

Аннотация

диссертационной работы Маратовой Гүлданы Маратқызы на тему «Формирование ремонтно – маточных стад осетровых рыб с использованием генетических методов для повышения эффективности искусственного воспроизводства» по специальности 6D080200 – «Технология производства продуктов животноводства»

Актуальность темы исследования

В течение последних 15-20 лет естественное воспроизводство каспийских осетровых рыб находится в неустойчивом положении. Происходит деградация ихтиофауны, идет неуклонное снижение масштабов естественного воспроизводства. Современное состояние запасов осетровых рыб вызывает серьезную озабоченность. Рациональной мерой, способствующей быстрому восстановлению запасов осетровых и поддержанию их на стабильном уровне, является искусственное разведение в достаточном объеме.

Поддержание популяции осетровых в настоящее время почти целиком зависит от искусственного воспроизводства и выпуска молоди на осетровых рыбозаводных заводах (ОРЗ). Традиционно, для получения молоди используются производители осетровых рыб, отловленные во время нерестового хода. В связи с катастрофической нехваткой диких производителей, в последние годы для получения молоди на ОРЗ все чаще используются РМС осетровых рыб содержащиеся в искусственных условиях. Если раньше РМС формировались из доместифицированных особей, то в последние годы на заводах используют аквакультурную рыбу, выращенную «от икры» и поэтому часто близкородственную. В связи с этим остро встает проблема сохранения и поддержания генетического разнообразия производителей, используемых для целей воспроизводства естественной популяции осетровых.

Проведение генетической паспортизации маточных стад, наличие генетического паспорта у каждого производителя дает возможность рыбозаводам составить из имеющихся особей наиболее оптимальные пары с целью сохранения высокого генетического разнообразия природной популяции и повышения жизнеспособности потомства. Использование принципов природоохранной генетики при составлении оптимальных пар скрещиваний позволяет исключить генетическое вырождение популяции из-за инбридинга (близкородственного скрещивания).

Цель диссертационного исследования – формирование продукционных ремонтно-маточных стад осетровых рыб с помощью генетических методов для повышения эффективности искусственного воспроизводства.

Цель исследования:

1) Формирование РМС осетровых методом «от икры» в условиях рыбозаводного хозяйства Мангистауской области.

2) Формирование продукционных РМС методом «доместикации» в условиях Атырауской области.

3) Разработка биотехнических приемов отбора и мечения в целях формирования продукционных РМС осетровых рыб.

4) Оформление генетических паспортов методом генотипирования продукционных РМС осетровых рыб.

5) Оценка продукционных РМС по рыбоводно-биологическим, морфометрическим и репродуктивным показателям.

6) Разработка эффективных биотехнических приемов повышения продуктивности осетровых рыб в Мангистауской области.

7) Разработка эффективных биотехнических приемов повышения продуктивности осетровых рыб в Атырауской области в условиях ОРЗ.

8) Оценка качества собственной выращенной молоди.

Методы исследования.

Исследования, направленные на освоение и совершенствование биотехники формирования ремонтно-маточных стад и воспроизводства осетровых рыб и проводились на базовых хозяйствах Мангистауской и Атырауской области.

Для получения препарата ДНК берут 50-200 мг исследуемого образца. Выделение ДНК проводят с использованием набора для выделения ДНК Wizard® SV Genomic DNA Purification System (PromegaCorp.) или аналогичного согласно инструкции к набору (Birstein V.J., Poletav A.I., Goncharov B.F.). Для генетической паспортизации осетровых использован набор из семи микросателлитных локусов (Afug41, Afug51, Afug135, Afug54, AoxD161, AoxD165, Ls19), ранее опубликованных (Van Eenennaam A.L., Murray J.D., Medrano J.F.). Для определения гаплотипа контрольного региона митохондриальной ДНК использован набор праймеров, приведены в ссылке. Реакцию амплификации проводят в амплификаторе С1000/Т100 (Bio-RAD) или аналогичном в соответствии с инструкцией к прибору (Мюге Н. С., Барминцева А. Е., Расторгуев С. М., Мюге В. Н., Барминцев В. А.).

