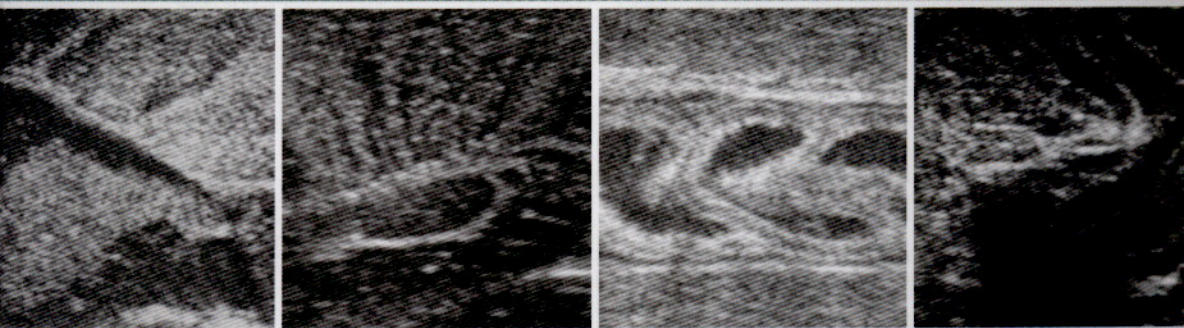


М.С. Чебанов, Е.В. Галич

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ДИАГНОСТИКА ОСЕТРОВЫХ РЫБ



М. С. Чебанов, Е. В. Галич

Ультразвуковая диагностика осетровых рыб



«Просвещение-Юг»

Краснодар

2010

УДК 616-073:639.31:597.423

ББК 47.2

Ч 34

Рецензенты:

заведующий кафедрой водных биоресурсов и аквакультуры
Кубанского государственного университета,
доктор биологических наук, профессор
Г.А. Москул

директор Центра племенного рыбоводства МСХ РФ,
доктор биологических наук, лауреат премии Правительства РФ
в области науки и техники
А.К. Богерук

Чебанов М. С., Галич Е. В.

Ч 34 Ультразвуковая диагностика осетровых рыб. – Краснодар:
Просвещение-Юг, 2010. – 135 с. 1000 экз.
ISBN 978-5-93491-323-7

Описаны новые ультразвуковые экспресс-методы ранней ультразвуковой диагностики состояния репродуктивной системы осетровых рыб.

Разработан детальный атлас эхограмм для безошибочного раннего определения не только пола, но и стадий зрелости гонад, впервые показаны возможности неинвазивного раннего выявления типичных аномалий воспроизводительной системы и внутренних органов осетровых рыб, измерений и расчетов волюметрических гонадо-соматических индексов, прогноза созревания производителей, определения плодовитости самок, размеров зрелых ооцитов, времени их полной овуляции, начала резорбции ооцитов и ее завершения.

Предназначена для специалистов и руководителей осетровых рыборазводных заводов и рыбоводных хозяйств, научных работников, преподавателей, аспирантов и студентов биологических, рыбохозяйственных, сельскохозяйственных и экологических специальностей.

Южный филиал ФГУП «Федеральный селекционно-генетический центр рыбоводства»,
Россия, 350000, г. Краснодар, ул. Гимназическая, 59
Тел./Факс: +7 (861) 2629671, +7 (861) 2622559
E-mail: MChabanov@rambler.ru
Web: www.sturgeon.su

УДК 616-073:639.31:597.423
ББК 47.2

ISBN 978-5-93491-323-7

© М. С. Чебанов, 2010
© Е. В. Галич, 2010

M. S. Chebanov, E. V. Galich

Ultrasound diagnostics of sturgeons



**«Prosveshchenie-Yug»
Krasnodar
2010**

UDC 616-073:639.31:597.423

Reviewers:

Head of the department of Aquatic Biol. Resources and Aquaculture,
Kuban State University, Krasnodar, Russia, Dr. Sc. Biology, Prof.

G.A. Moskul

Director of Pedigree Fish Breeding Centre of RF Ministry of Agriculture,
Dr. Sc. Biology; Laureate of RF Government Prize

in the field of Science and Technology, Moscow,

A.K. Bogeruk

Chebanov M. S., Galich E. V.

Ultrasound diagnostic of sturgeons – Krasnodar: Prosveshchenie-Yug,
2010. – 135 p.

Novel express techniques of early ultrasound diagnostics of reproductive system of sturgeons are presented in this book.

Detailed atlas of ultrasound images for accurate early determination of sex, as well as gonad maturity status has been developed. For the first time are shown prospects of non-invasive early detection of typical abnormalities in the reproductive system and inner organs of sturgeons, calculation of volumetric gonadosomatic indices, prognosis of maturation, determination of females fecundity, sizes of mature oocytes, timing of their full ovulation, onset of oocyte atresia and its completion.

The book is intended for hatchery senior staff, managers and biologists, as well as lectures, under- and post- graduate students of bioigical, aquacultural, fishery, agricultural and environmental departments.

