

АНДАТПА

Маратова Гүлдана Маратқызының «Жасанды ұдайы өндірістің тиімділігін арттыру үшін генетикалық әдістерді пайдалану арқылы бекіре балықтарының ремонттық аналық үйірлерін қалыптастыру» тақырыбындағы 6D080200 – «Мал шаруашылығы өнімдерін өндіру технологиясы» мамандығы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін жазылған диссертациясы

Зерттеу тақырыбының өзектілігі

Соңғы 15-20 жылда Каспий теңізіндегі бекіре балықтарының популяциялық жағдайы деградацияға ұшырап, балықтардың өсімін жасанды молайту ауқымы тұрақты түрде төмендеуде. Бекіре тұқымдас балық қорының қазіргі жағдайы қатты алаңдатады. Бекіре тұқымдас балықтардың қорын тез қалпына келтіруге және олардың санын тұрақты деңгейде ұстауға ықпал ететін ұтымды шара – өнімдік толықтырушы аналық үйірлерді қалыптастыру және өсімін жасанды молайту болып табылады.

Қазіргі уақытта бекіре тұқымдас балықтардың популяциясын ұстау толығымен дерлік өсімін жасанды көбейтуге және бекіре өсіру зауыттары (БЖ) шығаратын шабақтарға байланысты. Алайда, зауыттар шабақтарды алу үшін уылдырық шашуға шығатын жабайы (Каспий теңізінде тіршілік етіп, уылдырық шашу үшін өзендерге шығатын өндірушілер) бекіре тұқымдас балықтардың аналықтары мен аталықтарын пайдаланады. Соңғы жылдары табиғи ортада жабайы аталық және аналықтар санының күрт төмендеуіне байланысты соңғы жылдары бекіре өсіру зауыттарында жасанды жағдайда қалыптастырылған бекіре балықтарының аналық үйірлері көбірек қолданыла бастады. Бастапқыда жасанды көбейту үшін аналық үйірлер қолға үйретілген өндірушілер жасалған болса, соңғы жылдары зауыттар «уылдырықтан бастап» өсірілген аквакультуралық үйірлерді пайдаланады. Осыған байланысты бекіре тұқымдас балықтардың табиғи популяциясын қалпына келтіру мақсатында пайдаланылатын өндірушілердің генетикалық алуантүрлілігін сақтау және санын көбейту мәселесі туындайды.

Аналық үйірлерге генетикалық төлқұжаттау үшін, әрбір өндірушінің өзіндік генетикалық төлқұжатының болуы, балық өсірушілерге табиғи популяцияның жоғары генетикалық алуантүрлілігін сақтау және шабақтардың өміршеңдігін арттыру мақсатында қолда бар өндірушілер арасынан ең оңтайлы жұптар жасауға мүмкіндік береді. Оңтайлы жұптарды құрастыру кезінде генетика принциптерін қолдану инбридинг (инбридинг) салдарын болдырмауға мүмкіндік береді.

Диссертациялық зерттеудің мақсаты – өндірістің тиімділігін арттыру мақсатында генетикалық әдістерді пайдалану арқылы бекіре балықтарының толықтырушы аналық үйірлерін қалыптастыру

Зерттеу міндеттері:

1) Маңғыстау облысы жағдайында «Уылдырықтан бастап өсіру» әдісі арқылы аналық үйірлерді қалыптастыру

2) Атырау облысы жағдайында «қолға үйрету әдісі» арқылы толықтырушы аналық үйірлерді қалыптастыру

3) Толықтырушы аналық үйірлерді қалыптастыру үшін таңдау және таңбалаудың технологиялық әдістерін әзірлеу

4) Бекіре тұқымдас балықтардың толықтырушы және аналық үйірлерін генотиптеу әдісімен генетикалық төлқұжат дайындау

5) Толықтырушы аналық үйірлерді балық өсіру-биологиялық, морфометриялық және жыныстық көрсеткіштері бойынша бағалау

6) Маңғыстау облысында ТЖҚ жағдайында бекіре тұқымдас балықтардың өсімін молайтудың тиімді әдістерін әзірлеу

7) Атырау облысында ТЖҚ жағдайында бекіре тұқымдас балықтардың өсімін молайтудың тиімді әдістерін әзірлеу

8) Өсімін молайту кезінде алынған сүйрік шабақтарының сапасын бағалау

Зерттеу әдістері.

