

Tradisjonelt avlsarbeid i møte med moderne bioteknologi

Arne Storset, Norsk lakseavl AS

Genetisk foredling av planter og husdyr har vært et viktig grunnlag for framveksten av den menneskelige sivilisasjon og kultur. Dette foregikk i tusenvis av år, uten at menneskene hadde innsikt i det vitenskapelige grunnlaget for denne menneskestyrte evolusjonsprosessen. Potensialet for denne aktiviteten blir synliggjort ved for eksempel å bla i en bok som viser all verdens hunderaser.



Tidlig på 1900-tallet ble det vitenskapelige grunnlaget for moderne husdyravl lagt, og fra ca 1940 ble det utformet avlsprogram for de ulike husdyr. En vesentlig del av produktivitets-økningen i husdyrbruket etter den tid kan tilskrives seleksjonsavl. Grunnlaget for de norske avlsprogrammene for atlantisk laks og regnbueørret ble lagt i begynnelsen av 1970-åra ved opprettelsen av AKVAFORSK, og dette avlsarbeidet videreføres i dag av Norsk lakseavl AS (NLA). Generelt kan det dokumenteres at investering i avlsprogram gir svært god av-kastning på investert kapital. Produktivitets-økningen per år som følge av seleksjonsavl har vært større for laks og andre fiskeslag enn for tradisjonelle husdyr.

Bioteknologiske metoder som for eksempel fermentering av melkeprodukter ble sikkert tatt i bruk ikke lenge etter at ville dyr ble temmet og foredlet som husdyr. Men bioteknologi som vitenskap er enda yngre enn moderne husdyravl, og har vokst fram i løpet av de siste få tiår parallelt med den eksplosive utvikling innen biokjemi, celle- og molekylærbiologi.

Da norske avlsforskere begynte å forske på laksefisk, var det primært fordi fisk var godt egnet som forsøksdyr med tanke på utvikling og testing av avlsteorier. Dette først og fremst fordi fisk har svært store avkomstgrupper og fordi det med ytre befruktning lett kan lages halvsøskengrupper. Fiskens spesielle biologi gjør den også på mange måter velegnet for bioteknologiske

studier og anvendte metoder. Det foregår derfor svært mye bioteknologisk forskning og utvikling på fisk. Denne artikkelen skal begrense seg til å berøre temaer som allerede har eller sannsynligvis vil få praktisk anvendelse på laksefisk i oppdrett, og som kan være et supplement til eller erstatning for tradisjonelt avlsarbeid (figur 5.15). Seleksjonsavl har som viktigste formål å frambringe husdyr med best mulige produksjonsegenskaper. De som forsker innen bioteknologi ønsker å oppnå det samme som et supplement til tradisjonelt avlsarbeid eller som en alternativ snarvei.

Vi kan trygt hevde at Norge er det land som har kommet lengst i seleksjonsavl på fisk. Som det vil framgå av det følgende, har mange andre land kommet lengre enn oss når det gjelder bio-teknologisk forskning og anvendelse av bioteknologiske metoder innen akvakultur. Dette inngår i det som på engelsk kalles "broodstock management", noe som det vel ikke finnes noen god norsk oversettelse for.

Kontrollert kjønnsdifferensiering

Produksjon av bare hunnfisk - *all female* - er svært vanlig og kanskje dominerende i oppdrett av regnbueørret i de fleste land unntatt Norge. Hovedhensikten med slik produksjon er å redusere problemet med kjønnsmodning før fisken når slaktemoden størrelse. Dette problemet er størst på hannfisk - altså er det en fordel å produsere bare hunnfisk. Hannfisk er generelt mer aggressiv enn hunnfisk og derfor kan *all female*-produksjon gi mindre stress og sykdom på fisken. I noen land, for eksempel Danmark, er rogn som næringsmiddel et viktig biprodukt

i ørretoppdrettet, og *all female* i den sammenheng er derfor en viktig forutsetning for lønnsomheten.