South Branch Federal Center of Selection and Genetics for Aquaculture
59 Gimnasitsheskaya St., 350000, Krasnodar, Russian Federation
Tel./Fax: +7 (861) 262-96-71, +7 (861) 262-25-59
E-mail: MChebanov@rambler.ru
Web: www.sturgeon.su

UDC 616-073:639.31:597.423

ISBN 978-5-93491-323-7

© M. S. Chebanov, 2010
© E. V. Galich, 2010

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	9
Глава 1. Основы ультразвукового исследования осетровых рыб	13
1.1. Оборудование для УЗИ-диагностики пола осетровых	13
1.1.1. Характеристики ультразвука	14
1.1.2. Датчики	14
1.1.3. Обзор некоторых портативных УЗИ-сканеров, предлагаемых для использования при исследовании и разведении осетровых рыб	16
1.1.4. Мобильный информационно-аналитический комплекс на основе УЗИ-сканера «Mindray DP-6600»	19
1.2. Организация рабочего места	22
1.3. Разрешающая способность ультразвукового метода ранней прижизненной диагностики пола и определения стадий зрелости гонад осетровых рыб	24
1.4. Словарь специальных терминов по ультразвуковым исследованиям	26
Глава 2. Традиционные методы прижизненного определения пола у осетровых рыб	29
2.1. Биопсия	29
2.2. Лапароскопия и прямая пальпация	31
2.3. Эндоскопия	33
2.4. Эндокринологический метод	37
2.5. Метод Фурье-преобразования инфракрасных спектров	39
2.6. Коротковолновая спектроскопия в ближней инфракрасной области	40
2.7. Морфометрические методы	41
2.8. Выявление отдельных признаков полового диморфизма у взрослых рыб	43

Глава 3. Анатомическая структура и нетравматичное исследование внутренних органов и тканей осетровых с использованием УЗИ	45
3.1. Строение внутренних органов	45
3.1.1. Генеративная система	45
3.1.2. Выделительная система	45
3.1.3. Пищеварительная система	47
3.1.4. Другие внутренние органы	49
3.2. Нетравматичное исследование органов и тканей с помощью метода УЗИ-диагностики	50
3.2.1. Порядок сканирования	50
3.2.2. Особенности визуализации органов при продольном сканировании	51
3.2.3. Особенности визуализации органов при поперечном сканировании	53
Глава 4. Раннее определение пола и стадий зрелости осетровых с использованием экспресс-метода УЗИ	55
4.1. Начало анатомической дифференциации гонад	55
4.2. Стадии зрелости гонад осетровых рыб	55
4.3. Анализ УЗИ изображений семенников на различных стадиях зрелости	58
4.3.1. I стадия зрелости (M1)	58
4.3.2. II стадия зрелости (M2)	60
4.3.3. II полужировая стадия зрелости (M2sf)	62
4.3.4. II жировая стадия зрелости (M2f)	64
4.3.5. III стадия зрелости (M3)	66
4.3.6. IV стадия зрелости (M4)	69
4.3.7. V стадия зрелости (M5)	71
4.4. Анализ УЗИ изображений яичников на различных стадиях зрелости	72
4.4.1. I стадия зрелости (F1)	72
4.4.2. II стадия зрелости (F2)	76
4.4.3. II полужировая стадия зрелости (F2sf)	79
4.4.4. II жировая стадия зрелости (F2f)	81
4.4.5. II–III стадия зрелости (F2-3)	84

4.4.6. III стадия зрелости (F3)	85
4.4.7. IV незавершённая стадия зрелости (F4i)	88
4.4.8. IV завершённая стадия зрелости (F4c)	90
4.4.9. V стадия зрелости (F5) – нерест	92
4.4.10. Самки VI стадия зрелости (F6)	92
4.5. Эхограммы производителей в период резорбции семенников и икры	95
4.5.1. Самцы	95
4.5.2. Самки	96
4.6. Нетравматичный ультразвуковой мониторинг гонадогенеза крупных особей осетровых рыб	98
Глава 5. Функциональная ультразвуковая нетравматичная диагностика внутренних органов осетровых рыб	103
5.1. Эхограммы внутренних органов осетровых рыб	103
5.1.1. Почки	104
5.1.2. Хорда	104
5.1.3. Печень	105
5.1.4. Желчный пузырь	106
5.1.5. Сердце	106
5.1.6. Кровеносные сосуды	107
5.1.7. Пилорическая железа	108
5.1.8. Кишечник	109
5.2. Ультразвуковая нетравматичная диагностика аномалий развития воспроизводительной системы осетровых	109
5.2.1. Дольчатость семенников	110
5.2.2. Киста	110
5.2.3. Склеротизация	112
5.2.4. Жировое перерождение яичников	112
5.2.5. Гермафродитизм	113
5.3. Экспресс-диагностика заболеваний и травм внутренних органов	113
5.3.1. Воспаление плавательного пузыря	113
5.3.2. Искривление хрящевой оболочки хорды	114
5.3.3. Аномалии в строении мышечной ткани	114

5.4. Инородные тела в пищеварительной системе	116
5.5. Оптимальное положение датчика при проведении биопсии	116
5.6. Артефакты (ложные изображения)	117
5.6.1 Акустическая тень	117
5.6.2. Дистальное акустическое псевдоусиление эхосигнала	118
5.6.3. Реверберация	118
5.6.4. Зеркальное отражение	119
5.6.5. Газ	119
5.7. Основные нетравматичные измерения линейных и вычисления объемных показателей внутренних органов гонад с помощью УЗИ экспресс-диагностики	120
Виды осетрообразных рыб	126
Заключение	127
Литература	129

ВВЕДЕНИЕ

Резкое сокращение численности осетровых рыб в естественных водоемах требует скорейших мер по их сохранению. К сожалению, до настоящего времени мероприятия, направленные на сохранение осетровых рыб, были неэффективными (Barannikova et al., 1995; Williot et al., 2002).

