

АНОТАЦІЯ

Куць У. С. Рибницько-біологічна оцінка самців амурського сазана різного генезису в умовах промислової гібридизації. — Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 207 — Водні біоресурси та аквакультура. — Інститут рибного господарства Національної академії аграрних наук України, Київ, 2021.

Дисертація присвячена вивченню продуктивних, репродуктивних, генетичних особливостей та ефективності використання в промисловій гібридизації самців амурського сазана, що мають різне генетичне походження.

Вперше проведено порівняльний аналіз розмірно-вагових показників, екстер'єрних індексів тілобудови та досліджено основні відтворювальні властивості 8- та 9-річних самців амурського сазана, отриманих із застосуванням кріотехнологій, в порівнянні з такими самців амурського сазана місцевих стад, що є нащадками плідників, які були завезені до Львівської дослідної станції ІРГ із Далекого Сходу — озеро Ханка (басейн р. Амур) у 70–80-х рр. минулого століття та пройшли 8 поколінь відтворення. Здійснено оцінку генетичної структури за генетико-біохімічними системами та ДНК-маркерами. Дано характеристику самців за нащадками та проаналізовано основні рибницькі показники за товарного вирощування.

Результати досліджень можуть бути використаними на рибницьких господарствах України.

У результаті аналізу за використання мікросателітних маркерів було показано наявність у структурі кріосамців специфічних алелів порівняно з місцевими сазанами класичної селекції. Їх генетична структура наближена до диких природних популяцій, що свідчить про позитивний вплив, тобто проходить «освіження крові», і в кінцевому результаті покращення генетичного потенціалу плідників.

В результаті досліджень генетичного поліморфізму за мікросателітними локусами, встановлено, що кількість алелів на локус (Na) варіювала від 2

(локус MFW 6) до 10 (MFW 15) в групі місцевих самців та від 4 (локус MFW 6) до 9 (MFW 15) в групі кріосамців. Середні значення кількості алелів на локус та ефективною кількості алелів на локус (N_e) було вищим у групі кріосамців і становило 7,250 (S.E. 1,109) та 5,295 (S.E. 1,131) відповідно, у порівнянні з групою місцевих сазанів, для яких спостерігались наступні значення: $N_a = 5,750$ (S.E. 1,652) та $N_e 3,903$ (S.E. 1,116).

У кріосамців за локусами MFW 6 та MFW 31 є більш широким діапазон розміру ампліконів у бік легких за молекулярною масою алелів порівняно з місцевими сазанами.

Значення індексу Шеннона (H) вказує на те, що сазани, отримані з використанням кріоконсервованої сперми, мали більш складну генетичну структуру (1,727) у порівнянні з групою місцевих сазанів (1,383).

Середні значення фактичної (H_o) та очікуваної (H_e) гетерозиготності двох досліджених груп сазанів за обраними мікросателітними локусами істотно не відрізняються. Проте, за значенням неупередженої очікуваної гетерозиготності (uH_e) можна стверджувати, що між двома досліджуваними групами за локусом MFW 31 спостерігаються істотні відмінності, що простежується і за індексом Шеннона за даним локусом.

Найбільше значення фактичної гетерозиготності (H_o) спостерігалось за локусами MFW 15 та MFW 23, що свідчить про значну мінливість генетичних ознак за цими локусами, у порівнянні з іншими двома дослідженими, і тому характеризуються найвищим диференціувальним потенціалом при порівняльному аналізі досліджуваних груп сазана. Було з'ясовано, що найменш інформативним для двох досліджуваних груп сазанів виявився локус MFW 6, в той час як за локусами MFW 15 та 23 отримані найбільші значення даного показника.

Незначні відхилення від розподілу Харді-Вайнберга спостерігались за локусом MFW 15 в обох групах сазанів, а також за локусом MFW 23 для групи місцевих сазанів та за локусом MFW 31 для групи сазанів-кріо.

Для кожного з проаналізованих локусів було розраховано значення коефіцієнтів інбридингу особини щодо популяції F_{is} , інбридингу особини щодо виду F_{it} і інбридингу популяції щодо виду F_{st} . Позитивне середнє значення F_{is} вказує на нестачу на 46,9% гетерозиготних генотипів за локусами, що були вивчені в даній роботі. Коефіцієнт F_{it} також має позитивне значення і дорівнює в середньому 0,505, що вказує на 50% дефіцит гетерозигот у виду в цілому. Оцінка показника F_{st} продемонструвала, що 92,3% виявленої в досліджуваних групах сазана генетичної мінливості реалізується всередині локального стада цього виду і тільки 7,7% ($F_{st} = 0,077$) розподіляється між дослідженими групами. Отримане середнє значення F_{st} вказує на генетичне підрозділення вивчених популяцій. Найбільший внесок у міжпопуляційну складову мінливості вносить високополіморфний локус MFW 31 ($F_{st} = 0,186$).

Неупереджена генетична дистанція за H_{eem} (Pairwise Population Matrix of Nei Unbiased Genetic Distance) дорівнювала 0,334 між двома дослідженими групами.

Встановлено, що за середнім показником маси тіла на 401,0 г переважали самці, отримані від дефростованої сперми, проте за показником абсолютного приросту (TGR) основних параметрів тілобудови кріосамці переважали особин місцевого походження за масою на 7,2%, за довжиною тіла — на 4,3%, однак поступалися за довжиною голови, висотою та обхватом тіла. За показником відносного приросту (SGR) переважали самці місцевого походження. При цьому витрати кормів на приріст маси самців становили в середньому 7,6 од. Коефіцієнт вгодованості у восьмирічному віці був дещо вищим у самців місцевого походження — 1,96 од., у кріосамців він становив 1,85 од. У дев'ятирічному віці його значення складали 1,72 та 1,55 од. відповідно.

Загалом, самці місцевого походження мали вищі значення за індексом висоти тіла як на 8-му, так і на 9-му році життя, однак з віком даний показник незначно знижувався — відповідно на 2,92 та 0,25%. За індексом голови впродовж двох років були близькі значення, проте в 9-ти річному віці його

значення були нижчими на 11,44 і 9,44% та мали більшу мінливість у особин обох генерацій.