Зерттеу жұмыстары Маңғыстау және Атырау облыстарында орналасқан шаруашылықтарда бекіре тұқымдас балықтардың толықтырушы аналық үйірлерін қалыптастыру және өсімін молайту бойынша жүргізілді.

ДНҚ препаратын алу үшін 50-200 мг зерттелетін үлгі алынады. ДНҚ – ны бөлу Wizard® SV Genomic DNA Purification System (Promega Corp.) (Birstein V.J., Poletav A.I., Goncharov B.F.). Бекіре тұқымдас балықтарды генетикалық төлқұжаттау үшін бұрын жарияланған жеті микросателлиттік локустар (Afug41, Afug51, Afug135, Afug54, AoxD161, AoxD165, Ls19) жиынтығы пайдаланылды (Van Eenennaam A.L., Murray J.D., Medrano J.F.). Митохондриялық ДНҚ-ның бақылау аймағының гаплотипін анықтау үшін сілтемеде келтірілген праймерлердің жиынтығы пайдаланылды. Күшейту реакциясы C1000/T100 күшейткішінде (Bio-RAD) немесе құрылғыға арналған нұсқауларға сәйкес соған ұқсас орындалады (Мюге Н. С., Барминцева А. Е., Расторгуев С. М., Мюге В. Н., Барминцев В. А.).

ПТР өнімін секвенирлеу реакциясы BigDye™ TerminatorKitv.1.1/3.1 реагент жинағы (Applied Biosystems, АҚШ) арқылы өндірушінің нұсқауларына сәйкес 20 мкл реакция көлемінде жүзеге асырылады (Billington, N., and Hebert P.D.N.).

Тізбектеу реакциясы C1000/T100 циклінде (Bio-RAD) немесе құрылғыға арналған нұсқауларға сәйкес соған ұқсас орындалады. Фрагменттерді талдау, сондай-ақ ДНҚ секвенирлеу және нуклеотидтер тізбегін анықтау әзірлеушінің нұсқауларына сәйкес Nanofor-05 (Sinthol, Ресей) автоматты генетикалық анализаторында орындалады (Welsh A.B., Blumberg M., May B.).

Жынысты ерте диагностикалау және олардың жынысын ескере отырып, ТАҰ қалыптастыру үшін Mindray DP-Vet маркалы жануарларға арналған 50–60 Гц жиіліктегі және сканерлеу тереңдігін реттеу мүмкіндігі бар ультрадыбыстық құрылғы пайдаланылды, сонымен қатар сонограммаларды жазу және мұрағаттау сияқты әдістерде қарастырылды. Сканерлеу бойлық және көлденең бағытта жүргізілді, жыныс бездерінің анық

суреті табылған сәт мониторға жазылды. Бекіре жыныс бездерінің жетілу кезеңдерін сипаттау үшін В.З.Трусовтың жетілу шкаласы пайдаланылды. Балықтардың саны тікелей санау арқылы анықталды (Подушка С.Б., Чебанов М.С., Галич Е.В., Трусов В.З.).

Статистикалық көрсеткіштер стандартты компьютерлік бағдарламаны пайдалану Г.Ф.Лакин әдістерімен есептелді (Лакин Г.Ф.).

Уылдырық шашу науқаны кезінде аналықтардың тұқымдылығын ұрықтану пайызын салыстырмалы ұрықтандыру әдісі бойынша балық салмағының 1 кг-ға шаққандағы салыстырмалы тұқымдылығы есептелді (Калайда М.Л., Корчунов А.А. Пономарева Е.Н.). Овуляцияланған ұрықтанбаған уылдырықтарды визуалды бағалау жүргізілді (түсі, консистенциясы, аналық без сұйықтығының мөлшері, уылдырықтардың пайда болуы, бөгде қосындылардың болуы), овуляция мен уылдырықты сауу бір мезгілде болады ма немесе ұзаққа созылу мүмкіндігі анықталды (Пономарев С.В., Гамыгин Е.А., Ноконов С.И., Пономарева Е.Н., Грозеску Ю.Н., Бахарева А.А.).

Судың гидрохимиялық көрсеткіштерін таңдау және анықтау жалпы қабылданған әдістер бойынша жүргізілді (Алёкин О.А.). Судың температурасы мен судағы оттегінің мөлшері MARK анализаторының көмегімен өлшенді.