Недостаток диких производителей, отлавливаемых для промышленного воспроизводства в бассейнах Каспийского и Азовского морей, требует ускоренного формирования маточных стад различных видов осетровых на рыбоводных хозяйствах. Поэтому существует острая необходимость разработки руководства по формированию маточных стад, что до сих пор существенно осложнялось отсутствием внешнего полового диморфизма у осетровых рыб.

В связи с этим, разработка неинвазивных методов ранней диагностики пола осетровых рыб, начиная с возраста достижения самцами товарной массы (1 год и 1,5 кг, для стерляди – 0,4 кг), позволяет существенно повысить эффективность формирования и использования не только маточных стад для производства пищевой икры, но и, конечно, племенных и коллекционных маточных стад осетровых. Разработанный и внедренный еще в конце 90-х гг. прошлого века экспресс-метод раннего ультразвукового (УЗИ) определения пола и стадий зрелости гонад осетровых позволил решить эту проблему (Чебанов и др., 2002, 2004). Действительно, при проведении ультразвуковой диагностики опытный оператор может в течение одного дня определить пол и стадию зрелости более чем 2000 особей.

За последние 10 лет Южным филиалом ФГУП «ФСГЦР» (ЮФ «ФСГЦР») регулярно проводилось обучение УЗИ-диагностике специалистов-осетроводов практически из всех рыбохозяйственных НИИ и наиболее крупных осетроводных хозяйств не только России, но и многих стран мира. Кроме того, в рамках проведения всех последних Международных симпозиумов (Rosenthal et al., 1999, 2006) и конференций по осетровым рыбам (США, Канада, Франция, Италия, Иран, Испания, Китай, Турция и др.) Южным филиалом «ФСГЦР» были организованы и проведены специальные семинары по обучению современным методам определения пола и стадий половой зрелости осетровых рыб.

В связи с этим, если в конце 90-х гг. прошлого века, когда авторы впервые начали использовать УЗИ-сканеры в осетроводстве, среди специалистов преобладало мнение о биотехнической невозможности и экономичес-

кой нецелесообразности использования данного метода в практике работы осетроводных хозяйств, то в настоящее время практически все научные и крупные производственные организации используют только УЗИ-диагностику пола осетровых, поскольку эффективных альтернативных вариантов этому методу пока не существует.

Вместе с тем, в самые последние годы достигнут еще более существенный прогресс в применении УЗИ для формирования и оптимизации использования маточных стад семи различных видов и нескольких гибридов осетровых рыб ЮФ «ФСГЦР». Основные результаты исследований изложены в предлагаемой книге. В частности, кроме разработки детального атласа эхограмм для безошибочного раннего определения не только пола, но и стадий зрелости гонад, впервые показаны возможности неинвазивного раннего выявления типичных аномалий воспроизводительной системы и внутренних органов осетровых рыб, измерений и расчетов волюметрических гонадо-соматических индексов, прогноза созревания производителей, определения плодовитости самок, размеров зрелых ооцитов, времени их полной овуляции, начала резорбции ооцитов и ее завершения.

Таким образом, данный метод не ограничивается изучением гаметогенеза (и, в первую очередь, определением пола и стадий зрелости) осетровых рыб, но также может быть успешно использован для задач неинвазивного мониторинга ремонтно-маточных стад, проводимого с целью определения состояния внутренних органов, включая выявление различных аномалий развития, диагностику заболеваний и т. д.

Следовательно, применение УЗИ-диагностики открывает новые возможности для определения оптимального температурного режима и норм кормления при содержании ремонта и производителей, отбора ранне-созревающих особей, повышения эффективности селекционной работы с различными видами, гибридами и породами осетровых, а также при оценке качественной структуры популяций и выявлении нарушений процесса созревания половых продуктов осетровых в естественных водоемах (Chebanov, Galich, 2009).

В последние годы в медицине используются усовершенствованные ультразвуковые сканеры, оснащённые многими компьютерными программами для оптимизации изображений и режимами сканирования. Современные ультразвуковые технологии позволяют исследовать структуру тканей (режимы тканевой гармоник, 3D и 4D эхография, матричное и панорамное сканирование), что позволяет существенно улучшить качество визу-

ализации и неинвазивно осуществлять точную и быструю диагностику заболеваний. Вместе с тем следует отметить, что целью данной книги было показать возможности широкого использования при исследовании и разведении осетровых относительно недорогих ультразвуковых сканеров (ценой не более 5000 долларов США).

Конечно, данная книга не может заменить собственного практического опыта ультразвукового сканирования, вместе с тем она может стать основой для быстрого освоения методики ультразвуковой диагностики осетровых рыб. Процедура проведения и точность ультразвуковой диагностики во многом зависят от опыта оператора УЗИ-сканера. И поскольку данный метод используется в осетроводстве относительно недавно, в связи с недостаточным опытом некоторых операторов диагностические ошибки иногда приводили к мнению о недостаточной точности этого метода. Авторы надеются, что данная книга позволит восполнить существующие пробелы и существенно повысить точность диагностики состояния репродуктивной системы осетровых рыб.

Следует отметить, что разработанный метод УЗИ-диагностики осетровых рыб включен в качестве основного в подготавливаемое авторами к публикации ФАО «Техническое руководство по оптимизации работы осетровых рыборазводных заводов и управления искусственным воспроизводством осетровых рыб» в рамках серии руководств Кодекса Ответственного Рыболовства (FAO, 1995), проект которого рассматривался и обсуждался группой экспертов по осетровым ФАО, Всемирного Союза Охраны Природы (IUCN), Всемирной Организации по Сохранению Осетровых (WSCS), Всемирного Банка Реконструкции и Развития (WB) на специальных семинарах (Атырау, Казахстан, апрель 2009; 6-й Международный симпозиум по осетровым, Китай, октябрь 2009). Это вызвало усиление интереса к данному методу и позволило ускорить широкое его внедрение в практику формирования маточных стад осетровых рыб.