У результаті проведених досліджень встановлено, що загальна активність сперміїв (ЗА) у 8-річних самців, відповідно до дослідних груп, складала 94,4 та 90,7%. При цьому кількість сперміїв з прямолінійно-поступальним рухом (ППР) у кріосамців у порівнянні з місцевими, була вищою на 3,1%. У 9-річних самців, одержаних із кріоконсервованої сперми, даний показник був вищим на 5,6%, порівняно з місцевими самцями, різниця статистично вірогідна ($p < 0,05$). Найбільшу кількість сперміїв з прямолінійно-поступальним рухом було зафіксовано ($70,5 \pm 2,3$) у місцевих самців, що на 12,2% нижче, ніж показник кріосамців. У групі амурських сазанів, вирощених з кріоконсервованої сперми, було удвічі менше неживих сперміїв.

Аналізуючи вікові динаміку, варто зазначити, що загальна активність сперміїв у молоках місцевих самців знизилася на 6,9%; натомість, кріосамців — зросла на 2,4%. Аналогічну тенденцію до зниження було зафіксовано за показниками вмісту сперміїв з прямолінійно-поступальним та маневрним рухом. Натомість, найбільш мінливим був показник з кількості неживих сперміїв у молоках. Так, у кріосамців він знизився на 3,4%, а у місцевих — навпаки, зріс на 6,9%.

Виживання розбавлених сперміїв за 22–24°C від 8-річних сазанів одержаних із кріоконсервованої сперми, становило $23,5 \pm 3,9$ год і було вищим на 23,5%, порівняно з величиною показника у сазанів, отриманих з нативної сперми. Однак, збереженість рухливості нерозбавлених сперміїв при 22–24°C (здатність відновлювати рухливість нерозбавлених сперміїв) вища на 9 год, що становило 13,1% у сперміїв сазанів з нативної сперми, порівняно до аналогів, отриманих з кріоконсервованої сперми. Виживання як розбавлених, так і нерозбавлених сперміїв за 22–24°C від 9-річних самців, одержаних з кріоконсервованої сперми, було вищим відповідно на 9,0 і 20,0%, порівняно з величиною показника у самців місцевих стад.

При цьому, підвищеною на 6,4% активністю сукцинатдегідрогенази (СДГ) характеризувалися статеві клітини сазанів з нативної сперми, порівняно до зразків спермій, від самців, отриманих з кріоконсервованих еякулятів. Активність цитохромоксидази (ЦХО) у обох піддослідних групах не відрізнялась і становила 52,7–53,7 од./год × 0,1 мл спермій.

Аналогічно, встановлено тенденцію до підвищення активності СДГ та ЦХО на 13,7 і 24,6% відповідно в спермі амурських сазанів, одержаних із кріоконсервованих еякулятів, порівняно з нативними.

Суттєвіші зміни були зафіксовані серед показників вікової динаміки. Так, рівень виживання розбавлених спермій у молоках самців, отриманих з допомогою кріотехнологій, зростає на 67,4%, місцевих — 72,7%, нерозбавлених спермій — відповідно на 44,4 та 23,3%. Проте зафіксовано зниження показників СДГ та ЦХО відповідно на 16,4 та 65,2% у кріосамців на 31,0 та 71,54% — у самців з місцевого стада.

Дослідження розчинних протеїнів спермій 8- та 9-річних сазанів виявили характерні для електрофоретичного розділення протеїнів зони глобулінів: γ -, β - і α -, альбуміну і преальбумінів.

Встановлено, що вміст протеїнів зони γ - і β -глобулінів у сперміях сазанів, одержаних із кріоконсервованих еякулятів, у віці 8-ми років відповідно на 7,9 ($p < 0,05$) і 2,1% вищий, порівняно зі статевими клітинами сазанів з нативної сперми. Вміст α -глобулінів спермій залежно від групи майже не відрізнявся і знаходився в межах: α_3 — 5,5–6,2%, α_2 — 2,4–3,0% і α_1 — 3,8–4,3%. Подібний результат отримано за аналізу вмісту альбуміну — величина значення знаходилась у межах 8,8–10,5%.

Більшу різницю встановлено за дослідження преальбумінів: максимальний вміст ($24,9 \pm 1,10\%$) у сперміях самців, отриманих з нативної сперми, і на 6,2% ($p < 0,05$) нижчий — з кріоконсервованої ($18,7 \pm 1,50\%$).

Вміст протеїнів зони γ -глобулінів і альбуміну в сироватці крові, отриманої від 9-річних самців амурського сазана, вірогідно вищий відповідно на 6,8 ($p < 0,05$) та 3,7% ($p < 0,001$) у сперміях коропів, одержаних із

кріоконсервованих еякулятів, порівняно зі статевими клітинами коропів з нативної сперми. При цьому вміст β -, α_3 - і α_2 -глобулінів майже не відрізнявся між групами і знаходився в межах 4,6–6,3%, 2,7–3,2% та 4,1–4,2% відповідно. Значно більша різниця виявлена для протеїнів зони α_1 -глобулінів і преальбумінів: максимальний вміст ($3,7 \pm 0,76$ і $28,6 \pm 1,44\%$) — у сперміях самців, які отримані з нативної сперми, і на 2,3 та 5,9% ($p < 0,05$) відповідно нижчий у таких з кріоконсервованої.

Температурні показники водного середовища за період досліджень відповідали показникам кліматичної зони та перебували в межах 15–26°C, з максимальними значеннями в липневі дні. За хімічними показниками вода експериментальних ставів, за класифікацією О. О. Альокіна, відповідала гідрокарбонатному класу (HCO_3^- — 152,5–222,0 мг/дм³), з переважанням іонів SO_4^{2-} (69,2–72,8 мг/дм³), з середньою мінералізацією в межах 319,0–402,5 мг/дм³. При цьому рН середовища мала незначну мінливість та відповідала слаболужному або лужному середовищу. Отже, вода дослідних ставів відповідала існуючим рибницько-біологічним нормам для вирощування посадкового матеріалу корошових риб і була придатною для риборозведення.

