

Ideen om å produsere steril fisk er gammel og har sitt opphav i ønsket om å unngå tap av vekst og slaktekvalitet i forbindelse med kjønnsmodning. I dag har bruken av steril fisk fått ny relevans fordi bruk av steril laks i oppdrett kan være en gunstig metode for å redusere den genetiske påvirkning rømt oppdrettslaks har på villaks. Teknikken kan også bli aktuell i oppdrett av torsk, som kan rømme eller gyte i merdene. Dagens teknikker for å sterilisere fisk har imidlertid negative effekter på fiskevelferd og produksjonsresultat både i forsøk og i kommersiell utprøving. Det er derfor problematisk entydig å anbefale bruk av steril laks i oppdrett.

Tom Hansen

tom.hansen@imr.no

Geir Lasse Taranger

geir.lasse.taranger@imr.no

#### Hvordan lage steril fisk?

I dag kan dette enten gjøres ved å krysse arter (artshybrider), eller ved å produsere triploider (se under). De fleste arter av laksefisk lar seg krysse med hverandre. Krysningene har imidlertid vanligvis lav overlevelse og avviker mye i utseende fra de opprinnelige artene. En kjenner også til at noen av dem kan bli kjønnsmodne og igjen befrukte egg fra andre laksefisk. Hybrider har derfor ingen praktisk betydning i oppdrett. Triploid fisk har et kromosomsett mer enn det som er normalt (diploid) for arten, og er i vanlig bruk flere steder i verden. Triploid fisk er steril. I tillegg til de to forannevnte metodene er det foreslått at fisk kan steriliseres ved hjelp av vaksiner og ulike genteknologiske metoder. Disse metodene er imidlertid fortsatt på idéstadiet, og det vil være nødvendig med mange års forskning før disse eventuelt kan brukes i praktisk oppdrett.

I dag er det derfor kun produksjon av triploider som har noen praktisk anvendelse i oppdrett.

#### Produksjon av triploider

De fleste artene som oppdrettes i verden i dag kan gjøres triploide ved hjelp av temperatursjokk (kulde eller varme). Hos arter med store egg (som f.eks. laks) har det imidlertid vist seg at andelen triploide etter varmebehandling kan variere mye, og varmesjokk gir ofte høy dødelighet på eggene.

Den beste og vanligste metoden for å gjøre laksefisk triploide er ved hjelp av høyt trykk på nybefruktede egg. Et tilleggssett med kromosomer som er til stede i egget ved befruktningen, og som vanligvis frastøtes kort etter befruktningen, forhindres fra å bli frastøtt av trykkbehandlingen og inkorporeres i embryoet (Figur 3.5.1 og 3.5.2). Triploider har derfor tre sett kromosomer i stedet for to. De prosessene som vanligvis skjer med kromosomene etter befruktning er avhengige av et funksjonelt spindelapparat. Det høye trykket fører til en spesifikk og midlertidig oppløsning av

*Egget som kommer ut av morfisken har begynt på delingen hvor morens to kromosomsett skal bli til ett. Når spermen trenger inn, startes fullføringen av denne delingen.*

*Etter befruktningen støtes pollegemet som inneholder det ene av morens kromosomsett vekk.*

*Det nye individet fortsetter celledelingen med ett kromosomsett fra mor og ett fra far.*



**Figur 3.5.1**

Normal befruktning og celledeling fra til firecellestadiet.  
Normal fertilisation and cell division until the four-cell stage.

*Egget har begynt på delingen hvor to kromosomsett skal bli til ett. Når spermen trenger inn startes fullføringen av denne delingen.*

**HØYT TRYKK**

*Høyt trykk hindrer at pollegemet som inneholder det ene av morens kromosomsett støtes vekk.*

*Det nye individet fortsetter celledelingen med to kromosomsett fra mor og ett fra far.*

**Figur 3.5.2**

Produksjon av triploider. Trykkbehandlingen skjer 30 min etter befruktning.  
Production of triploids. The pressure is applied 30 minutes after fertilisation.

spindelene og gjør at de normale prosessene stopper opp. Når trykket senkes igjen, vil de påfølgende celledelingene forløpe normalt fordi spindelapparatet er reetablert og igjen fungerer ved den første normale celledelingen i det nydannede embryoet.