Несмотря на усилия не все поставленные авторами задачи реализованы в книге полностью, и возможно, не удалось избежать опечаток и неточностей. Поэтому авторы будут благодарны всем, кто предоставит замечания и предложения по совершенствованию данной работы.

Авторы выражают благодарность за многолетнее сотрудничество и понимание важности данной области исследований, организацию специальных семинаров во время Международных симпозиумов по осетровым коллегами из Всемирного Общества охраны осетровых: проф. Harald Rosenthal, д-р. Martin Bilio, д-р. Jorn Gessner (Германия), проф. Serge

Doroshov, проф. Fred Binkowski, д-р. Ronald Bruch (США), д-р. Patrick Williot (Франция), д-р. Paolo Bronzi (Италия), д-р. Mohammad Pourkazemi (Иран), проф. Wei Quiwei, проф. Jianbo Chang (Китай), д-р. Raymon van Anrooy (ФАО).

Мы также выражаем глубокую признательность всем сотрудникам Южного филиала ФГУП «Федеральный селекционно-генетический центр рыбоводства» (ЮФ ФГУП ФСГЦР) и особенно к.б.н. Ю. Н. Чмырю, Л. Р. Ахтерьяновой, В. А. Тимониной за многолетнее сотрудничество.

Мы также благодарим В. Н. Крупского, Я. Г. Меркулова, Е. В. Стефанова, Д. В. Ананьева за большую помощь в подготовке рукописи к печати.

ГЛАВА 1

Основы ультразвукового исследования осетровых рыб

1.1. Оборудование для УЗИ-диагностики пола осетровых рыб

Ультразвуковые исследовательские сканеры длительное время широко применяются в медицине. Способность быстро и безболезненно исследовать внутренние органы, в режиме реального времени, а также надежность работы делают использование этих приборов перспективным в ветеринарии и рыбоводстве (Mattison, 1991; Karsen, 1994; Goddard, 1995; Пальмер, 2000).

Биологическая безопасность ультразвуковой диагностики

Несмотря на сведения о том, что ультразвук высокой интенсивности может нарушать рост клеток и повреждать ДНК «in vitro», в настоящее время установлено, что диагностический ультразвук биологически безопасен и не несёт неблагоприятных клинических эффектов (при ультразвуковых исследованиях используют пульсирующие волны, следовательно, время экспозиции невелико).

Оперативность

При правильно организованной работе процедура УЗИ-исследования очень непродолжительна (до 10 сек.) за исключением редких и сложных случаев: гермафродитизм, аномалии репродуктивной системы (прорастание соединительных тканей в генеративную часть гонады), заболевания внутренних органов (опухоли, кисты, водянки), требующих дополнительного времени для исследований.

Нетравматичность

В ходе исследования покровы рыбы не нарушаются, органы и ткани не повреждаются, следовательно, стрессирующее воздействие минимально.

1.1.1. Характеристики ультразвука

Ультразвук имеет волновую природу, ему присущи физические характеристики волны: частота, длина волны и скорость. При изучении особенностей распространения ультразвуковых волн в теле осетровых рыб можно условно выделить основные среды: кости (костные пластины – «жучки»), хрящи, мягкие ткани, газ, которые имеют разное акустическое сопротивление (табл. 1.1) и по-разному отражают ультразвуковой луч (эхогенность).

Таблица 1.1

Скорость распространения звука (V), плотность (ρ) и сопротивление ($Z = \rho V$) различных веществ (Palmer et al., 1985; Блок, 2007)

Вещество	V, м/с	ρ , г/см ³	Z = ρV
Воздух	330	0,0012	0,4
Мягкие ткани	1476–1570	0,928–1,055	1,37–1,66
Жировая ткань	≈ 1450		
Мышечная ткань	≈ 1540		
Печень	≈ 1540		
Вода	≈ 1482		
Костная ткань	3360–4000	1,85	6,2–7,4
Хрящевая ткань	2800–3200	1,65	$4,9 \times 10^3$

1.1.2. Датчики

Для проведения УЗИ-диагностики рыб сканер, в большинстве случаев, оснащается линейным датчиком с размерами рабочей поверхности 40–60 мм и рабочей частотой 5–10 МГц. Это позволяет получать эхограммы с высоким разрешением для рыб от 0,5 кг (стерлядь) до 50 кг (белуга), и особенно эффективно для рыб 2–20 кг независимо от вида. Вместе с тем, в связи с относительно высокой частотой ультразвука стандартный линейный датчик позволяет обеспечить небольшую глубину сканирования. Для крупных рыб (более 50 кг) рекомендуется использовать конвексный датчик (рис. 1.1) с рабочими частотами 2,0–3,5 МГц и глубиной проникновения ультразвука более 20 см (Чебанов, Галич, 2008).

Для четкой визуализации гонад рыб необходимо, чтобы минимальный линейный размер гонад на гистологическом срезе превышал длину ульт-

тразвуковой волны минимум в 10–20 раз, в противном случае границы органов будут нечёткие или не видны. При использовании датчика с рабочей частотой 5–9 МГц структуры должны иметь минимальные размеры – не менее 2 мм. Датчик с частотой 3–5 МГц имеет глубину фокусировки 7–9 см, 5 МГц – 5–7 см, 7,5 МГц – 4–5 см, 10 МГц – 3–4 см.