Фітопланктон дослідних ставів був представлений прісноводними видами (від 62 до 80), що відносяться до 7 систематичних відділів. За чисельністю переважали Chlorophyta — 10450,0–2836,79 тис. кл./дм³. Кількісні показники розвитку фітопланктону знаходилися на рівні 2773,59–18496,62 тис. кл./дм³ за чисельністю і від 0,78 до 3,32 мг/дм³ за біомасою. Зоопланктон дослідних ставів в основному був представлений організмами трьох систематичних груп: Rotifera, Cladocera та Copepoda. Кількісні показники зоопланктону у вирощувальних ставах перебували в межах від 22,0 до 257,0 тис. екз./м³ за чисельністю та від 0,36 до 19,1 г/м³ за біомасою. Основну роль в формуванні біомаси зоопланктону відігравали молоді форми гіллястовусих ракоподібних. Середньосезонні показники чисельності та біомаси зообентосу у ставу №19 були на рівні 279,32 екз./м² та

2,11 г/м²; у ставу №17 —435,75 екз./м² та 3,37 г/м²; у ставах № 34 та № 33 знаходились в межах 239,46–310,63 екз. /м², біомаси — 2,41–2,88 г/м².

Розвиток ембріонів коропо-сазанових гібридів (КСГ), отриманих від галицьких самиць та самців амурських сазанів, тривав 89 градусо-днів, ембріони, отримані від любінських самиць, мали триваліший розвиток за рахунок нижчих середніх значень температури. Показник запліднення ікри становив 75 та 86%.

Середня маса цьоголіток коропо-сазанових гібридів, отриманих від схрещування галицьких самиць та 8-річних самців, які були відтворені з допомогою кріотехнологій, становила 47,5 г, і була на 1,1% нижчою, ніж показник середньої маси цьоголіток місцевого походження. Серед отриманих нащадків від 9-річних самців, кращим темпом росту характеризувалися гібридні цьоголітки, отримані від схрещувань любінських лускатих самиць та кріосамців амурських сазанів. Показник середньої маси тіла цьоголіток, одержаних від кріосамців, переважав такий від місцевих самців на 3,4%.

Показник добового приросту впродовж періоду дослідження відповідно до процесу накопичення маси, характеризувався позитивною динамікою та мав тенденцію до збільшення з піком у липні та серпні, що пояснюється інтенсивною годівлею штучними кормами.

Для більш детальної оцінки швидкості росту цьоголіток КСГ були проведені дослідження питомої швидкості росту за Шмальгаузенем-Броді. Згідно з аналізом даного показника було встановлено, що максимальна швидкість росту цьоголіток всіх дослідних груп спостерігалася в другій та третій декадах червня, з поступовим зниженням значень даного показника в першій та другій декадах липня. Починаючи з третьої декади липня почалося інтенсивне зниження показника питомої швидкості росту.

Відповідно до показника абсолютного приросту КСГ різного генезису, найвищий показник рибопродуктивності — 696,1 кг/га — був зафіксований у цьоголіток, отриманих від схрещування любінських лускатих самиць та самців, одержаних з допомогою кріотехнологій. У решти дослідних груп

показник рибопродуктивності перебував у межах 620–650 кг/га. Проте отримані гібридні цьоголітки від кріосамців та лускатих самиць характеризувалися на 4,1% нижчим рівнем виживання в порівнянні з рамчастими галицькими. Загалом, гібридні цьоголітки одержані від кріосамців, характеризувалися вищим показником рівня виживання в порівнянні з такими, отриманими від місцевих самців, відповідно у 8-річних на 3,69% та 9-річних на 3,71%.

Незважаючи на нижчі значення середньої маси тіла, цьоголітки, отримані від 8-річних кріосамців, мали вищий показник за довжиною тіла на 1,0%. Цьоголітки, отримані від 9-річних кріосамців, мали близькі значення, з різницею 0,6 см.

Серед чотирьох дослідних груп найбільш високоспинними були цьоголітки, одержані від 8-річних кріосамців. Найнижчим показником висоти тіла характеризувалися цьоголітки від 9-річних кріосамців. Решта дослідних цьоголіток мали дещо вищі значення — 3,0 од.

За середнім показником обхвату тіла перевагу на 3,4 та 2,7% відповідно мали цьоголітки від 8-річних самців амурського сазана. Також дана дослідна група цьоголіток мала нижчі значення за середнім показником довжини голови відповідно на 0,8 та 3,3%.

Вирощування цьоголіток КСГ проводили за напівінтенсивної технології. Відповідно годівлю подрібненим зерном пшениці розпочинали в першій декаді липня. В результаті аналізу даних було встановлено, що середні значення показнику вгодованості перебували в межах 2,28–2,39 од. При цьому витрати корму не перевищували 4,0 од.

За результатами досліджень встановлено, що у цьоголіток, отриманих від схрещування галицьких самиць та 8-річних кріосамців, відносна довжина кишечника становила 185,2% і була вищою на 1,15% проти цьоголіток одержаних від місцевих самців. Також був вищим індекс маси кишечника на 6,0% та відносна маса печінки — на 1,0%. У цьоголіток, отриманих від схрещування любінських лускатих самиць та амурських сазанів, відносна

довжина кишечника, індекс маси кишечника, відносна маса печінки були майже на однакому рівні, суттєвих різниць не виявлено. Проте варто зазначити, що за довжиною, масою кишечника та масою печінки мали перевагу цьоголітки КСГ, отримані від кріосамців, відповідно на 0,80; 2,82 та 1,59%. Також дані особини переважали на 0,5% за показником співвідношення довжини кишечника до довжини тіла, проте поступалися на 2,03 та 3,75% за показником співвідношення маси кишечника та співвідношення маси печінки до маси тіла.

В результаті аналізу біохімічних показників крові цьоголіток, отриманих від схрещування галицьких самиць та 8-річних амурських сазанів, встановлено, що вміст гемоглобіну, еритроцитів та гематокриту був вищим у цьоголіток, одержаних від кріосамців, відповідно на 3,04; 4,60 та 4,60%. Перевага цьоголіток, отриманих від 9-річних місцевих самців над своїми однолітками від кріосамців за показником вмісту гемоглобіну та гематокриту в крові становила 5,9 та 4,5% відповідно, однак перші поступалися на 2,7% за показником вмісту еритроцитів.