I prinsippet kan *all female* lages på flere måter. Den metoden som har kommersiell anvendelse tar utgangspunkt i hormonell funksjonell kjønnsreversering av foreldregenerasjonen. Omkring startfôringsstadiet bades yngelen flere ganger i en løsning av a-methyltestosteron, eller samme stoff tilsettes fôret i en kortere periode. En del av de genetiske hunnfiskene vil utvikle gonader som produserer melke. Disse genotypiske hunnene/fenotypiske hannene produserer spermier med X-kromosom istedenfor Y-kromosom. Når disse brukes til å parre vanlig hunnfisk, blir avkommet *all female*. Produksjonen går over to generasjoner, og det er bare foreldregenerasjonen som blir direkte hormonbehandlet. I Norge, hvor vi i utgangspunktet har et svært negativt forhold til bruk av hormoner i næringsmiddelproduksjonen, kan vi undre oss over hvor lite motforestillinger denne storstilte hormonbaserte ørretproduksjonen tilsynelatende har. Er det fordi markedet er uvitende, eller er det fordi markedet ikke bryr seg, bare maten er god og billig? Det må understrekes at *all female* fisk er helt "normal", og at produksjonsfisken ikke er hormonmanipulert. Det er foreldrefisken, som jo ikke har noen anvendelse som næringsmiddel, som på et tidlig stadium blir kjønnsreversert ved hjelp av mannlig kjønnshormon.

I den senere tid er det kommet en ny metode for kjønnsdifferensiering uten bruk av hormoner. Ved hjelp av såkalt flow cytometry kan sædceller med X-kromosom og Y-kromosom skilles i to ulike fraksjoner fordi spermier med Y-kromosom inneholder mindre DNA enn spermier med X-kromosom. Metoden er fortsatt på utviklingsstadiet, men er påvist å kunne fungere på flere dyrearter. Det gjenstår å se om metoden kan få praktisk anvendelse innenfor akvakultur.

Produksjon av steril fisk

Steril fisk kan lages ved å gjøre den triploid. Vanlig fisk har to kromosomsett og kalles diploid, mens triploid fisk også har et tredje kromosomsett. En måte å produsere triploid fisk på, er å sjokkbehandle nylig befruktete egg med varme eller trykk for å hindre avstøtning av andre pollegemer under den innledende celledelingen. Egget vil da få tre kromosomsett, ett fra spermien, ett fra eggkjernen og ett fra det andre pollegemet, og zygoten vil utvikle seg til en triploid fisk. Slik fisk er steril, men hannfisk utvikler hormonproduserende gonader og ytre kjønnstegn. Dersom hensikten med triploid fisk skal være å redusere ulempen med tidlig kjønnsmodning, må triploidisering derfor kombineres med *all female* produksjon. Triploid fisk utvikler seg tilnærmet normalt, men det kan være større innslag av deformiteter og katarakt enn på diploid fisk. Den triploide hunnfisken vil kunne vokse etter at den normalt ville ha blitt kjønnsmoden, men den får ikke den økte vekstintensiteten ved begynnende kjønnsmodning.

Det har vært og blir fortsatt forsket mye på triploid fisk, og det er utviklet trykk-kammer for storskalaproduksjon. Ved AKVAFORSK ble det allerede i en tiårsperiode fra midten av 1970-åra forsket på triploid laks, men metoden ble den gang ikke anbefalt for norsk oppdrettsnæring. Havforskningsinstituttet deltar i et EU-finansiert europeisk samarbeidsprosjekt for å finne ut om triploidisering er aktuelt i dagens lakseoppdrett. Dette prosjektet er nå i ferd med å bli avsluttet.

Det foregår en god del triploidisering av regnbueørret innen kommersiell akvakultur, men dette har ikke slått gjennom i kommersiell lakseproduksjon. Sannsynligvis har det sin årsak i at en i laksenæringen er usikker på hvordan marked/opinion vil reagere på slike inngrep (både hormonbruk og kromosommanipulering). Dessuten er det vel også knyttet en viss usikkerhet til den kommersielle kost/nytte-effekten av en slik produksjon.