Зерттелетін шабақтардың әдістемелік тәсілдері мен морфологиялық ауытқулары норма немесе патология ретінде жарияланған материалдармен салыстыру арқылы анықталды (Лепилина И.Н., Voiko N.E., Kornienko G.G., Vorobyeva O.A.).

Эмбрионалдарды, дернәсілдерді және шабақтарды визуалды тексеру үшін 3×20 , 5×20 , 10×20 және 20×100 үлкейту кезінде Color View камерасы бар Olympus бинокюляры пайдаланылды. Шабақтар оптикалық құралдарды пайдаланбай зерттелді. Толық суретті алу үшін ювенильдік кезеңнің 0+ жас тобында жалпы (зоологиялық) ұзындық (TL) штангенциркуль көмегімен, сондай-ақ TN-213 қалта таразысының көмегімен салмақтары анықталды (салмақ шегі дейін 50 грамм, қате 0,01 г). Фотосуреттер Photoshop кескінді өңдеу бағдарламасының қолжетімді нұсқаларына қосылған DC Viewer бағдарламасы арқылы компьютерде түсірілді (Акимова Н.В., Горюнова В.Б., Микодина Е.В., Никольская М.П., Рубан Г.И., Соколова С.А., Шагаева В.Г. & Шатуновский М.И.).

Қорғауға енгізілетін негіздер.

1) Әртүрлі әдістерді қолдану арқылы бекіре тұқымдас балықтардың толықтырушы аналық үйірлерін (ТАҰ) қалыптастырудың технологиялық әдістері (ТАҰ қалыптастыру мақсатында таңдау, таңбалау, іріктеу, ультрадыбыстық сканерлеу);

2) Сапаны бағалау және генетикалық төлқұжаттарды әзірлеу үшін бекіре тұқымдас балықтардың генотиптерін анықтау;

3) Тұйық жүйелі қондырғылар (ТЖҚ) жағдайында бекіре тұқымдас балықтарды өсірудің технологиялық әдістері (таңдау, қыстату, өндірушілерді

ұстау, гормондық ынталандыру, жыныс өнімдеріне талдау жасау, ұрықтандыру және жабысқақтығынан арылту);

4) ГЖҚ-да бекіре балықтарының (сүйрік балығы негізінде) өміршендігі жоғары шабақтарды өсірудің технологиялық әдістері.

Зерттеудің негізгі нәтижелерінің сипаттамасы

Қазақстандағы бекіре өсіру шаруашылықтарында «Kazakh osseter» және «Жайық-Атырау бекіре зауыты» алғаш рет сүйрік балығына ДНҚ-маркерлерді пайдаланып (Afug 41, Afug 51, Aug 135, AoxD 161, AoxD 165.) генотиптеу арқылы генетикалық төлқұжаттар әзірленді.

Бекіре тұқымдас балықтарды бағалау және толықтырушы аналық үйірлерді қалыптастыру кезіндегі өндірушілердің балық өсіру – биологиялық көрсеткіштеріне талдау жүргізілді:

- «Kazakh osseter» ЖШС базасында «уылдырықтан бастап» өсірілген өндірушілердің жыныстық жетілу кезеңі негізінен III-IV кезең арасында болды, резорбцияға ұшыраған және май жиналу коэффициенті жоғары дараларда кездесті, Фультон бойынша қондылығы 18,8 % пайызды құрады, электоронды ПИТ таңбалармен таңбаланды.

- Жайық-Атырау бекіре зауытында «қолға үйретілген» өндірушілердің де жыныстық жетілуі III-IV кезең арасында болды, резорбцияға ұшыраған даралар аз мөлшерде кездесті, Фультон бойынша қондылығы 11,22 % пайызды құрады, электоронды ПИТ таңбалармен таңбаланды.

Сүйрік балықтарының өсімін жасанды молайту нәтижесінде «Kazakh osseter» ЖШС базасында «уылдырықтан бастап» өсірілген өндірушілерінде 34 аналық және 20 аталықтан 3,6 кг уылдырық алынды. Жайық-Атырау бекіре зауытында «қолға үйретілген» өндірушілерінен 22 аналық және 7 аталықтан 4,5 кг уылдырық алынды.