Проте варто відмітити, що цьоголітки, отримані від схрещування любінських самиць з амурськими сазанами, мали вищі показники вмісту еритроцитів у крові на 45,0 та 39,6% відповідно, ніж у цьоголіток від кріо- та місцевих самців. Однак, перші мали нижчі показники за вмістом гемоглобіну на 15,0 та 20,0%, гематокриту — 12,4 та 13,6% відповідно до дослідних груп.

У порівнянні показників цьоголіток отриманих від 8- та 9-річних самців амурського сазана, за вмістом вологи в м'язових тканинах, вищими значеннями характеризувалися цьоголітки, одержані від 9-річних самців, — на 0,29 та 1,99% в порівнянні з цьоголітками від 8-річних самців. Відповідно, вміст сухої речовини в особин даної дослідної групи був нижчим на 0,96 та 6,89%. Цьоголітки, отримані від схрещування 8-річних самців амурського сазана та галицьких самиць, в порівнянні з цьоголітками від схрещування любінських самиць, також характеризувалися вищим значенням вмісту жиру. За середнім показником вмісту білка, цьоголітки місцевого походження

отримані від 9-річних самців, характеризувалися на 4,71% вищим значенням. Цьоголітки, одержані від кріосамців, мали близькі значення, з незначним переважанням на 0,53% цьоголіток, отриманих від 8-річних самців.

Оцінюючи рівень процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) за вмістом дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду (МДА), встановлено, що у цьоголіток, отриманих від місцевих 8-річних самців, за першим показником він був на 31,2% ($p < 0,05$) нижчим ніж у цьоголіток від кріосамців. Проте, вміст МДА вірогідно нижчий на 51,8% ($p < 0,01$). Також вищою на 12,1% виявилася активність супероксиддисмутази (СОД).

За показником вмісту дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду в організмі цьоголіток, отриманих від 9-річних самців, спостерігалася перевага коропо-сазанових гібридів, одержаних від кріосамців, на 23,6 та 1,7% відповідно. Аналогічна перевага спостерігалася за показником каталази на 0,8 та 3,5%.

Аналіз вмісту харчових грудок цьоголіток коропо-сазанових гібридів показав, що в їх складі були зоопланктонні і зообентосні організми, штучний корм та детрит, частка яких значно змінювалася впродовж сезону і залежала від стану розвитку природних кормів та інтенсивності годівлі.

Основними зоопланктонними організмами у живленні цьоголіток КСГ були гіллястовусі та веслоногі ракоподібні, тоді як коловертки виявлялися в незначній кількості; також часто зустрічались ефіпіуми та яйця ракоподібних. Серед зообентосних організмів протягом усього вегетаційного періоду переважали личинки хірономід.

Тривалість зимового утримання у 2019–2020 рр. становила 206 діб, 2020–2021 рр. — 221 добу. Температура води у ставах коливалася в межах від 0,8 до 2,1°C, вміст розчиненого у воді кисню становив 5,2–7,8 мгО₂/дм³.

Після інвентаризації зимувального ставу отримали 15,4 та 20,9 тис. екз. цьоголіток, від схрещування 8-річних самців з галицькими рамчастими самицями. Кількість цьоголіток, одержаних від любінських лускатих та 9-річних самців відповідно становила 7,6 та 7,0 тис. екз.

Вихід із зимового утримання становив від 85,9 до 91,5%, даний показник був вищим у однорічок, отриманих від любінських самиць, у порівнянні з однорічними особинами від галицьких самиць, на 2,2 та 4,5% відповідно до дослідних груп. При цьому показник середньої індивідуальної маси однорічок отриманих від 8-річних самців, становив $43,3 \pm 2,89$, та $42,8 \pm 2,65$ г, 9-річних — відповідно 42,3 та 44,1 г. Коефіцієнт вгодованості перебував у межах 2,0 од., проте однорічки, отримані від кріосамців та любінських самиць, мали найвище значення на рівні 2,2 од; найнижчим — 1,8 од. — характеризувалися цьоголітки, отримані від галицьких самиць та кріосамців. Одночасно, у останніх встановлено вище схуднення 10,7–10,9% проти 8,9–8,9% у гібридних однорічок від самців амурського сазана місцевого походження.

Однорічки коропо-сазанових гібридів, у порівнянні з цьоголітками, мали більш водянисту м'ясну структуру. Максимальним вмістом вологи характеризувалися особини, отримані від схрещувань галицьких самиць і місцевих самців та любінських самиць і кріосамців — 80,9 та 80,4% відповідно. Особини даних дослідних груп також мали найнижчі показники сухої речовини — 19,6 та 19,0%. Показник вмісту жиру мав найбільш мінливі значення та перебував у межах 2,58–2,92%. Максимальними показниками характеризувалися однорічки коропо-сазанових гібридів, отримані від 9-річних самців кріопоходження, найнижчими — від 8-ми річних самців того ж генетичного походження. При цьому вміст білка у особин, отриманих від 8-річних самців складав дещо вище 13%, з різницею між дослідними групами на рівні 0,4%. Різниця в показниках у особин одержаних від 9-річних самців, була вищою, та становила 2,2%.

За період зимівлі, максимального зниження набули значення вмісту жиру та білка. Так, зменшення концентрації жиру в м'язових тканинах однорічок, отриманих від любінських самиць, становило 45,1–49,1%, від галицьких самиць — 39,5–33,2%. Зниження вмісту білка в м'язових тканинах відповідно становило 15,9 і 12,3 та 9,9 та 16,9%.

Аналіз гематологічних показників засвідчив, що за вмістом еритроцитів у крові одnorічки, отримані від 8-річних самців, мали нижчі значення порівняно з одnorічками, отриманими від 9-річних самців, відповідно на 63,2 та 80,4%. Серед гематологічних показників суттєвого зниження, в порівнянні з такими цьоголіток, набули значення вмісту гемоглобіну в крові — 11,1–16,0%.

