

Stamfiskforvaltning og avlsstrategier for rognkjeks (*Cyclopterus lumpus*)

Arbeidspakke 5 i strategisk institutt satsing (SIS) prosjektet om rognkjeks

Tale Marie Karlsson Drangsholt, Hanne Marie Nielsen, Matthew Baranski og Celeste Jacq





Nofima er et næringsrettet forskningsinstitutt som driver forskning og utvikling for akvakulturnæringen, fiskerinæringen og matindustrien.

Nofima har om lag 350 ansatte.

Hovedkontoret er i Tromsø, og forskningsvirksomheten foregår på seks ulike steder: Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra og Tromsø

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9–13
Postboks 6122 Langnes
NO-9291 Tromsø

Ås:

Osloveien 1
Postboks 210
NO-1431 ÅS

Stavanger:

Måltidets hus, Richard Johnsensgate 4
Postboks 8034
NO-4068 Stavanger

Bergen:

Kjerreidviken 16
Postboks 1425 Oasen
NO-5828 Bergen

Sunndalsøra:

Sjølseng
NO-6600 Sunndalsøra

Felles kontaktinformasjon:

Tlf: 02140
E-post: post@nofima.no
Internett: www.nofima.no

Foretaksnr.:

NO 989 278 835

Rapport

ISBN: 978-82-8296-255-1 (trykt)
ISBN: 978-82-8296-256-8 (pdf)
ISSN 1890-579X

Tittel: Stamfiskforvaltning og avlsstrategier for rognkjeks (<i>Cyclopterus lumpus</i>) Arbeidspakke 5 i strategisk institutt satsing (SIS) prosjektet om rognkjeks	Rapportnr.: 1/2015
Forfatter(e)/Prosjektleder: Tale Marie Karlsson Drangsholt, Hanne Marie Nielsen, Matthew Baranski og Celeste Jacq	Tilgjengelighet: Åpen Dato: 1.september 2015
Avdeling: Avl og genetikk	Ant. sider og vedlegg: 24
Oppdragsgiver: Nofima AS	Oppdragsgivers ref.:
Stikkord: Rognkjeks, rensefisk, laks, lus, stamfisk, avl, avlsprogram, avlsmål, domestisering, subpopulasjoner, basepopulasjon	Prosjektnr.: 10877
Sammendrag/anbefalinger: <p>Produksjon av rognkjeks som rensefisk forventes å bli basert på oppdrettet stamfisk i nær fremtid, og det er derfor viktig å etablere en eller flere stamfiskpopulasjoner/avlspopulasjoner hvor innavlens holdes på et akseptabelt nivå. Avlspopulasjoner kan etableres hos hver enkelt oppdretter, et avlsselskap eller ved en nasjonal avlsstasjon. For å unngå for rask innavlsøking i den lukkede populasjonen er det viktig å ha et stort nok antall hanner og hunner (minst 50 totalt), og sørge for utjevning av familiestørrelse f.eks. ved uttelling av larver etter klekking i separate klekkebakker eller ved å benytte flere paringskombinasjoner av hunner og hanner i et faktorielt paringsdesign. Foreslåtte avlsprogram for rognkjeks er massesелеksjon med eller uten bruk av genetiske markører eller et familiebasert avlsprogram. Hvilket alternativ man velger avhenger av hvilke ressurser som er tilgjengelige og hvilke egenskaper det skal selekteres for. Når man driver et avlsarbeid er det viktig å ha en effektiv distribuering av det forbedrede materialet til oppdrettere. Dette kan enten skje ved at egg sendes ut til oppdretterne direkte fra avlsstasjonen/avlskjernen eller ved at det etableres oppformeringsenheter. Videre utvikling av kunnskap og erfaring samt næringens struktur og omfang vil påvirke hvilke alternativer som velges for forvaltning av rognkjeks.</p>	
English summary/recommendation: <p>The production of lump fish, a cleaner fish for salmon lice, is expected to be based on farmed brood fish in the near future. A closed breeding population runs the risk of becoming inbred, and it is necessary to establish breeding populations which keep inbreeding at an acceptable level. Large number of males and females (minimum 50) and standardization of family size are key factors. Suggested breeding programs for lumpfish are mass selection, with or without the use of genetic markers, or a family based breeding program. The choice of breeding program depends on the resources available and traits selected for. An efficient dissemination of the improved fish to farmers is important, and can be organized directly from breeding station or nucleus or through multiplier units. Further development of knowledge and experience as well as the structure and scale of the industry will be important factors to consider when deciding on the dissemination strategy for improved lump fish.</p>	

Forord

Denne rapporten er en del av prosjektet «Rognkjeks» som er en strategisk institutt satsing (SIS) i Nofima. Prosjektperioden er fra 2013 til 2015. Prosjektet ledes av Atle Mortensen, og er et samarbeid mellom avdelingene for produksjonsbiologi, fiskehelse og avl og genetikk. Arbeidspakke fem i prosjektet omhandler avl og genetikk, og formålet med denne rapporten er å gi en oversikt over kunnskapsgrunnlaget for etablering av stamfiskpopulasjoner og stamfiskforvaltning som kan sikre bevaring av genetisk variasjon for en rognkjekspopulasjon i oppdrett. Rapporten vil videre presentere og diskutere kunnskapsgrunnlaget for evt kunstig seleksjon (avl) hos rognkjeks. Rapporten er basert på tilgjengelig litteratur og kunnskap om etablering av basepopulasjoner og avlsprogram.

Innhold

1	Kunnskap om rognkjeks: status og behov	1
2	Innavl og genetisk drift i en lukket populasjon	2
3	Etablering av en basepopulasjon	5
4	Forvaltning av rognkjekspopulasjon uten seleksjon	6
4.1	Tiltak for opprettholdelse av N_e	6
4.2	Konkrete forslag til etablering og forvaltning av stamfiskpopulasjoner	7
4.2.1	Spredning av materiale fra Nasjonal basepopulasjon uten seleksjon.....	8
5	Avlsprogram og seleksjon av rognkjeks.....	10
5.1	Etablering av basepopulasjon for et avlsprogram (kunstig seleskjon).....	10
5.2	Masseseleksjon.....	11
5.2.1	Konkrete anbefalinger for masseseleksjon	12
5.3	Kombinert (familiebasert) seleksjon	12
5.4	Masseseleksjon med blandede familiegrupper og markørbasert slektskap.....	14
5.5	Markørassistert- og genomisk seleksjon	16
5.6	Avlsmål	17
5.7	Konkrete forslag til avlsprogram	18
5.8	Spredning av genetisk forbedret materiale.....	19
6	Konklusjon.....	21
7	Referanser	22

1 Kunnskap om rognkjeks: status og behov

Rognkjeks er en ny art i oppdrettssammenheng og det er derfor et stort behov for kunnskap om dens biologi og krav til oppdrettsmiljø. I dag er rognkjeksproduksjonen i all hovedsak basert på inntak av vill stamfisk. I 2014 var det 12 oppdrettsanlegg for rognkjeks i drift og fire ytterlige anlegg som planlegger oppstart av drift i 2015 (pers. kom. Grethe R. Adoff, Norsk Sjømatsenter). I 2013 ble det satt ut 16,2 millioner rensefisk, og det var 34 konsesjoner for oppdrett av rognkjeks ifølge «statistikk for akvakultur» publisert på Fiskeridirektoratets nettside. En lukking av reproduksjonssyklusen er en forutsetning for etablering av domestiserte stamfiskpopulasjoner og eventuelle avlsprogram. En slik lukket syklus innebærer at fisk, som har levd hele livet i oppdrett, benyttes til produksjon av neste generasjon. Dette vil med stor sannsynlighet bidra til å domestisere rognkjeks slik at den blir bedre tilpasset oppdrettsmiljøet. En lukket syklus er også en forutsetning for kunstig seleksjon ved at man kan avle videre på det materialet man har tatt inn. Stadig inntak av vill fisk er dessuten forbundet med økt smitterisiko. Det er derfor svært viktig å jobbe for å kontrollere hele livssyklusen til rognkjeks slik at den kan vokse opp og reproducere seg i fangenskap. Per i dag er det imidlertid svært lite erfaring med kjønnsmoden rognkjeks som er oppdrettet i fangenskap. Forsking på dette feltet er imidlertid startet og pågår i Nofima (pers.kom. Ingrid Lein, Nofima). Hvis en klarer å lukke livssyklus for rognkjeks er det svært viktig å ha fokus på å opprettholde den genetiske variasjonen i populasjonen.

Et avlsprogram for rognkjeks vil gi mulighet for endring i egenskaper som er spesielt viktige for artens suksess som lusespiser i oppdrett. Norge har lang historie med avlsprogram i akvakulturnæringen, og det familiebaserte avlsprogrammet for laks som startet på 1970-taller har spilt en sentral rolle i suksessen til den norske havbruksnæringen (Gjedrem, 2010). For eksempel har laksens kroppsvekt økt med rundt 15 % per generasjon på grunn av kunstig seleksjon (Gjedrem, 2010), og en genetisk endring på 10-25 % per generasjon for tilvekst er også observert i andre arter (Gjedrem, 2000; Ponzoni et al., 2005). Kunstig seleksjon gir varige genetiske endringer som overføres fra generasjon til generasjon med store fordeler for oppdretterne. Før man kan starte et avlsprogram for rognkjeks må man imidlertid finne ut hvilke egenskaper som kan være aktuelle å forbedre gjennom kunstig seleksjon, og undersøke om det er genetisk variasjon i disse. Sykdomsresistens, generell overlevelse og jevn vekst er eksempler på egenskaper som potensielt kan forbedres gjennom et målrettet avlsarbeid. Hvordan avlsprogrammet organiseres og hvordan det forbedrede materialet distribueres er avhengig av næringen behov og struktur i tillegg til rognkjeksens biologi.

Formålet med denne rapporten er:

- a) å danne kunnskapsgrunnlaget for etablering av stamfiskpopulasjoner og stamfiskforvaltning som sikrer bevaring av genetisk variasjon.
- b) å danne kunnskapsgrunnlaget for kunstig seleksjon (avl) hos rognkjeks.

Rapporten bygger på et innledende kapittel om innavl og genetisk drift før den kommer inn på etablering av basepopulasjon. Deretter beskriver og diskuterer den ulike avlsprogram uten og med systematisk seleksjon.

