

Fokkerij: genetische verbetering in de aquacultuur

Door Robbert Blonk (IMARES en Animal Breeding & Genomics Centre, Wageningen UR) en Hans Komen (Animal Breeding & Genomics Centre, Wageningen UR)

In de aquacultuur zijn de afgelopen jaren veel ontwikkelingen geweest op het gebied van genetische verbetering. Wereldwijd zijn fokprogramma's toegepast voor economische relevante soorten. Belangrijke voorbeelden van deze soorten zijn onder andere Atlantische zalm, regenboogforel, Europese zeebaars, goudbrasem, Nijltilapia en enkele garnalensoorten. Door de belangrijke bijdrage aan economische haalbaarheid van aquacultuurondernemingen zijn fokprogramma's dan ook niet meer weg te denken. Door WUR worden momenteel fokprogramma's ontwikkeld voor Nijltilapia, Noordzeetong, tarbot en er wordt gewerkt aan selectiemethoden voor regenboogforel en yellowtail kingfish. Genetische vooruitgang door deze fokprogramma's heeft al een duidelijke groeiverbetering geleverd voor Nijltilapia in Nederlandse recirculatiesystemen en de verwachtingen bij tong en tarbot liggen op ca. +25%.

Hoe werkt fokkerij?

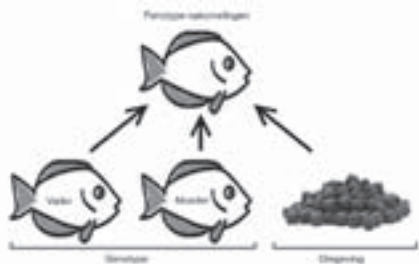
Hoe werkt fokkerij nu eigenlijk? Het doel van fokkerij is het verbeteren van populaties voor één of meerdere kenmerken. In de agrarische productie is fokkerij over het algemeen gericht op commercieel interessante kenmerken om de productie-efficiëntie te verhogen. Zo zijn bijvoorbeeld melkgift en spekdikte belangrijke kenmerken binnen respectievelijk melkvee- en varkenshouderij. Binnen de aquacultuur kan gedacht worden aan kenmerken als groeisnelheid, filetrendement, filetkleur, vorm, voederconversie, fecunditeit, agressiviteit, etc. *Hoe een dier eruit ziet met betrekking tot een kenmerk wordt in de fokkerij het 'fenotype' genoemd* (figuur 1). Voorbeelden van fenotypes zijn een groeisnelheid van 0,2 gr/dag, een filetrendement van 80%, of een "witte" filetkleur. Het fenotype van een individu voor een bepaald kenmerk is de som van twee facto-

ren: het "genotype" dat het individu van de ouders heeft meegekregen door het doorgeven van erfelijke informatie in het DNA en de "omgeving" die het individu ondervindt (figuur 2).

Het genotype is het gecombineerde effect van alle "genen" die binnen een individu van invloed zijn op een kenmerk. Genen zijn codes in het DNA die bepaalde functies van cellen in het organisme sturen. Zo zijn er bijvoorbeeld genen voor het kenmerk "groeisnelheid". Samen bepalen deze genen het



Figuur 1. Verschillende fenotypen in het kenmerk "groeisnelheid" voor dieren van gelijke leeftijd.



Figuur 2. Het fenotype van een individu wordt bepaald door het genotype en de omgeving

genotype voor groeisnelheid. Elk individu erft zijn of haar genen van de ouders, en dus hebben de genotypen van het individu en de ouders sterke overeenkomsten. Individuen zullen daarom ook fenotypisch op de ouders en op andere familieleden lijken. Fokkerij maakt gebruik van dit principe.

Onder omgevingseffecten verstaan we alle effecten die niet genetisch zijn. Bij het kenmerk groeisnelheid zijn typische omgevingseffecten bijvoorbeeld waterkwaliteit, dichtheid, voeding en systeem. Deze effecten hebben vaak effect op de groeiprestatie van het dier maar staan los van het genotype.

Variatie

Over het algemeen streven viskwekers ernaar de (fenotypische) variatie binnen groepen van gelijke leeftijd te minimaliseren door dieren zo gelijk mogelijk te behandelen. Toch treden er vaak verschillen op tussen dieren. Deze variatie wordt veroorzaakt doordat dieren alsnog verschillende omgevingseffecten ondervinden (omgevingsvariatie), maar ook doordat er verschil is tussen genotypen van individuen (genetische variatie).

Enkele praktische voorbeelden van variatie door omgevingseffecten zijn het plotseling optreden van ziektes, verschil in bakken of het aantal voerpunten in een bak. De laatste blijkt bijvoorbeeld vaak tot variatie te leiden doordat sommige dieren niet voldoende toegang tot het voer kunnen vinden. Omgevingsvariatie is vaak te beperken maar moeilijk volledig te voorkomen.