Найбільш економічно ефективні у вирощуванні одnorічки коропосазанових гібридів, отриманих від схрещування галицьких та любінських самиць та кріосамців амурського сазана. За рахунок отриманої високої продуктивності продукції (505,3 і 568,9 кг/га) та зниження її собівартості (46,8 і 47,0 грн/га), сума прибутку підприємства збільшилась на 6655 та 7412 грн/га, а значення рентабельності виробництва зросло до 27,7–28,1%.

Ключові слова: амурський сазан, плідники, генезис, цьоголітки, одnorічки, продуктивні та репродуктивні показники, гематологічні показники, морфометричні проміри, економічна ефективність.

SUMMARY

Kuts U.S. Piscicultural-biological assessment of Amur carp males of different genesis under conditions of industrial hybridization. — Qualifying scientific work as a manuscript..

Dissertation to fulfill requirements for the Doctor of Philosophy degree in the specialty 207 — Aquatic bioresources and aquaculture. — Institute of Fisheries of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Kyiv, 2021.

The dissertation is devoted to the study of productive, reproductive, genetic features and efficiency of the use of Amur carp males of different genetic origin in industrial hybridization.

This study is a first comparative analysis of lengths and weights, exterior body indices and main reproductive properties of age-8 and 9 Amur carp males produced by cryotechnologies in comparison with those of Amur carp males of the local stock that are descendants of offspring brought to the Lviv research station IRG from the

Far East – Khanka Lake (Amur River basin) in the 1970-80s and had 8 generations of reproduction. An assessment of the genetic structure by genetic-biochemical systems and DNA markers was performed. Males were characterized based on their offspring and the main piscicultural indicators for commercial cultivation were analyzed.

The study results can be used in fish farming in Ukraine.

The analysis using microsatellite markers showed the presence of specific alleles in the structure of cryo-males in comparison with local carp of classical selection. Their genetic structure is close to wild natural populations, which indicates a positive effect, i.e. "blood refreshing", and ultimately improves the genetic potential of the brood fish.

Studies of genetic polymorphism at microsatellite loci showed that the number of alleles per locus (N_a) ranged from 2 (MFW 6 locus) to 10 (MFW 15) in the group of local males and from 4 (MFW 6 locus) to 9 (MFW 15) in the group of cryo-males. The mean value of the number of alleles per locus and the effective number of alleles per locus (N_e) was higher in the group of cryo-males and was 7.250 (SE 1.109) and 5.295 (SE 1.131), respectively, compared to the group of local carp, for which the following values were observed: $N_a = 5.750$ (SE 1.652) and $N_e = 3.903$ (SE 1.116).

The cryo-males have a wider range of amplicon size at the MFW 6 and MFW 31 loci toward light molecular weight alleles compared to native carp.

The Shannon index (I) indicates that carp produced using cryopreserved semen had a more complex structure (1.727) compared to the group of local carp (1.383).

The average values of the actual (H_o) and expected (H_e) heterozygosity of two studied groups of carp at the selected microsatellite loci do not differ significantly. However, according to the unbiased expected heterozygosity (uH_e), it can be stated that there were significant differences between two study groups at the MFW 31 locus, which can be seen in the Shannon index at this locus.

The highest value of actual heterozygosity (H_o) was observed at the MFW 15 and MFW 23 loci, which indicates a significant variability of genetic traits at these loci, compared with the other two studies, and therefore characterized by the highest

differentiation potential in the comparative analysis of carp groups. The least informative for the two studied groups of carp was the MFW 6 locus, while the MFW 15 and 23 loci were characterized by the highest values of this parameter.

Insignificant deviations from the Hardy-Weinberg distribution were observed at the MFW 15 locus in both carp groups, as well as at the MFW 23 locus for the local carp group and at the MFW 31 locus for the cryo carp group.

For each of the analyzed loci, the inbreeding coefficients of the individual with respect to the Fis population, the inbreeding of the individual with respect to the Fit species and the inbreeding of the population with respect to the Fst species were calculated. A positive mean value of Fis indicates a lack of 46.9% of heterozygous genotypes at the loci studied in this work. The Fit coefficient was also positive and averaged 0.505, indicating a 50% deficiency of heterozygotes in the species as a whole. Estimation of Fst showed that 92.3% of the genetic variability found in the studied groups of carp was realized within the local stock of this species and only 7.7% ($F_{st} = 0.077$) was distributed among the studied groups. The obtained average value of Fst indicates the genetic division of the studied populations. The largest contribution to the interpopulation component of variability was made by the highly polymorphic locus MFW 31 ($F_{st} = 0.186$).

The pairwise population matrix of Nei's unbiased genetic distance was 0.334 between two studied groups.

It was found that the average body weight of males produced from the defrosted semen was higher by 401.0 g, but the absolute growth rate (TGR) of the main parameters of body build of cryo-males were higher than those of males of local origin: by 7.2% by weight, by 4.3% by body length, however, were inferior for head length, height, and body circumference. According to the relative growth rate (SGR), males of local origin had higher values. The cost of feed for weight gain of males averaged 7.6 units. The condition factor at the age-8 was slightly higher in males of local origin – 1.96 units, in cryo-males it was 1.85 units. In age-9 fish, its values were 1.72 and 1.55 units, respectively.

In general, males of local origin had higher values in the body height index in both age-8 and 9, but with age this value decreased slightly by 2.92 and 0.25%, respectively. According to the head index, the values were close for two years, but its values at age-9 were lower by 11.44 and 9.44% and had a greater variability in individuals of both generations.

The study showed that the total activity of spermatozoids in age-8 males in two experimental groups was 94.4 and 90.7%, respectively. At the same time, the number of spermatozoids with rectilinear translational motion in cryo-males in comparison with local ones was higher by 3.1%. In 9-year-old males obtained from cryopreserved semen, this figure was 5.6% higher than in local males, the difference was statistically significant ($p < 0.05$). The largest number of spermatozoids with straightforward movement was recorded (70.5 ± 2.3) in local males, which was 12.2% lower than this value in cryo-males. Amur carp produced from the cryopreserved sperm had twice as many inanimate spermatozoids.

Analyzing of the age dynamics showed that the total sperm activity in the milk of local males decreased by 6.9%; instead, it increased by 2.4% in cryo-males. A similar downward trend was recorded in terms of sperm content with straightforward and circling movement. Instead, the number of inanimate sperm in milk was the most variable. E.g., it decreased by 3.4% in cryo-males, and the contrary, increased by 6.9% in local males.