Реакция секвенирования ПЦР продукта проводят с использованием набора реактивов BigDye™ Terminator Kit v.1.1/3.1 (Applied Biosystems, США) в соответствии с инструкцией производителя в объеме реакции 20 мкл (Billington, N., and Hebert P.D.N.).

Реакцию секвенирования проводят в амплификаторе С1000/Т100 (Bio-RAD) или аналогичном в соответствии с инструкцией к прибору. Фрагментный анализ, а также секвенирование ДНК и определение последовательности нуклеотидов выполняют на автоматическом генетическом анализаторе Нанофор-05 (Синтол, Россия) в соответствии с инструкцией разработчика (Welsh A.B., Blumberg M., May B.).

Для ранней диагностики пола и формирования РМС с учетом их половой принадлежности применялся аппарат УЗИ для животных марки Mindray DP-Vet с частотой 50–60 Гц и с возможностью регулирования глубины сканирования, а также записи и архивизации сонограмм. Сканирование проводили в продольном и поперечном направлениях, момент

нахождения четкого изображения гонад фиксировался на мониторе. Для описания стадий зрелости гонад осетровых рыб использовали шкалу зрелости В. З. Трусова (Подушка С., Чебанов М.С., Галич Е.В., Трусов В.З.).

Статистические показатели рассчитывали по методикам Лакина Г.Ф. с использованием стандартной компьютерной программы (Лакин Г.Ф.).

При проведении нерестовой кампании у самок определяли рабочую плодовитость, методом расчета относительной плодовитости к проценту оплодотворения, относительную плодовитость рассчитывали на 1 кг массы рыбы (Калайда, М.Л., Корчунов А.А. Пономарева Е.Н.). Проводилась визуальная оценка овулировавшей неоплодотворенной икры (окраска, консистенция, количество овариальной жидкости, внешний вид икринок, наличие посторонних включений), единовременность или растянутость овуляции и отцеживания икры (Пономарев С.В., Гамыгин Е.А., Ноконоров С.И., Пономарева Е.Н., Грозеску ЮН., Бахарева А.А.).

Отбор и определение гидрохимических показателей воды проводилось по общепринятым методикам (Алёкин О.А.). Измерение температуры воды и содержания кислорода в воде измеряли при помощи анализатора «МАРК».

Методические подходы и морфологические отклонения исследуемой молодежи осетровых рыб выявляли путём сравнения их с опубликованными материалами, используемыми в качестве нормы или патологии (Лепилина И.Н., Voiko N.E., Kornienko G.G., Vorobyeva O.A.).

Для визуального осмотра зародышей, предличинок и личинок использовали бинокляр Olympus с камерой Color View при увеличении 3×20 , 5×20 , 10×20 и 20×100 . Мальков осматривали без использования оптических приборов. Для более полной картины у возрастной группы 0+ малькового периода определяли полную (зоологическую) длину (TL) с использованием штангенциркуля, а также массу с помощью электронных весов Pocket Scale TH-213 (пределы взвешиваний до 50 грамм, погрешность 0,01 г). Фотографии сделаны на компьютере при помощи программы DC Viewer, соединенной с программой редактирования изображений Photoshop имеющихся версий (Акимова Н.В., Горюнова В.Б., Микодина Е.В., Никольская М.П., Рубан Г.И., Соколова С.А., Шагаева В.Г. & Шатуновский М.И.).

Основные правила (доказанные научные гипотезы и другие открытия, являющиеся новыми знаниями).

1) Технологические приемы формирования РМС осетровых рыб различными методами (бонитировки, мечения, отбора, проведение Уз-сканирования в целях формирования РМС);

2) Генотипирование особей РМС осетровых рыб для оценки качества и разработка генетических паспортов;

3) Технологические приемы воспроизводства осетровых рыб в условиях УЗВ (бонитировки, проведения зимовки, выдерживания производителей, гормональной стимуляции, отбора половых продуктов, оплодотворения и обесклеивания);

4) Технологические приемы выращивания жизнестойкой молоди осетровых рыб в УЗВ.