Прогрессирующее ослабление звука по мере его распространения в тканях (затухания) определяется видом, плотностью и степенью неоднородности тканей.

Отражение большей части звуковых волн происходит в направлении к источнику звука, поэтому для получения чёткого изображения ультразвуковой пучок должен направляться к гонаде (или другому исследуемому органу) под углом 90°, обеспечивающим максимальное отражение и последующую визуализацию.

В сложных случаях при проведении исследований и в целях получения эхограмм с высоким разрешением, особенно при изучении рыб с небольшими размерами, могут быть использованы высокочастотные линейные датчики от 12,5 МГц «Esaote» (Вопрут, 2006) от 25 МГц и более. При проведении УЗИ-диагностики осетровых используют следующие типы датчиков (рис. 1.1).

Линейный датчик

Срезы при использовании таких датчиков имеют прямоугольную форму. Сканирующая поверхность датчика плоская, плотно прилегает к плоским поверхностям, поэтому они являются **наиболее эффективными** для исследований, связанных с изучением органов и тканей осетровых рыб.

Секторный датчик

Срезы имеют форму почти треугольного веера. Эти датчики удобно использовать при наличии очень небольшой площади, доступной для исследования. Подобные датчики пригодны для исследований рыб, но значительно дороже линейных и менее удобны.

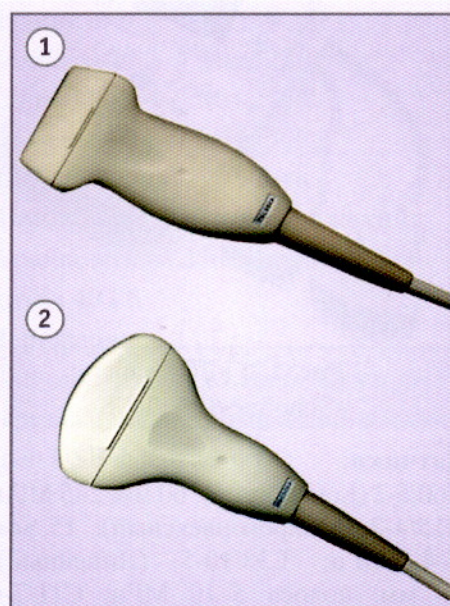


Рис. 1.1. УЗИ датчики:
1 – линейный;
2 – конвексный

Конвексный датчик

Получаемый срез имеет форму, промежуточную между формами срезов линейного и секторного датчиков. Подобный датчик обычно входит в стандартную комплектацию ультразвуковых установок. Вместе с тем, имея полукруглую сканирующую поверхность, не может плотно прилегать всей поверхностью к исследуемому участку тела рыбы. Кроме того, конвексные датчики, как правило, имеют низкую частоту (1,5–3,5 МГц) и, следовательно, низкую разрешающую способность, но большую глубину сканирования. Поэтому их целесообразно применять только для очень крупных рыб (более 50 кг).

1.1.3. Обзор некоторых портативных УЗИ-сканеров, предлагаемых для использования при исследовании и разведении осетровых рыб

SonoSite-180 PLUS



Рис. 1.2. УЗИ-сканер «SonoSite-180 PLUS»

Основные характеристики:

Монитор: встроенный 5" цветной ЖК с регулировкой яркости и контрастности

Размеры (мм): 338 × 193 × 61

Вес: 2,6 кг

Питание: аккумулятор (до 4 часов непрерывной работы) или сеть переменного тока

Режимы визуализации:

В-режим (2-х кратное увеличение)

М-режим

Цветовой энергетический Доплер

Направленный цветовой энергетический Доплер

Импульсно волновой Доплер

Постоянно волновой Доплер

(для датчиков C15 и C11)

Тканевая гармоника

Периферия:

Композитный видеовыход (NTSC/PAL) для подключения принтера, внешнего монитора и т. д.

Прямое подключение к компьютеру через кабель (PC Direct) или через мобильную станцию SiteStand для загрузки изображений в формате bmp

Последовательный интерфейс

Датчики:

S60/5-2 (Конвексный): 60 мм, 2–5 МГц;

C15/4-2 (Микроконвексный): 15 мм,

2–4 МГц; L38/10-5 (Линейный):

38 мм, полоса 5–10 МГц; C11/7-4

(Микроконвексный): 11-мм

Память/Просмотр изображений:

Хранение до 119 изображений с возможностью печати и просмотра

Интерфейс пользователя:

Встроенный трекбол
Стандартная клавиатура

Измерения:

Курсоры для линейного расстояния

Расчет объема:

Эллипс для измерения площади и окружности

Производитель: SonoSite
(www.sonosite.com)

Pico

Основные характеристики:

Встроенный цветной 10,4" ЖК монитор высокого разрешения с наклоняемым углом наклона

Размеры (мм): 204 × 320 × 357

Вес: 10 кг

Питание: сеть переменного тока
Встроенные стерео-, аудиодинамики

Режимы визуализации:

B, B & B, M, Colour
Цветной пульсовой Доплер
Градации серого: 256 уровней

Датчики:

Конвексный 2–4 МГц, 20R
Конвексный 4–9 МГц, 10R
Конвексный 3–7 МГц, 50R
Линейный 40 мм 5–9 МГц

Память/Просмотр изображений:

Кинопамять на 256 кадров
Архив 40 Гб

Периферия:

USB порт; изображения могут легко передаваться на компьютер с помощью USB флеш памяти