The survival rate of sperm from age-8 carp obtained from cryopreserved sperm diluted at 22–24°C was 23.5 ± 3.9 h and was higher by 23.5% compared to the value of carp obtained from native sperm. However, the preservation of the motility of undiluted sperm at 22–24 °C (ability to restore the motility of undiluted sperm) was higher by 9 h, which was 13.1% in carp sperm from native sperm, compared to analogues obtained from cryopreserved sperm. Survival of both diluted and undiluted sperm at 22–24°C from age-9 males produced from cryopreserved sperm was higher by 9.0 and 20.0%, respectively, compared with males of local stocks.

At the same time, sexual cells of carp produced from native sperm were characterized by 6.4% increased activity of succinate dehydrogenase (SDG) compared to sperm samples from males produced from cryopreserved ejaculate. Cytochrome oxidase (CCO) activity in both experimental groups did not differ and was 52.7–53.7 units/h \times 0.1 ml of sperm.

Similarly, there is a tendency for an increase in the activity of SDG and CCO by 13.7 and 24.6%, respectively, in the semen of Amur carp produced from cryopreserved sperm compared with native ones.

Significant changes were recorded among the indicators of age dynamics. Thus, the survival rate of diluted sperm in the milk of males produced by cryotechnology increased by 67.4%, local by 72.7%, undiluted sperm by 44.4 and 23.3%, respectively. However, there was a decrease in SDG and CCO by 16.4 and 65.2%, respectively, in cryo-males by 31.0 and by 71.54% in males from the local stock.

Studies of soluble proteins of spermatozoids of age-8 and 9 carp showed zones of globulins typical for electrophoretic separation of proteins: γ -, β - and α -, albumin and prealbumins.

The protein content of the γ - and β -globulin zone in the sperm of age-8 carp produced from cryopreserved sperm was 7.9 ($p < 0.05$) and 2.1% higher, respectively, compared to the sperm of carp produced from native sperm. The α -globulin content in sperm almost did not differ depending on the group and was in the range: α_3 — 5.5–6.2%, α_2 — 2.4–3.0% and α_1 — 3.8–4.3%. A similar result was obtained by analyzing the albumin content where this value was in the range of 8.8–10.5%.

A larger difference was found in the study of prealbumins: the maximum content ($24.9 \pm 1.10\%$) in the sperm of males produced from native sperm, and 6.2% ($p < 0.05$) lower in the sperm of males produced from cryopreserved sperm ($18.7 \pm 1.50\%$).

The protein content of the γ -globulin and albumin zone in the serum obtained from age-9 Amur carp males is probably higher by 6.8 ($p < 0.05$) and 3.7% ($p < 0.001$)

in the spermatozooids of carp produced from cryopreserved sperm, in comparison with those of carp produced from native sperm. The content of β -, α_3 - and α_2 -globulins almost did not differ between the groups and was in the range of 4.6–6.3%, 2.7–3.2% and 4.1–4.2%, respectively. A much larger difference was found for the proteins of the α_1 -globulin and prealbumin zone: the maximum content (3.7 ± 0.76 and $28.6 \pm 1.44\%$) was in spermatozooids of males produced from native sperm, and by 2.3 and 5.9% ($p < 0.05$), respectively, lower in those produced from cryopreserved sperm.

The temperature of the aquatic environment during the study period corresponded to that of the climatic zone and were in the range of 15–26°C, with the maximum values in July. According to chemical parameters, the water of experimental ponds, according to the classification of O.O. Aliokin, corresponded to the hydrocarbonate class (HCO_3^- — 152.5–222.0 mg / dm³), with a predominance of SO_4^{2-} (69.2–72.8 mg/dm³), with an average mineralization in the range of 319.0–402.5 mg/dm³. The pH of water had little variability was slightly alkaline or alkaline. Therefore, water of the experimental ponds corresponded to pond aquaculture standards for the cultivation of carp seeds and was suitable for fish farming.

Phytoplankton of experimental ponds was represented by freshwater species (from 62 to 80), belonging to seven systematic groups. Chlorophyta predominated in number: 10450.0–2836.79 thousand cells/dm³. Quantitative indicators of phytoplankton development were at the level of 2773.59–18496.62 thousand cells/dm³ in number and from 0.78 to 3.32 mg/dm³ in biomass. Zooplankton of experimental ponds was mainly represented by organisms of three systematic groups: Rotifera, Cladocera, and Copepoda. Quantitative indicators of zooplankton in growing ponds ranged from 22.0 to 257.0 thousand ind./m³ in number and from 0.36 to 19.1 g/m³ in biomass. The main role in the formation of zooplankton biomass was played by juvenile forms of cladocerans. The average seasonal indicators of the number and biomass of zoobenthos in the pond №19 were at the level of 279.32 ind./m² and 2.11 g/m²; in the pond №17 — 435.75 ind./m² and 3.37 g/m²; in ponds

№ 34 and № 33 were in the range of 239.46–310.63 ind./m², biomass — 2.41–2.88 g/m².

The development of embryos of common carp x Amur carp hybrids obtained from Galician carp females and Amur carp males lasted 89 degrees-days, embryos obtained from Lubin carp females had a longer development due to lower average temperatures. The fertilization rate of eggs was 75 and 86%.

The average weight of the young-of-the-year (YOY) of common carp x Amur carp hybrids obtained from crossing Galician carp females and age-8 males, which were reproduced using cryotechnology, was 47.5 g, and was 1.1% lower than the average weight of YOYs of local origin. Among the offspring obtained from age-9 males, hybrid YOY obtained from Lubin carp females and cryo-males of Amur carp were characterized the best growth rate. The average body weight of YOYs obtained from cryo-males exceeded that of local males by 3.4%.

The daily growth during the study period in accordance with the process of weight accumulation was characterized by positive dynamics and tended to increase with peaks in July and August due to intensive feeding with artificial feed.

For a more detailed assessment of the growth rate of hybrid YOYs, analysis of the specific growth rate by Schmalhausen-Brody were conducted. This analysis showed that the maximum growth rate of YOYs of all experimental groups was observed in the second and third decades of June, with a gradual decrease in this indicator in the first and second decades of July. Starting from the third decade of July, an intensive decrease in the specific growth rate started.