Genetische variatie in een populatie wordt

veroorzaakt doordat er verschil is tussen genotypen van dieren. Dit verschil in genotypen wordt in de fokkerij gebruikt. Het genotype bepaalt namelijk de zogenaamde "fokwaarde" van een individu. *De fokwaarde is de verwachte genotypische waarde die een dier doorgeeft aan zijn of haar nakomelingen.* Een dier met relatief goede genen voor groei heeft een hogere fokwaarde voor dit kenmerk dan meer gemiddelde dieren omdat de verwachting is dat het dier bij voortplanting de goede genen doorgeeft aan de nakomelingen zodat die beter groeien. Bijvoorbeeld: de nakomelingen van een vader en een moeder die beide met een fokwaarde van +1 gr/dag hebben zullen gemiddeld 1 gr/dag sneller groeien dan het gemiddelde van de vorige generatie. Selectie en voortplanting van de dieren met de beste fokwaarden leiden op deze manier gemiddeld tot verbetering van de volgende generatie. De "respons" van selectie op een kenmerk, ofwel de genetische vooruitgang in de populatie, hangt af van de genetische variatie en de erfelijkheid van dit kenmerk. Hoe hoger de genetische variatie, hoe hoger de respons. De erfelijkheid van een kenmerk wordt bepaald door de verhouding tussen het genotype en het fenotype. Hoe meer het genotype het fenotype bepaalt, hoe efficiënter genetische selectie leidt tot verbetering van de populatie. De erfelijkheid van een kenmerk is dan ook gedefinieerd als de proportie van de fenotypische variatie binnen een populatie die door genetische variatie wordt verklaard (erfelijkheid = genotypische variatie / fenotypische variatie). De waarde van de erfelijkheid is specifiek voor elk kenmerk, elke soort en populatie. Voor het kenmerk groei wordt meestal een waarde van ca. 30% gevonden. Dit houdt in dat 30% van de fenotypische variatie veroorzaakt wordt door genotypen. Voor een goede respons van het fokprogramma is het overigens belangrijk dat zowel de erfelijkheid als de genetische variatie voldoende hoog is.

Wanneer bijvoorbeeld de erfelijkheid hoog, maar de genetische variatie laag is, zal ook de respons van selectie beperkt zijn.

Schatten van fokwaardes

Voor fokkerij is het dus noodzakelijk iets te weten van het genotype van individuen. Helaas is het met de huidige technieken nog niet mogelijk het exacte genotype van een dier te bepalen. Veel kenmerken worden, naast de soms onbekende omgevingseffecten, ook beïnvloed door zeer veel, veelal onbekende genen tegelijk. Hoewel er steeds meer bekend is over effecten van specifieke genen is het nog niet mogelijk om het exacte genotype (en dus de exacte fokwaarde) van individuen te bepalen. Om deze reden worden fokwaardes geschat. Bij het schatten van fokwaardes bepalen we het genotype van het dier op basis van fenotypes terwijl we (onder andere) corrigeren voor omgevingseffecten. Er zijn verschillende methoden voor het schatten van fokwaardes. Hier behandelen we drie verschillende methoden: het simpele "*massaselectie*", de meer geavanceerde BLUP (Best Linear Unbiased Prediction) en "*genomische selectie*". Massaselectie is in feite "*selectie op eigen prestatie*". Hierbij wordt een groep dieren zoveel mogelijk onder gelijke omstandigheden opgekweekt en wordt aangenomen dat betere dieren enkel superieur zijn door hun genotype; de omgevingseffecten moeten dus gelijk zijn voor alle dieren. Vervolgens worden de best presterende dieren geselecteerd. Een voordeel van deze methode is de simpele infrastructuur en de beperkt benodigde faciliteiten. Een nadeel is dat er bij hoge erfelijkheden een kans bestaat dat veel geselecteerde dieren uit dezelfde families komen. Dit kan tot verhoogde toename van inteelt leiden (zie alinea onder kopje "*Inteelt*"). Een andere methode voor selectie is "*BLUP*". Dit is een statistische methode waarbij informatie van de stamboom wordt meegenomen in berekening van de fok-