Rent praktisk skjer trykkbehandlingen ved at lakseeeggene utsettes for 9 500 psi (ca. 650 atmosfærer) i fem minutter, en halv time etter befruktning ved 10 °C. For å få et stabilt og godt resultat er det viktig at en er nøyaktig med tidene og temperaturen. I dag blir alle egg som brukes i oppdrett desinfisert, og det er derfor viktig at alle væsker som brukes i prosessen holder 10 °C. Det er også viktig at en arbeider med store volum av 10 graders vann slik at ikke temperaturen synker når eggene tilføres. Tilsvarende protokoller er også utarbeidet for regnbueørret og kveite.

Triploider er funksjonelt sterile fordi de ikke kan produsere balanserte sett kromosomer i celledelingen hvor foreldrefiskens tre kromosompar skal fordeles på kjønnscellene under reduksjonsdelingen. Det ekstra settet kromosomer fører sannsynligvis til mekaniske problemer når de kromosomene som er bærere av de samme arveegenskapene (homologe kromosomer) skal pares ved celledeling.

Selv om triploid fisk ikke kan produsere funksjonelle kjønnsceller, er hannene hormonelt 'normale' fordi de hormonproduserende cellene i gonaden er upåvirket av triploidiseringen. Selv om de triploide hannene produserer en vandig og ufunksjonell sperm, produserer de tilnærmet normale nivåer av steroidhormoner og gjennomgår de vanlige kroppslige endringene som er knyttet til kjønnsmodningen. Dette betyr at triploide hanner ikke vil ha noe produktjonsmessig fortrinn foran diploide hanner i oppdrett.

Fordi egget er nødvendig for å få en normal utvikling av de hormonproduserende cellene i ovariet, er triploide hunner sterile også hormonelt sett. Siden de triploide hunnens oocytter (eggemner) ikke kan gå gjennom meiose (kjønnselledeling), kan de ikke utvikle seg til det stadiet hvor de vanligvis blir dekket av de hormonproduserende cellene (theca- og granulocellene). Triploide hunner produserer derfor aldri tilstrekkelige mengder kjønnshormoner og gjennomgår derfor ikke de kroppslige endringene som vi forbinder med kjønnsmodningen. Det er derfor kun triploide hunner som vil ha noen eventuell tilleggsverdi for oppdretteren

Triploidisering er bredt akseptert som den mest effektive metoden for å sterilisere fisk for akvakultur. Metoden er blitt brukt

både på regnbueørret og atlantehavslaks. Metodene som blir brukt er enkle å lære og krever kun forholdsvis rimelige og enkle investeringer. Det er også relativt lett å teste resultatet av prosessen. For å undersøke om et dyr er triploid trengs bare en liten blodprøve der en kan sjekke enten størrelsen på kjernene i blodcellene eller måle mengden arvestoff per celle.

#### Kommersiell oppdrett av triploider

Innen oppdrett av laks har triploider vært prøvd i Canada, Skottland og Tasmania, men dette har så langt fått liten utbredelse. I damproduksjon av ørret og regnbueørret i porsjonsstørrelse er imidlertid triploidene populære og utgjør anslagsvis 80% av produksjonen i Italia, Spania og Polen, 30% i Frankrike og 10% i Storbritannia. Innen oppdrett av stillehavsøsters utgjør i dag triploider rundt 50%, og brukes fordi disse skjellene har bedre fylningsgrad og ikke går gjennom den kvalitetsforringende gytingen. Men også innen planteproduksjon er triploider mye brukt. Stenfrie vannmeloner og Gravenstenepler er triploide og det samme gjelder hele verdensproduksjonen av bananer.