Рис. 1.3. УЗИ-сканер «Pico»

ПО/Программы измерений и расчетов:

Надежная операционная система на основе Linux
Совместимость с видео форматом DICOM

Производитель: BCF Technology Ltd www.bcftechnology.com)

Easi-Scan



Рис. 1.4. УЗИ-сканер «Easi-Scan»

ные изображения могут быть легко переданы на компьютер)

Периферия:

Изображения может быть переданы на компьютер беспроводным способом

Производитель: BCF Technology Ltd (www.bcftechnology.com)

Fukuda UF-4100

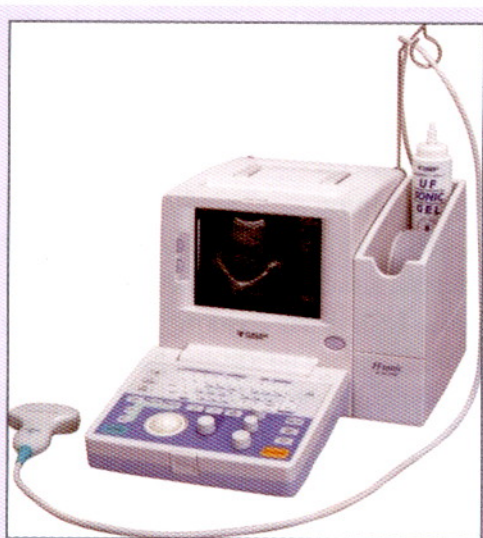


Рис. 1.5. УЗИ-сканер «Fukuda UF-4100»

Основные характеристики:

Монитор: 10" электронно-лучевой

Размеры (мм): 280 × 195 × 95

Вес: 3 кг

Питание: аккумулятор 12 В (обеспечивает 3 часа непрерывной работы)

Режимы визуализации:

В, Градации серого: 256 уровней

Датчик:

128-ми элементный мультисистотный (от 4,5 до 8,5 МГц) кристаллический ветеринарный линейный

Память/Просмотр изображений:

Возможность хранения до 60 изображений, включая четыре звуковых тега для каждого изображения (записанные

Основные характеристики:

Монитор: 7", электронно-лучевой

Размеры (мм): 332 × 312 × 260

Вес: 10 кг

Питание: сеть переменного тока

Режимы визуализации:

В, В/М, М

Градации серого – 256 уровней

Датчик:

Стандартный датчик: конвексный 3/3,5/4 МГц

Память/Просмотр изображений:

Кинопамять на 64 кадра

Возможность наблюдения двух изображений одновременно, возможность смещения и поворота изображения (Image Processing)

Интерфейс пользователя:

Встроенный трекбол

Периферия:

Коннекторы вход/выход:

Video IN/OUT, удаленный принтер

Программы измерений и расчетов:

Пакет ПО для вычисления расстояний, площадей, объемов и кардио параметров

Производитель: Fukuda Denshi Co. Ltd (www.fukuda.com)

Mini-Scan

Основные характеристики:

Монитор: плоский 6,4" VGA ЖК,

яркость 400 нит

Размеры (мм): 150 × 230 × 190

Вес: 3 кг

Питание: встроенный 12 В аккумулятор (2 часа непрерывной работы)

Режимы визуализации:

B, B/B

Градации серого: 256 уровней

Датчик:

Мультислотный линейный ветеринарный датчик (4,5–8,5 МГц), поставляется с 2 м кабелем

Память/Просмотр изображений:

Возможность хранения до 60 изображений;

для каждого изображения автоматически фиксируется дата и номер

Сохраненные изображения могут быть легко переданы на компьютер

Производитель: BCF Technology Ltd (www.bcftechnology.com)



Рис. 1.6. УЗИ-сканер «Mini-Scan»

1.1.4. Мобильный информационно-аналитический комплекс на основе УЗИ-сканера «Mindray DP-6600»

Ультразвуковой портативный сканер «Mindray DP-6600» (www.mindray.com, Китай), по сравнению с ранее описанным авторами (Чебанов и др., 2004) УЗИ-сканером «My Sono-201» (Корея), имеет явные преимущества как по цене, так и по разрешающей способности 10-дюймового жидкокристаллического монитора с режимом прогрессивной строчной развертки (рис. 1.7).

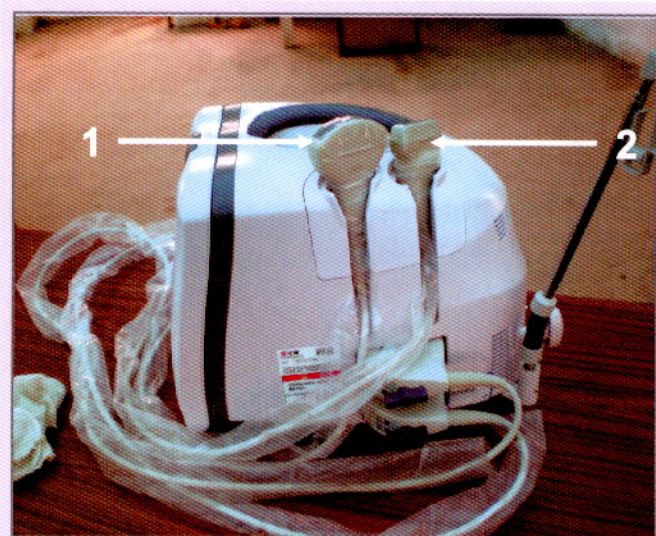


Рис. 1.7. Ультразвуковой портативный сканер Mindray DP-6600:
1 – конвексный датчик;
2 – линейный датчик

Основными отличительными характеристиками УЗИ-сканера «Mindray DP-6600» являются:

- коннектор для двух датчиков одновременно (конвексный с частотами 2–3,5 МГц и линейный с частотами 5–10 МГц);
- угол сканирования от 40 до 128 градусов (в зависимости от датчика);
- глубина сканирования от 25,9 до 246 мм (в зависимости от датчика);
- кинопетля на 256 изображений;
- память на 115 изображений;
- хранение более чем 200 отчетов;
- видеовыход;
- выход для видеопринтера;
- 2 USB порта для носителей информации;
- пакеты программного вычисления и измерений.

