å bruke informasjon fra QTLs kan en gjøre seleksjonen i et avlsprogram mere effektivt (Marker Assisted Selection – MAS).

I det følgende vil det først bli gjennomgått ulike typer molekylære markører som enten er eller forventes å bli til rådighet for marine organismer, og deres anvendelighet vil bli diskutert. Dernest vil det bli gitt en oversikt over de forskjellige anvendelsesområder av molekylære markører i marin akvakultur. Endelig vil det bli vurderte hvilke anvendelser av molekylære markører som i praksis vil være realistiske i forbindelse med marin akvakultur, såvel på kort som på lang sikt.

9.2 Typer av markører

9.2.1 Allozymer

Allozymelektroforese er den tradisjonelle metoden for å analysere mendelsk nedarvete co-dominante loci. Den har vært i bruk siden 1960'årene. Kort fortalt er prinsippene bak allozymelektroforese å undersøke genetisk variasjon i enzymer (og andre proteiner). Hvis en mutasjon fører til at en aminosyre i et enzym erstattes med en annen aminosyre, kan dette medføre at enzymet endrer ladning. Det kan vi benytte oss av til å karakterisere genetisk variasjon, og dette foregår ved å undersøke hvorledes enzymet vandrer i et strømfelt ved en gitt pH verdi i et medium (gel) av for eksempel stivelse (gelelektroforese). Ulike varianter vil vandre med ulik hastighet, og ved å farge spesifikt for det enzymet vi vil undersøke, kan vi karakterisere genotypen for hvert enkelt individ.

Det har i mange år vært diskutert om allozymer er påvirket av seleksjon eller er selektivt nøytrale, men en egentlig konsensus er ikke oppnådd. Det vil neppe være noen mening i å selektere for individer med bestemte allozym-alleler i et avlsprogram. Dertil finnes det for få resultater som kan tyde på en sammenheng mellom genetisk variasjon på allozymnivå og trekk som det kunne være interessant å selektere for i marine organismer. Allozymer kan brukes til å identifisere individer og familier, men den lave graden av genetisk variasjon nedsetter anvendeligheten. Derimot kan allozymdata være

av interesse i forbindelse med oppstart av et avlsprogram. Hvis vi ønsker å starte programmet med en så bred genetisk base som mulig, kan det være en fordel å inkludere individer fra flere genetisk forskjellige populasjoner, og det finnes her en stor mengde publiserte data for en lang rekke arter, og dette kan være av interesse i akvakultur. Ellers kan fordeler og ulemper kort oppsummeres slik:

Allozymelektroforese er teknisk enkelt, billig og krever kun begrenset metodeutvikling. Metoden kan således umiddelbart tilpasses enhver organisme. Ulempene består i at i forhold til visse andre metoder (f.eks. mikrosatellitter) finnes lav genetisk variasjon, og dette begrenser sterkt muligheten for en rekke statistiske analyser. Metoden stiller dessuten store krav til oppbevaring av vev (skal helst oppbevares ved -80°C), og det kan være vanskelig å foreta ikke-destruktiv sampling. Med andre ord kan det være nødvendig å drepe fisken for å analysere loci som bare uttrykkes f.eks. i hjerte- eller levervev. I motsetning til dette er de fleste teknikker til analyse av DNA basert på **PCR-teknikk** (Polymerase Chain Reaction), hvor vi ut fra små mengder DNA oppformerer store antall kopier av et bestemt DNA-segment. Innsamling av et lite stykke finne eller annet vev er fullt ut tilstrekkelig, og det er derfor enkelt å utføre ikke-destruktiv sampling.

9.2.2 Mitokondrisk DNA

Mitokondrisk DNA (mtDNA) er en annen "klassisk" type markører. MtDNA er DNA fra mitokondriene, og er altså helt ulikt kjerne-DNA. Det er dessuten nedarvet bare gjennom moren og gjennomgår ingen rekombinasjon, og dette gir det noen spesielle egenskaper for analyse av populasjoner. Det er spesielt meget velegnet til fylogeografi, som går ut på å teste biogeografiske hypoteser ved hjelp av genetiske markører; et emne som er av mindre relevans for akvakultur.

MtDNA er som oftest analysert enten ved direkte sekvensering eller ved RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism). RFLP består i analyse av DNA med såkalte restriksjonsenzymmer, som gjenkjenner en bestemt kort DNA-sekvens (restriksjonssted; f.eks. GATC), hvor enzymet kutter DNA strengen. Hvis det har foregått en mutasjon, f.eks. fra GATC til CATC forsvinner et restriksjonssted, og DNA strengen kuttes ikke. Omvendt vil den motsatte mutasjon fra CATC til GATC føre til dannelsen av et nytt restriksjonssted. Med andre ord, genetisk variasjon kan analyseres ut fra hvor restriksjonsenzymene kutter DNA strengen (i praksis lar vi DNA-fragmentene vandre i et strømfelt i en gel (som for enzymelektroforese), og fragmentene vil vandre med en hastighet som er proporsjonal med lengden).

Hos mennesker er identifisert noen sykdommer som skyldes mutasjoner i mtDNA. Hos fisk tyder noen resultater fra regnbueørret på at bestemte mtDNA varianter (haplotyper) kan være assosiert med gytetidspunkt (Ferguson et al. 1993). Som for allozymer vil det likevel generelt sett neppe være noen mening i å selektere for individer med bestemte haplotyper. I det hele tatt er mtDNA av marginal betydning i forbindelse med akvakultur, men kan brukes til hjelp for å identifisere foreldrene til enkelte avkom og til å velge ville populasjoner for å etablere basispopulasjoner for avlsarbeid.

9.2.3 Direkte analyse av kodende gener

Det synes å være et opplagt mål i akvakultur å være i stand til å analysere genetisk variasjon direkte i loci som koder for viktige egenskaper hos oppdrettsfisk. Dessverre er de fleste produksjonsegenskaper av kvantitativ natur, og kun få egenskaper viser en enkel nedarving styrt av enkelte loci. Men det er i de seinere år identifisert økologisk

viktige gener i fisk, og disse er også av interesse i forbindelse med akvakultur. Som eksempler kan nevnes transferrin-loci, som i det minste hos laksefisk antas å være påvirket av seleksjon (Ford et al. 1999) og synaptophysin, *Syp-I* hos torsk (Fevolden & Pogson 1997), som i noen tilfeller viser genetisk differensieringsmønstre som tyder på seleksjon. *Syp I*'s evne til å skille mellom skrei fra Barentshavet og "ekte" fjordtorsk i Nord-Norge er imidlertid enestående.

Av størst interesse er likevel Major Histocompatibility Complex (MHC) gener som er direkte involvert i immunforsvaret. Det er tale om en familie av gener som koder for glycoproteiner på overflaten av T-celler. Disse glycoproteinene setter T-cellene i stand til å gjenkjenne og dermed bekjempe antigener. Hos laks er det identifisert alleler i MHC klasse IIB som er forbundet med furunkuloseresistens (Langefors et al. 2001), og dermed er det perspektiver i å analysere MHC variasjon også i marin fisk i akvakultur. Det må likevel bemerkes at MHC er en gen-familie, ikke ett enkelt gen, og blant annet hos torsk synes det å være tale om et meget stort antall MHC loci (Persson et al. 1999). Det kan derfor være snakk om et stort arbeid med analyse av flere ulike MHC loci dersom det i stort omfang skal identifiseres alleler som er involvert i resistens mot bestemte sjukdommer.

For å karakterisere kodende loci er det nødvendig å sekvensere dem. Vil vi imidlertid analysere et større antall individer, er dette for tidkrevende, og vi kan da benytte oss av ulike hurtigere teknikker, f.eks. RFLP analyse (se avsnittet om mtDNA) som imidlertid ikke gir maksimal oppløselighet. Det finnes imidlertid en rekke andre meget hurtige og effektive metoder som gjør det mulig å oppdage forskjeller mellom DNA-segenter, til og med når det gjelder endring av noen få eller et enkelt basepar. Den mest kjente som det her skal gjøres rede for, kalles Single Strand Conformation Polymorphism analysis (SSCP), men det finnes også en rekke lignende metoder, som f.eks. Temperature Gradient Gel Electrophoresis (TGGE). Prinsippet i SSCP består i å varme DNA-prøven opp slik at den denaturerer, dvs. blir enkeltstrenget. Det enkeltstrengete DNA analyseres deretter ved gelelektroforese. Enkeltstrenget DNA "krøller seg sammen", og to segenter av DNA, som ikke har nøyaktig samme sekvens, vil krølle seg sammen på ulike måter og vandre med ulik hastighet i gelen slik at ulike alleler kan oppdages. Eksemplarer av de identifiserte allelene kan deretter sekvenseres slik at det ikke er nødvendig å sekvensere samtlige individer. SSCP er sterkt anbefalt blant annet av Sunnucks et al. (2000). Metoden har den ulempen at den stiller store krav til at analysen foregår under nøyaktig de samme forhold (f.eks. temperatur) da det ellers kan oppstå problemer med reproduserbarhet av resultatene.

9.2.4 Mikrosatellitt DNA

Mikrosatellitt DNA er for tiden den mest anvendte typen av genetiske markører til mange formål. Mikrosatellitter er ikke-kodende co-dominante markører som er svært vanlige hos høyere organismer, herunder fisk og mollusker. De består av en enkel sekvens (repetisjonsenhet), f.eks. TG, som gjentas et stort antall ganger, f.eks. TGTGTGTGTGTG..... Det finnes mikrosatellitter hvor repetisjonsenheter består av 1, 2, 3, 4 eller ennå flere baser, men i praksis analyseres fortrinnsvis di-, tri- og tetra-nucleotid mikrosatellitter (altså 2, 3 og 4 basepar repeats). Mutasjonsraten i mikrosatellitter er meget høy; tall på mellom 10^{-3} – 10^{-4} anføres ofte. Dette fører med seg at det er meget stor genetisk variasjon i mikrosatellitt-loci, og 10-20 eller ennå flere alleler i et locus er ikke uvanlig. Mutasjoner i mikrosatellitter antas å foregå ved "slippage", hvor en eller flere repetisjonsenheter tilføyes eller fjernes. De nøyaktige mutasjonsmekanismene er imidlertid fremdeles sterkt omdiskuterte, men dette har ikke konse-

kvenser for bruk av mikrosatellitter i akvakultur (for en nøyere gjennomgang av mikrosatellittenes egenskaper vises til Jarne & Lagoda (1996)).