2 Innavl og genetisk drift i en lukket populasjon

I små populasjoner er det vanskelig å unngå at innavlen øker for hver generasjon. **Den effektive populasjonsstørrelsen (N_e)** er et mål på hvor stor genetisk variasjon det er i en populasjon, og kan brukes til å vurdere graden av innavl i etterfølgende generasjoner. N_e kan defineres som antall individer i en populasjon som bidrar med avkom til neste. Med tanke på hvor mange hunner og hanner som bidrar til neste generasjon kan N_e defineres slik (gitt at individene her ikke er i slekt):

$$N_e = 4 [(\text{antall hunner}) (\text{antall hanner})] / (\text{antall hunner} + \text{antall hanner})$$

Størrelsen på den effektive populasjonsstørrelse avhenger blant annet av forholdet mellom antall hanner og hunner i populasjonen, familiestørrelsen og seleksjonsintensiteten. Antall avlsfisk, og dermed seleksjonsintensiteten, er direkte knyttet til graden av innavl. Det er viktig å se på antall avlsfisk innenfor hvert kjønn og ikke kun det totale antall avlsfisk. For eksempel vil 100 avlsfisk hvor det er 1 hann som blir parett med 99 hunner resultere i høy grad av innavl i neste generasjon siden alle avkommene er halvsøsken. Basepopulasjonen betegner de dyrene som tas inn i første generasjon (ubeslektet vill fisk), og det er denne som bestemmer den maksimale genetiske variansen som vil eksistere i den lukkede populasjonen. Ved en lukking av populasjonen er det alltid en risiko for at den effektive populasjonsstørrelsen minker i forhold til basepopulasjonen. Dette kan f.eks. skje hvis noen foreldre ikke får avkom som bidrar i neste generasjon. Det er dermed en fare for innavlsdepresjon og tap av genetisk variasjon (genetisk drift). **Innavl** oppstår som følge av parringer mellom beslektede individer og resulterer i økt homozygoti og redusert genetisk variasjon i populasjonen. **Innavlsdepresjon** er de negative effektene dette har som f.eks. redusert fertilitet, overlevelse og vekst og økt forekomst av defekter. Innavløkningen angir prosent endring av innavlen i en populasjon per generasjon.

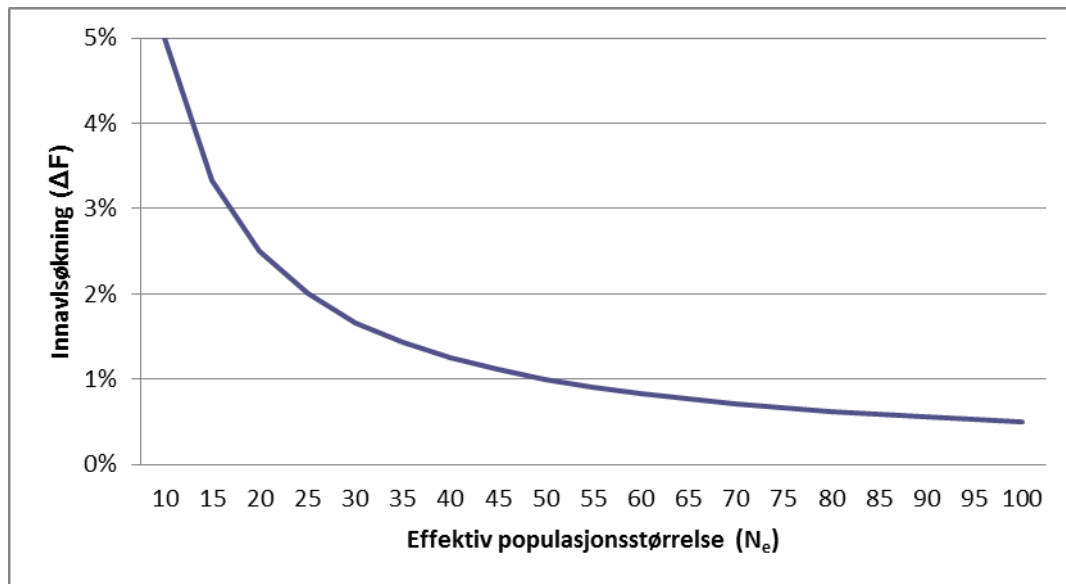
Genetisk drift er endringer i allelfrekvensen i en populasjon som følge av tilfeldigheter. Drift medfører økt homozygoti og redusert genetisk variasjon. Hvor rask allelfrekvensen endres avhenger av den effektive populasjonsstørrelsen. I små populasjoner (f.eks. en liten, lukket populasjon) med lav effektiv populasjonsstørrelse, er det stor risiko for stor genetisk drift og tap av genetisk variasjon. Dette skyldes at noen alleler fra foreldre ikke nedarves til neste generasjon og at noen alleler dermed forsvinner fra populasjonen. I en liten populasjon er sannsynligheten for tap av variasjon større enn i en stor populasjon fordi større populasjoner ofte har flere bærere av hvert allel enn det som er tilfelle i små populasjoner. Innavløkningen per generasjon er høyere ved lav N_e enn ved høy N_e . For å unngå betydelig genetisk drift og innavl er det derfor viktig å sikre en stor variasjon i basepopulasjonen.

Kunstig seleksjon og naturlig utvalg fører til endringer i allelfrekvensen. Naturlig utvalg vil forekomme i en populasjon hvor enkelte individer er bedre tilpasset til miljøet enn andre individer. Genetiske endringer skjer ved at noen individer overlever og får avkom og dårligere tilpasset individer dør eller ikke får levende avkom. Ved bruk av kunstig seleksjon (avl) vil individer med ønskelige egenskaper selekteres som foreldre til neste generasjon og på den måte endre allelfrekvensen i populasjonen.

Innavlsøkningen per generasjon (ΔF) er omvendt proporsjonal med den effektive populasjonsstørrelsen (N_e):

$$\Delta F = 1/2N_e$$

Figur 1 viser innavlsøkningen i første generasjon ved ulike effektive populasjonsstørrelser, og viser at innavlsøkningen er langt større ved små effektive populasjonsstørrelser enn ved store. Ved en N_e på 10 vil innavlsøkningen for eksempel være 5 % den første generasjonen, ved $N_e = 50$ er den 1 % og ved $N_e = 100$ er den 0,5 % per generasjon. Dette forutsetter en populasjon med tilfeldige parringer, med likt antall avkom etter hver paring.



Figur 1 Innavlsøkning per generasjon ved ulike effektive populasjonsstørrelser (N_e).

I et avlsprogram vil innavlsøking ha direkte innvirkning på den genetiske fremgangen på grunn av reduksjon i den genetiske variasjonen. I tillegg vil høy innavlsøking kunne gi innavlsdepresjon, noe som primært vil ha en negativ effekt på egenskaper knyttet mot fiskens 'fitness' (overlevelse, fertilitet etc.). Produksjonsegenskaper som tilvekst kan også påvirkes negativt. Dersom innavlsøkningen er høy kan en stor del av individene være bærere av uønskede gener. Det kan derfor bli vanskelig å selekttere individer med ønskelige egenskaper til neste generasjon fordi mange dyr kan være bærere av anlegg for sykdom eller misdannelser. Effekter av innavl på produksjon og fitness kan variere mellom populasjoner (Gjedrem and Baranski, 2009). Det vanskelig å anslå en trygg grense for innavlsraten, men Meuwissen og Woolliams (1994) foreslo 0,2-2 % per generasjon (tilsvarende $N_e = 31-250$) avhengig av arvegraden og variasjonskoeffisienten (CV). I andre studier er det vist at et mer moderat nivå ($N_e = 25-94$) kan tillates så lenge parringer mellom nært beslektede individer unngås (Pante et al., 2001). I et kortsiktig tidsperspektiv kan en akseptere en høyere innavlsøking enn ved et lengere tidsperspektiv.

Den gjennomsnittlige effektive populasjonsstørrelsen ($N_{e \text{ mean}}$) er et harmonisk gjennomsnitt over generasjoner (t). Harmonisk gjennomsnitt brukes fordi det tar hensyn til at en generasjon med lav N_e vil fungere som en flaskehals som gir varig tap av genetisk variasjon og dermed fører til økt innavl. En generasjon med lavere N_e vil derfor ha uforholdsmessig stor negativ innvirkning på den gjennomsnittlige effektive populasjonsstørrelsen.

$$N_{e \text{ mean}} = 1/t(1/N_{e1} + 1/N_{e2} + \dots 1/N_{et})$$

Uforutsette hendelser som svak gytesesong (egg/melke fra få foreldre) eller høy dødelighet som fører til bidrag fra færre foreldre enn planlagt vil derfor ha stor negativ effekt på N_e og dermed gi økt innavl.

i videre generasjoner. Dersom fisken går i blandede grupper og ikke er individmerket når en eventuell dødelighet inntreffer vil det kunne ha negativ effekt på N_e uten at vi har mulighet til å kontrollere eller kompensere for dette i den inneværende generasjonen. Dette er viktig å ta hensyn til når en skal planlegge avlsprogram med kontrollert innavlsøkning ved å holde familier separat til dødeligheten har avtatt eller ta høyde for når mål for effektiv populasjonsstørrelse skal fastsettes.

3 Etablering av en basepopulasjon

Formålet med å etablere basepopulasjon(er) av rognkjeks er å unngå å ta inn villfisk for hver generasjon. En genetisk bred basepopulasjon er en forutsetning for et bærekraftig avlsprogram. I tillegg til den genetiske bredden i materialet man starter med er det svært viktig å sørge for at genetisk variasjon opprettholdes og innavlen holdes på et akseptabelt nivå i fremtidige generasjoner. Dersom man ønsker å drive kunstig seleksjon må basepopulasjonen ha stor genetisk variasjon slik at effektiv seleksjon kan foretas over mange generasjoner.

Rognkjeks finnes vilt langs det meste av norskekysten, men det er foreløpig ikke kjent om det eksisterer sub-populasjoner av rognkjeks. Dersom slike eksisterer, bør fisken som danner basepopulasjonen komme fra flere av disse. Dette har to formål: for det første vil fisk fra ulike sub-populasjoner sikre stor genetisk variasjon. For det andre ønsker man å finne den fisken som har ønskelige egenskaper i kommersielle oppdrettsmiljø. I simuleringsstudier er det for eksempel vist at minst fire sub-populasjoner bør benyttes ved etablering av et avlsprogram (Holtsmark et al., 2008), men antallet basepopulasjoner som bør benyttes avhenger blant annet av graden av diversitet innen hver sub-populasjon. En studie basert på analyser av 10 mikrosatellitter (DNA markører) hos rognkjeks i Nord-Atlanten har vist at det finnes tre store genetiske grupper av rognkjeks: Maine–Canada–Greenland (Atlanterhavet-vest), Island-Norge (Eastern Atlantic), og Østersjøen, men en mer detaljert undersøkelse av sub-populasjoner langs norskekysten mangler (Pampoulie et al., 2014). For å kunne kartlegge denne genetiske variasjonen, må flere populasjoner genotypes for disse markørene (helst flere markører), eller andre DNA markører med tilsvarende styrke. Genetisk variasjon i slike nøytrale mikrosatellittmarkører (markører som ikke har en funksjonell betydning) kan brukes til å beregne N_e og graden av innavl innen populasjoner eller sub-populasjoner. I tillegg kan de brukes til å identifisere populasjonsgrenser (basert på mengden av migrasjon mellom populasjoner). Det vil være mulig å krysse fisk innen stamme i første generasjon, for å kunne undersøke om det er forskjell mellom stammene med hensyn til relevante egenskaper. Dette kan undersøkes både med markører og ved å teste fisken for eksempelvis sykdomsresistens, overlevelse og tilvekst. I neste generasjon vil det være mulig å krysse alle sub-populasjonene, og et slikt design kan være gunstig for å unngå innavl. Når ulike stammer krysses kan man forvente å få krysningsfrodighet (heterosis) og det kan undersøkes også for rognkjeksmaterialet. Dersom det viser seg at subpopulasjonene er tilpasset ulike miljøer (f.eks. lav og høy sjøtemperatur) så kan det være et bedre alternativ å holde sub-populasjonene separat. Dette krever dog hold av flere fisk, da hver sub-populasjon må ha en slik størrelse at innavlen holdes på et akseptabelt nivå.