Det er to andre hensyn som kan bidra til at triploidisering innen lakseoppdrett kan få en viss utbredelse i framtida:

- De som forvalter vill-laksen er bekymret for den genetiske interaksjonen som skjer mellom rømt oppdrettslaks og ville laksestammer. Det har fra den kanten kom met signaler om at påbudt sterilisering av oppdrettslaksen kan være en aktuell løsning på dette problemet.
- Produksjon av steril fisk kan være aktuelt for avlsselskap som ønsker å beskytte avls-materialet mot kopiering.

Ved eventuell framtidig produksjon av gen-modifisert laksefisk vil begge disse hensyn bli svært viktige.

Med dagens kunnskap om og erfaring med triploid laks er det lite sannsynlig at lakse-næringen frivillig vil satse på slik produksjon. Ensidig norsk eller nordatlantisk påbud om bruk av triploid laks, vil kunne skape skjeve konkurranseforhold. For eksempel Chile har ikke naturlige bestander av laks og vil neppe få slikt påbud, noe som kan utnyttes både markedsmessig og kostnadsmessig i produksjonen.

Produksjon av *all female* og triploid fisk kompliserer og fordyrer eggproduksjonen, og vil i et avlsoplegg øke den genetiske avstanden mellom avlskjernen og den rogn som frambyes for kommersielt salg.

Genteknologi

Genteknologi er en spesialisert del av bioteknologien der det arbeides på gennivå. Det er viktig å være klar over at bruk av genteknologiske metoder ikke automatisk medfører flytting eller modifisering av gener.

Genkartlegging og markørassistert seleksjon

For de fleste husdyrarter og mennesket selv foregår det for tiden et intenst forskningsarbeid for å kartlegge genenes plassering på kromosomene. Dette arbeidet er for en stor del basert på internasjonalt samarbeid. I perioden 1997-1999 pågår det et EU-finansiert forskningsprosjekt som går ut på å konstruere et genkart for atlantisk laks, regnbueørret og brunørret. I dette SALMAP-prosjektet, som er et samarbeid mellom fem europeiske land og Canada, har norske genetikere en sentral posisjon.

[Figuren er ikke tilgjengelig på internett - Figur 5.15 Seleksjonsavl har vært og er den dominerende måten å foredle laksefisk på i norsk oppdrett. Figuren viser supplerende og alternative bioteknologiske metoder innen "broodstock management" som er i bruk i utlandet eller som det forsøkes på. Det arbeides aktivt for å få genmodifisert laks introdusert innen kommersielt oppdrett. *Breeding by selection have been and is the dominating way in Norwegian salmon breeding. The figure shows supplementing and alternative biotechnological methods within broodstock management, which is used commercially or in research experiments in other countries. Commercial interests are trying to introduce gene-modified salmon into the fish farming industry.*]

Det er bare ca 2 % av DNA i laksens kromosomer som koder for proteiner. Det øvrige DNA oversettes ikke til proteiner, men har reguleringsfunksjoner, og til dels ukjente oppgaver som muligens gir arvestoffet en struktur som påvirker dets funksjon. Også disse delene av DNA kan ha stor arvelig variasjon, og slike markørgener kan brukes i mange sammenhenger. I SALMAP-prosjektet skal en blant annet forsøke å finne ut om slike markørgener kan være tett koblet til gener på kromosomet som styrer avlsmessig viktige egenskaper. De aktuelle gener eller genområder (loci) må ha effekt på viktige produksjonsegenskaper som tilvekst, sykdomsresistens, slaktekvalitet m.m. Disse egenskapene er styrt av mange gener og kalles kvantitative egenskaper (*quantitative traits*). Viktige eller "dominerende" gener som styrer slike egenskaper benevnes derfor *quantitative trait loci* (QTL). Når denne QTL-kartleggingen har kommet tilstrekkelig langt, ser en for seg muligheten for å plukke ut gode avlsdyr ved hjelp av en gentest. Før dette eventuelt er mulig, gjenstår mye forsknings- og utviklingsarbeid. Selv de mest optimistiske tror ikke at dette i overskuelig framtid kan erstatte familiebasert