Identifisering av mikrosatellittloci krever et betydelig arbeid og en viss kompetanse innenfor molekylærbiologi. For mange av artene som er av interesse for marin akvakultur, f.eks. torsk, finnes det imidlertid publiserte primersekvenser til mikrosatellitter i et antall som er fullt tilstrekkelig for populasjonsundersøkelser og identifisering av individer og familier (i tillegg til sekvensdatabasen GenBank har tidsskriftet *Molecular Ecology Notes* en database hvor det er mulig å søke etter publiserte mikrosatellitt primersekvenser for ulike arter; <http://snook.bio.indiana.edu/>). Vil vi bruke mikrosatellitter til å kartlegge og identifisere QTLs, vil det imidlertid kreve et vesentlig større antall mikrosatellitt-loci enn dem som alt er publiserte, og dermed vil et betydelig arbeid med isolasjon av nye mikrosatellitter være nødvendig. Selve analysen av mikrosatellitt-loci er derimot forholdsvis enkel. Da genetisk variasjon består i lengdeforskjeller mellom alleler, bestemmes ganske enkelt lengden av allelene ved elektroforese i en polyacrylamidgel. Tidligere ble ”manuelle” sekvenseringsgeler brukt til dette, og mikrosatellitt-allelene ble identifisert enten ved bruk av merking med radioaktive isotoper eller sølvfarging. Begge deler er dyrt, forholdsvis komplisert og innebærer en viss helserisiko, men det finnes nå flere ulike typer apparatur til automatisk sekvensering, og disse kan også brukes til å analysere mikrosatellittvariasjon (og AFLP; se nedenfor). Prinsippet består i å merke mikrosatellittene med ett eller flere fluorescerende stoffer, og deretter spore allelenes vandring i en gel ved hjelp av laserlys. Data lagres i en datamaskin for videre behandling. Bruk av automatisk sekvenseringsutstyr kan i stor grad øke effektiviteten av slike analyser. Avhengig av den spesifikke type utstyr kan det således la seg gjøre å analysere 100 eller flere individer for 8-10 mikrosatellitt-loci i løpet av et par dager. Automatisk sekvenseringsutstyr av akseptabel kvalitet og kapasitet kan kjøpes for fra ca. 0,6 million NOK og oppover.

Det er store muligheter for bruk av mikrosatellitter i forbindelse med marin akvakultur. Mikrosatellitter kan således brukes til analyse av ville populasjoner (i forbindelse med valg av fisk til basispopulasjon for avlsarbeid), til identifisering av individer og familier (”parentage assignment”) og til å maksimere genetisk diversitet i en stamdyrpopulasjon. Fordi mikrosatellitter finnes spredt i stort antall ut over hele det nukleære genomet, er det en meget velegnet molekylær markør til genom kartlegging, identifisering av QTLs og markør-assistert utvalg.

9.2.5 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

RAPD er en metode for å avdekke genetisk diversitet i ”anonymt” DNA, dvs. at vi i prinsippet ikke vet hva for en type DNA vi analyserer, f.eks. om det er kodende eller ikke-kodende sekvenser. Metoden er basert på selve prinsippet i PCR, hvor det blir syntetisert et stort antall kopier av et bestemt DNA-segment. Dette krever at det blir brukt primere som er korte DNA-sekvenser som definerer ”start og stopp” for det DNA-segmentet som skal syntetiseres. Dersom vi vil analysere et bestemt DNA-segment, f.eks. en bestemt mikrosatellitt, brukes forholdsvis lange primere slik at sekvensene er ”unike” i forhold til hele genomet. I forbindelse med RAPD brukes derimot korte primere slik at flere ulike tilfeldig valgte segmenter av DNA blir syntetisert. Polymorfi oppdaget med RAPD består oftest i mutasjoner oppstått i det DNA-segmentet hvor primeren fester seg (hvis der er stor mismatch mellom primer og target DNA, vil segmentet ikke bli syntetisert). Det kan også være tale om lengdepolymorfi i de syntetiserte DNA-segmentene. Etter PCR visualiseres resultatene med gelelektroforese og farging av DNA, og det vil oftest være mange bånd av varierende intensitet på en

gel. Polymorfi identifiseres som varierende fravær eller tilstedeværelse av bånd imellom ulike individer. Bortsett fra i de tilfellene vi kan påvise mendelsk nedarving av bestemte bånd gjennom krysningsforsøk, er det normalt tale om dominante markører; tilstedeværelse av et bånd kan skyldes både en homozygot og en heterozygot.

Den store fordel ved RAPD er at det er en teknisk enkel metode som krever lite tilpasning og metodeutvikling for den enkelte art, og at vi raskt kan analysere mange "loci" fordelt over hele genomet. Det reduserer metodens oppløselighet og anvendelighet at det er tale om dominante markører, men dette kan til dels oppveies av det store antall "loci" som kan analyseres ved en forholdsvis liten innsats. Det største problemet ved metoden er imidlertid, at reproduserbarheten ikke alltid er tilfredsstillende (f.eks. Perez et al. 1998). RAPD er mest brukt til analyse av planter, men også dyr, herunder fisk. Metoden kan i prinsippet brukes til de samme formål som nevnt under mikrosatellitter, også identifikasjon av QTLs. AFLP (se nedenfor) har imidlertid de samme egenskapene som RAPD med hensyn til at det er raskt å analysere et stort antall markører fordelt over hele genomet, og samtidig er reproduserbarheten langt bedre. AFLP er derfor langt å anbefale sammenliknet med RAPD.

9.2.6 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

AFLP er en metode som kombinerer noen av egenskapene ved RFLP analyse og RAPD, og i motsetning til RAPD er det en teknisk meget pålitelig metode uten store problemer med reproduserbarhet. Metoden er fullstendig beskrevet i blant annet Mueller & Wolfenbarger (1999), men kort fortalt går den ut på at vi bruker to ulike restriksjons-enzymmer til å kutte DNA opp i små fragmenter (se beskrivelse av RFLP i avsnittet om mtDNA). Deretter tilsettes små korte stykker DNA med kjent sekvens (adaptorer) samt ligase, som ligerer adaptorene med DNA-fragmentene. Fordi vi kjenner både sekvensen av adaptorene og selve restriksjonsstedene, altså de stedene der DNA er blitt kuttet av, kan vi bruke PCR og spesifikke primere til å syntetisere store mengder av de oppståtte DNA-fragmentene. Polymorfi vil primært vise seg som resultat av mutasjoner i restriksjonsstedet, men kan i prinsippet også skyldes lengdepolymorfier. Selve datatypen svarer til det vi ser ved RAPD, altså tilstedeværelse eller fravær av bånd på en gel, og de store fordelene ved AFLP er også de samme, nemlig at metoden er teknisk forholdsvis ukomplisert; den krever bare litt tilpasning for den enkelte art og gjør det mulig ved en forholdsvis liten arbeidsinnsats å analysere et stort antall markører fordelt over hele genomet. Det er mulig å bruke automatisk sekventeringsutstyr til AFLP-analyse, og dermed blir effektiviteten ennå større.

AFLP har hittil mest vært brukt til analyse av planter, men brukes i økende grad også for dyr, herunder fisk. Den vesentligste ulempen består i at det er tale om dominante markører (se avsnitt om RAPD), men dette oppveies mot den fordelen som består i det meget store antall markører som kan analyseres. AFLP kan brukes for de samme formål som nevnt under RAPD og mikrosatellitter. Spesielt til kartlegging av genomet og identifikasjon av QTLs kan metoden vise seg å ha meget stor anvendelighet, og det finnes minst en publisert undersøkelse der AFLP er blitt brukt til genomkartlegging av en fisk (en art av sik, *Coregonus clupeaformis*; Rogers et al. 2001).

9.2.7 SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms)

Til slutt skal nevnes en type markører, Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs, som antas å få stor anvendelse i framtiden (Landegren et al. 1998). SNPs består ganske enkelt

av enkeltbase-substitusjoner i kjerne-DNA. Slike polymorfier finnes i meget stort antall i genomet; i gjennomsnitt én SNP per 100-300 basepar. Kan vi identifisere og analysere slike SNPs, vil vi ha et meget stort antall genetiske markører til rådighet. De største perspektivene i analyse av SNPs ligger likevel i at det er en type markører som vil kunne analyseres med den nye microarray-teknologien. Dermed vil et nærmest ubegrenset antall loci kunne analyseres ved en forholdsvis liten arbeidsinnsats. Det skal likevel bemerkes at det vil kreve en meget stor arbeidsinnsats å nå så langt, først og fremst i form av identifisering av de mange SNPs, så disse framtidsperspektivene vil kun være relevante for arter av meget stor kommersiell og/eller vitenskapelig interesse.

Et igangværende samarbeidsprosjekt (Establishment of a SNP technology platform within an integrative genetics framework) mellom en rekke institusjoner, med Norges landbrukshøgskole som hovedansvarshavende, har som mål å etablere en sentral for SNP analyser samt realisere de mulighetene denne teknikken har for å oppnå en dypere forståelse for komplekse genetiske systemer som kan utnyttes for vitenskapelig og kommersielt bruk.

9.3 Anvendelse av molekylære markører

9.3.1 Valg av populasjoner som grunnlag for stamdyrpopulasjoner

Genetiske data fra ville bestander kan være et viktig verktøy for å velge ut de organismene vi vil bruke til å grunnlegge en stamdyrpopulasjon. Avhengig av hvilken strategi vi velger kan det f.eks. være et mål å grunnlegge en stamdyrpopulasjon med en så genetisk divers bakgrunn som mulig. Dette kan oppnås ved å inkludere dyr fra flere genetisk ulike populasjoner. Ved å analysere den genetiske populasjonsstrukturen for de relevante artene kan vi avgjøre i hvilke geografiske områder det finnes genetisk ulike bestander, og vi kan så samle inn foreldredyr fra disse områdene. I visse tilfeller kan vi til og med ved hjelp av såkalte assignment tests sikre oss at de enkelte individer faktisk stammer fra de populasjonene som vi ønsker skal være representerte i basispopulasjonen (se f.eks. Nielsen et al. 2001; review av Hansen et al. 2001).

For noen av de relevante artene, særlig torsk, finnes det alt en stor mengde data som kan suppleres med nye undersøkelser, mens vi for andre arter må starte et mer grunnleggende arbeid. De mest velegnede genetiske markørene vil være mikrosatellitter og allozymer, i sistnevnte tilfelle mest fordi det alt finnes et meget omfattende datamateriale (f.eks. Mork et al. 1985).

9.3.2 Identifisering av individer og familier

I forbindelse med de fleste typer avlsprogrammer er det nødvendig å kunne identifisere hvilken familie hvert enkelt individ stammer fra. En enkel måte å gjøre det på vil være å holde hver fullsøskengruppe atskilt i hver sitt kar, inntil de når en størrelse der de kan merkes med merker som tillater individuell identifisering. Dette krever imidlertid mange atskilte kar som igjen krever en stor økonomisk investering. Dessuten er det ønskelig å tilby alle individene nøyaktig samme miljøforhold, dvs. holde dem i samme tank, for å unngå at små miljøforskjeller bidrar til å øke variansen mellom familier for de egenskaper vi ønsker å selektere for.