4 Forvaltning av rognkjekspopulasjon uten seleksjon

4.1 Tiltak for opprettholdelse av N_e

I en lukket populasjon vil den effektive populasjonsstørrelsen minske noe for hver generasjon på grunn av innavl og genetisk drift. Det er likevel en rekke tiltak som kan gjøres for å opprettholde den effektive populasjonsstørrelsen og dermed holde innavl og genetisk drift på et akseptabelt nivå.

Det bør benyttes et **stort antall foreldre**. Hos rognkjeks vil et fåtall foreldre kunne produsere et stort antall avkom på grunn av deres høye reproduksjonsevne. For at den *effektive* populasjonsstørrelsen skal opprettholdes så må likevel så mange fisk som mulig bidra til neste generasjon.

Et **parringsforhold på 1:1** (en hann til en hunn) er i utgangspunktet ideelt for å opprettholde N_e . Parringsstrategier som fraviker fra dette (f.eks. flere hunner enn hanner) vil føre til at man må holde flere stamfisk totalt sett for å opprettholde samme N_e som ved forholdet 1:1. Antallet stamfisk må også tilpasses den akseptable innavlsøkningen og dermed minimums N_e som kreves for å oppnå denne. Dersom minimalt tillatte innavlsøkningen er 0,005 kreves det at $N_e \geq 100$, og dette kan oppnås ved å benytte 50 hanner og 50 hunner ($N=100$) hvis og alle avlsfisk får likt antall avkom. Hos rognkjeks er det en utfordring å få tak i nok hanfisk og hvis det brukes for eksempel 1 hann per 3 hunn vil man måtte bruke 100 hunner og 33 hanner ($N=133$) for å opprettholde $N_e=100$. Man må altså holde 33 flere stamfisk ved 1:3 parring enn ved 1:1. Hvis målet er en innavlsøkning på $\leq 1\%$ og $N_e \geq 50$ vil man trenge minst 25 hanner og 25 hunner ved 1:1 parring ($N=50$), men 50 hunner og 17 hanner ved 1:3 parring noe som gir $N=67$ (17 flere stamfisk). Antallet avkom som skal holdes frem til frem til kjønnsmodning vil dermed også øke fordi et gitt antall avkom fra hver parring (familie) beholdes og antallet paringer (familier) øker med økende forskjell i parrings ratio.

Faktoriell parring er en annen strategi for å opprettholde N_e og innebærer at all stamfisk pares med hverandre (full faktoriell parring) eller at grupper av fisk pares med hverandre (delvis faktoriell). Forholdet mellom antall hanner og hunner er 1:1 men egg og melke fra hver fisk deles opp for å gi flere kombinasjoner (familier). Det er vist at selv et delvis faktorielt design (f.eks. to hanner og to hunner pares med hverandre for å få fire familiegrupper) gir lavere innavl enn ikke-faktoriell parring i et oppsett hvor familiegruppene ikke holdes separat. (Dupont-Nivet et al., 2006; Busack and Knudsen, 2007) Noe av forklaringen på dette er at faktorielt design gir utjevning av familiestørrelse fordi eventuelle forskjeller i overlevelse eller befruktning mellom stamfisken jevner seg ut når både egg og melke deles opp.

Det er en fordel å benytte separate klekkebakker for hver parringskombinasjon for å sørge for utjevning av familiestørrelser (se under). Dersom det benyttes separate klekkebakker er faktorielt design mer ressurskrevende enn enkeltparringer hvor hver hann/hunn kun pares med en annen han/hunn. Hvis man f. eks har 10 hanner og 10 hunner vil enkeltparringer gi 10 kombinasjoner og dermed 10 klekkebakker mens fullt faktorielt design vil kreve 100 klekkebakker. Et godt alternativ til fullt faktorielt design er derfor et delvis faktorielt. Det kan for eksempel gjøres ved at 5 og 5 eller 2 og 2 hunner og hanner pares med hverandre noe som gir 50 eller 20 parringer. Ettersom det ser ut til å være begrenset antall ville hanner tilgjengelig kan det være aktuelt å innføre hierarkisk parring (en hann til to hunner) ved etableringen av basepopulasjonen. Det mest avgjørende for den effektive populasjonsstørrelsen er antallet stamfisk og det er viktig at dette holdes konstant selv om faktorielt design benyttes. Antall stamfisk bør med andre ord ikke reduseres selv om det produseres flere

familier per stamfisk Dersom antallet klekkebakker er begrenset vil et hierarkisk design kunne ha en fordel over fullt faktorielt design ettersom det faktorielle designet krever mange klekkebakker og da begrenser antallet foreldre som kan benyttes. Hvis det for eksempel er 100 klekkebakker tilgjengelig vil et fullt faktoreielt design kun benytte 10 fedre og 10 mødre, mens et hierarkisk design med 1:2 parringer vil benytte 100 mødre og 50 fedre.

Utjevning av familiestørrelser er et tiltak som kan bidra til opprettholdelse av N_e fordi det hinder at noen få familier dominerer i neste generasjon. Dette kan gjøres ved at antall egg som legges inn fra hver hunn er likt, men ettersom det ofte er forskjeller i klekkeprosent og dødelighet bør utjevningen helst skje etter dødeligheten har avtatt slik at antallet fisk som vokser opp fra hver familie er tilnærmet likt.

Man bør **unngå sammenblanding av melke** før fertilisering fordi dette kan føre til at en hann får mange avkom (melk fra en hann dominerer) og dermed lavere N_e enn antatt. Dette er svært viktig for rognkjeks hvor tilgangen til hanner er begrenset.

En siste løsning er å ha en **åpen populasjon** hvor vill fisk blandes inn med jevne mellomrom og N_e dermed økes. Det er et svært effektivt tiltak med tanke på å øke den genetiske variasjonen, men det er imidlertid også flere ulemper med en slik åpen populasjon. For det første utgjør inntak av vill fisk en smitterisiko. Videre vil fisk som har hele livssyklusen i fangenskap domestiseres og blir dermed bedre tilpasset oppdrettsmiljøet sammenlignet med fisk som tas direkte fra ville populasjoner. Det er derfor viktig å starte med et materiale som har stor genetisk variasjon og ha god kontroll på reproduksjonen når basepopulasjonen etableres. En åpen populasjon med stadig inntak av villfisk er en nødløsning og ikke en bærekraftig strategi på lengre sikt.

4.2 Konkrete forslag til etablering og forvaltning av stamfiskpopulasjoner

I dette kapitlet skisseres opplegg med stamfiskpopulasjoner uten kunstig seleksjon hvor man sørger for at genetisk variasjon opprettholdes og innavlen holdes på et akseptabelt nivå.

Generelle tiltak:

- Undersøke størrelsen på den genetiske variasjonen innen og mellom ville populasjoner.
- Dersom flere sub-populasjoner eksisterer så bør flere av disse benyttes.
- Melke (eller egg) fra flere stamfisk skal ikke blandes sammen.
- Separate klekkebakker muliggjør utjevning av familiestørrelse på et tidlig tidspunkt.

Ved etablering av basepopulasjon(er) som ikke er beregnet for kunstig seleksjonsavl vil vi beskrive og diskutere to hovedscenarier: et **desentralisert** opplegg hvor hver oppdretter eller en gruppe oppdrettere har egne basepopulasjoner og et **nasjonalt** opplegg hvor basepopulasjonen holdes på en sentral stasjon. Ved et desentralisert opplegg vil det være begrensede ressurser tilgjengelig ettersom flere oppdrettere skal holde stamfisk. For dette opplegget forutsettes derfor et minimum antall fisk som må holdes for å ha en bærekraftig populasjon. Opplegget forutsetter at oppdretteren selv holder og aler opp stamfisk. I et nasjonalt opplegg vil stamfisk holdes sentralt og egg eller stamfisk sendes ut til oppdretterne. Fordelen med et nasjonalt opplegg er at mere ressurser kan forsvares for den ene populasjonen for å oppnå høy N_e og lav innavlsøkning. I et nasjonalt opplegg trenger ikke hver enkelt

oppdretter ale opp stamfisk, men får tilsendt egg fra den nasjonale basepopulasjonen eller fra oppformeringsenheter (mer om dette under).

I et desentralisert opplegg er 25 hunner og 25 hanner et minimum ($N_e=50$) (se Tabell 1). Dersom andel hunner per hann økes må også det totale antallet stamfisk økes. I nasjonalt opplegg er 50 hunner og tilsvarende hanner ($N_e=100$) satt som et minimum selv om det også der vil være mulig å benytte en N_e ned mot 50-60. Dersom det benyttes flere hanner enn hunner økes det totale antallet stamfisk. Antallet avkom som beholdes fra hver familie trenger ikke nødvendigvis å telles ut nøyaktig, men en utjevning av familiestørrelse er viktig for å unngå at det velges ut fisk fra få familier til neste generasjon.

Tabell 1 Alternativer for etablering av basepopulasjoner uten kunstig seleksjon.

	Desentral				Nasjonal			
Effektiv populasjonsstørrelse	$N_e=50$				$N_e=100$			
Paringsforhold og antall stamfisk av hvert kjønn		♂	♀	N		♂	♀	N
	1:1	25	25	50	1:1	50	50	100
	1:2	19	38	57	1:2	38	75	113
	1:3	17	50	67	1:3	33	100	133
	1:4	16	63	79	1:4	31	125	156
Parringsstrategi	Hierarkisk eller delvis faktorielt (2 hanner og 4 hunner)				Hierarkisk. Utjevning av familiestørrelser f.eks. etter klekking			
Antall avkom pr familie (totalt antall avkom i parentes)	30-50* (n=750-3150)				30-50 (n=1500-7800)			

*Ved faktorielt paringsdesign kan et mindre antall fra hver paring benyttes eller man utelater fysisk utjevning av familiestørrelse

Paringsstrategi. Hierarkisk design med en hann og to hunner kan være en fordel den første generasjonen hvis tilgangen på hanner er begrenset. I senere generasjoner kan man gjerne gå over til et delvis faktorielt design fordi dette er en effektiv måte å utjevne familiestørrelser på. Dette er spesielt relevant for et desentralisert opplegg hvor faktoriell parring potensielt kan eliminere behovet for separate klekkebakker og fysisk utjevning av familiestørrelsene.