According to absolute growth rate of hybrids of different genesis, the highest fish productivity was 696.1 kg/ha was recorded in YOUs obtained from crossing Lubin carp females and Amur males obtained with the help of cryotechnologies. In the other experimental groups, the fish productivity was in the range of 620–650 kg/ha. However, the hybrid YOYs obtained from cryo-males and Lubin females were characterized by a 4.1% lower survival rate compared to the Galician carp. In general, hybrid YOYs obtained from cryo-males were characterized by a higher

survival rate compared to those obtained from local males, respectively, age-8 fish by 3.69% and age-9 by 3.71%.

Despite the lower values of average body weight, YOYs obtained from age-8 cryo-males had a larger body length by 1.0%. YOYs obtained from age-9 cryo-males had similar values with a difference of 0.6 cm.

Among four experimental groups, the highest body depth was observed in YOYs obtained from age-8 cryo-males. The lowest body depth was observed in YOYs obtained from age-9 cryo-males. The rest of experimental YOYs had slightly higher values (3.0).

According to the average body circumference, YOYs obtained from age-8 males of Amur carp had an advantage of 3.4 and 2.7%, respectively. Also, this experimental group of YOYs had lower values for the average head length, respectively, by 0.8 and 3.3%.

Growing of hybrid YOYs was carried out using semi-intensive technology. Accordingly, feeding with crushed wheat grain began in the first decade of July. Data analysis showed that the average condition factor was in the range of 2.28 - 2.39. The feed costs did not exceed 4.0.

The study showed that the relative length of the intestine in YOYs obtained from crossing Galician females and age-8 cryo-males was 185.2% and was higher by 1.15% compared to YOYs obtained native males. The intestine weight index was also higher by 6.0% and the relative weight of the liver was higher by 1.0%. YOYs obtained from crossing Lubin carp females and Amur carp had the relative length of the intestine, the intestine weight index, the relative weight of the liver almost at the same level, no significant differences were found. However, it should be noted that the length, intestine weight and weight of the liver were higher in YOYs obtained from cryo-males by 0.80; 2.82 and 1.59%, respectively. In addition, these individuals had a 0.5% higher liver weight to body weight ratio, but were inferior by 2.03 and 3.75% in terms of the ratio of the intestine weight and liver weight to body weight.

Analysis of biochemical parameters of blood of YOYs obtained from crossing Galician females and age-8 Amur carp showed that the content of hemoglobin, erythrocytes and hematocrit was higher in YOYs obtained from cryo-males by 3.04; 4.60, and 4.60%. The advantage of YOYs obtained from age-9 local males over carp of the same age obtained from cryo-males in terms of hemoglobin and hematocrit in the blood was 5.9 and 4.5%, respectively, but the former had a lower erythrocyte count by 2.7%.

However, it should be noted that YOYs obtained from crossing Lubin carp females with Amur carp had higher erythrocyte counts by 45.0 and 39.6%, respectively, than YOYs obtained from cryo- and local males. However, the former had lower hemoglobin content by 15.0 and 20.0%, hematocrit by 12.4 and 13.6%, respectively, according to the experimental groups.

When comparing moisture content in muscle tissues of YOYs obtained from age-8 and 9 males of Amur carp, higher values were observed in YOYs obtained from age-9 males (by 0.29 and 1.99%) compared to YOYs obtained from age-8 males. Accordingly, the dry matter content in fish of this experimental group was lower by 0.96 and 6.89%. YOYs obtained from crossing age-8 males of Amur carp and Galician females, in comparison with YOYs obtained from crossing Lubin carp females, were also characterized by a higher fat content. According to the average protein content, YOYs of local origin obtained from age-9 males had 4.71% higher values. YOYs obtained from cryo-males had similar values, with a slight predominance (by 0.53%) of YOYs obtained from age-8 males.

Assessment of the level of lipid peroxidation (LPO) by the content of diene conjugates and malonic dialdehyde (MDA) showed that YOYs obtained from local age-8 males had the first indicator to be 31.2% ($p < 0.05$) lower than that in YOYs obtained from cryo-males. However, the MDA content was significantly lower by 51.8% ($p < 0.01$). Superoxide dismutase (SOD) activity was also 12.1% higher.

According to the content of diene conjugates and malonic dialdehyde in the body of YOYs obtained from age-9 males, hybrid YOYs obtained from cryo-males

had higher values by 23.6 and 1.7%, respectively. A similar advantage (by 0.8 and 3.5%) was observed for catalase.

Analysis of gut contents of hybrid YOYs showed that they contained zooplankton and zoobenthos organisms, artificial feed and detritus, the share of which varied significantly during the season and depended on the state of development of natural feeds and feeding intensity.

The main zooplankton organisms in YOY diet were cladocerans and copepods, while rotifers were found in small numbers; cladoceran ephippia and crustacean eggs were also common. Chironomids larvae predominated among zoobenthos organisms across the growing season.

The duration of wintering in 2019–2020 was 206 days, in 2020–2021 — 221 days. Water temperature in the experimental ponds ranged from 0.8 to 2.1°C, the dissolved oxygen content in water was 5.2–7.8 mgO₂/dm³.

After the inventory of the winter pond, 15.4 and 20.9 thousand YOYs from crossing age-8 males with Galician carp females were obtained. The number YOYs obtained from Lubin carp females and age-9 males, was 7.6 and 7.0 thousand individuals, respectively.

The yield from wintering ranged from 85.9 to 91.5%. This value was higher in yearlings obtained from Lubin carp females, compared with yearlings obtained from Galician carp females, by 2.2 and 4.5%, respectively, according to the experimental groups. The average individual weight of yearlings obtained from age-8 males was 43.3±2.89, and 42.8±2.65 g, for age-9 males — 42.3 and 44.1 g, respectively. The condition factor was within 2.0, however, yearlings obtained from cryo-males and Lubin carp females had the highest value at the level of 2.2; while the lowest value (1.8) was observed yearlings obtained from Galician carp females and cryo-males. At the same time, the latter were characterized by a higher weight loss of 10.7–10.9% versus 8.9–8.9% in hybrid yearlings obtained from Amur carp males of local origin.