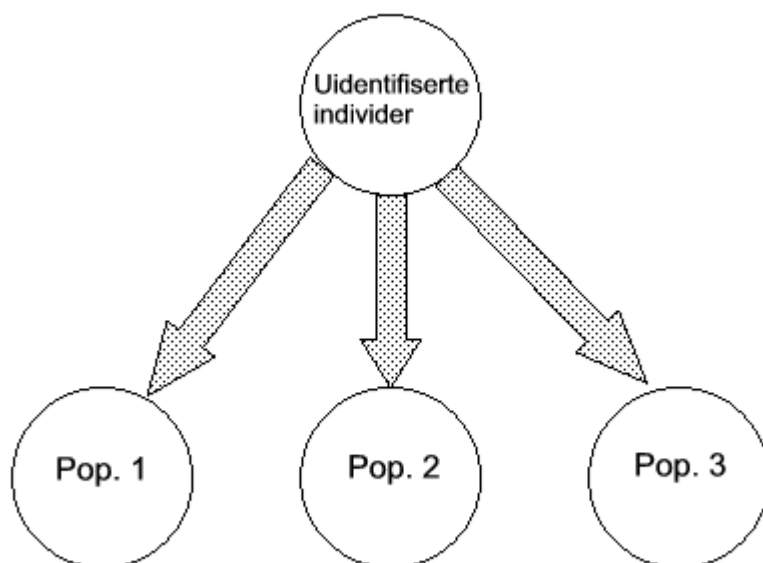


Fig. 1. Skjematisk representasjon av assignment tests. Basert på de enkelte individene sine multilocus genotyper og allelfrekvensene i de enkelte populasjonene, beregnes sannsynligheten for at individet stammer fra hver enkelt av populasjonene. Individet klassifiseres (assignes) deretter til den populasjonen hvor det med størst sannsynlighet stammer fra.

Et alternativ til atskilte kar for hver familie består i å holde alle fisk i samme kar og identifisere foreldrene til hvert enkelt individ ved bruk av genetiske markører (også kalt "molekylar pedigreeing"; se forøvrig review av Wilson & Ferguson (2002)). Vi må da analysere både avkom og alle mulige foreldrefisk, og dersom vi har analysert tilstrekkelig mange loci med tilstrekkelig stor variabilitet, kan vi med stor nøyaktighet identifisere foreldrene til hver enkelt fisk. De mest velegnede genetiske markører til dette formål er klart mikrosatellitter, men AFLP kan også være en realistisk mulighet. Det finnes atskillige programpakker (softwarepakker) til dette formål (f.eks. CERVUS; Marshall et al. 1998; PAPA; Duchesne et al. 2002).

Om vi i praksis ønsker å bruke genetiske markører til individ- og familieidentifisering vil være avhengig av en analyse av kostnader i forhold til nytte. For å være tilstrekkelig effektivt er det nødvendig med automatisk sekvenseringsutstyr til analyse av mikrosatellitter (eller AFLP). Selve utgiftene til analyse avhenger blant annet av hvor mange familier vi trenger å identifisere og hvor mange loci det er nødvendig å analysere. Bernatchez & Duchesne (2000) har analysert dette problemet i detaljer, og Norris et al. (2000) diskuterer også både praktiske og teoretiske aspekter ved individ- og familieidentifisering i forbindelse med akvakultur, og det henvises til disse artiklene. I praksis er mikrosatellitt-basert individ- og familieidentifisering allerede brukt til marine fisk, blant annet i en studie av paringssystemet hos torsk (Bekkevold et al. 2002).

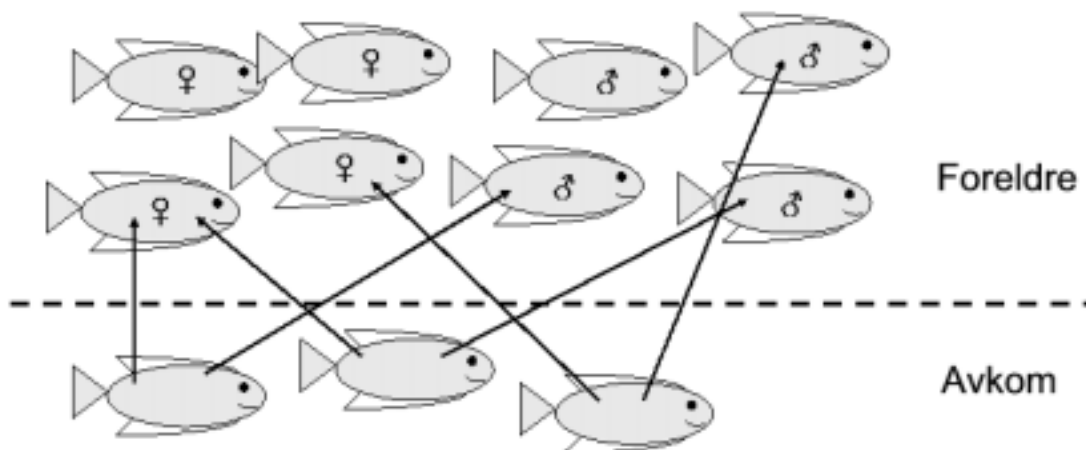


Fig. 2. Prinsippet i individ-familie identifisering. Kandidat-foreldre og deres avkom analyseres med molekulære markører, f.eks. mikrosatellitter. Ut fra individenes multilokus genotyper kan en som oftest utelukke alle foreldre til et individ unntatt de riktige foreldrene. Er imidlertid flere foreldre sammenlignbare med multilokus genotypen til et individ, kan vi beregne sannsynligheten for at de enkelte kandidatforeldre faktisk er de riktige foreldrene og dermed likevel identifisere den mest sannsynlige foreldrekombinasjonen.

9.3.3 Maksimering av genetisk diversitet

Genetiske markører kan også anvendes til å maksimere den genetiske diversiteten i en stamdyrpopulasjon. Hvis det oppstår problemer med innavlsdepresjon etter noen generasjoner med seleksjon innen en lukket bestand, kan genetiske markører brukes til å avhjelpe dette problemet. En mulig metode består i å identifisere hvert individ til familie, som beskrevet i forrige avsnitt, og deretter unngå å pare individer som er i nær slekt. Det finnes også metoder for å gjenopprette mest mulig av den genetiske diversiteten som fantes i den opprinnelige basispopulasjonen. Kort fortalt går disse metoder ut på at vi estimerer slektskapet mellom individer og dernest tilrettelegger paringene slik at så mange av de opprinnelige gruppene eller stammene i basispopulasjonen er representerte (Doyle et al. 2001). Mikrosatellitter er klart de best egnede markører til slike formål.

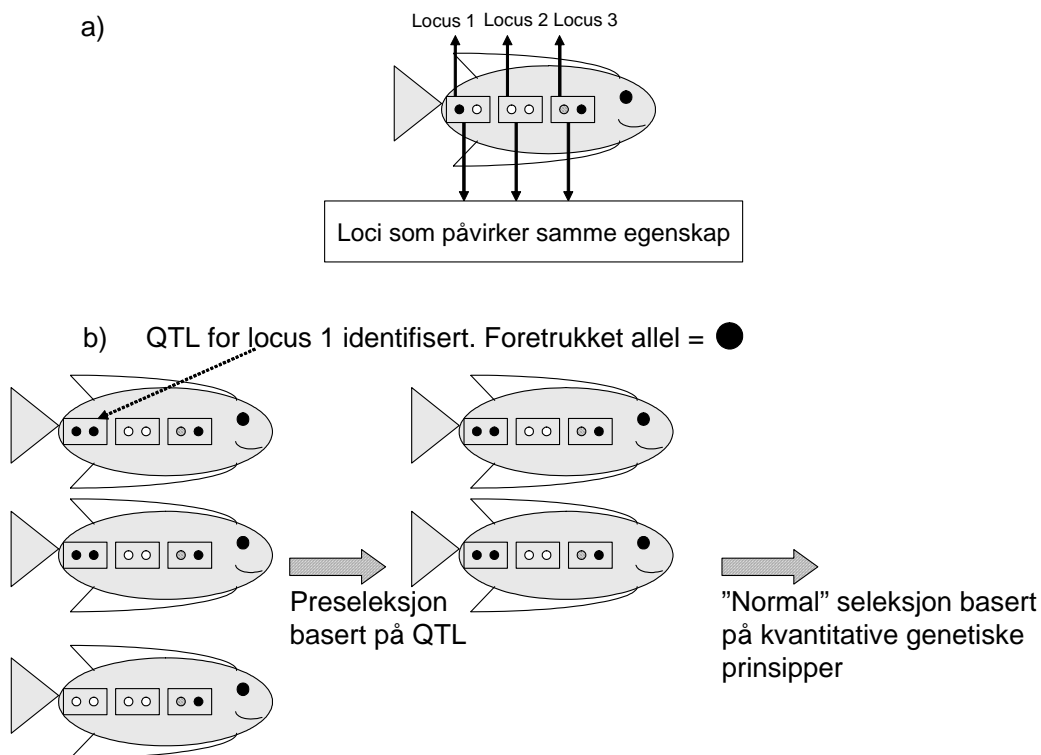
9.3.4 Maksimering av sjukdomsresistens

Det kan synes å være et opplagt avlsmål å maksimere sjukdomsresistens og å bruke molekulærgenetiske teknikker til å leite etter variasjon i eksempelvis MHC loci. Det finnes eksempel på at ved selektiv avl er det oppnådd større resistens mot bestemte sykdommer, blant annet i mollusker (f.eks. Culloty et al. 2001). Det må likevel advares mot en generell optimisme i forhold til å oppnå sjukdomsresistens gjennom avlsprogrammer. Sjukdomsresistens ser ut til å være styrt av svært komplekse mekanismer, og ofte er det ingen sammenheng mellom ulike former for resistens. I noen tilfeller kan det til og med være tale om at resistens mot en parasitt eller patogen kan føre til økt motakelighet overfor andre parasitter/patogener, jfr. korrelerte karakterer, side 18. Spesielt når det gjelder MHC-genkomplekset, må det overveies grundig om det bør selekteres for bestemte alleler som gir økt resistens mot ett bestemt patogen. MHC er trolig gjenstand for frekvensavhengig seleksjon, og spørsmålet er om det ikke vil være bedre å opprettholde så stor diversitet som mulig heller enn å selektere for noen bestemte alleler.

9.3.5 Genkartlegging, Quantitative Trait Loci (QTL) og markør-assistert seleksjon (Marker Assisted Selection, MAS)

De fleste egenskaper som er av interesse i avlsprogrammer, er kvantitative og polygene trekk. Med andre ord, variansen i en egenskap kan deles opp i miljøbetingete og genetiske komponenter, og den genetiske komponenten av en egenskap er avhengig av effektene av flere forskjellige loci.

Hvis det var mulig i et avlsprogram å være sikker på at vi i så langt som mulig selekterer for den genetiske komponent i en egenskap, kunne seleksjonen gjøres mye mer effektiv. Dette er bakgrunnen for markørassistert seleksjon (MAS). Kort fortalt går MAS ut på å identifiserer quantitative trait loci (QTLs; se Lynch & Walsh 1998 for en grundig gjennomgang), i praksis genetiske markører som er koplet til et locus, og som har en effekt på en bestemt egenskap (det kan ofte være meget vanskelig direkte å identifisere det locus som har innflytelse på vedkommende egenskap). Dernest er det mulig å undersøke en rekke individer og identifisere dem som har det allelet vi ønsker i det aktuell QTL. Først deretter kan seleksjonen foretas basert på denne gruppen av individer. Dette effektiviserer seleksjonen fordi en større del av den genetiske komponenten i egenskapen er inkludert i form av QTL'en. Det må likevel bemerkes at dette er et meget forenklet eksempel blant en rekke ulike strategier for MAS.