4.2.1 Spredning av materiale fra nasjonal basepopulasjon uten seleksjon

En av fordelene med en nasjonal kjernepopulasjon er at hver enkelt oppdretter ikke trenger å ale opp og holde stamfisk. Materialet fra den nasjonale populasjonen må imidlertid gjøres tilgjengelig for oppdretterne. Dette kan i prinsippet skje ved at den nasjonale basen sender egg direkte til oppdretterne. Dette krever stor kapasitet og det må undersøkes om hele næringas behov for egg kan produseres på ett sted og hvordan trygg transport av egg kan sikres. Et alternativ er å benytte oppformeringsenheter hos næringsaktører eller som en del av den nasjonale populasjonen. Et lite utvalg (10-20) av hunnfisk og noen få hanfisk fra basepopulasjonen kan da ales opp og brukes til produksjon av egg som går ut til hver enkelt produsent. Her trenger man ikke bekymre seg om lav N_e

da denne fisken ikke skal brukes videre i selve stamfiskpopulasjonen. Startfôring av marin yngel kan være krevende og det kan derfor være realistisk at oppformeringsenheter sender ut yngel i stedet for egg til rognkjeksprodusentene.

En nasjonal basepopulasjon vil være sårbar for uhell og sykdom. Dersom noe skulle skje med denne populasjonen vil hele den domestiserte stammen være ødelagt. Det kan derfor være sikrere med en backup av avlsmaterialet ved en annen lokalitet.

5 Avlsprogram og seleksjon av rognkjeks

En art som holdes i fangenskap vil bli utsatt for en viss naturlig seleksjon og dette er en del av domestiseringsprosessen. De fiskene som er best tilpasset et liv i fangenskap vil være de som overlever og som kan brukes til å danne neste generasjon. Forbedring i egenskaper utover dette forutsetter kunstig seleksjon.

5.1 Etablering av basepopulasjon for et avlsprogram (kunstig seleksjon)

Før man kan starte et avlsarbeid med rognkjeks må en basepopulasjon etableres. Prinsippene er i stor grad de samme som for basepopulasjoner uten seleksjon, men det stilles større krav til populasjonsstørrelse og genetisk variasjon i en basepopulasjon som skal gi grunnlag for et avlsprogram enn det som er tilfelle for en stamfisk-populasjon hvor det ikke skal drives kunstig seleksjon. Den effektive populasjonsstørrelsen må være større fordi seleksjonen vil føre til at en del familier ikke blir representert i neste generasjon og at N_e dermed minker og sannsynligheten for å pare slektninger øker. I et avlsprogram vil det være en avveining mellom å bevare stor genetisk variasjon (høy N_e) og ha en effektiv seleksjon. Hvis seleksjonen er svak vil man kunne klare seg med et lavere antall baseforeldre enn om seleksjonen er sterk. Generelt regnes 100 hunner og 100 hanner som et godt mål for basepopulasjonen (Gjedrem and Baranski, 2009), i motsetning til basepopulasjoner uten seleksjon hvor 25-50 hanner og tilsvarende antall hunner er tilstrekkelig (se avsnitt 4.2).

Dersom man ønsker å bruke informasjon om slektskap i det videre avlsarbeidet må familier gå i separate kar frem til merking eller genetiske markører benyttes for å avgjøre slektskapet.

Generelle tiltak:

- Dersom flere sub-populasjoner eksisterer bør flere av disse benyttes
 - I første generasjon kan det testes om noen av disse er bedre eller dårligere tilpasset oppdrett eller spesielle miljøbetingelser (f.eks. temperatur).
 - Dersom alle sub-populasjonene fungerer godt kan man vurdere å slå disse sammen i senere generasjoner.
- Melke (eller egg) fra flere stamfisk skal ikke blandes sammen.
- Synkron gyting og lagring av melke vil være en stor fordel da dette gjør det enklere å få fisk med lik alder slik at fisk fra ulike familier kan holdes i samme kar (dette kan da skje kort tid etter klekking eller etter merking).
- Utjevning av familiestørrelser.

Tabell 2 viser en skisse over etablering av en basepopulasjon med ulike paringsstrategier og hvor N_e er satt til 100. Dersom et hierarkisk design med 1:2 parring benyttes ved etableringen er det behov for 38 hanner og 75 hunner.

Tabell 2 Forslag til paringsplaner for rognkjeks ved etablering av basepopulasjon for avlsprogram.

Sentral stamfiskpopulasjon (med seleksjon)				
Effektiv populasjonsstørrelse		$N_e \approx 100$		
Paringsforhold og antall stamfisk av hvert kjønn		♂	♀	N
	1:1	50	50	100
	1:2	38	75	113
	1:3	33	100	133
	1:4	31	125	156
Parringsstrategi		Hierarkisk. Utjevning av familiestørrelser f.eks. etter klekking		
Antall avkom pr familie (totalt i parentes)		50-100 (n=5000-12500)		

Paringsstrategi. Hierarkisk design med en hann og to hunner kan være en fordel i den første generasjonen ettersom tilgangen på hanner ser ut til å være noe begrenset. I senere generasjoner kan man gjerne gå over til et delvis faktorielt design fordi dette er en effektiv måte å utjevne familiestørrelser. Dessuten gir dette både maternale og paternale halvsøsken, noe som er gunstig for å beregne og ta hensyn til eventuelle effekter av felles miljø (når familier holdes separat frem til merking).

Generelt vil rådene som gjelder for opprettholdelse av N_e for populasjoner som ikke er under seleksjon også gjelde for populasjoner under seleksjon. Utjevning av familiestørrelse, for å begrense antall fisk som kan selekteres fra hver familie, vil derfor være et viktig tiltak for å begrense innavlsøkningen. Dersom slektskapet mellom individene er kjent vil man kunne sørge for at avkom etter svært mange foreldre er representert i neste generasjon og på den måten opprettholde N_e . Dessuten kan man unngå å pare individer som er nært beslektet noe som har positiv effekt på innavlen. Kjent slektskap forutsetter som nevnt bruk av genetiske markører eller at familiene holdes separat frem til fysisk merking er mulig.

5.2 Masseseleksjon

Den enkleste formen for et avlsopplegg med seleksjon er masseseleksjon. Individer med ønsket egenskap (f.eks. rask tilvekst) selekteres og brukes som foreldre til neste generasjon. Dette er et svært enkelt opplegg som er lite resurskrevende og kan gi stor fremgang for egenskaper med moderat til høy arvbarhet. Masseseleksjon kan imidlertid kun benyttes for egenskaper som kan måles direkte på avlsfisk selv. Egenskaper som sykdomsresistens er dermed ofte vanskelig å avle for på denne måten når en ikke kan avle på overlevende fisk fra en smittetest pga risikoen for vertikal smitte fra avlsfisk til avkom. Dersom det er funnet genetiske markører (QTL-er) for aktuelle sykdommer kan dette være aktuelt å benytte. For at masseseleksjon skal være effektiv er det viktig med standardisering av oppdrettsmiljøet (kareffekter, alder etc.) slik at forskjeller i fenotypen til fisken i så stor grad som mulig reflekterer genetiske forskjeller. Stor variasjon i f.eks. alder gjør det vanskelig å avgjøre om det er forskjell i alder eller forskjell i genetikk som gjør at en fisk har en god fenotype. Synkron gyting som gir lik alder på alle avkom er derfor viktig for effektiv masseseleksjon.

Generelt vil den genetiske fremgangen ved masseseleksjon øke med økende antall dyr i populasjonen og synke ved høy andel hunner per hann på grunn av større mulighet for å øke seleksjonsintensiteten ved samme innavlsøkning (Gjerde et al., 1996). Store populasjoner med få hunner per hann gir høy seleksjonsintensitet og dermed stor avlsfremgang. Det er imidlertid viktig at antall avkom pr familie ikke blir for høyt fordi det kan føre til at fisk fra svært få familier selekteres som foreldre til neste generasjon. Dersom få hanner benyttes må antallet hunner økes betraktelig for å holde innavlen nede. Det totale antallet avlsdyr (stamfisk) og dermed antall familier går da opp mens antall avkom per familie går ned. I en simuleringsstudie hvor innavlen ble holdt under 2 % og populasjonsstørrelsen var 9600 fisk var 1:2 parring mer gunstig enn paringsforhold på 1:6 eller 1:10. Å øke populasjonsstørrelsen ut over 1000 fisk vil kunne gi større genetisk fremgang, men den ekstra fremgangen forventes å være lav og vil sannsynligvis ikke kompensere for ekstra kostander forbundet med økt N (Gjerde et al., 1996).

5.2.1 Konkrete anbefalinger for masseseleksjon

Det er mange kombinasjoner av antall stamfisk og paringsstrategier som kan benyttes i avlsprogram basert på masseseleksjon, og tabell 3 viser tre konkrete alternativer. Alternativ 1 er et minimum som har lav N og krever lite ressurser, men forutsetter 1:1 parringer. Alternativ 2 er et utvidet alternativ med høyere populasjonsstørrelse og en 1:2 paringsstrategi, men dette alternativet krever mer ressurser (N er fire ganger så høy). Alternativ 3 er satt som et alternativ som bruker svært få hanner per hunn. Den genetiske fremgangen i studiene er ikke direkte sammenlignbare, men alternativ 2 vil gi ganske lik fremgang som alternativ 3. Innavlsøkningen i hver generasjon holdes under 1 % i alle alternativene, og arvegraden er satt til 0,2.

Tabell 3 Ulike alternativer for masseseleksjon.

	Masseseleksjon 1 ^a	Masseseleksjon 2 ^b	Masseseleksjon 3 ^b
Paringsstrategi (hunner:hanner)	1:1	1:2	1:10
Antall hanner, hunner	50, 50	40, 80	25, 250
Antall avkom pr familie	50	120	40
Populasjonsstørrelse (n)	2500	9600	1000
Antall selekterte foreldre i hver generasjon	100	120	275

^a(Bentsen and Olesen, 2002) ^b (Gjerde et al., 1996)

I masseseleksjon er det ikke behov for merking av fisk og all fisk kan gå i ett kar. Dersom det er stor variasjon i alder kan det være aktuelt å bruke noen flere kar slik at fisk innen hvert kar har lik alder. Det selekteres da samme antall fisk fra hvert av karene.

5.3 Kombinert (familiebasert) seleksjon

Hvis en vil selektere for egenskaper som ikke kan måles på avlsfisken, som for eksempel slakteegenskaper og sjukdomsresistens, må en bruke familiebasert eller kombinert seleksjon. Kombinert seleksjon er et avlsopplegg som benytter informasjon både fra individet selv og deres slekninger (primært søsken og halvsøsken). Slik seleksjon forutsetter at slektskapet mellom individene er kjent og vil tradisjonelt innebære at fullsøskenfamilier må holdes separat frem til de kan merkes fysisk. Familiebasert seleksjon (uten bruk av markører) forutsetter fasiliteter hvor fullsøskengrupper

kan holdes separat frem til merking. Dette er resurskrevende, men i den grad slik infrastruktur allerede eksisterer er dette et godt alternativ som gir full kontroll på slektskapet mellom individene og gir mulighet til å få genetisk fremgang i ønskede egenskaper samtidig som innavlen holdes på et akseptabelt nivå. For å redusere kostnader kan familiene alternativt slås sammen når dødeligheten er under kontroll eller svært lav. Slektskapet mellom fiskene må bestemmes ved hjelp av genetiske markører (se 6.3).