avlssarbeid, slik det drives av for eksempel NLA. Mest sannsynlig vil såkalt markørassistert seleksjon (MAS) kunne bli et supplement til tradisjonelt avlssarbeid der en etter å ha testet søsknene til de potensielle avlsdyr også kan plukke ut de beste individer innen en familie. MAS vil være mest effektivt for egenskaper som styres av ett eller noen få gener. Et eksempel på førstnevnte er det såkalte halothangenet hos gris som nå er avlet bort, takket være en kanadisk patentert gentest. Mer generelt kan også sykdommer tenkes å være dominert av et mindre antall gener. I mange år nå har det vært kjent at motstandskraft mot infeksjonssykdommer i ganske stor grad styres av en gruppe gener som koder for proteiner som finnes på overflaten av cellene. Disse proteinene hjelper immunforsvaret til å kjenne igjen bakterier, virus eller andre fremmedelementer. Jo mer variert dette *Major Histocompatibility Complex* (MHC) er, jo bedre er motstandsevnen mot infeksjonssykdom. Mange ser på MHC som den mest interessante kandidaten som QTL for økt sykdomsresistens. NLA deltar i et EU-finansiert forskningsprosjekt sammen med norske og et hollandsk forskningsmiljø, for å finne ut om MHC kan nyttes som QTL for sykdomsresistens hos atlantisk laks. Også Universitetet i Lund, Sverige, forsker på det samme på NLAs avlsmateriale.

Genetiske fingeravtrykk

Alle levende vesener har sine unike "fingeravtrykk" som kan avleses ved å teste genetiske markører på DNA-nivå. Etter hvert som analysemetodene er blitt bedre, er det blitt mulig å gi både enkeltindivider og populasjoner genetiske profiler. I husdyravlen er disse metodene i ferd med å avløse blodtyping og proteinanalyser for å bekrefte riktig avstamning. I fiskeavlen er "fingerprinting" tatt i bruk av skotske og canadiske forskningsmiljøer i samarbeid med kommersielle avlsselskap, som erstatning for individmerking med tradisjonelle metoder. Dette gjør det mulig å blande familier helt fra klekkeskapsstadiet og enda tidligere. Enkelt-individer kan senere ved genanalyser med relativt stor sikkerhet identifiseres til de riktige familiegrupper. I NLA er vi avventende til hvor anvendelig denne metoden er i praktisk avlssarbeid. Kostnadene med og den praktiske gjennomføringen av gentestene, er fortsatt en hindring for kommersiell anvendelse i stor skala.

Genetiske fingeravtrykk kan også brukes til å studere genetisk variasjon innen en laksepopulasjon og måle genetisk distanse eller slektskap mellom ulike populasjoner, for eksempel elvestammer av laks eller ulike avlslinjer. Ved individavl uten familieinformasjon til enkeltindivid kan genanalyser brukes for å hindre paring mellom nære slektninger. Dette vil også være nyttig ved nyetablering av ei avlslinje på grunnlag av individer med ukjent innbyrdes slektskap.

Genmodifisering

Genmodifiserte eller transgene dyr har fått tilført ett eller flere gener på en kunstig måte. Genet eller transgenet kommer fra samme art, fra en helt annen organisme eller er syntetisk framstilt i laboratoriet. Rent teknisk egner fisk seg godt for genmodifisering. Det er relativt enkelt å produsere et stort antall avlsdyr, og derfor er problemstillingen eller mulighetene (?) mer aktuell innen oppdrettsnæringen enn innenfor andre husdyrproduksjoner. Den første hurtigvoksende transgene fisken var karpe som var blitt tilført gener fra mus og menneske av kinesiske forskere i 1986. Ca 20 fiskearter er hittil blitt genmodifisert i ulike laboratorier rundt omkring i verden; først og fremst i USA, Canada, Storbritannia, Frankrike, Spania, Japan og Cuba. For å unngå reaksjoner fra opinionen har det i den senere tid vært overført hovedsakelig gener fra fisk.