Figur 3. Skjematisert representasjon av prinsippet bak markør assistert selection (MAS). a) Tre loci har en effekt på en bestemt egenskap som vi ønsker å selektere for i akvakultur. b) Vi har identifisert locus 1 som QTL. Det "sorte" allelet har en positiv effekt på den egenskapen vi vil selektere for. Vi analyserer derfor alle individene for variasjon i locus 1 og foretar en "preseleksjon" slik at kun individer med "sort" allel benyttes i den videre seleksjonen. Deretter foretas "normal" seleksjon blant disse individene basert på prinsipper fra kvantitativ genetik.

MAS forutsetter et omfattende forarbeid. Først og fremst må vi ha et meget stort antall genetiske markører til rådighet, og disse markørene kartlegges ved krysningsforsøk; det vil si at vi karlegger koplingsforholdene mellom de ulike loci. Deretter er det mulig å prøve å identifisere QTLs ved å teste for assosiasjoner mellom alleler på ulike loci og fenotyper for de egenskapene som er av interesse. Først når QTLs er identifisert, er det i prinsippet mulig å starte MAS.

Tabell 2. Fordeler og ulemper ved ulike markører til ulike formål

- = ikke brukbar, * = mindre god, ** = god *** = meget god.

	Allozymer	Mt DNA	Direkte analyse av kodende gener	Microsatellitt DNA	RAPD	AFLP
Generelt:						
Oppløselighet	*	**	**	***	**	**
Teknisk pålitelighet	***	***	***	***	*	***
Grad av kompetanse som kreves	Liten	Medium	Medium til stor	Stor, hvis det skal utvikles mikrosatellitter, ellers medium	Liten til medium	Medium
Hurtighet av analyse	***	**	**	** (*** på automatisk sekvenseringsutstyr)	***	** (*** ved automatisk sekvensering)
Omkostninger	Billig	Medium	Medium til dyr	Medium til dyr (avhengig av om det skal utvikles nye mikrosatellitter)	Billig til medium	Medium
Anvendelighet til spesifikke formål:						
Valg av populasjoner til stamfisk	**	**	**	***	*	**
Identifisering av individer og familier	*	- (men kan brukes sammen med andre typer markører)	*	***	*	**
Maksimering av genetisk diversitet	*	-	*	***	-	-
Maksimering av sjukdomsresistens	-	-	**	** (i forbindelse med markørassistert seleksjon)	-	* (i forbindelse med markørassistert seleksjon)
Kartlegging, QTL og markørassistert seleksjon	*	-	*	***	*	**(*)

Teoretisk arbeid har vist at MAS kan være mange ganger mere effektivt enn ”tradisjonell” seleksjon (f.eks. Lande & Thompson 1990). Dette gjelder spesielt hvis det er tale om liten arvbahet (arvegrad) for den aktuelle egenskapen fordi at med MAS kan seleksjonen i høyere grad målrettes mot den genetiske komponenten.

Generelt har en nådd lenger med MAS i planter enn i husdyr (f.eks. Mohan et al. 1997 vs. Spelman & Bovenhuis 1998). Det kan være flere årsaker til dette, blant annet den svært enkle grunn at generasjonstiden er kortere for planter enn for de fleste husdyr. Det må likevel understrekes at selv om MAS i teorien høres besnærende, kan denne metoden innebære meget store praktiske problemer. Eksempelvis er selve måten QTLs identifiseres på et problem, fordi det foretas et stort antall tester for sammenheng mellom fenotyper for en egenskap og et stort antall loci. Det store antallet av tester resulterer uvilkaarlig i et antall ”type 1 feil”, dvs. ”falsk” signifikant korrelasjon mellom en egenskap og et locus. Før det brukes store ressurser på MAS, må en derfor være helt sikker på at det eller de QTLs som skal benyttes, faktisk *er* QTLs, og det kan være nødvendig med tidkrevende replikater av forsøkene for å bekrefte dette (Spelman & Bovenhuis 1998).

Der er flere eksempler på konstruksjon av genkart for fisk. Ut over modellorganismer som zebrafisk dreier det seg blant annet om regnbueørret (Sakamoto et al. 2000), der det også er identifisert QTLs for toleranse overfor høye temperaturer (Perry et al. 2001). Channel catfish (amerikansk malle) er også en art der det planlegges identifisering av QTLs og MAS (Liu et al. 1999).

Der er i prinsippet mange typer genetiske markører som vil kunne bli brukt til genkartlegging og identifisering av QTLs. I praksis er det særlig mikrosatellitter, AFLP og RAPD som blir brukt. Mikrosatellitter har den store fordelene i forhold til de andre at der er tale om co-dominante markører, slik at det kan skjernes mellom homozygoter og heterozygoter. Imidlertid er det også et meget dyrt og tidkrevende arbeid som er nødvendig for å isolere og karakterisere det store antall loci som trenges til dette formålet. Selv om AFLP-markører er dominante, noe som medfører tap av informasjon, kompenseres det for dette ved at det med moderate omkostninger og arbeidsinnsats kan analyseres flere hundre markører. RAPD har de samme fordelene, men som tidligere nevnt er det et stort problem at resultatene ikke alltid er reproducerbare.

9.3.6 Funksjonell genomforskning

Til slutt skal nevnes et nytt forskningsområde som antas å få stor betydning innen akvakultur, nemlig funksjonell genomforskning (”functional genomics”). Svært forenklet dreier det seg om å undersøke hvilke gener som blir uttrykt i ulike livsstadier og/eller ved ulike miljøforhold. I praksis kan dette foregå ved analyse av messenger-RNA (budbringer-RNA) der den nye, såkalte microarray-teknologien har gjort det mulig å analysere enorme mengder data og til og med undersøke ”global gene expression” i et individ. Genetiske forskjeller mellom individer og populasjoner kan for eksempel gi seg utslag i at det ikke er de samme genene som blir uttrykt, til og med under identiske miljøforhold. De forskningsmessige perspektivene ved functional genomics er svært store. Det er mulig å oppnå langt dypere forståelse av sammenhengen mellom genotype og fenotype og samspillet med det omgivende miljøet. Dette er informasjon som kan få svært stor betydning i havbrukssammenheng.

9.4 Hva er realistisk for avlsprogrammer for marine organismer?

Etter denne gjennomgangen av genetiske markører og de muligheter de har for å bli anvendt i avlsprogrammer for marine organismer, melder spørsmålet seg uvilkårlig: Hva er egentlig realistisk for avlsarbeid innen marine organismer? Det er ikke mulig å gi et generelt svar på dette fordi så mye avhenger av økonomi og ambisjonsnivå. Torsk og kveite er ”flaggskiparter” i norske havbruksprogram, og de kan bli av meget stor betydning. Det er derfor realistisk med store forskningsmessige og økonomiske investeringer for disse artene, f.eks. i form av identifisering av QTLs og markørassistert seleksjon, men slike tiltak er på nåværende tidspunkt neppe realistiske for arter som har marginal betydning. Hvis vi går gjennom anvendelsesområdene ett for ett, kan vi imidlertid gjøre noen overordnede betraktninger:

- Bruk av genetiske markører ved valg av populasjoner til grunnlegging av stamfiskpopulasjoner, er absolutt realistisk og nyttig for alle arter som er relevante for marin akvakultur.
- Bruk av genetiske markører til identifisering av individer og familier vil først og fremst komme i betraktning for arter der et tilstrekkelig antall mikrosatellittloci (ca. 8-20) er til rådighet eller forventes utviklet. Dette er klart tilfelle for torsk og flere mollusker. Om disse metodene i realiteten er økonomisk forsvarlige, er omdiskutert, men i flere studier er det hevdet at det rent faktisk er betydelige fordeler å hente (f.eks. Norris et al. 2000). Alt i alt må det anbefales å vurdere kostnadene opp mot nytten (cost-benefit analyser) i hvert enkelt tilfelle.
- Maksimering av genetisk diversitet er en realistisk anvendelse, spesielt for arter der det er eller vil bli utviklet mikrosatellitter.
- Som nevnt bør det overveies nærmere om sjukdomsresistens bør være et avls mål i seg selv.
- Genkartlegging, identifisering av QTLs og markørassistert seleksjon (MAS) er en realistisk mulighet, men i første omgang primært for de artene som er av størst økonomisk interesse, og som derfor kan gis størst forskningsmessige oppmerksomhet, for eksempel torsk og kveite. Vi må videre være innstilt på at dette er et felt som stadig er under utvikling, og den forskningsmessige utfordringen og mulighetene for å yte vesentlige vitenskapelige bidrag vil øke. Det er også et område som krever betydelig ekspertise innenfor ulike disipliner, spesielt både kvantitativ og molekylær genetik. Det er nødvendig å overveie nøye hvilke type genetiske markører som skal brukes da det vil kreve store ressurser å utvikle et stort antall mikrosatellitt-loci. AFLP-teknikken kan være et brukbart alternativ som krever mindre ressurser og spesialkunnskaper.

9.5 Forholdet mellom klassisk avlsarbeid og molekylærbasert avl

De DNA-markører som er utviklet for forskjellige arter er tilstrekkelige til å bestemme korrekt avstamning, så sant en har typet foreldredyrene. Dette gir muligheter for felles oppal, dvs. samme miljø, for avkomsgrupper etter ulike foreldrepar, og vil derfor øke sikkerheten i seleksjonen og for å slippe stort omfang av individuell merking. Bruk av DNA-markører gir muligheter for å øke antall individer og antall familier og derigjennom øke mulighetene for genetisk framgang (større seleksjonsintensitet og sikkerhet på avkomsgrupperesultatene).

På den andre siden vil registrering av egenskaper gjennom vekstperioden, flere ganger, eller registrering av nye eller andre egenskaper, kreve retyping hver gang en skal vite avstamningen. Derfor har merking også sine klare fordeler (PIT-merker). Det er i tillegg et kostnadsspørsmål knyttet til omfanget av bruk av DNA-markører.

Avstammingsidentifikasjon gjennom DNA-markører er også en risikofaktor for representasjon av de ulike familier. Med variabel overlevingssevne i ulike familier kan avlspopulasjonen bli ubalansert og en vil ikke kunne ha ressurser til å genotype (for molekylærgenetiske markører) alle individene (for å sikre en lik representasjon av familier) (Gjerde et. al 2002, Villanueva et. al. 2002).

Forskning på en optimal kombinasjon av DNA-markører og merking for konvensjonell identifikasjon vil være viktig for et optimalt avlsarbeid på nye arter.

10. Alternative metoder

10.1 Innledning

Normalt vil avlsarbeid utnytte eksisterende variasjon i naturlige populasjoner og utnytte denne variasjonen i kultur. Det er imidlertid mulig, i hvert fall teoretisk, å påvirke genotypen for å ”konstruere” individer som er spesielt tilpasset og som er produktive i kultur. Slike metoder er diskutert og delvis tatt i bruk i minst 20 år, men hittil har de bare i liten grad fått betydning for kommersiell produksjon. Formålet med å forsøke alternative metoder er tosidig, (1) å oppnå høyere og billigere produksjon som i klassisk avlsarbeid, og (2) produsere sterile produksjonsdyr som ikke påvirker den genetiske konstitusjonen av naturlige populasjoner om de skulle rømme eller på annen måte blande seg med ville organismer. I det følgende vil det bli gitt en kort oversikt over noen aktuelle metoder vesentlig med bakgrunn i utredning gjort av Donaldson et al. (1993).