Å holde familiegrupper separat frem til merking vil medføre forskjellige miljøeffekter på fisk som holdes i forskjellige kar. Slik kareffekt er påvist på tilvekst for både laks og torsk i størrelsesorden 5-20 % (Kjøglum et al., 2008; Bangera et al., 2011). Kareffekter kan skyldes at forskjellig lys, vann, fôring og tetthet i karene. Selv om man forsøker å standardisere disse faktorene kan man vanligvis ikke helt utelukke en slik kareffekt. Dette er en av ulempene med et familiebasert avlsprogram. For å forsøke å korrigere for den kareffekten bør et hierarkisk eller faktorielt parings-design benyttes. Et stort antall hel- og halvsøskengrupper vil kunne gjøre det mulig å skille additive genetiske effekter (arvbare) fra miljøeffekter knyttet til karene fullsøskengruppene har gått i frem til merking. Et hierarkisk design med en hann og to-tre hunner er god paringsstrategi som gjør det mulig å skjelne mellom genetiske effekter og kareffekter. Det er vist i simuleringstudier at et paringsstruktur med forhold forskjellig fra 1 mellom hanner og hunner gir noe større genetisk fremgang dersom kareffekter er til stede (Villanueva and Woolliams, 1997). Grunnen til dette er at det kun er parringer forskjellig fra 1:1 som gir mulighet for å korrigere for miljøeffekten som skyldes felles karmiljø hos fullsøsken. Tabell 4 viser noen optimale scenarier med og uten kareffekter.

Tabell 4 Oversikt over optimalt antall hanner og hunner for å maksimere avlsfremgangen med og uten kareffekt ved to ulike populasjonsstørrelser (n). Innavlen holdes under 1 % og arvegraden for egenskapen det selekteres for er lav (0,1). (Villanueva and Woolliams, 1997).

	n=800*		n=3200*	
Effekt av felles miljø (kareffekt)	0	5 %	0	5 %
Paringsstrategi	1:1	1:2	1:1	1:3
Antall hanner	59	40	107	59
Antall hunner	59	80	107	177
Antall avkom pr familie	13-14	10	30	18
Genetisk endring (ΔG)*	0,169	0,158	0,236	0,212

*Gjennomsnittlig ΔG fra generasjon 5 til 20.

Tabell 4 viser at dersom det ikke er noen kareffekt bør like mange hanner og hunner benyttes for å maksimere avlsfremgangen samtidig som innavlen holdes lav. Dersom det er en kareffekt vil den største fremgangen oppnås ved å ha flere hanner enn hunner (1:2 for N=800 og 1:3 for N=3200). Ved større kareffekter (20 %) vil enda flere hanner per hunnfisk være optimalt (1:6). Kareffekten vil altså føre til at det må holdes flere stamfisker og flere familier enn det som er tilfelle dersom man kan se bort fra en slik effekt. Når en ved konstant populasjonsstørrelse (800 eller 3200) må øke antall familier så vil antallet fisk per familie gå ned. Villanueva og Woolliams (1997) viste imidlertid at ved moderate arvegrader, altså høyere enn 0,1 som i tabell 4, vil det optimale paringsforholdet være 1:2, også i tilfeller uten kareffekt. Et paringsdesign med en hanfisk til flere hunner er derfor å anbefale. Dette er også viktig for å få finne ut om det er slike kareffekter og hvor store de er. Et faktorielt design er i prinsippet bare en utvidelse av det hierarkiske designet. Dersom antallet foreldre skal være likt så må flere familier produseres enn i et hierarkisk design. For eksempel vil 1:2 parring gi to familier fra to

hunner, mens 2x2 faktoriell parring vil gi fire familier fra to hunner. Dersom det er tilstrekkelig antall av kar til rådighet for familieproduksjon så kan en med fordel utvide til et slikt delvis faktorielt design. Dette vil gi både maternale og paternale halvsøsken og dermed gjøre det mulig å korrigere for kareffekter. En annen fordel er at dersom en hunn har dårlig kvalitet og derfor ikke får avkom er det likevel to halvsøskengrupper igjen i motsetning til 1:2 parringer hvor det ikke blir halvsøskengrupper dersom den ene hunnen som hanfisker er parett med utgår.

Utjevning av familiestørrelsen bør skje så tidlig som mulig for å unngå at de ulike familiene har forskjellig tetthet frem til merking. Det er vist for regnbueørret at slike forskjeller i tetthet kan ha konsekvenser for f.eks. tilvekst langt frem i tid (Janhunnen et al., 2013). Hvilken tetthet som er optimal for rognkjeks bør undersøkes. Familiene må holdes separat frem til merking for å holde orden på slektskapet. Det er ennå ikke klart hvor tidlig rognkjeks kan merkes, men det antas at ca. 10-20 g er en passende størrelse som kan oppnås etter ca. 5 mnd.

Antallet familier som skal produseres vil avhenge av hvor stor fremgang man ønsker og hvor mye innavl som kan tolereres. Sterk seleksjon og lite innavl krever mange familier (~100-300) mens svak fremgang og høy toleranse for innavl på den annen side krever færre familier (60-100) (Villanueva and Wolliams, 1997).

I tillegg til å begrense maksimalt antall selekterte avlskandidater per familie, kan andre mer avanserte metoder anvendes for å kontrollere innavlsøkningen i populasjonen. I seleksjonsprogram der en optimaliserer bidragene fra hver kandidat (optimal bidragsseleksjon eller optimum contribution selection beskrevet av (Meuwissen, 1997) kan en maksimere langsiktig avlsframgang, mens innavlsøkningen samtidig kontrolleres. Denne metoden vil sikre at innavlsøkningen kan holdes lav i de kommende generasjoner. Slik seleksjon basert på optimalt bidrag er en metode som også er tilpasset avl i akvakultur (Hinrichs et al., 2006). (Skaarud et al. 2011) presenterte andre metoder basert på optimale bidrag til å kontrollere innavlsøking i avlsprogram for akvakulturarter. Et problem med bruk av optimal bidragsseleksjon i akvakultur er at det er vanskelig å kontrollere bidrag fra hver han- og hunnfisk, fordi det kan være vanskelig i praksis å pare en hanfisk med et stort antall hunner. Samtidig kan det være høy dødelighet hos enkelte familier som gjør at en fisks bidrag til neste generasjon blir lavere enn forventet.

5.4 Masseseleksjon med blandede familiegrupper og markørbasert slektskap

Et familiebasert avlsprogram hvor familier holdes separat frem til merking krever store ressurser i form av infrastruktur og arbeid på grunn av et stort antall kar. Et alternativ er derfor å holde all fisk i ett eller flere større kar og benytte et sett genetiske markører til å identifisere slektskap.

Når familier holdes i separate kar oppstår det vanligvis effekter som følge av felles miljø, og dette reduseres/elimineres når fisken blandes kort tid etter befruktning. I en studie av havabbor ble det påvist høyere arvegrad og større seleksjonsrespons (for tilvekst) for fisk holdt i felles kar enn med separate familiekar (Vandeputte et al., 2009). Dette viser at lik tetthet kan forsterke andelen genetisk variasjon mellom individ som uttrykkes. I store kar hvor all fisk går sammen vil tettheten være lik for all fisk, mens tettheten i mindre kar med enkeltfamilier kan variere som følge av ulik veksthastighet og ulik overlevelse av familier.

Ved bruk av blandede familiegrupper er det svært viktig å forsøke å gjøre familiestørrelsen i ulike kar så lik som mulig for å hindre at en familie dominerer i antall. En faktoriell paringsstrategi bør benyttes og det vil være en fordel å vente med blanding av familier til etter klekking for å få til en effektiv standardisering av familiestørrelser. Når rognkjeks bør blandes avhenger av hvor stor variasjon det er i klekkeprosent og dødelighet og når denne inntreffer. Blanding av familier bør ideelt sett skje på et tidspunkt hvor den største dødeligheten er ferdig dersom dette i stor grad varierer mellom familier. Det er derfor viktig å få dokumentert hvor stor dødeligheten er og når denne inntreffer. Så langt ser det ut til at klekkeprosenten varierer, men at dødeligheten er forholdsvis lav (Velmurugu Puvanendran, pers kom.). Familiene holdes likevel separat noe kortere tid enn i et tradisjonelt familiebasert avlsopplegg hvor blanding av familier først skjer etter merking.

For å identifisere slektskapet mellom fiskene benyttes genetiske markører. Flere typer genetiske markører kan benyttes for å identifisere slektskap, men mikrosatellitt-markører er brukt i de aller fleste tilfeller i akvakultur (Norris et al., 2000; Liu et al., 2012; Fu et al., 2013). Som nevnt tidligere, finnes det 10 mikrosatellitt-markører som har blitt brukt til å undersøke genetisk variasjon i ville populasjoner av rognkjeks. Disse 10 markørene kan også benyttes til slektskapsanalyse, og flere markører er tilgjengelig, noe som kan benyttes for å øke presisjonen om nødvendig (Skirnisdottir et al., 2013).

Før stamfiskene skal selekteres må et større antall fisk genotypes for å fastslå slektskap mellom disse. Samtidig må denne fisken merkes fysisk for å identifisere fiskene og gjøre det mulig å ta ut de selekterte fiskene som skal brukes til å lage neste generasjon. Den største avlsfremgangen får man hvis et stort antall individer genotypes. Deretter regnes det ut avlsverdier for fisken og de beste individene selekteres som foreldre til neste generasjon på samme måte som i et familiebasert avlsprogram. Dette er imidlertid et alternativ som krever genotyping av et stort antall fisk, noe som er kostbart. Kostnadene kan imidlertid reduseres betraktelig ved å utvikle og optimalisere et såkalt 'multipleks' av mikrosatellitt-markører. Dette betyr at man kombinerer så mange mikrosatellitt-markører som mulig i en reaksjon slik at man kan genotype alle markørene i en gruppe (i stedet for å genotype flere grupper av 3-4 markører). I tillegg kan man optimalisere laboratorie-protokollen og arbeidsflyten slik at resultatene trenger lite manuell redigering. Med et optimalisert multipleks vil genotypingspris (drift+timer) ligge på rundt 75 NOK pr. prøve, og et laboratorium med et instrument av typen ABI 3730xl har vanligvis kapasiteten til å genotype og analysere ca. 3000 prøver pr uke.

En kostnadseffektiv bruk av genetiske markører er en kombinasjon av såkalt «**walk back selection**» og «optimal bidragsseleksjon» (Sonesson, 2005). Dette innebærer at kun fisken med de beste fenotypene (f.eks. 5-10 % beste) selekteres og genotypes for å fastslå slektskapet mellom dem. Dersom de selekterte individene er for nært beslektet velges det ut flere fisk som også genotypes slik at man oppnår ønsket slektskap som holder innavlen på et akseptabelt nivå.