«Kazakh osseter» және Жайық-Атырау бекіре зауытында уылдырық шашу науқанында аналықтардың орташа тұқымдылықтары 33,9 – 21,8 мың дана уылдырықты құрады.

Жайық-Атырау бекіре өсіру зауытында табиғи ортадан ұсталған балықтардың тұқымдылығы 40,2 %, ал «Kazakh osseter» жасанды ортада қолдан өсірілген балықтарда 28,6%, яғни «уылдырықтан бастап» өсірілген аквакультуралық сүйрік (*Acipenser ruthenus*) балығы табиғи суайдындарды балықтандыру және шаруашылықтарда тауарлық мақсатта жасанды өсімін молайту үшін өнімдік толықтырушы аналық үйір қалыптастыруға болатынын растады.

Бекіре балықтарының ерте онтогенезінің әртүрлі кезеңдеріне тератологиялық талдау жұмыстарының нәтижесінде - инкубация кезеңінде төзімділік, орыс бекіресі (11,9 %) мен салыстырғанда сүйрікте 34 % - ға жоғары болды. Сондықтан, сүйрік аквакультурадағы ең тиімді объект болып табылады.

Алынған нәтижелердің жаңалығы мен маңыздылығының негіздемесі.

Қазақстан Республикасында алғаш рет генетикалық құрылымын ескере отырып, бекіре тұқымдас балықтардың толықтырушы аналық үйірлерін

(ТАҰ) құру жүргізілді. Алғаш рет Маңғыстау облысында тұйық жүйелі қондырғылар (ТЖК) жағдайында шаруашылықта өсіріліген өзіндік өндірушілерін пайдалана отырып бекіре балықтарының өсімін жасанды молайту жұмыстары жүргізілді. Өміршеңдігі жоғары шабақтар алынып, генетикалық төлқұжаттар қалыптастырылды. Сондай-ақ, Қазақстанда алғаш рет Жайық-Атырау бекіре зауытында табиғи суайдындарды балықтандыруға пайдаланатын шабақтардың сапасына бағалау жүргізілді.

Ғылымның даму бағыттары немесе мемлекеттік бағдарламаларға сәйкестігі. Жұмыс нәтижелері 019 «Маңғыстау облысында балық шаруашылығын қарқынды дамыту үшін генотиптеу арқылы бекіре тұқымдас балықтардың толықтырушы аналық үйірлерін өсіру және қалыптастырудың инновациялық тәжірибесін енгізу» және «Инновациялық технологиялар мен жаңа балық өсіру нысандарын әзірлеу және енгізу арқылы Қазақстандағы аквакультура шаруашылығын кешенді дамытуды ғылыми-технологиялық қамтамасыз ету» (№10264236) ғылыми-техникалық бағдарламасы аясында жүргізілді.

Докторанттың әрбір жарияланымды дайындауға қосқан үлесінің сипаттамасы.

Докторант ғылыми жарияланымдарды дайындауға, ресімдеуге және оларды отандық және шетелдік басылымдарда жариялауға ұсынуға тікелей қатысты. Сондай-ақ, докторант патенттер жазуға үлес қосты, олардағы жазуда бірінші және бірлескен автор болып табылады.

7 ғылыми басылым жарық көрді. Оның ішінде 3 ғылыми мақала Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігінің Ғылым және жоғары білім саласындағы сапаны қамтамасыз ету комитетімен ұсынылған, 1 мақала – халықаралық Scopus деректер базасына енгізілген жарияланымдарда, 3 мақала – халықаралық конференция жинақтарында, 1 қорғау құжаты (пайдалы модель патенті) алынды.

Диссертациялық жұмыс аясында пайдалы модельге патент алынды: №5223 «Бекіре тұқымдас балықтардың уылдырығын жабысқақтығынан арылту әдісі», авторлық куәлік, №108651.

Диссертацияның құрылымы мен көлемі. Диссертациялық жұмыс кіріспеден, әдебиеттерге шолудан, материалдар мен зерттеу әдістерінен, зерттеу нәтижелерінен, қорытындыдан, өндіріске ұсыныстардан, пайдаланылған әдебиет көздерінен және қосымшалар тізімінен тұрады. Жұмыс компьютерлік тесттің 147 бетінде берілген, 53 сурет пен 61 кестеден тұрады, пайдаланылған әдебиет көздер тізімінде 170 атау бар.