10.2 Triploider

Bakgrunnen for å produsere individer med tre sett av kromosomer er antakelsen om at slike individer antas å være sterile. Dette er antatt å være verdifullt i oppdrett fordi sterile individer ikke vil slutte å vokse eller tape kvalitet på grunn av kjønnsmodning. En annen motivasjon er at dersom produksjonsfisk i merd er steril, vil eventuell fisk som rømmer, ikke påvirke naturlige populasjoner.

Triploide organismer er lett å lage ved varme- eller trykksjokk på eggene kort tid etter befruktningen. Styrke og varighet for slike sjokk må utprøve for hver enkel art for å finne balansen mellom effektiviteten og overleving. Hos laksefisk er det funnet at triploide fisk vokser omtrent like raskt som normalt diploide, og hofisken er normalt steril. Hannfisken, derimot, har vist ulike grad av kjønnsmodning, og i hvert fall vist sekundære kjønnskarakterer. For nye arter må dette eventuelt utprøves, men det kan se ut som triplode organismer bare har interesse i forbindelse med samtidig produksjon av enkjønnet fisk (”all female population”, se nedenfor).

10.3 Gynogenese

Gynogenese er en prosess der bare maternalt arvestoff overføres til neste generasjon. Den forekommer naturlig hos noe arter av guppier (Poeciliidae) der spermien bare er brukt for å starte kløvingsprosessen i egget uten å overføre arvemateriale. I kultur kan kunstige gynogenetiske organismer bli produsert ved å befrukte eggene med spermier der arvematerialet er inaktivert ved radioaktivitet eller uv-stråling. Kløvingsprosessen starter, men ute at spermien bidrar med arvemateriale. Embryoet skulle derfor forventes å være et haploid individ, men det har vist seg (i hvert fall hos laks) at haploide individer ikke er levedyktige (de dør før klekking). For å oppnå diplode individer gis eggene et varmesjokk som hindrer utstøting av det andre pollegemet under celledelingen. Resultatet vil bli et diploid individ som har all sin genetiske informasjon fra mora. Denne prosessen har samme effekt som mange generasjoner med innavl, det vil si etableringen av innavla linjer. Innavl har vanligvis uheldige virkninger, men kan brukes i forbindelse med å krysse ulike innavlslinjer; noe som i praksis utnytter eventuell ikke-additiv arv ved hybrideffekter (”hybrid vigour”). Denne metoden har ennå ikke fått betydning i oppdrett, men kan bli aktuell på seinere stadier da det er mulig at ikke-

additiv arv er viktigere enn først antatt hos fisk. Gynogenetiske individer er alltid hofisk, og dette kan få betydning for arter der hofisk er langt mer produktive enn hannfisk.

Gynogenetiske fisk kan produsere diploide egg. Befruktes disse med sperm fra androgen-behandlede hofisk, produseres det triploid hofisk som erfaringsmessig alltid er steril. Hos slik fisk vil veksten ikke bli påvirket av kjønnsmodning, og den vil heller ikke påvirke naturlige populasjoner genetisk.

10.4 Kjønnskifte

Problemet med tidlig kjønnsmodning hos fisk er større for hannfisk enn for hunnfisk. Dette gjelder spesielt laksefisk og flatfisk. Som nevnt overfor har det ikke vært mulig å produsere sterile triploide hannfisk. Produksjon av bare hofisk vil derfor være verdifullt både for å minske problemet med tidlig kjønnsmodning og for å kunne produsere sterile triploider. Kjønnen er ganske lett å påvirke hos fisk med å føre med kjønnssteroider, men slik føring av produksjonsfisk vil neppe markedet akseptere. Indirekte kan denne effekten oppnås ved å føre tidlig yngel med hannlige steroider (androgener). Populasjonen vil da være en blanding av normale hanner og fisk som genetisk er hofisk, men som blir funksjonelle hanner. Ved å krysse de sistnevnte med normal hofisk, vil avkommet bare bestå av hofisk. Ved å kombinere denne prosessen med triploidisering (direkte eller via gynogenese), vil det være mulig å produsere triploid produksjonsfisk som bare består av hofisk. Så langt vi kjenner til, har denne prosessen ikke blitt brukt i praktisk oppdrett i vesentlig grad.

For noen marine fisk, spesielt kveite og andre flatfisk, kan produksjon av enkjønnsfisk være aktuelt forutsatt at produksjonsfisken ikke tilføres hormoner og at markedet aksepterer denne typen produksjon. Et selvfølgelig vilkår må være at kjønnsmanipulert fisk ikke fører til kvalitets- og kvantitetsmessig redusert produksjon. Dersom alder ved kjønnsmodning ikke trengs å bli tatt med som seleksjonskriterium, kan det legges større vekt på andre egenskaper, for eksempel vekst, som dermed raskere kan gi ønsket genetisk framgang.

I det strategiske programmet 11305/140, *Avlsforskning på kveite*, ble det gjort forsøk på å produsere gynogenetisk kveite for seinere produksjon av bare hofisk. Overlevingen av den gynogenetiske fisken var imidlertid så liten at forsøkene foreløpig ble avsluttet.

10.5 Transgene organismer (GMO)

Transgene eller genmodifiserte organismer har enten fått tilført gener fra en annen art eller de har fått tilført ekstra kopier av ønskede gener fra sin egen art. Transgen laks ble først utviklet ved å overføre gener som koder for veksthormoner, enten fra pattedyr eller ekstra kopier fra laks. Seinere er teknologien forbedret, og i dag kan det produseres en ”superlaks”. Rutinemessig er slik produksjon likevel ustabil. Det er vanskelig å si hvor stor betydning transgen produksjon vil og kan få. Det er avhengig av stabil teknikk, om markedet aksepterer et slikt produkt og om supervekst virkelig betyr bedre førutnytting.

For nye arter kan det være aktuelt å forbedre resistensen mot sykdommer og parasitter med å overføre ”resistensgen” fra andre arter. Imidlertid finner utvalget at denne metoden foreløpig ikke kan anbefales på grunn av usikkerheten omkring markedssituasjonen for transgene produkter og fordi FoU-arbeidet nødvendigvis må bli kostbart og usikkert. Et unntak vil muligens være produksjon av vaksiner ved hjelp av genmodifisering.

11. Karakterer korrelerte til stress

Når det er valgt ut en serie avlsmål, er det selvfølgelig viktig at ingen av disse er negativt korrelert til hverandre, det vil si at avlsmessig framgang for én egenskap ikke er knyttet til en negativ utvikling for en annen egenskap. I praktisk avlsarbeide må en derfor være påpasselig med å studere fenotypiske og genetiske korrelasjoner både mellom de ulike avlsmål og mellom avlsmål og andre karakterer hos oppdrettsarten som en ikke ønsker en negativ utvikling av.

Korrelerte egenskaper av positiv art, dvs at avlsmessig framgang for én egenskap fører til framgang for andre egenskaper, er viktig når det gjelder å forbedre egenskaper som en ikke kan måle på individet selv mens det ennå lever, for eksempel sykdomsresistens og slaktekvalitet. En idé som har vært utprøvd, er å finne fram til en egenskap eller et seleksjonskriterium som viser en positiv korrelasjon til flere andre og kanskje vanskeligere håndterbare avlsmål. Det siste tiåret og vel så det har det derfor vært drevet omfattende studier av mulighetene for å øke stresstoleransen hos fisk ved seleksjon. Gitt hva vi nå vet om effekter av stress, ville en kunne forvente at økt stresstoleranse ville innvirke på en rekke viktige produksjonsegenskaper som f.eks. vekst, førutnyttelse, sykdomsresistens, eggkvalitet, overleving etter gyting, samt slaktekvalitet. Dette er alle egenskaper som akvakulturindustrien selv har utpekt til nøkkelkandidater for forbedring. De krav som må stilles til stress som et indirekte avlsmål for andre egenskaper er selvfølgelig at stress må vise en genetisk variasjon hos oppdrettsorganismen samt at det kan påvises genetiske korrelasjoner mellom stress og de aktuelle avlsmål.

De mest omfattende studier av egenskaper som er korrelerte til stress, har vært foretatt på anadrome fiskearter som laks og ørret, og eksemplene nedenfor er en sammenfatning av disse studiene. I mindre skala har korrelasjoner mellom stress og ulike produksjonsparametre også vært studert på marine arter som gilthead seabream (*Sparus aurata*), på ferskvannsfisk (karpe), og på ulike muslinger (blåskjell, østers, kamskjell).

De spesifikke mål som har vært satt for den forskningsmessig innsatsen de senere år har vært følgende:

- å etablere et avlsprogram som har til hensikt å øke toleransen for stress,
- å fastslå hvorvidt nivået av de stressrelaterte parametre slik de måles hos foreldregruppen nedarves til avkomsgruppene,
- å kvantifisere arvbaheten til de selekterte parametrene, og
- å vurdere hvorvidt avkomsgruppene av stresstolerante foreldre virkelig viser framgang i utvalgte avlsmål i forhold til uselekterte foreldre.

Utvalgsmetodene som har vært benyttet for å påvirke stresstoleransen, har vært basert både på ren individseleksjon, familieseleksjon og individ-innen-familieseleksjon. Det mest benyttede seleksjonskriterium for stressrespons har vært cortisol, et corticosteroid hormon som er kjent for å øke i konsentrasjon etter stress. Cortisol viste seg etterhvert å ha en høy arvbahet på f. eks. regnbueørret ($h^2 \cong 0.5$) (Fevolden et al. 1999, 2002a). Lysozym, som er et bakteriolyttisk enzym, har også vist seg å påvirkes av stress, om enn avhengig av stressets natur og med en noe lavere, men fremdeles relativt høy arvbahet ($h^2 \cong 0.3$) (Fevolden et al. 1999, 2002a). Det ble derfor produsert seleksjonslinjer av fisk med hhv. høyt og lavt post-stress nivå av både cortisol og lysozym. I andre sammenhenger er både spesifikke og andre uspesifikke immunparametre brukt som seleksjonskriterier for å studere korrelasjoner til sykdomsresistens.

Korrelasjoner mellom stressrespons og ulike egenskaper, slik de er funnet hos laksefisk, kan summeres i følgende tabell der + antyder en positiv korrelasjon, - en negativ korrelasjon og ? antyder at resultatene ikke er éntydige, eller at datamengden er for sparsom til at sikre konklusjoner kan trekkes.

<i>Stress korrelert til:</i>	<i>Høystressrespondere</i>	<i>Lavstressrespondere</i>
Vekst	-	+
Kondisjonsfaktor	-	+
Ionebalanse	-	+
Toleranse for multipl stress	-	+
Adferd	-	+?
Slaktekvalitet	-	+?
Reproduksjon	?	?
Resistens mot furunkulose	-	+
Antistoff mot <i>Aeromonas salmonicida</i>	-	+
Resistens mot vibriose	+/-	+/-
Antistoff mot <i>Vibrio anguillarum</i>	+?	-?
IgM	-	+
Komplement systemet	?	?
Lysozym	-?	+?