Stegvis kan et avlsopplegget for tilvekst se slik ut:

1. Fra forrige generasjon vil det være selektert f.eks 100 stamfisk (50 hunner, 50 hanner), og disse er genotypet og pit-tag merket. Egg fra hver hunn blandes med melke fra hver hann (eventuelt 1 hann til 2 hunner), slik at man lager et visst antall familier som holdes separat frem til klekking.
2. Etter klekking tas en viss andel egg fra hver familie (50-100 individ pr familie) og settes i et eget kar. Dersom det er stor variasjon i når eggene klekkes kan det være en fordel å ha flere kar slik at fisk klekt omtrent samtidig kan gå sammen. Slik holdes aldersvariasjonen nede.

3. Alle avkom kan settes i samme kar på et tidspunkt hvor det forventes lite dødelighet. To-tre kar kan benyttes i stedet for kun ett, særlig ved stor spredning i alder.
4. Når fisken når en relevant vekt veies den, og de beste 200 fiskene tas ut. Disse merkes med pit-tags og finneprøver blir tatt.
5. Finneprøvene sendes til et laboratorie og genotypes (gir svar på hvem som var foreldre til fisken). For å begrense denne kostnaden tas det batcher av fisk (f.eks. 50-100 fisk). Statistiske analyser gjennomføres og gir svar på om antallet fisk som er selektert har lavt nok slektskap til å holde innavlen nede. Dersom de selekterte fiskene er for mye i slekt må en ny batch av fisk genotypes.
6. Når den selekterte fisken er kjønnsmoden brukes den som foreldre til neste generasjon (tilbake til punkt 1).

I simuleringsstudier er det vist at ved en populasjon på 10.000 fisk og 1:1 paringer, må i snitt to batcher av 100 fisk genotypes (200 totalt) og ca. 100 av disse ender opp som foreldre til neste generasjon (Sonesson, 2005). Ved 1:2 parringer er det sannsynlig at antallet som må genotypes øker, fordi det da vil være en del halvsøsken. Det er også mulig å redusere populasjonen til 5000 fisk, men den genetiske fremgangen vil da bli noe lavere enn ved bruk av 10.000 fisk. Den største begrensningen med metoden er imidlertid at det primært kan selekteres for egenskaper som kan måles direkte på avlskandidatene (f.eks. tilvekst).

Masseseleksjon med markørbasert slektskap egner seg når man ønsker å forbedre egenskaper som kan måles på seleksjonskandidatene fordi seleksjonen baserer seg på fiskens fenotype, og slektskapsanalysen kun brukes for å kontrollere innavlen. Det er imidlertid i teorien mulig å se for seg et opplegg hvor også andre egenskaper som f.eks. sykdomsresistens eller filetkvalitet inkluderes, men dette vil sannsynligvis kreve genotyping av svært mange fisk.

5.5 Markørassistert- og genomisk seleksjon

I tillegg til å benytte genetiske markører for å undersøke genetisk variasjon i villpopulasjoner som skal være kilden til basepopulasjonen, overvåke den effektive populasjonsstørrelsen, kontrollere innavl og gjøre rutinemessig slektskapsanalyser, så kan genetiske markører også brukes til å gi økt avlsfremgang ved markørassistert- (MAS) og genomisk seleksjon (GS). Markørassistert seleksjon er basert på bruk av markører som er koblet eller assosiert til genvarianter med stor effekt (QTL) på fenotypen. Den vanlige framgangsmåten er at man finner slike markører ved å skanne genomet gjennom genotyping av hundrevis eller tusenvis av markører (mikrosatellitter eller SNPer) i hundrevis til tusenvis av individer med fenotypen registrert (vanligvis familiebasert). Man kan da oppdage områder på kromosomene hvor det finnes QTLer som påvirker fenotypen, og deretter bruke de markørene til å selektere stamfisk som en del av en avlsverdi eller alene. MAS har blitt brukt i flere tilfeller i akvakultur, og den mest kjente anvendelsen er seleksjon på en QTL som forklarer nesten all arvelig variasjon for IPN-resistens hos laks (Moen et al., 2009). Dette har faktisk ført til en betydelig reduksjon i IPN-utbrudd i Norge de siste årene. Genomisk seleksjon er en utvidelse av markørassistert seleksjon hvor man ikke bare benytter markører som er assosiert med gener med stor effekt, men benytter alle markørene sammen til å beregne en avlsverdi (Meuwissen et al., 2001; Hayes and Goddard, 2010). På denne måten kan man sikre at man fanger opp all den genetiske variasjonen med markørene og GS er da spesielt gunstig for egenskaper som er påvirket av mange gener som hver for seg har liten effekt på fenotypen. Effekten

av å bruke MAS eller GS er størst for egenskaper som ikke kan måles på stamfiskkandidater selv, for eksempel sykdomsresistens, filetkvaliteten osv. For rognkjeks er verken markørassistert eller genomisk seleksjon aktuelt på kort til mellomlang sikt av flere grunner: 1) Det finnes ikke de nødvendige genomiske ressursene for å gjennomføre slike studier (blant annet trengs hundrevis til tusenvis av markører, men bare 22 er publisert til nå). Slike kostbare ressurser kan vanskelig forsvares i denne tidlige fasen av rognkjeksoppdrett, 2) De nødvendige forsøk og analyser er nesten helt avhengig av et systematisk avlsprogram, kjent stamtavle og dokumentert tilstrekkelig arvelig variasjon i aktuelle egenskaper. Teknologien bak genotyping og DNA sekvensering har imidlertid utviklet seg kraftig i de siste årene, og alt tyder at dette skal fortsette i de kommende årene. Det er derfor et stort potensiale for at MAS og GS på lang sikt kan implementeres for rognkjeks på en mer effektiv måte enn det kan gjøres i dag.

5.6 Avlsmål

Avlsmålet definerer i hvilken retning vi ønsker å forbedre populasjonen. Rognkjeks sin primære oppgave er å rense laksen for lus. Avlsmålet for rognkjeks bør derfor inneholde ønskelige funksjonelle egenskaper til en rensefisk. Her er det viktig å lytte til erfaringer fra rognkjeksprodusenter og lakseoppdrettere som har erfaring med bruk av rognkjeks for å identifisere de største utfordringene og hvilke som kan være aktuelle å forbedre gjennom avlsarbeidet. Når man har funnet hvilke egenskaper det kan være aktuelt å forbedre må man finne egnede målemetoder og undersøke om egenskapene knyttet til avlsmålet viser tilstrekkelig arvelig variasjon og hvordan de samvarierer.

Sykdomsresistens kan være en aktuell egenskap da det meldes fra produsentene at det forekommer sykdomsutbrudd og fordi det per i dag ikke finnes en effektiv vaksine mot de viktigste sykdommene. Sykdommer som atypisk furunkulose (*A. salmonicida*), vibrio (ulike typer som for eksempel *V. anguillarum*, *V. splendidus*, *V. ordalii*), *Tenacibaculum* og *Pasteurella* sp er observert (Nilsen et al., 2014). For bl.a. laks og torsk er det for eksempel påvist genetisk variasjon for resistens mot både bakterie- og virussjukdommer (Gjedrem et al., 1991; Storset et al., 2007; Bangera et al., 2013), som har blitt inkludert i avlsmålet i avlsprogram. I avlsprogram i akvakultur blir familier med høyest overleving selektert basert på smittetesting av familiegrupper. Hvis man skal drive seleksjon for økt sykdomsresistens må man derfor utvikle smittetester for den/de aktuelle sykdommene. Ifølge dagens regelverk må fisk som har overlevd smittetest avlives på grunn av smitterisiko. Dette innebærer at seleksjon for økt sykdomsresistens må gjøres på søsken av den testa fisken. Dette gjør seleksjonen langt mindre effektiv enn om overlevende fisk kunne benyttes direkte som avlskandidater, fordi man ikke kan skjelne mellom utesta fisk innenfor en familie, da de alle vil få samme avlsverdi. Seleksjon for økt sykdomsresistens forutsetter derfor et familiebasert avlsprogram hvor fisken er fysisk merket og et gitt antall fisk fra hver familie (10-30) testes i smittetester. Fisk fra familier med god avlsverdi for sykdomsresistens selekteres som avlsfisk.

Hvilke sykdommer som skal prioriteres i eventuelle smittetester er viktig å ta stilling til. Dersom det er ulike sykdommer som dominerer hos de ulike produsentene kan det være vanskelig å gjøre denne prioriteringen. For andre arter er det vist at ulike sykdommer har lav eller ingen genetisk korrelasjon og at seleksjon for økt motstand mot en sykdom i liten grad medfører økt eller redusert motstand mot andre sykdommer (GjØen et al., 1997; Ødegård et al., 2007; KjØglum et al., 2008; Drangsholt et al., 2011). Seleksjon for flere sykdommer er ressurskrevende i form av smittetester, og selv om egenskapene ikke er genetisk korrelert så vil man få mindre fremgang for hver av egenskapene enn dersom man kun selekterte for en egenskap. Fremgangen vil også avhenge av hvor mye

sykdomsresistens blir vektlagt i forhold til andre egenskaper i avlsmålet. Smittetester er dermed mest aktuelt dersom sykdommen er et stort problem og man kan bli enige om et fåtall sykdommer som skal prioriteres.

Generell god overlevelse er en egenskap som er viktig for et lønnsomt oppdrett av rognkjeks. Overlevelse hos fisk påvirkes imidlertid av mange ting og kan variere fra år til år og mellom ulike livsstadier (Vehvilainen et al., 2008). Overlevelse har derfor av flere årsaker ofte lav arvegrad og gir derfor lav seleksjonsrespons. Seleksjon for økt overlevelse krever derfor god registrering av død fisk og helst diagnostisering eller registrering av dødsårsak for å kunne vise høy arvegrad. Det er derfor en vanskelig egenskap å avle for, men dette kan eventuelt gjøres mer effektivt ved at man finner egenskaper som er korrelert til overlevelse. På regnbueørret er det også vist at skinnfarge og forekomst av katarakt er korrelert til overlevelse (Vehvilainen et al., 2012). Seleksjon for generell overlevelse vil i likhet med spesifikk sykdomsresistens kreve at data fra søsken av seleksjonskandidatene er tilgjengelige, og helst fra testing i et realistisk oppdrettsmiljø. For eksempel kan data fra søsken som holdes på teststasjoner eller i kommersielle anlegg sammen med laks benyttes. Søsknene må da enten være fysisk merket eller genetiske markører må brukes for å fastslå slektskap. Det vil alltid være en viss naturlig seleksjon for generell overlevelse ettersom kun fisk som overlever frem til kjønnsmodning kan bli foreldre til neste generasjon. Denne effekten kan over tid bidra positivt som en del av domestiseringsprosessen.