waarde. Een dier wordt hoger gewaardeerd wanneer zijn of haar familieleden ook beter zijn. Een voordeel van deze methode is dat een gedetailleerde schatting van de genetische prestatie van de selectiekandidaten gemaakt kan worden en dat de respons van het fokprogramma over het algemeen hoger ligt dan bij massaselectie. Omdat familieleden bij BLUP selectie informatie over elkaar verschaffen, lopen leden van een gemiddeld goede familie verhoogde kans samen geselecteerd te worden. Om deze reden moet de inteelttoename door selectie gemonitord en eventueel gecorrigeerd worden. Een nadeel is dat de stamboom van de selectiekandidaten bekend moet zijn en dat dit vaak meer faciliteiten vraagt, met name in de visteelt. De kosten voor BLUP selectie zijn hiermee aanzienlijk hoger dan voor massaselectie. In de vrij nieuwe en sterk in ontwikkeling zijnde "*genomische selectie*" worden associaties gemaakt tussen fenotypen en specifieke codes in DNA. Wanneer een DNA code sterk koppelt met een fenotype kan deze gebruikt worden als selectiecriteria. Deze methode is momenteel sterk in ontwikkeling in grote sectoren als de rundvee-, pluimvee- en varkenshouderij. Daarnaast zijn de eerste initiatieven gestart binnen de zalmkweek. Momenteel is deze methode echter nog te duur voor het overgrote deel van de kleinschaligere viskweeksector.

Stambomen

Zoals we in bovenstaande hebben gezien, speelt informatie over verwantschappen tussen individuen een belangrijke rol in de fokkerij. Verwantschappen zijn nodig bij het bepalen van erfelijkheid, genetische variatie en bij BLUP. Voor het bepalen van verwantschappen wordt meestal gebruik gemaakt van een stamboom. Bij veel diersoorten (bijvoorbeeld melkvee of varkens) is een stamboom relatief makkelijk bij te houden doordat deze dieren veelal direct bij geboorte gemerkt kunnen worden met een

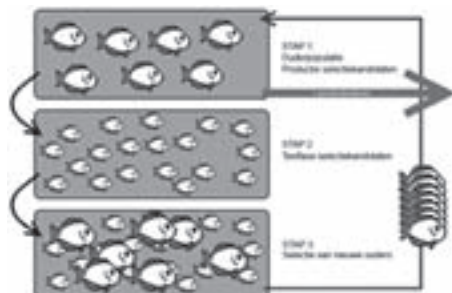
label of transponder. Bij vissen is dat helaas niet zo gemakkelijk. Larven zijn net na het uitkomen van de eieren meestal te klein om direct te merken. Daarom moeten vissen voordat ze groot genoeg zijn om gemerkt te kunnen worden eerst per familie in een aparte bak opgroeien. Dit is duur, maar ook lastig voor de uiteindelijke berekening van de fokwaarde want effecten van genotype of omgeving zijn nu niet te scheiden. Bijvoorbeeld: familie A is opgegroeid in bak 1 en heeft een gemiddelde groeisnelheid van 1,5 gr/dag. Familie B is opgegroeid in bak 2 en heeft een gemiddelde groeisnelheid van 2,0 gr/dag. Het is nu niet te bepalen of dieren van familie B zoveel beter presteren omdat ze een betere fokwaarde hebben of doordat bak 2 een betere omgeving bood! Om deze reden maken BLUP fokprogramma's die families apart op moeten kweken gebruik van zoveel mogelijk gestandaardiseerde bakken om de kans op (bak) omgevingseffecten te minimaliseren. Dit brengt uiteraard weer aanzienlijke kosten met zich mee. Een andere methode om de stamboom te bepalen is genotyperen en stamboomreconstructie. Met deze methode wordt van elk dier het DNA profiel bepaald. Door DNA van potentiële ouders en individuele selectiekandidaten te vergelijken en te koppelen kan een stamboom worden gereconstrueerd middels een ouderschapstest. Een voordeel van deze methode is dat dieren niet apart als familie opgekweekt hoeven te worden maar direct met andere families gemixt kunnen worden tot schatting van de fokwaarde. Een nadeel is echter dat genotyperen duur is (ca. € 25,- per dier). Voor natuurlijk in groepen voortplantende soorten zoals bijvoorbeeld de Noordzeetong moet voor reconstructie van de stamboom altijd getypeerd worden omdat tijdens de paai meerdere dieren tegelijk voortplanten en de individuele ouders van de nakomelingen dus niet bekend zijn. Dit bemoeilijkt het ontwerp van een fokprogramma voor deze soorten.

Structuur fokprogramma's

Wanneer de fokwaarden van selectiekandidaten bekend zijn kan selectie van de nieuwe ouderdieren starten. De structuur van een fokprogramma ziet er globaal uit zoals gegeven in figuur 3. Uitgaand van een basispopulatie ouderdieren wordt een eerste populatie nakomelingen gemaakt (stap 1). De dieren in deze populatie noemen we de selectiekandidaten. De selectiekandidaten worden op gelijke leeftijd getest, bijvoorbeeld in een groeiperiode wanneer het selectiekenmerk groeisnelheid is (stap 2). Na testen wordt de fokwaarde van de selectiekandidaten bepaald en worden de beste dieren geselecteerd om te dienen als ouders voor de volgende generatie productiedieren en selectiekandidaten (stap 3).