Hva som synes klart er at vekst er negativt korrelert til stress (mye “eldre” men også annen nyere litteratur støtter opp om dette; e.g. Weil et al. 2001). Immunkompetanse er antatt å være negativt korrelert med stress, men situasjonen her er kompleks. Det har vist seg at fisk selektert for høy stresstoleranse, kan vise økt resistens mot én sykdom og nedsatt resistens mot en annen sykdom (e.g. Røed et al. 2002). Samme uklare bilde har en fått når en korrelerer stressrespons mot nivåer av både spesifikke og uspesifikke antistoffer. Det synes m.a.o. vanskelig å avle fram en fisk med et generelt forbedret immunsystem, mens det derimot har vært gjort vellykkete forsøk på å selekere for økt immunrespons for spesifikke sykdommer (se for eks. oppdatert informasjon i Midtlyng et al. (2002)).

Evnen til å tolerere flere stressfaktorer samtidig kan synes å være bedre hos lavstressfisk enn høystressfisk (e.g. Fevolden et al. 2002b).

Slaktekvalitet er en diffus og til dels subjektiv egenskap sett i forhold til stress. Blant egenskaper som er testet kan nevnes i) muskelfasthet, som ikke viser entydig korrelasjon til stress; ii) ytre og indre farge (f. eks. mengde astaxathin) som i stor grad heller ikke viser statistiske forskjeller mellom høystress og lavstress fisk, og iii) bakterieinnhold i fiskefiletene etter lagring, der det har vært påvist høyere bakterietall i høystressfisk enn i lavstressfisk

Som en konklusjon på temaet korrelerte egenskaper til stress er det nå uomtvistelig vist at stresstoleransen hos fisk har en betydelig genetisk komponent og lar seg forbedre ved avl. Usikkerheten om avlsverdien på egenskapen stresstoleranse i form av korrelasjoner til ulike viktige produksjonsparametre er imidlertid fremdeles så stor at en ikke kan gå ut og anbefale at stress blir lagt inn som et seleksjonskriterium i et avlsprogram. Riktignok er det klare indisier på at f. eks. vekstparametre er positivt korrelert til et lavt stressnivå (høy stresstoleranse), men ønsker en å selekere for økt vekst, så vil en fremdeles oppnå bedre avlsmessig framgang ved å bruke vekst som seleksjonskriterium. Dette gjelder i høyeste grad også egenskaper knyttet til sykdomsresistens og slaktekvalitet.

12. Miljøbetraktninger

Intensivt oppdrett der hele livssyklusen holdes i kultur, er i prinsippet et lukket system. Oppdretta organismer skal i prinsippet ikke komme i kontakt med ville organismer utenfor dette systemet. Dette viser seg i praksis ikke å holde stikk. Rømming fra oppdrettsanlegg forekommer trass i stor innsats for å hindre dette. Rømt oppdrettsfisk vil komme i kontakt med villfisk og opptre som konkurrenter til denne. Den vil også kunne reproducere i naturen eller krysse seg med villfisk. Dette er spesielt aktuelt for laks der en antar at hver elv har sin egen populasjon som er tilpasset til å reproducere under slike miljøforhold som de enkelte elvene representerer. Dessuten er de naturlige populasjonene av villaks svært små i forhold til oppdrettslaksen og til å med i forhold til antall rømt oppdrettslaks. Rømt oppdrettslaks representerer dermed en fare for utjevning av de genetiske tilpasningene til spesielle miljøforhold samt å konkurrere om gyteplasser og revir i elver der den ikke er tilpasset.

For marine arter er faremomentene i prinsippet de samme. Det forventes kanskje at det forekommer mindre spesielle tilpasninger hos marine arter som lever og reproducere under miljøforhold som kan være ganske like over store avstander. Men dette er ennå ikke klarlagt, bortsett fra at det er påvist klar populasjonsstruktur, spesielt hos torsk, ved hjelp av ulike markørgener, og det er mulig at dette reflekterer spesielle tilpasninger. Bestanden av rømt oppdrettet marin fisk antas å være liten i forhold til de naturlige populasjonene (gjelder muligens ikke kveite og piggvar), og konkurransen om gyteplass og revir i det marine miljø antas å være liten. Dette vil likevel først og fremst være tilfelle for typiske oseaniske populasjoner. Torsk og andre marine arter ser ut til å være oppdelte i forholdsvis få, svært store oseaniske populasjoner samt flere mindre populasjoner i fjorder og kystnære farvann. Da oppdrettsanleggene for marine arter vil ligge i slike fjorder og kystnære områder, er det mulig at rømning vil påvirke de forholdsvis små lokale populasjonene der rømt fisk kan utgjøre en relativt stor del av bestandene. Der er imidlertid ennå utilstrekkelig kunnskap til å avgjøre i hvilket omfang torsk i kystområdene er oppdelt i lokale bestander som kan antas å ha biologisk ulike egenskaper, og videre forskning for å avklare dette spørsmålet vil være nødvendig. Spesielt må det anbefales å analysere den genetiske populasjonsstrukturen for de ville torskbestandene i de områder hvor intensivt torskeoppdrett forventes å bli utviklet. Dermed har vi en genetisk "baseline" for hvordan den genetiske sammensetningen var før torskeoppdrettet startet. Dette er data som seinere kan brukes til å vurdere konkret om rømt oppdrettstorsk har påvirket de ville bestandene i større omfang. Alt i alt er det uklart hvorvidt forholdet oppdrettsfisk/villfisk antas å representere mindre konflikter når det gjelder marine fiskearter enn for laksefisk, men føre vår prinsippet tilsier varsomhet når det gjelder eventuelle uheldige virkninger av at villfisk og foredlet oppdrettsfisk kommer i kontakt.

For skjell og andre arter som i hvert fall i en del av livsløpet lever fritt eller tilnærmet fritt i sjøen, er det nær kontakt mellom oppdrettsorganismer og ville organismer. Hvilke faremomenter dette representerer, er vanskelig å uttale seg om. Overføring av organismer mellom regioner, har ført til spredning av sjukdommer og parasitter, men dette kan neppe relateres til genetisk foredlingsarbeid.

13. Etiske og markedsmessige aspekter

I seinere tid har såkalte ”non-market” verdier fått større oppmerksomhet, og dyrevelferd er blitt et begrep som både produsenter og forbrukere vil og må ta hensyn til. Det er ennå uklart i hvilken grad dette kan innarbeides i avlsprogram, men blant annet i det strategiske programmet 143045/140, *Future animal breeding goals -Product development in aquaculture and livestock production*, AKVAFORSK i samarbeid med Norges landbrukshøgskole, blir det arbeidet med slike perspektiver. Dette vil i høy grad være relevant for nye arter.

Dyrevelferd er et begrep som er kommet i søkelyset i forbindelse med utvikling av havbruket, og det gjennomføres i dag forskningsarbeid som har som overordna siktemål å sikre at organismer i kultur så langt det er mulig gis optimale levevilkår. Avlsarbeidet tar sikte på å gi næringen bedre økonomisk utbytte og markedet bedre produkter, men også å øke tilpasningen til liv under kulturforhold. Det siste skulle tilsi at en foredlet bestand er bedre skikket til å leve under de vilkårene som havbruket kan tilby. Men med den store reproduksjonsevnen som akvatiske organismer har, er det mulig å gjennomføre en svært intens seleksjon, og det er mulig å endre dyras morfologi og muligens fysiologi. Et overordna krav her bør være at avlsarbeidet ikke skal lede til utvikling av organismer som mangler de karakteristiske trekk for arten. (Et eksempel her er hybrider av laksefisk som kan leve og vokse som normale fisk, men som ikke kan kjennes igjen som produkt, og som ofte vil utvikle helt abnorme morfologiske trekk). En viktig forholdsregel ved sterk seleksjon er å måle og registrere sentrale morfologiske og biologiske trekk som ikke nødvendigvis inngår i avlen. Dette kan gi et tidlig varsel om uønskete effekter av seleksjonsarbeidet.

Transgene organismer (GMO) representerer både et etisk og et markedsmessig problem. Så lenge det er usikkert om markedet vil akseptere produkter basert på GMO, og også om slike organismer representerer etisk forsvarlige metoder, er det liten grunn til å legge vekt på utvikling av slike organismer for praktisk bruk i oppdrett. Det samme gjelder kanskje også for kromosommanipulasjoner. I hvert fall kjønnsskifte ved hjelp av hormonbehandling på tidlige stadier (genetiske hunnfisk som er funksjonelle hanner) gir anatomiske utslag ved at fiskene mangler utførsels ganger og sædvæske, og det kan være grunn for å ta slike ting i betraktning når ved planlegging av avlsarbeid basert på slike metoder. Sterkt innavla populasjoner (for bruk i linjeavl) kan trolig også vise degraderinger av anatomisk og fysiologisk art.

Avlsarbeidet, såvel som andre aktiviteter i forbindelse med oppdrett, skal kunne gjennomføres på en slik måte at produktene ikke kommer i vanry på grunn av aktuelle eller potensielle uetiske produksjonsmetoder. Dette er først og fremst et spørsmål om åpenhet i produksjonen, kunnskapsformidling og informasjon til markedet, forvaltningen og almenheten. Videre skal avlsarbeid ikke føre til at produktene blir dårligere akseptert i markedet; fortrinnsvis skal avlen hjelpe til å gi produktene et godt ry på grunn av god og ønsket kvalitet.

Begrepene ”bærekraftig avlsarbeid” og ”bevaring av genetiske ressurser” har de siste år blitt viktige styringsverktøy i husdyravlen, og det er ingen grunn til ikke å ta disse hensyn også i avl på nye marine arter. Det er viktig å opprettholde biodiversiteten, den genetiske variasjonen og bærekraften i framtidig avlsarbeid. Dette bør også reflekteres i de forskningsprioriteringer som skjer innen nye arter.

I husdyravlen har det i tillegg blitt fokusert på utvikling av uønskede genetiske egenskaper som en følge av intensiv avl for økt produksjon. De samme vurderingene bør gjøres gjeldene innefor avl av nye marine arter selv om disse effektene ikke nødvendigvis dukker opp i de første generasjoners seleksjon, men mer i et langsiktig perspektiv.

Ikke bare direkte økonomisk viktige karakterer bør og skal avles på. Det er også viktig, og det er stigende forståelse for, å ta hensyn til dyrevelferd og etiske aspekter, og dette er en utvikling som bør reflekteres i planlegging av avlsarbeid for nye arter.

14. FoU-utfordringer, oppsummering

14.1 Generelle betraktninger

FoU utfordringer innen nye arter vil være en kombinasjon av grunnleggende og mer anvendt forskning. Det er viktig og framskaffe ny grunnleggende kunnskap samtidig som mer anvendt forskning rundt drift av avlsopplegg, oppfølging av nye egenskaper, optimalisering av avlsprogram etc. må pågå parallelt.

En første tilnærming til et avlsarbeid for en ny art er å vurdere målene for arbeidet. Dette vil være basert på biologisk kunnskap om arten samt de krav eller ønsker som såvel produsenten som markedet måtte ha. Som regel vil dette være foreløpige anslag, og det er sannsynlig at avlsmålene vil endre seg, som regel bli mer kompliserte, når arbeidet kommer i gang. Avlsmålene vil også påvirke kompleksiteten i opplegget. Ett avlsmål som tilsier seleksjon på én karakter, indikerer et enkelt opplegg, mens mange avlsmål med endring av mange karakterer, krever et mer sofistikert opplegg med kunnskap om genetiske, biologiske og økonomiske parametere. For enkle opplegg vil ofte masseutvalg være tilstrekkelig, mens det for mange karakterer vil være nødvendig å vekte avlsmålene ved å utarbeide indekser, strukturere avlspopulasjonen i familier, gjerne også større grupperinger, og å kunne selektere også for karakterer som ikke kan registreres på levende dyr, det vil si at seleksjonen må kunne baseres på søskenkorrelasjoner. Uansett hvilke opplegg som velges, vil det være en fordel å kunne identifisere slektninger enten ved ytre merker, eller ved genetisk merking.