Lusespising er rognkjeksens oppgave og dermed en viktig egenskap. Det ser ut til at det finnes noe variasjon i lusespising mellom ulike individ, men det er ikke kjent om denne egenskapen kan vise genetisk variasjon (Imsland et al., 2014). Dersom lusespising skal benyttes som seleksjonskriterium må det utvikles effektive målesystem eller tester hvor mange fisk kan testes (minst 10 per familie avhengig av arvegrad).

Ujevn vekst av rognkjeks er et problem som er rapportert av industrien og fra Nofimas egen produksjon. Nye avlsmetoder er utviklet for å selektere for mer ensartet vekst (Mulder et al., 2007), og dette kan utvikles videre for rognkjeks. For å undersøke dette kan for eksempel vekstdata fra et tilfeldig utvalg av 100-150 fisk fra 50-100 familier benyttes.

5.7 Konkrete forslag til avlsprogram

Tabell 5 gir en oversikt over noen konkrete alternativer til avlsprogram. Alle alternativene er beregnet på å gi maksimalt 1 % innavlsøking per generasjon. Den største avlsfremgangen forventes i et avlsprogram med genmarkører for slektskapsbestemmelse eller et familiebasert avlsprogram. Det aller enkleste forslaget (masseseleksjon) baserer seg på fenotypisk seleksjon og krever lite infrastruktur, men vil likevel begrense innavl og gi fremgang i egenskaper som kan måles direkte på fisken. Alternativ 2 (masseseleksjon med markører) innebærer et større antall fisk og bruk av genotyping for slektskapsbestemming. Det forventes at alternativ 2 vil gi noe større genetisk fremgang enn alternativ 1 ettersom innavlen kan kontrolleres bedre fordi man kjenner slektskapet til den selekterte fisken, og kan selektere flere dersom innavlen ser ut til å bli for høy. Alternativ 1 og 2 har mindre (eller ingen) kareffekter sammenlignet med separat hold av familiene som i alternativ 3. Alternativ 3 er et familiebasert avlsprogram som krever mer infrastruktur i og med at familiene holdes separat, men det gir mulighet for enkelt å kunne selektere for egenskaper som ikke kan måles direkte på seleksjonskandidatene og god kontroll av innavl. Et paringsdesign som gjør det mulig å skille kareffekter fra additive genetiske effekter er viktig i et familiebasert opplegg.

Tabell 5 Forslag til ulike oppsett for avlsprogram.

	Alt.1 Masseseleksjon	Alt.2 Masseseleksjon med markører for slektskapsbestemmelse	Alt.3 Familiebasert med separate kar frem til merking
Paringsstrategi	1:1	1:1 eller 1:2	1:2 (eller 2x2 faktoriell)
Antall avkom pr familie	50	100	10
Antall familier i hver generasjon	100	50-100	(80-160) (faktorielt design krever flest familier)
Populasjonsstørrelse (n)	2500	5000-10 000	800-1600
Infrastruktur/kostnader		Pit merking av 200 fisk, genotyping av 100 fisk.	Separate kar frem til fisken kan merkes, pit-merking av all fisk

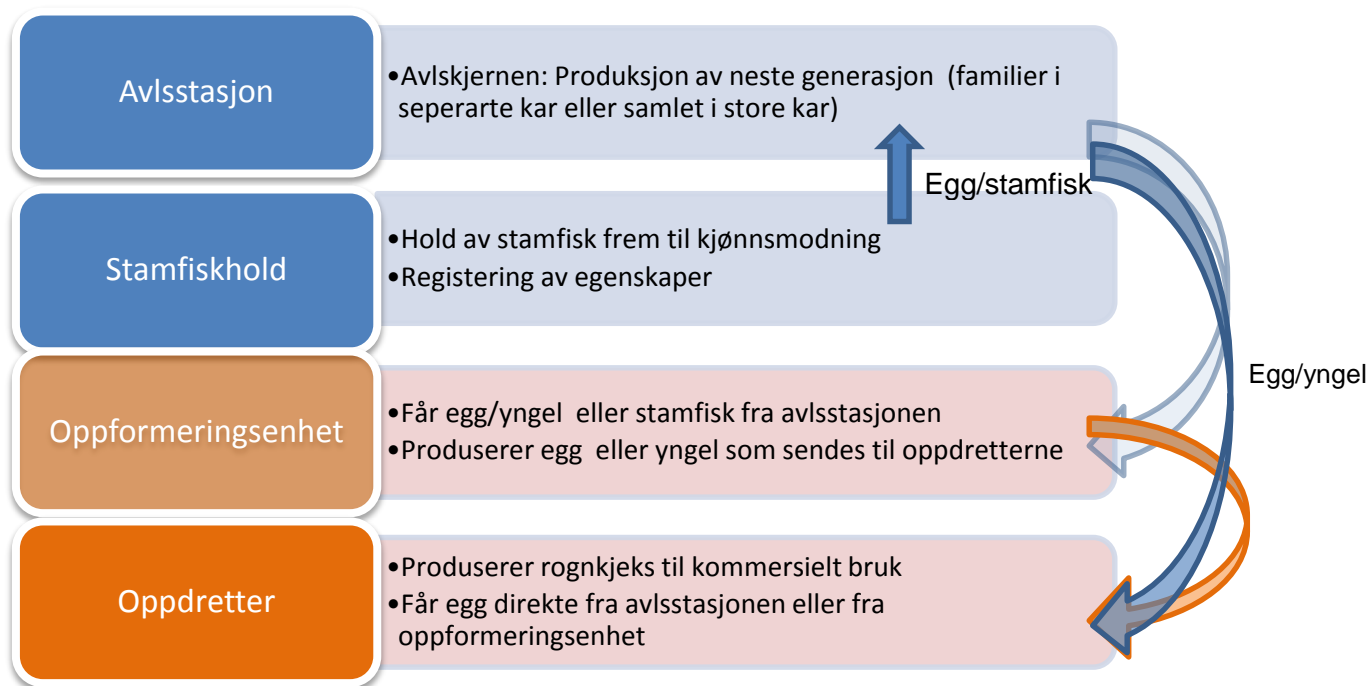
Dersom man tror det er store genotype-miljø interaksjoner (GxE) for rognkjeks med tanke på nord og sør i landet kan det være aktuelt å ha to avlsstasjoner – en i sør og en i nord. Dersom det kun er lite GxE kan man f.eks. ha minst en teststasjon og en avlsstasjon for å få informasjon fra ulike miljø. Før dette avgjøres må graden av GxE beregnes på bakgrunn av forsøk i ulike miljøer.

5.8 Spredning av genetisk forbedret materiale

Når man driver et avlsarbeid som også innebærer forholdsvis store kostnader er det viktig å ha en effektiv distribuerings av det forbedrede materialet slik at dette kommer flest mulig oppdrettere til gode, og at eventuelle private investorer kan få fortjeneste av investeringene. En sentral avlskjerne er som regel grunnlaget i et slikt opplegg. Dette innebærer at hele avlsopplegget foregår på en stasjon. Ved bruk av en lukket avlskjerne er smitterisiko lav i og med at produksjon av familier og hold av stamfisk skjer på samme sted. Stamfisk bør imidlertid holdes på en teststasjon i tillegg til avlsstasjonen for å få testet den i et annet miljø (genotype-miljø samspill). I tillegg vil en teststasjon fungere som en back-up av det genetiske materiale.

Distribusjonen til oppdretterne skjer ved at egg eller yngel fra avlsstasjonen sendes direkte ut til produsentene. Dette forutsetter at overskuddsvolumet av egg eller yngel ved avlsstasjonen er stort nok til å dekke næringens etterspørsel. Både etterspørselen og kapasiteten ved avlsstasjonen og hos ulike oppdretter må undersøkes. I avlskjernen er det viktig at fisken har så lik alder som mulig og synkron gyting er derfor viktig. Det kan imidlertid holdes ytterligere flere stamfisk som gyter over et større tidsrom for å sikre eggproduksjon over et større tidsrom. Dersom det er behov for større mengder egg enn det avlskjernen kan produsere (eller det er mer fordelaktig av andre årsaker) kan en eller flere oppformeringsenheter benyttes. Disse får egg, yngel eller nær kjønnsmoden stamfisk fra avlskjernen og produserer så egg/yngel som igjen sendes ut til andre oppdretterne. Materialet i disse enhetene kan stamme fra et fåtall av fisken i avlskjernen da man i liten grad trenger å ta hensyn til innavl da oppformeringsenheter tilføres nytt materiale fra avlskjernen hver generasjon.

Metoder for oppbevaring av fersk melke og for frysing av melke bør utvikles. Dette vil gjøre det enklere å oppnå ønsket paringsdesign, og vil kunne være til stor hjelp i oppformeringsenheter.



Figur 2 Skisse av distribuering av genetisk materiale fra avlskjernen og ut til oppdretterne.

Før man bestemmer om det skal benyttes oppformeringsenheter eller ikke er det viktig å avklare hvor stort næringens behov for egg er og hvor mye egg avlsstasjonen kan produsere. Desinfeksjon av egg bør også vurderes. Det må videre avklares om de skal få egg/ynge fra avlsstasjonen og selv ale opp stamfisk som produserer egg eller om det skal sendes voksen stamfisk. Dersom det er mulig kan det være aktuelt å benytte de samme stamfiskene som eggprodusenter i flere sesonger. Her er det imidlertid mye man ikke vet om rognkjeksens biologi.

Generasjonsintervall. Rognkjeksens sitt generasjonsintervall (avlsfiskens gjennomsnittsalder når avkommet klekkes) ser ut til å være tre år. For å ha egg tilgjengelig hvert år må man da enten ha tre parallelle årsklasser slik at det foretas seleksjon og produseres nye avkom hvert år (tre parallelle generasjoner). Alternativt kan man kun ha en årsklasse og produsere egg fra eldre stamfisk i to år i påvente av ny kjønnsmoden stamfisk fra neste generasjon. Her trenger vi mer forståelse om stamfiskens overlevelse og eggkvalitet.

6 Konklusjon

Det forventes at produksjon av rognkjeks i nær fremtid vil være basert på oppdrettet stamfisk, fordi det bl. a. vil kunne bidra til en mer domestisert fisk som er bedre tilpasset oppdrettsmiljøet. En slik lukking av populasjonen kan imidlertid føre til innavl, tap av genetisk variasjon og innavlsdepresjon. Det er derfor viktig å etablere en eller flere stamfiskpopulasjoner og gode rutiner hvor innavlen holdes på et akseptabelt nivå. Rognkjeks finnes vilt langs det meste av norskekysten og det bør undersøkes om det er subpopulasjoner. Dersom slike finnes, bør sannsynligvis flere av disse inkluderes ved etableringen av en basepopulasjon.