Описание основных результатов исследования

Впервые разработаны генетические паспорта осетровых рыб с использованием ДНК-маркеров (Afug 41, Afug 51, Aug 135, AoxD 161, AoxD 165.) на осетровых фермах Казахстана «Kazakh osseter» и «Урало-Атырауский осетровый завод».

Проведен анализ рыбоводно - биологических показателей производителей при оценке осетровых рыб и формировании ремонтно-маточных стад:

- Период половой зрелости производителей, выращенных «от икры» на базе ТОО «Kazakh osseter» находился в основном между III-IV стадией, выявлен у особей, подверженных резорбции и с высоким коэффициентом накопления жира, упитанность по Фултону составила 18,8%, прочипированы электронными ПИТ метками.

- На Урало-Атырауском осетровом заводе половая зрелость «доместицированных» производителей находилась между III-IV стадией, резорбированные особи встречались в небольшом количестве, упитанность по Фултону составила 11,22%, прочипированы электронными ПИТ метками.

В результате искусственного воспроизводства получено 3,6 кг икры от 34 самок и 20 самцов, выращенных методом «от икры» на базе ТОО «Kazakh osseter». На Урало - Атырауском осетровом заводе от «доместицированных» производителей было отобрано 4,5 кг икры, то есть от 22 самок и 7 самцов.

В нерестовую кампанию «Kazakh osseter» и Урало-Атырауского осетра средняя плодовитость самок составила 33,9 – 21,8 тыс. икринок.

На урало-Атырауском осетровом заводе коэффициент плодовитости, выловленной в естественной среде, составляет 40,2%, а у «Kazakh osseter» - 28,6% у искусственно выращенной рыбы, то есть аквакультурного стерляди (*Acipenser ruthenus*), выращенного методом «от икры», то есть подтвердили возможность формирования продукционных ремонтно-маточных стад для зарыбления естественных водоемов и повышения качества искусственного воспроизводства в товарных осетровых хозяйствах.

В результате тератологического анализа различных этапов раннего онтогенеза осетра - резистентность в течение инкубационного периода была на 34% выше в хвосте по сравнению с русским осетром (11,9%). Поэтому стерлядь является наиболее эффективным объектом в аквакультуре.

Обоснование новизны и значимости полученных результатов.

Впервые в РК проведено формирование ремонтно-маточных стад осетровых рыб с учетом генетической структуры. Впервые в условиях УЗВ Мангистауской области проведено искусственное воспроизводство от собственного маточного стада стерляди. Получена жизнестойкая молодь, составлены генетические паспорта. Также впервые в Казахстане проведена оценка качества молоди осетровых рыб, выпускаемой с ОРЗ.

Направления развития науки или соответствие государственным программам. Данная работа выполнена по 019 программе «Внедрение инновационного опыта по выращиванию и формированию ремонтно-маточного стада осетровых рыб путем генотипирования для интенсивного развития рыбоводства в Мангистауской области» 2018-2020 гг и по научно-технической программе «Научно-технологическое обеспечение комплексного развития аквакультуры Казахстана путем разработки и внедрения инновационных технологий и новых объектов рыбоводства» (№10264236).

Описание вклада докторанта в подготовку каждой публикации.

Докторант принимала непосредственное участие в подготовке научных публикаций, оформлении и их представлении к публикации в отечественных и зарубежных изданиях.

Было опубликовано 7 научных работ, в том числе 4 научных изданиях. Рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования МНиВО РК, 1 статья – в изданиях, входящих в международную базу Scopus, 3 статьи – в сборниках международной конференции, получено 1 охранный документ (патент на полезную модель).

В рамках диссертационной работы получен патент на полезную модель: № 5223 «Способ обесклеивание икры осетровых рыб», удостоверения автора, № 108651

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов исследований, заключения, предложений производству, списка использованных источников и приложений. Работа изложена на 147 страницах компьютерного текста, включает 53 рисунков и 61 таблиц, список использованных источников содержит 170 наименований.