Inteelt

Naast het bevorderen van productiviteit dragen fokprogramma's ook zorg voor behoud van genetische diversiteit in de populatie. Een fokprogramma zorgt er hiermee voor dat er niet te veel gerelateerde families in de populatie zitten. Een beperkt aantal families in een populatie vergroot de kans op het paren van familieleden zoals broer/zus of neef/nicht paringen. Het paren van verwante dieren wordt inteelt genoemd. Als er te veel inteelt in een populatie ontstaat, daalt de genetische variatie. Omdat de genotypen in de populatie nu eenzijdig worden, vermindert het potentieel tot selectie en raken populaties minder bestand tegen bijvoor-



Figuur 3. Structuur van een fokprogramma in 3 stappen

beeld ziektedruk. Dit fenomeen leidt tot een zogenaamde inteeltdepressie: verhoogde ziektegevoeligheid, misvormingen en stagnatie van groei. Hier moet dus rekening mee worden gehouden!

Respons van selectie: optimalisatie

Zoals eerder aangegeven hangt de respons van een fokprogramma sterk af van de erfelijkheid en variatie in de geselecteerde kenmerken. Zowel erfelijkheid als variatie zijn een gegeven. We kunnen deze niet aanpassen om de selectierespons te optimaliseren. Een belangrijke factor die we wel aan kunnen passen en optimaliseren is het selectiepercentage. Het selectiepercentage is het percentage dieren dat geselecteerd wordt als ouders voor de volgende generatie. Bijvoorbeeld, als de 1% beste dieren uit een populatie selectiekandidaten geselecteerd wordt is de intensiteit van selectie hoger dan wanneer de 5% beste dieren geselecteerd wordt. Hoe kleiner het relatieve aantal geselecteerde dieren, hoe hoger de prestatie van de nakomelingen. Overigens neemt bij hogere selectiepercentages en erfelijkheden ook de kans op selectie en paring van verwante dieren toe en loopt de kans op inteelt op. Er is dus een optimalisatie nodig bij de keuze van het aantal ouders en het aantal aangehouden selectiekandidaten. Hier wordt de respons afgewogen tegen de toename van inteelt, maar ook tegen de kosten van bijvoorbeeld het aanhouden van grotere aantallen selectiekandidaten.

Slimme fokprogramma's

Sommige bedrijven zijn speciaal ingericht op productie van verbeterde pootvis middels fokprogramma's. Andere grote bedrijven hebben naast productie hun eigen fokprogramma. Dit houdt in dat er veel infrastructuur nodig is en dat kosten hoog op kunnen lopen. Voor grote industrieën, zoals bijvoorbeeld de kweek van zalm of regenboogforel, is dat te rechtvaardigen. Voor kleinere bedrij-

ven zijn fokprogramma's *in deze vorm* vaak te duur en niet rendabel. Echter, kosten voor programma's kunnen goed gereduceerd worden door het programma te integreren met de "gewone" productie door middel van "smart breeding" methoden. Hier wordt met name door WUR hard aan gewerkt. Selectiekandidaten worden dan gewoon in eigen productie gehouden, de groepen ouderdieren worden klein gehouden en efficiënt ingezet voor reproductie. Er zijn wel enkele voorwaarden waar men zich aan moet houden, bijvoorbeeld met betrekking tot de productie van families en de behandeling van de batches, maar dat hoeft een rendabele productie én fokprogramma niet in de weg te staan. Eenmaal uitgevoerd, zullen fokprogramma's de winstgevendheid van een bedrijf sterk verbeteren. Zo zijn verbeterde groeisnelheden, voederconversies, ziekteresistenties, filetrendementen, benutting van plantaardige componenten te verwachten. Naast deze directe voordelen van selectie is er ook voordeel van indirecte selectie en het domesticatie-effect. Dit heeft zijn weerslag op de prestaties maar zeker ook het welzijn. Bijvoorbeeld, pootvis die nu afkomstig is uit doorstroom- of vijversystemen, al dan niet uit het buitenland, wordt vaak gebruikt voor productie in recirculatiesystemen. Deze dieren presteren niet optimaal omdat de ouders indirect werden geselecteerd op prestatie in totaal andere systemen. Daarnaast worden voor veel soorten nog "wilde" ouders gebruikt of wordt pootvis zelfs direct betrokken uit het wild. In dit geval is er veel "wilde" variatie in de kweek, ook omdat de dieren simpelweg niet geschikt zijn voor kweekomstandigheden: de dieren zijn totaal ongedomesticeerd. Vergelijk die situatie eens met de huidige veeteelt waar dieren reeds duizenden jaren zijn aangepast aan houderij en bedenk dan wat er nog te behalen valt!

Voor meer informatie over fokprogramma's, contact Robbert Blonk (robert.blonk@wur.nl)