Basepopulasjoner som etableres med tanke på å unngå innavl, men ikke med tanke på kunstig seleksjon, kan enten etableres hos hver enkelt oppdretter eller ved en nasjonal stasjon. Dersom 1:1 paring benyttes er 25 hanner og 25 hunner et minimum eller 16 hanner og 63 hunner ved 1:4 parring. For å unngå for rask innavlsøking i den lukkede populasjonen er det viktig å holde antallet av hunner og hanner omtrent lik som ved etablering av basepopulasjonen. Videre må man sørge for utjevning av familiestørrelse f.eks. ved uttelling av larver etter klekking i separate klekkebakker eller ved faktoriell parring (pare flere hunner og hanner med hverandre). En av fordelene med en nasjonal kjernepopulasjon er at hver enkelt oppdretter ikke trenger å ale opp og holde stamfisk. Materialet fra den nasjonale populasjonen må imidlertid sikres med en «backup» av familiematerialet, og gjøres tilgjengelig for oppdretterne. En basepopulasjon som er beregnet for et avlsprogram bør være større enn for en populasjon der det ikke skal foretas kunstig seleksjon. Hvis 1:2 parring benyttes ved etableringen er det behov for 38 hanner og 75 hunner for en basepopulasjon beregnet for et avlsprogram med seleksjon.

Foreslåtte avlsprogram for rognkjeks er masseseleksjon med eller uten bruk av genetiske markører eller et familiebasert avlsprogram. Hvilket alternativ man velger kommer an på hvilke ressurser som er tilgjengelige og hvilke egenskaper det skal selekteres for. Masseleksjon er mest aktuelt dersom det skal avles for egenskaper som kan måles på hver enkelt fisk og et familiebasert opplegg er mest aktuelt når sterkere sykdomsresistens er en viktig egenskap i avlsmålet. For å kunne planlegge og drive effektiv seleksjon for ønskelige egenskaper (overlevelse, sykdomsresistens, lusespising etc.) trenger vi kunnskap om graden av genetisk variasjon og samvariasjon mellom relevante egenskaper (overlevelse, sykdomsresistens, lusespising etc.) Dersom man driver et avlsarbeid er det viktig å ha en effektiv distribueringsplan av det forbedrede materialet og dette kan enten skje ved at egg sendes ut til oppdretterne direkte fra avlsstasjonen eller ved at det etableres oppformeringsenheter.

I tillegg til genetiske parameter, er det behov for mer kunnskap og forskning på om klekkeprosenter og tidspunkt og omfang av dødelighet da dette er viktig med tanke på utjevning av familiestørrelser og tidspunkt for blanding av familier både for opplegg med og uten seleksjon. Hvilken tetthet som er optimal for rognkjeks i kar bør også undersøkes. Det trengs også kunnskap om optimale gytetidspunkt, synkronisering av gyting, eggvolum og eggkvalitet, lagring av melke og transport av egg/øyerogn. Herunder må næringas behov for egg kartlegges og bruk av oppformeringsenheter bør vurderes for å dekke behovet. Videre kunnskap og erfaring med rognkjeks og næringens videre utvikling vil være avgjørende for hvilke alternativer som bør velges for forvaltning og avl av rognkjeks.

7 Referanser

- Bangera, R., Ødegård, J., Præbel, A.K., Mortensen, A., Nielsen, H.M., 2011. Genetic correlations between growth rate and resistance to vibriosis and viral nervous necrosis in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture* 317, 67-73.
- Bangera, R., Odegard, J., Nielsen, H.M., Gjoen, H.M., Mortensen, A., 2013. Genetic analysis of vibriosis and viral nervous necrosis resistance in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) using a cure model. *J Anim Sci* 91, 3574-3582.
- Bentsen, H.B., Olesen, I., 2002. Designing aquaculture mass selection programs to avoid high inbreeding rates. *Aquaculture* 204, 349-359.
- Busack, C., Knudsen, C.M., 2007. Using factorial mating designs to increase the effective number of breeders in fish hatcheries. *Aquaculture* 273, 24-32.
- Drangsholt, T.M.K., Gjerde, B., Ødegard, J., Finne-Fridell, F., Evensen, O., Bentsen, H.B., 2011. Quantitative genetics of disease resistance in vaccinated and unvaccinated Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Heredity* 107, 471-477.
- Dupont-Nivet, M., Vandeputte, M., Haffray, P., Chevassus, B., 2006. Effect of different mating designs on inbreeding, genetic variance and response to selection when applying individual selection in fish breeding programs. *Aquaculture* 252, 161-170.
- Fu, J., Shen, Y., Xu, X., Chen, Y., Li, D., Li, J., 2013. Multiplex microsatellite PCR sets for parentage assignment of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture International* 21, 1195-1207.
- Gjedrem, T., 2000. Genetic improvement of cold-water fish species. *Aquaculture Research* 31, 25-33.
- Gjedrem, T., Baranski, M., 2009. *Selective Breeding in Aquaculture: an Introduction: An Introduction*. Springer.
- Gjedrem, T., Salte, R., Gjøen, H.M., 1991. Genetic variation in susceptibility of Atlantic salmon to furunculosis. *Aquaculture* 97, 1-6.
- Gjerde, B., Gjøen, H.M., 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.
- Gjøen, H.M., Simianer, H., Gjerde, B., 1997. Efficiency of estimation of variance and covariance components from full-sib group means for continuous or binary records. *Journal of Animal Breeding and Genetics-Zeitschrift Fur Tierzucht Und Zuchtungsbiologie* 114, 349-362.
- Hayes, B., Goddard, M., 2010. Genome-wide association and genomic selection in animal breeding. *Genome* 53, 876-883.
- Hinrichs, D., Wetten, M., Meuwissen, T.H.E., 2006. An algorithm to compute optimal genetic contributions in selection programs with large numbers of candidates. *Journal of Animal Science* 84, 3212-3218.
- Holtmark, M., Klemetsdal, G., Sonesson, A.K., Woolliams, J.A., 2008. Establishing a base population for a breeding program in aquaculture, from multiple subpopulations, differentiated by genetic drift: I. Effects of the number of subpopulations, heritability and mating strategies using optimum contribution selection. *Aquaculture* 274, 232-240.
- Imsland, A.K., Reynolds, P., Eliassen, G., Hangstad, T.A., Nytrø, A.V., Foss, A., Vikingstad, E., Elvegård, T.A., 2014. Assessment of growth and sea lice infection levels in Atlantic salmon stocked in small-scale cages with lumpfish. *Aquaculture* 433, 137-142.
- Janhunen, M., Kause, A., Vehviläinen, H., Nousiainen, A., Koskinen, H., 2013. Accounting for early rearing density effects on growth in the genetic evaluation of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Animal Science* 91, 5144-5152.

- Kjøglum, S., Henryon, M., Aasmundstad, T., Korsgaard, I., 2008. Selective breeding can increase resistance of Atlantic salmon to furunculosis, infectious salmon anaemia and infectious pancreatic necrosis. *Aquaculture Research* 39, 498-505.
- Liu, P., Xia, J.H., Lin, G., Sun, F., Liu, F., Lim, H.S., Pang, H.Y., Yue, G.H., 2012. Molecular Parentage Analysis Is Essential in Breeding Asian Seabass. *PLoS ONE* 7, e51142.
- Meuwissen, T.H., 1997. Maximizing the response of selection with a predefined rate of inbreeding. *Journal of Animal Science* 75, 934-940.
- Meuwissen, T.H.E., Woolliams, J.A., 1994. Effective sizes of livestock populations to prevent a decline in fitness. *Theoretical and Applied Genetics* 89, 1019-1026.
- Meuwissen, T.H.E., Hayes, B.J., Goddard, M.E., 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157, 1819-1829.
- Moen, T., Baranski, M., Sonesson, A., Kjøglum, S., 2009. Confirmation and fine-mapping of a major QTL for resistance to infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon (*Salmo salar*): population-level associations between markers and trait. *BMC Genomics* 10, 368.
- Mulder, H.A., Bijma, P., Hill, W.G., 2007. Prediction of Breeding Values and Selection Responses With Genetic Heterogeneity of Environmental Variance. *Genetics* 175, 1895-1910.
- Nilsen, A., Viljugrein, H., Vikan Røsæg, M., Colquhoun, D., 2014. Rensefiskhelse – kartlegging av dødelighet og dødelighetsårsaker, Veterinærinstituttets rapportserie. Veterinærinstituttet, Oslo.
- Norris, A.T., Bradley, D.G., Cunningham, E.P., 2000. Parentage and relatedness determination in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) using microsatellite markers. *Aquaculture* 182, 73-83.
- Pampoulie, C., Skirnisdottir, S., Olafsdottir, G., Helyar, S.J., Thorsteinsson, V., Jónsson, S.P., Fréchet, A., Durif, C.M.F., Sherman, S., Lampart-Kałużniacka, M., Hedeholm, R., Ólafsson, H., Daniélsdóttir, A.K., Kasper, J.M., 2014. Genetic structure of the lumpfish *Cyclopterus lumpus* across the North Atlantic. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil* 71, 2390-2397.
- Pante, M.J.R., Gjerde, B., McMillan, I., 2001. Inbreeding levels in selected populations of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 192, 213-224.
- Ponzoni, R.W., Hamzah, A., Tan, S., Kamaruzzaman, N., 2005. Genetic parameters and response to selection for live weight in the GIFT strain of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 247, 203-210.
- Skaarud, A., Woolliams, J.A., Gjøn, H.M., 2011. Strategies for controlling inbreeding in fish breeding programs; an applied approach using optimum contribution (OC) procedures. *Aquaculture* 311, 110-114.
- Skirnisdottir, S., Olafsdottir, G., Olafsson, K., Jendrossek, T., Lloyd, H., Helyar, S., Pampoulie, C., Daniélsdóttir, A., Kasper, J., 2013. Twenty-two novel microsatellite loci for lumpfish (*Cyclopterus lumpus*). *Conservation Genetics Resources* 5, 177-179.
- Sonesson, A.K., 2005. A combination of walk-back and optimum contribution selection in fish: a simulation study. *Genet Sel Evol* 37, 587-599.
- Storset, A., Strand, C., Wetten, M., Kjøglum, S., Ramstad, A., 2007. Response to selection for resistance against infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 272, 62-68.
- Vandeputte, M., Dupont-Nivet, M., Haffray, P., Chavanne, H., Cenadelli, S., Parati, K., Vidal, M.-O., Vergnet, A., Chatain, B., 2009. Response to domestication and selection for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in separate and mixed tanks. *Aquaculture* 286, 20-27.

- Vehvilainen, H., Kause, A., Quinton, C., Koskinen, H., Paananen, T., 2008. Survival of the Currently Fittest: Genetics of Rainbow Trout Survival Across Time and Space. *Genetics* 180, 507-516.
- Vehvilainen, H., Kause, A., Kuukka-Anttila, H., Koskinen, H., Paananen, T., 2012. Untangling the positive genetic correlation between rainbow trout growth and survival. *Evol Appl* 5, 732-745.
- Villanueva, B., Woolliams, J.A., 1997. Optimization of breeding programmes under index selection and constrained inbreeding. *Genet Res (Camb)* 69, 145-158.
- Ødegård, J., Olesen, I., Gjerde, B., Klemetsdal, G., 2007. Positive genetic correlation between resistance to bacterial (furunculosis) and viral (infectious salmon anaemia) diseases in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 271, 173-177.