Hybrid yearlings, compared to YOYs, had a more watery meat structure. The maximum moisture content was observed in fish obtained from crosses of Galician

carp females and local males and Lubin carp females and cryo-males — 80.9 and 80.4%, respectively. Fish of these experimental groups also had the lowest dry matter contents — 19.6 and 19.0%, respectively. The fat content had the most variable values and was in the range of 2.58–2.92%. The highest values were observed in hybrid yearlings obtained from age-9 males of cryogenic origin, while the lowest values were observed in yearlings obtained from age-8 males of the same genetic origin. The protein content of fish obtained from age-8 males was slightly higher than 13%, with a difference between the experimental groups of 0.4%. The difference in these values in individuals obtained from age-9 males was higher and amounted to 2.2%.

During wintering, fat and protein contents significantly dropped. For example, the decrease in fat concentration in the muscle tissues of yearlings obtained from Lubin carp females was 45.1–49.1%, from Galician carp females — 39.5–33.2%. The decrease in protein content in muscle tissue was 15.9 and 12.3 as well as 9.9 and 16.9%, respectively.

The analysis of hematological parameters showed that erythrocyte count in the blood of yearlings obtained from age-8 males had lower values compared to yearlings obtained from age-9 males by 63.2 and 80.4%, respectively. Among the hematological parameters, the most dropped one, compared with those observed in YOYs, was the hemoglobin content in the blood — 11.1-16.0%.

The most cost-effective in the cultivation were hybrid yearlings obtained from crossing Galician and Lubin carp females with Amur carp cryo-males. Due to the obtained high productivity of products (505.3 and 568.9 kg/ha) and reduction of its cost (46.8 and 47.0 UAH/ha), the profit of the enterprise increased by 6655 and 7412 UAH/ha, and the profitability of the production increased to 27.7–28.1%.

Key words: Amur carp, broodstock, genesis, young-of-the-year, yearlings, productive and reproductive parameters, hematological parameters, morphometric measurements, economic efficiency.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у фахових виданнях України:

1. **Куць У. С.**, Грициняк І. І., Куріненко Г. А., Тучапський Я. В. Характеристика екстер'єрних показників самців амурського сазана (*Cyprinus carpio haematopterus*) різного генезису // Рибогосподарська наука України. 2020. № 3. С. 47—56. DOI: <https://doi.org/10.15407/fsu2020.03.047> (Здобувачка виконала експериментальну частину, провела аналіз отриманих даних, брала участь у написанні статті).

2. **Куць У. С.**, Тучапська А. Я., Добрянська О. П., Куріненко Г. А. Вплив екологічних умов на вирощування цьоголіток коропо-сазанових гібридів різного походження // Агроєкологічний журнал. 2021. № 1. С. 106—114. DOI: <https://doi.org/10.33730/2077-4893.1.2021.227247> (Здобувачка виконала експериментальну частину, брала участь у написанні статті).

3. **Куць У. С.**, Куріненко Г. А. Рибницько-біологічна оцінка цьоголіток коропо-сазанового гібрида різного генезису // Рибогосподарська наука України. 2021. № 1. С. 66—79. DOI: <https://doi.org/10.15407/fsu2021.01.066> (Здобувачка виконала експериментальну частину, та провела аналіз первинних даних).

4. **Куць У. С.**, Кориляк М. З., Куріненко Г. А. Аналіз фізіолого-біохімічних показників коропо-сазанових гібридів, отриманих в умовах промислової гібридизації з використанням самців амурського сазана різного генезису // Водні біоресурси та аквакультура. 2020. № 2. С. 171—183. DOI: <https://doi.org/10.32851/wba.2020.2.15> (Здобувачка провела аналіз даних, брала участь у написанні статті).

5. Characteristics of economic indicators of growing common carp x amur wild carp hybrids of different genesis in the conditions of industrial hybridization / Kuts U. et al. // Fisheries science of Ukraine. 2021. Vol. 2 (56). P. 82 — 92. DOI: <https://doi.org/10.15407/fsu2021.02.082>. (Здобувач брала участь в узагальненні результатів та написанні статті).

Статті у періодичних наукових виданнях інших держав, які входять до Організації економічного співробітництва і розвитку та/або Європейського Союзу

6. **Kuts U. S.**, Tarasjuk S. I., Hrytsyniak I. I., Zaloilo O. V., Kurynenko H. A., 2021 A comparative analysis of Amur carp (*Cyprinus rubrofuscus*) produced from native and cryopreserved sperm using microsatellite loci // AACL Bioflux. 2021. Vol. 14(3). P. 1396—1405 (*Здобувачка брала участь у зборі первинних матеріалів та написанні статті*).

Тези наукових доповідей:

7. **Куць У.**, Добрянська О., Тучапська А., Куріненко Г. Характеристика екологічних умов нерестових ставів під час нересту амурського сазана різного генезису з метою промислової гібридизації // Стан і біорізноманіття екосистеми Шацького національного природного парку та інших природоохоронних територій:, міжнар. наук. конф. м. Львів, 10-13 вер. 2020 р.: матер. Львів, 2020. С. 65—68. (*Здобувачка брала участь у написанні тез*).

8. **Куць У. С.** Оцінка стану системи антиоксидантного захисту цьоголіток коропо-сазанових гібридів різного генезису. // Молоді вчені у розв'язанні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини:, ХІХ Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених присвячена 90-річчю від дня народження Яновича Вадима Георгійовича (1930–2011), 3-4 груд. 2020 р.: матер. Львів, 2020. С. 72. (*Здобувачка брала участь у написанні тез*).

9. **Куць У. С.**, Куріненко Г. А., Тучапський Я. В. Рибницько-біологічна оцінка цьоголіток коропо-сазанового гібриду різного генезису // Сучасні проблеми раціонального використання водних біоресурсів : II Міжнар. наук.-практ. конф., м. Київ, 27-29 жовт. 2020 р. : збір. матер. Київ : ПРО ФОРМАТ, 2020. С.105 —108. (*Здобувачка провела збір первинних матеріалів та брала участь у написанні тез*).