Avlsarbeid for nye arter i oppdrett krever et minimum av kunnskap med hensyn på teknisk/biologisk tilpasning til liv under kulturformål. Dette vil normalt si at en behersker reproduksjonsfasen for de aktuelle artene, og at en med rimelig grad av sikkerhet kan forutsi at forsøksmaterialet kan overleve slik at det vil være mulig å samle inn de data som er nødvendige for å vurdere grunnlaget for de avlsmål som er satt. Videre må individene modnes og gi gameter av høy kvalitet under oppdrettsforhold slik at de neste generasjonene kan produseres på grunnlag av forsøksmaterialet. Dersom en art ikke er kommet langt nok med hensyn på kunnskap om intensivt oppdrett til at dette med rimelig grad av sikkerhet kan oppfylles, er det for tidlig å starte avlsarbeid. FoU-utfordringene vil da falle sammen med de generelle FoU-behovene for å etablere arten som oppdrettsart.

Tilrettelegging for genetisk merking, både til identifikasjon av individer og familier, men også som et verktøy for å velge ut fisk med bestemte egenskaper i et avlsprogram (marker-assisted selection), er en FoU-utfordring for de fleste arter. Det antas at mikro-satellitter eller AFLP vil være mest aktuelt, og det er en FoU-utfordring å identifisere primere og å prøve dem ut med hensyn på at de viser variasjon som gir godt grunnlag for bruk til genetisk merking. En viktig utfordring vil også være å rasjonalisere denne type analyser med hensyn på å få kostnadene så lave at metodene ikke ekskluderer seg selv.

Et opplegg som tar sikte på å undersøke om det finnes genetisk variasjon i produksjonskarakterer for en art, samt å estimere genetiske parametre, kan gjennomføres med bakgrunn i et relativt begrenset utgangsmateriale. En må imidlertid være oppmerksom på at dette kan gi ufullstendige svar på spørsmålene som stilles, og at forskningsoppfølging

etter hvert som avlsprogrammene drives, er viktig. For et mer omfattende avlsarbeid er basispopulasjonene meget viktige. De må være så omfattende at det er rimelig å anta at de inneholder en stor del av den aktuelle variasjonen som finnes i naturen. Flere populasjoner (identifisert ved hjelp av genetiske markører) bør være representerte, og det må på forhånd vurderes om en skal utvikle foredla oppdrettspopulasjoner innenfor de naturlige populasjonene eller en skal blande materiale fra flere naturlige populasjoner for å bygge opp en oppdrettspopulasjon. Det siste har den fordel at en kan ”plukke” egenskaper fra flere populasjoner (forutsetter krysning mellom populasjonene), mens det kan føre til uheldig genblanding dersom det skulle komme til omfattende rømming fra slike ”syntetiske” populasjoner. Dette vil være en utredningssak der våre prinsipene vektles mot fordelene ved å ha breiest mulig bakgrunn for oppdrettspopulasjonen og ved å slippe å arbeide med foredling av flere populasjoner.

Mulig bruk av alternative metoder, kromosommanipulasjoner, vil også være en vurderingssak. Såvidt en kan se vil et slikt arbeid ha to hovedhensikter; nemlig å eliminere eller dempe virkningen av tidlig kjønnsmodning hos fisk og å produsere sterile organismer som ikke kan påvirke de naturlige populasjonene genetisk (økologisk kan kultur- og naturpopulasjoner likevel være konkurrenter). Tidlig kjønnsmodning er først og fremst et problem hos hannfisk, og produksjon av bare hunnfisk vil i stor grad eliminere virkningen av tidlig kjønnsmodning. Dersom noen av disse metodene blir vurdert bruk, kreves det FoU-arbeid med hensyn på å tilpasse metodene til de enkelte artene. Dette kan gjøres med utgangspunkt i resultatene som tidligere er oppnådd med laksefisk, men det antas at hver art vil kreve spesielle tilpasninger. Bruk av slike metoder krever også en vurdering med hensyn på etiske og markedsmessige aspekter.

14.2 Artsspesifikke FoU-utfordringer

14.2.1 Torsk

Metodene for oppdrett av yngel er nå så godt utviklet at det med rimelig grad av sikkerhet kan oppdrettes familier og registreres produksjonsegenskaper for dem. Det er produsert ca. 50 familier, som nå er under oppvekst (AKVAFORSK), etter klassiske metoder, og det er påvist variasjoner i vekst og overleving. I Tromsømiljøet er man også i gang med å produsere et stort familielemmateriale av torsk med stamfisk både av skrei og kysttorsk. Det finnes dessuten betydelige stamfiskpopulasjoner ved flere andre institusjoner, slik at man i utgangspunktet kunne anta at det eksisterer et tilstrekkelig grunnlagsmateriale for videre undersøkelser av genetisk variasjon og estimat av genetiske parametre. For et stort og langsiktig avlsprogram vil det imidlertid måtte vurderes nøye om eksisterende stamfiskpopulasjoner virkelig er representative for den antatte variasjonen som finnes. Videre må det vurderes nøye hvor mange oppdrettspopulasjoner som bør utvikles, blant annet i hvilken grad en skal krysse kysttorsk og skrei for å kunne kombinere egenskaper fra begge hovedtypene i en foredla oppdrettspopulasjon. Dette må også vurderes i lys av mulige framtidige miljøproblem knyttet til rømming.

Avlsmålene må også vurderes. Vekst synes å være en selvfølgelig egenskap å arbeide med. Kjønnsmodning er usikkert da erfaring viser at oppdretta torsk alltid vil modne ved lav alder og liten størrelse, og det er usikkert om det finnes tilstrekkelig variasjon for genetisk foredling i denne egenskapen. Muligens er dette en karakter som lettest kontrolleres ved lysregulering eller andre miljøeffekter. En skal heller ikke se bort fra at kromosommanipulasjoner kan brukes for å kunne kontrollere kjønnsmodningen.

Karakterer knyttet til produktkvalitet vil også være sentrale for framtidig avlsarbeid på torsk.

Bruk av genetiske markører for merking vil være vesentlig for et omfattende avlsarbeid. Det er laget primere for en rekke mikrosatellitter for torsk, og FoU arbeid for å bruke dem i praktisk avlsarbeid er i gang og bør prioriteres videre, også med hensyn på analysekostnader.

14.2.2 Kveite

Også for kveite er metodene for oppdrett av yngel nå så godt utviklet at det med rimelig grad av sikkerhet kan oppdrettes familier og registrere produksjonsegenskaper for dem. Det er produsert 22 familier (AKVAFORSK) etter klassiske metoder, og det er påvist store variasjoner i vekst og overleving. Flere institusjoner har i dag stamfiskpopulasjoner som er en blanding av villfanget og oppdrettet kveite. Det anses at dette er et tilstrekkelig grunnlagsmateriale for innledende undersøkelser av genetisk variasjon og estimering av genetiske parametre, men det må vurderes nøye om grunnlaget er bredt nok for et mer omfattende og langsiktig avlsprogram. Videre må avlsmålene vurderes. Tidlig kjønnsmodning er et betydelig problem når det gjelder hannfisk, og det vil derfor være naturlig å undersøke om det er mulig å produsere steril fisk eller bare hunnfisk ved hjelp av kromosommanipulasjoner. Foreløpige forsøk på å produsere gynogenetisk kveite har vært mislykket, men det er nødvendig med mer omfattende metodiske tilpasninger for at slike metoder skal kunne brukes på en ny art.

Bruk av markører for genetisk merking vil være enda viktigere for kveite enn for torsk for et omfattende avlsarbeid. Det er laget primere for en rekke mikrosatellitter for kveite, og FoU arbeid for å bruke dem i praktisk avlsarbeid er i gang og bør prioriteres videre.

14.2.3 Piggvar

For piggvar er yngeloppdrett sikrere enn for torsk og kveite, og avl etter klassiske metoder vil derfor være godt mulig. Dessuten er det utviklet primere for en rekke mikrosatellitter for piggvar, og derfor ligger det godt til rette for genetisk merking og markørassistert avl. Imidlertid er det ennå usikkert om oppdrett av piggvar noen gang vil få så stort omfang i Norge at det rettferdiggjør et omfattende avlsarbeid, da det neppe er aktuelt med oppdrett av denne arten annet enn i oppvarmet vann (spillvann fra industri). En mulighet er avlsprosjekt som er felles for nasjoner som har eller venter å utvikle piggvaroppdrett, men det kan være vanskelig å finne en modell for felles finansiering av et langsiktig arbeid. Det antas at nasjonalt er det mest aktuelt å utvikle et enkelt opplegg for avlsarbeid med vekt på én (vekst) eller et fåtall karakterer. Masseutvalg kan i første omgang være tilstrekkelig, men for å unngå innavl i en begrenset populasjon, og dersom det er aktuelt å arbeide med karakterer som bare kan måles/registreres på død fisk, vil strukturering av stamfiskpopulasjonen(e) være nødvendig, fortrinnsvis ved bruk av genetisk merking.

14.2.4 Andre fiskearter

For andre fiskearter ligger FoU-utfordringene på det generelle planet da det er nødvendig å beherske oppdrettsteknologien til en rimelig grad før det har noen hensikt å starte avlsarbeid. Et unntak kan være flekksteinbit der det i det minste kan være aktuelt å sammenlikne ulike geografiske stammer med hensyn på oppdrettsegenskaper. Videre arbeid vil være avhengig av de innledende undersøkelsene samt av hvilken betydning

arten får eller synes å få som oppdrettsart. Dette gjelder også arter som hyse og lysing som synes å ha potensiale som oppdrettsarter, men der det teknisk/biologiske grunnlaget ennå ikke er etablert.

14.2.5 Skjell

Avl på ulike skjellarter er etablert i utlandet, og det er påvist arvelige variasjoner i vekst og motstandsevne mot parasitter og sykdommer. Hos oss er avlsarbeid aktuelt på stort kamskjell, men teknologien er ennå for usikker med hensyn på å beherske yngeloppdrettet. Det er ennå for mange ukjente faktorer som bestemmer overlevingen, men når de basale problemene er løst, vil avlsarbeid i høg grad være aktuelt.

For østers er situasjonen usikker. Det er fremdeles vanskelig å få østersoppdrett til å lønne seg økonomisk, og før dette blir bedre og østersoppdrettet får større interesse, er det vanskelig å tenke seg å starte avlsprogram.