#### Hvorfor har så ikke produksjonen av triploid laks fått større utbredelse?

Siden triploid fisk er steril har organisasjoner som NASCO, FAO og ICES foreslått at oppdrettsnæringen i større grad burde bruke dem for å begrense den genetiske påvirkningen fra rømt fisk. Erfaringen tilsier imidlertid at selv om triploid laks kan gjøre det like bra som vanlig laks under optimale forhold, blir produksjonsresultatet dårligere i praktisk oppdrett. Forskningen som er gjort på dette er enten fra noen år tilbake (ved AKVAFORSK og Havforskningsinstituttet), eller er utført under forhold som ikke er representative for dagens oppdrettsnæring. Totalt sett viser denne forskningen at triploid laks har høyere dødelighet gjennom hele livssyklusen, den vokser dårligere og har også lavere toleranse for stress og ugunstige miljøforhold. Resultatene fra studier på slaktekvalitet er noe motstridende, men en vet at triploid laks har færre, men større muskelfibre og mer filetsparing og lavere filetfasthet (de er bløtere) enn vanlig (diploid) laks. Det er også rapportert at triploid laks er mer utsatt for deformasjoner og katarakt, men dette er ikke bekreftet ut fra kontrollerte forsøk.

#### Er det aktuelt å ta i bruk triploid laks i Norge?

Hovedproblemet for den triploide laksen er at den ser ut til å være mer utsatt for et dårlig oppdrettsmiljø. Forsøk på Havforskningsinstituttet på 1990-tallet viste at den triploide laksen vokste like godt, hadde like god slaktekvalitet samt lav dødelig-

#### Farming of sterile fish

Production of sterile fish has been given recent attention because it is a potential method for limiting the genetic impact of escapees on wild populations. A triploid fish has one chromosome set more than a normal (diploid) fish and is sterile. Methods for making fish triploid have been developed for several species of fish (also salmonids), and production of triploids is common in several countries. However, several scientific studies and also experiences from salmon farms in Scotland, Ireland, Canada and Tasmania show that triploid salmon has higher mortalities, poorer growth and a lower tolerance for stress and environmental conditions like variable or high temperatures. A thorough scientific documentation on how triploid salmon and cod perform in commercial farming conditions is therefore necessary.

het og lav forekomst av feilutvikling når den ble holdt under gode miljøbetingelser i sjøvannskar. Derimot fikk den større problemer når den ble holdt i konvensjonelle merder med et mer variabelt oppdrettsmiljø. Vi mener derfor at det er behov for en nærmere kartlegging av fiskevelferd hos triploid laks under ulike miljøforhold, og at en søker å finne ut om det er realistisk å sikre et godt nok oppdrettsmiljø for den triploide laksen i oppdrett. En må også vurdere om en eventuelt økt risiko for redusert fiskevelferd hos triploid laks er akseptabel i forhold til gevinsten ved å sikre villaksen mot negative effekter av oppdrettsfisk.

Et tilleggsmoment her, er at bruk av triploid steril laks også kan ha positive effekter på fiskevelferd. Ved bruk av rene hunnfiskpopulasjoner av triploid laks unngår en de negative effektene som kjønnsmodning har på vekst, kvalitet, evne til å regulere vann og saltbalanse i sjøvann og overlevelse. Kjønnsmoden laks som holdes i sjøvann gjennom vinteren vil ha store problemer med å overleve, både på grunn av lav evne til å regulere vann og saltbalanse i sjøvann og på grunn av sterkt reduserte kroppserver. Bruk av triploid laks kan dermed ha både negative og positive effekter på fiskevelferd. Før en kan konkludere med om det er forsvarlig å anbefale eller påby bruk av triploid laks i oppdrett, vil det derfor være behov for en grundig vitenskapelig dokumentasjon av hvordan triploid laks klarer seg under de produksjonsforholdene som er vanlige i kommersielt oppdrett i dag.