Som ved markørassistert seleksjon er det en forutsetning at den egenskapen som ønskes endret blir regulert av ett eller noen få gener. Dessuten må genene være karakterisert på molekylært nivå. Det største potensialet ligger sannsynligvis i kvalitetsegenskaper og bedre sykdomsresistens. Hittil har det vært forsket mest på regulering av vekstegenskapene ved å lage ekstra kopier av veksthormongenet eller øke veksthastigheten ved og toleranse for lave

vanntemperaturer. Det siste er tenkt oppnådd ved å overføre et antifrys-proteingen (AFP) som finnes i noen kaldtvannsarter som ishavsflyndre (*Pleuronectes americanus*), men ikke hos laksefisk. Dette genet produserer et protein som hindrer krystalldannelse i blodet ved lave temperaturer, og gjør at fisken kan overleve vanntemperaturer under 0°C. AFP-genet er overført til atlantisk laks, men ble mislykket da den transgene laksen produserte bare 1 % av den AFP-mengden som naturlig finnes i ishavsflyndre. Manglende evne til å tolerere svært lave vintertemperaturer er en begrensning for sjøoppdrett på østkysten av Canada. Og det er vel nettopp i Canada de har kommet lengst med å introdusere genmodifisert laksefisk. Et kanadisk datterselskap til det Boston-baserte firmaet A/F Protein Inc. driver aktiv markedsføring av *AquAdvantage bred'* laks. På denne fisken er regulatorgenet (promotor) for AFP - genet som slår produksjon av AFP av og på - satt inn i laks og en har fått det til å regulere veksthormongen. Veksthormon produseres vanligvis i hypofysen, men fordi AFP-promotoren vanligvis fungerer i leveren, blir veksthormon også produsert i dette organet, også ved lave vanntemperaturer. Det er derfor økede konsentrasjoner av veksthormon i fisken ved lave vanntemperaturer som er hemmeligheten bak *AquAdvantage bred'* laks. Denne effekten kom fram under forsøkene på å lage en frysetolerant laks, og viser vel hvor sluppmessig denne forskningen er, i alle fall foreløpig.

I følge A/F Protein har de aktuelle godkjenningmyndigheter i USA, Storbritannia og Canada gitt laksen positiv vurdering med tanke på framtidig godkjenning, og næringsmiddelmessig skepsis har det visstnok vært lite av. Det planlegges å starte lisensiert produksjon innen et par års tid. Den største skepsisen går på konsekvensene ved eventuell rømming av genmodifisert laks. A/F Protein forutsetter derfor at laksen skal holdes i rømmingssikre landbaserte anlegg, eller at den skal være steril. Det siste er tenkt gjort ved hjelp av triploidisering. (Andre har forsket på å framstille steril laks ved genmodifisering.) A/F Protein reklamerer med at *AquAdvantage bred'* laks vokser 400 % hurtigere enn ikke-genmodifisert kontrollfisk, og at den forbedrede tilveksten vil kunne gjøre landbasert drift økonomisk lønnsom. Den mest hurtigvoksende fisken har større innslag av skjelleitdeforviteter, noe som også ses hos mennesker med akromegali, som skyldes en veksthormonproduserende svulst i hjernen. Representanter for A/F Protein har gitt uttrykk for at de ikke i nær framtid regner med å få innpass for den transgene laksen i enkelte europeiske land, særlig Norge og Tyskland. De vil prioritere markeder som verdsetter god og billig mat og som legger mindre vekt på etiske sider ved matproduksjonen. I januar 1996 ble historiens første transgene laks fra A/F Protein satt ut i et kommersielt akvakulturanlegg i Loch Fyne, Skottland.