Blåskjell er i en spesiell stilling. Med nåværende teknikk er avlsarbeid lite aktuelt fordi materiale for oppdrett (dyrking) samles inn fra naturlig gyting. Imidlertid er det en generell erfaring at blåskjell varierer sterkt geografisk med hensyn på muskelfylde, skallform og farge, og dersom dette representerer arvelige egenskaper, vil avlsarbeid ha sin berettigelse. Skal dette undersøkes og videre utnyttes i praktisk produksjon, må det utvikles teknologi som gjør det mulig å beherske reproduksjonsfasen, for eksempel ved kontrollert gyting og yngelpåslag i tanker eller lukka innhegninger. Vekstfasen kan likevel foregå under "åpne" forhold som nå, i hvert fall i den perioden da naturlig påslag er lite sannsynlig. Dersom blåskjelloppdrett "tar av" som næring, og det er vilje og evne blant utøvere, forskningsinstitusjoner og bevilgende myndigheter, kan et slikt halvintensivt blåskjelloppdrett med foredla materiale få stor betydning for framtidig produksjon av blåskjell.

15. Litteraturhenvisninger

Anon. Strategisk program 113052/140, *Avlsforskning på kveite*, AKVAFORSK, sluttrapport av 5. januar 2001.

Bekkevold D, Hansen MM, Loeschcke V. 2002. Male reproductive competition in spawning aggregations of cod (*Gadus morhua*, L.). *Molecular Ecology* 11, 91-102.

Bentsen HB, Eknath A.E., Palada-de Vera MS, Danting JT, Bolivar HL, Reynes RA, Dionisio EE, Longalong FM, Circa AV, Tayamen MM, Gjerde B. 1997. *Aquaculture* 160, 145-173.

Bentsen, HB, Olesen I. 2002. Designing aquaculture mass selection programs to avoid high inbreeding rate. *Aquaculture* 204, 349-358.

Bernatchez L, Duchesne P. 2000. Individual-based genotype analysis in studies of parentage and population assignment: how many loci, how many alleles? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57, 1-12.

Boudry P, Collet B, Cornette F, Hervouet V, Bonhomme F. 2002. High variance in reproductive success of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*, Thunberg) revealed by microsatellite-based parentage analysis of multifactorial crosses. *Aquaculture* 204, 283-296.

Culloty SC, Cronin MA, Mulcahy MF. 2001. An investigation into the relative resistance of Irish flat oysters *Ostrea edulis* L. to the parasite *Bonamia ostrea* (Pichot et al. 1980). *Aquaculture* 199, 229-244.

Donaldson EM, Robert H, Devlin I, Solar I, Piferrer F. 1993. The reproductive containment of genetically altered Salmonids. Pp. 113-129 i J.G. Cloud og G.H. Thorgaard: *Genetic Conservation of Salmonid Fishes*. Plenum Press, New York, 1999.

Doyle RW, Perez-Enriquez R, Takagi M, Taniguchi N. 2001. Selective recovery of founder genetic diversity in aquacultural broodstocks and captive, endangered fish populations. *Genetica* 111, 291-304.

Duchesne P, Godbout M-H, Bernatchez L. 2002. PAPA (Package for the Analysis of Parental Allocation): A computer program for simulated and real parental allocation. *Molecular Ecology Notes* 2, 191-193.

Ferguson MM, Danzmann RG, Arndt SKA. 1993. Mitochondrial DNA and allozyme variation in Ontario cultured rainbow trout spawning in different seasons. *Aquaculture* 117, 237-259.

Fevolden S-E, Pogson GH. 1997. Genetic divergence at the synaptophysin (Syp I) locus among Norwegian coastal and north-east Arctic populations of Atlantic cod. *Journal of Fish Biology* 51, 895-908.

Fevolden SE, Røed KH, Fjalestad KT, Stien J. 1999. Poststress levels of lysozyme and cortisol in adult rainbow trout: heritabilities and genetic correlations. *Journal of Fish Biology* 54, 900-910.

Fevolden S-E, Røed KH, Fjalestad K. 2002a. Selection response of cortisol and lysozyme in rainbow trout and correlation to growth. *Aquaculture* 205(1-2), 61-75.

Fevolden S-E, Røed KH, Fjalestad K. 2002b. A combined salt and confinement stress enhances mortality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) selected for high stress responsiveness. *Aquaculture* (in press).

Ford MJ, Thornton PJ, Park LK. 1999. Natural selection promotes divergence of transferrin among salmonid species. *Molecular Ecology* 8, 1055-1061.

Gjedrem T. 2001. Heritability for size in molluscs. Notat, 4 s. (mimeo).

- Gjerde B, GjØen HM, Villanueva B.** 1996. Optimum designs for fish breeding programmes with constrained inbreeding. Mass selection for a normally distributed trait. *Livestock Production Science* 47, 59-72.
- Gjerde B, Salte R, Andersen Ø, Holmefjord I, Lein I, Rye M.** 1999. Strategier for avlsarbeid på kveite. AKVAFORSK 1999.
- Gjerde B, Villanueva B, Bentsen HB.** 2002. Opportunities and challenges in designing sustainable fish breeding programs. 7th. World Conference on Genetical Application to Animal Production 30, 461-468.
- Hansen MM, Kenchington E, Nielsen EE.** 2001. Assigning individual fish to populations using microsatellite DNA markers: Methods and applications. *Fish and Fisheries* 2, 93-112.
- Hartl DL, Clark AG.** 1989. Principles of Population Genetics. Sinauer Associates.
- Jarne P, Lagoda P.JL.** 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecology and Evolution* 11, 424-429.
- Lande R, Thompson R.** 1990. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics* 124, 743-756.
- Landegren U, Nilsson M, Kwok PY.** 1998. Reading bits of genetic information: Methods for single-nucleotide polymorphism analysis. *Genome Research* 8, 769-776.
- Langefors A, Lohm J, Grahn M, Andersen O, von Schantz T.** 2001. Association between major histocompatibility complex class IIB alleles and resistance to *Aeromonas salmonicida* in Atlantic salmon. *Proceedings of the Royal Society of London Series B* 268, 479-485.
- Liu ZJ, Li P, Argue BJ, Dunham RA.** 1999. Random amplified polymorphic DNA markers: usefulness for gene mapping and analysis of genetic variation of catfish. *Aquaculture* 174, 59-68.
- Lynch M, Walsh B.** 1998. Genetics and analysis of quantitative traits. Sinauer Associates.
- Marshall TC, Slate J, Kruuk LEB, Pemberton JM.** 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology* 7, 639-655.
- Midtlyng PJ, Storset A, Michel C, Slierendrecht WJ, Okamoto N.** 2002. Breeding for disease resistance in fish. *Bul Eur Assn Fish P* 22, 166-172.
- Mohan M, Nair S, Bhagwat A, Krishna TG, Yano M, Bhatia CR, Sasaki T.** 1997. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. *Molecular Breeding* 3, 87-103.
- Mork J, Ryman N, Ståhl G, Utter F, Sundnes G.** 1985. Genetic variation in Atlantic cod (*Gadus morhua*) throughout its range. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 42, 1580-1587.
- Mueller UG, Wolfenbarger LL.** 1999. AFLP genotyping and fingerprinting. *Trends in Ecology and Evolution* 14, 389-394.
- Nell, J.A., I.R. Smith, C.C. McPhee.** 2000. The Sydney rock oyster *Saccostrea glomerata* (Gould 1850) breeding programme: progress and goals. *Aquaculture Research* 31, 45-49.
- Nielsen EE, Hansen MM, Schmidt C, Meldrup D, GrønkJær P.** 2001. Population of origin of Atlantic cod. *Nature*, 413, 272.
- Norris AT, Bradley DG, Cunningham EP.** 1999. Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations. *Aquaculture* 180, 247-264.
- Norris AT, Bradley DG, Cunningham EP.** 2000. Parentage and relatedness determination in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) using microsatellite markers. *Aquaculture* 182, 73-83.
- Perez T, Albornoz J, Dominguez A.** 1998. An evaluation of RAPD fragment reproducibility and nature. *Molecular Ecology* 7, 1347-1357.

Perry GML, Danzmann RG, Ferguson MM, Gibson JP. 2001. Quantitative trait loci for upper thermal tolerance in outbred strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Heredity* 86, 333-341.

Persson AC, Stet RJM, Pilstrom L. 1999. Characterization of MHC class I and beta(2)-microglobulin sequences in Atlantic cod reveals an unusually high number of expressed class I genes. *Immunogenetics* 50, 49-59.

Pogson GH, Fevolden SE. 2002. Natural selection and the genetic differentiation of coastal and Arctic populations of the Atlantic cod in northern Norway: a test involving nucleotide sequence variation at the pantophysin (*Pan I*) locus. *Molecular ecology* (in press).

Roed KH, Fevolden S-E, Fjalestad KT. 2002. Disease resistance and immune characteristics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) selected for lysozyme activity. *Aquaculture* 209(1-4), 91-101.

Rogers SM, Campbell D, Baird SJE, Danzmann RG, Bernatchez L. 2001. Combining the analyses of introgressive hybridisation and linkage mapping to investigate the genetic architecture of population divergence in the lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*, Mitchill). *Genetica* 111, 25-41.

Rye M, Mao IL. 1998. Nonadditive genetic effects and inbreeding depression for body weight in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Livestock Production Science* 57:15-22.

Sakamoto T, Danzmann RG, Gharbi K, Howard P, Ozaki A, Khoo SK, Woram RA, Okamoto N, Ferguson MM, Holm LE, Guyomard R, Hoyheim B. 2000. A microsatellite linkage map of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) characterized by large sex-specific differences in recombination rates. *Genetics* 155, 1331-1345.

Skreslet S. 2002. Orientering om Høgskolens kveiteavlsprosjekt. Pressemelding av 6. september 2002, Avdeling for fiskeri- og naturfag, Høgskolen i Bodø.

Spelman RJ, Bovenhuis H. 1998. Moving from QTL experimental results to the utilization of QTL in breeding programmes. *Animal Genetics* 29,77-84.

Sunnucks P, Wilson ACC, Beheregaray LB, Zenger K, French J, Taylor AC. 2000. SSCP is not so difficult: the application and utility of single-stranded conformation polymorphism in evolutionary biology and molecular ecology. *Molecular Ecology* 9, 1699-1710.

Vangen O, Steine T, Olesen I, Hårdnes T. 1994. Avslære. Landbruksforlaget. 296 pp. ISBN 82-529-1569-8.

Villanueva B, Veerspoon E, Visscher PM. 2002. Parental assignment in fish using microsatellite genetic markers with finite numbers of parents and offspring. *Animal Genetics* 33, 33-41.

Ward RD, English LJ, McGoldrick DJ, Maguire GB, Nell JA, Thompson PA. 2000. Genetic improvement of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) in Australia. *Aquaculture Research* 31, 35-44.

Weil LS, Barry TP, Malison JA. 2001. Fast growth in rainbow trout is correlated with a rapid decrease in post-stress cortisol concentrations. *Aquaculture* 193, 373-380.

Wilson AJ, Ferguson MM. 2002. Molecular pedigree analysis in natural populations of fishes: approaches, applications, and practical considerations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59, 1696-1707.

Weil LS, Barry TP, Malison JA. 2001. Fast growth in rainbow trout is correlated with a rapid decrease in post-stress cortisol concentrations. *Aquaculture* 193, 373-380.

Nettsider:

<http://www.worldfishcenter.org/inga/index.htm>

<http://snook.bio.indiana.edu>

<http://www.hmsc.orst.edu/projects/mbp/>