Конструктивные особенности данного УЗИ-сканера позволяют вести запись процедуры сканирования (персональный компьютер подключается к видеовыходу УЗИ-сканера через устройство захвата видео) для последующего анализа и тренинга специалистов, а также делать статичные стоп-кадры с экрана монитора. Сохранение информации возможно как на флэш-памяти самого УЗИ-сканера, так и на внешних USB-носителях, что очень удобно и существенно увеличивает мобильность работы с данным сканером. Это позволяет в комбинации с ПК создавать информационно-аналитический комплекс для обработки эхограмм (рис. 1.8).



Рис. 1.8. Мобильный информационно-аналитический комплекс на основе УЗИ-сканера Mindray DP-6600:
1 – УЗИ-сканер; 2 – ноутбук; 3 – декодер MPEG2

Эффективность прибора для различных видов осетровых рыб при использовании УЗИ для определения пола и стадий зрелости отличается. Наиболее легко пол определяется у стерляди и сибирского осетра, несколько сложнее у севрюги, русского осетра и гибридов, наиболее сложно у белуги, калуги и китайского осетра (п. 4.6.). В связи с этим для тех видов, у которых с помощью УЗИ на эхограммах получают более чёткие изображения гонад (стерлядь и сибирский осётр), можно использовать более простую и ещё менее дорогую модель (Mindray DP-1100), стоимостью около 2700 долларов США.

1.2. Организация рабочего места

Проведение ранней прижизненной экспресс-диагностики пола и определение стадий зрелости гонад требует организации специального рабочего места (рис. 1.9).

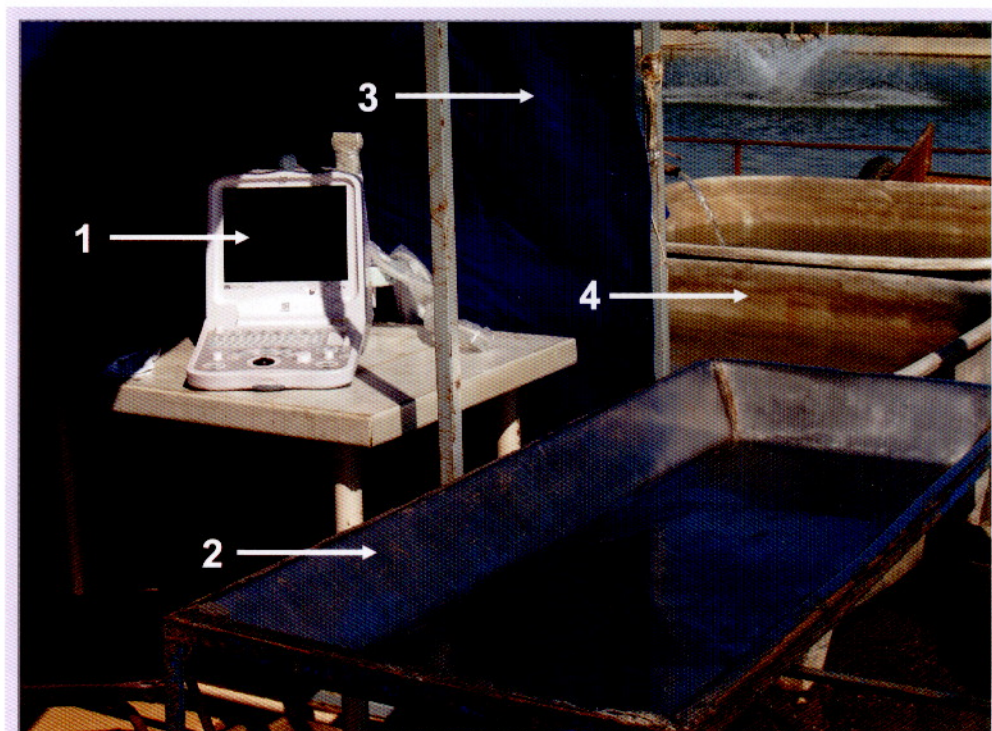


Рис. 1.9. Оборудование мобильного информационно-аналитического комплекса на основе УЗИ-сканера Mindray DP-6600:

1 – УЗИ-сканер; 2 – специальный стол из нержавеющей стали для размещения рыбы; 3 – тент-палатка для защиты монитора УЗИ-сканера от прямых солнечных лучей; 4 – бассейны для накопления рыбы

Рабочее место должно отвечать следующим требованиям:

- стол для установки ультразвукового оборудования, за которым было бы удобно работать оператору;
- специальный стол с бортиками для размещения на нем рыбы во время УЗИ-сканирования;
- к столу для рыбы должен быть обеспечен беспрепятственный подход.
- источник электроэнергии, обеспечивающий питание аппаратуры УЗИ-сканера в непосредственной близости от рабочего места;

- освещенность рабочего места не должна быть слишком высокой, так как в этом случае считывание видеоинформации с экрана будет затруднено или вообще невозможно;

- столы должны быть расположены таким образом, чтобы оператор мог, не вставая с места, проводить сканирование, одновременно наблюдая изображение на экране прибора;

- в непосредственной близости от УЗИ-комплекса необходимо расположить бассейны-накопители для рыбы, в случаях работы с крупными особями весом более 50 кг возможно использование анестезии (MS-222, гвоздичное масло и т. д.) (Подушка, Чебанов, 2007).