NLA ser ikke på det som hittil er frembrakt av *AquAdvantage bred'* laks som en seriøs konkurrent til laks som er foredlet ved tradisjonelt avlsarbeid. NLA kan også vise til mangedobling av veksten sammenlignet med villfisk. Å frambringe en ny genmodifisert laks tar også flere laksegenerasjoner før det ferdige produktet kan sendes ut på markedet. Forbedret tilvekst er noe av det som det er mest effektivt å gjøre noe med hjelp av seleksjonsavl. Dette er også vist på andre fiskearter enn laks. Og i motsetning til ved transgene teknikker, oppnår en ved seleksjons-avl avlsmessig framgang i hver ny generasjon.

Blå revolusjon eller styrt evolusjon?

Verdens fiskerier har avtatt etter toppåret for ti år siden, og overfiske foregår på de fleste store fiskefeltene. For å imøtekomme behovet for fiskeprotein, særlig i utviklingsland, har blant annet Verdensbanken gått ut med anbefaling om at det innføres bio- og genteknologiske metoder innen akvakultur. Dette blir lansert som en slags blå revolusjon, en parallell til den grønne revolusjon innen planteforedling, som hadde positive - men også mange negative - følger for land i den tredje verden fra 1950-åra og utover. Disse visjonene blir forsøkt omsatt til handling i et utall forskningslaboratorier rundt omkring i verden, og risikovillig kapital settes inn fra store multinasjonale konsern.

Norge er størst innen lakseoppdrett, men er små i internasjonal akvakultur. Laksen har en slags "kongestatus" blant fiskene, og oppdrettslaks forsyner et kresent og følsomt marked. Norske oppdrettere har kanskje derfor hovedsakelig et negativt eller avventende forhold til bioteknologi innen akvakultur, og forskningsmessig er det også i Norge relativt liten aktivitet på de områder som er beskrevet i denne artikkelen. Denne passive holdningen skyldes derfor hensynet til opinion og marked, men også at norske oppdrettere ikke ser store behov for å ta i bruk bioteknologiske metoder. Dette henger ikke minst sammen med at Norge i over 25 år har hatt et målrettet og velfungerende avlsprogram som AKVAFORSK med overbevisning i den senere tid også har eksportert til store deler av den tredje verden for bruk på andre arter enn laksefisk. Ikke desto mindre er det behov for at vi har en åpen diskusjon omkring nye bioteknologiske metoder, og at vi er åpne for å ta i bruk nye hjelpemidler som et supplement til tradisjonelt avlsarbeid; metoder som er etisk forsvarlige og ikke er i strid med en bærekraftig utvikling innen norsk akvakultur. Dette forutsetter at vi også har en åpen dialog med utenlandske forsknings- og akvakulturmiljøer, og at vi selv bygger opp bedre kompetanse. En mer offensiv holdning på dette området kan anses som en viktig beredskap for konkurransekraften til norsk oppdrettsnæring i framtida.

Av det som er nevnt ovenfor, er genetiske fingeravtrykksanalyser og markørassistert seleksjon helt uproblematisk ut fra en etisk synsvinkel. Hvor nyttig disse metodene blir som supplement til tradisjonelt avlsarbeid, stiller vi oss foreløpig åpne, men avventende til. Hormonbasert kjønnsdifferensiering og sterilisering ved hjelp av kromosommanipulering har hittil ikke vært satt på dagsorden i Norge, men kan bli etterspurt senere. Dette er metoder som anvendes av våre utenlandske konkurrenter i dag, og som i prinsippet bør kunne tas i bruk også i vårt land dersom næringen finner det formålstjenlig. Den store, etiske utfordringen kommer dersom vi en gang i framtida må velge mellom tradisjonelt avlet laks og transgen laks. De transgene teknikkene representerer et revolusjonerende kvantesprang innen biologien, men inntil det motsatte er bevist, vil vi hevde at genetisk forbedring ved hjelp av tradisjonelt avlsarbeid supplert med andre bioteknologiske metoder vil gjøre en blå revolusjon mer bærekraftig både i rike og fattige land. Men den diskusjonen er vi ikke ferdige med!