Оборудование должно быть установлено, подключено и отрегулировано до начала проведения исследований.

Рыбу располагают на специальном столе на бок, удерживая ее в относительной неподвижности в течение всего процесса сканирования, который может продолжаться от нескольких секунд до нескольких минут (рис. 1.10).

Мелкую рыбу удерживает один, а более крупную (свыше 3–4 кг) два ассистента, при этом один удерживает хвост, а второй – голову.

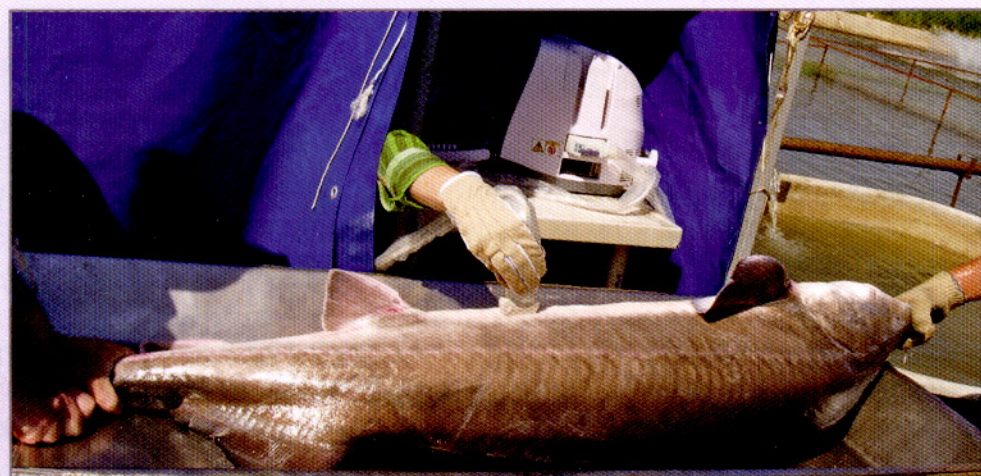


Рис. 1.10. Пример расположения и удержания крупной рыбы (незрелая самка белуги) при УЗИ-сканировании

Не допускается проведение ультразвуковых исследований при неблагоприятных условиях (жара, холод, ветер), поскольку исследования вне помещений при сильном ветре могут привести к повреждению жабр и кожных покровов.

1.3. Разрешающая способность ультразвукового метода ранней прижизненной диагностики пола и определения стадий зрелости гонад осетровых рыб

Способность идентифицировать изображение и диагностировать пол и стадии зрелости будут зависеть (при выполнении рекомендации по параметрам оборудования) от следующих факторов: видовая принадлежность, возраст, размер, упитанность, условия и режим выращивания.

Диагностическими признаками для определения пола являются:

- локализация генеративной ткани в гонаде (латеральная, медиальная и т. д.);
- наличие или отсутствие оболочки гонады;
- характер поверхности и границ гонады: ровная или неровная и извилистая;
- экзогенность генеративной ткани, выражающаяся в различной яркости ее изображения на экране монитора;
- экоструктура тканей гонады (однородная или смешанная экзогенность);
- местоположение и форма каудального края гонады относительно генитального отверстия.

Кроме того, для определения стадий зрелости гонад решающее значение приобретают относительные и абсолютные размеры гонад и характер генеративной ткани, а также степень затухания сигнала, связанная с изменениями структуры гонад (Чебанов, Галич, 2008; Chebanov, Galich, 2009).

Следует иметь в виду, что при перезревании и резорбции половых продуктов экзогенность тканей меняется. Гиперэзогенная ткань семенников становится анэзогенной или гипозоженной, анэзогенная ткань яичников – гипозоженной.

Динамика генеративных процессов у отдельных рыб, индивидуальный возраст и размер при анатомической и цитологической дифференцировке пола – видоспецифичны и зависят от температурных режимов содержания, качества кормов и условий выращивания. С учетом этих факторов и многолетнего опыта определены размерно-возрастные характеристики рыб, рекомендуемые при проведении ранней прижизненной экспресс УЗИ-диагностики пола (табл. 1.2).

Таблица 1.2

Минимальные размеры и возраст различных видов и гибридных форм осетровых для проведения ранней прижизненной УЗИ-диагностики пола

Вид (гибрид)	Индустриальные хозяйства		Хозяйства с естественным температурным режимом	
	масса, кг	возраст, лет	масса, кг	возраст, лет
Русский осетр	2,0 – 2,5	1+ – 2	2,0 – 2,5	2+ – 3
Белуга	7,0 – 9,0	3 – 4	8,0 – 10,0	4 – 5
Севрюга	2,0 – 2,5	2 – 2+	2,0 – 2,5	2+ – 3
Стерлядь	0,3 – 0,5	1 – 1+	0,3 – 0,5	1+ – 2
Сибирский осетр	2,0 – 2,5	2 – 2+	2,0 – 2,5	2+ – 3
Гибрид русский осетр × сибирский осетр	2,0 – 2,5	1+ – 2	2,0 – 2,5	2 – 2+
Бестер (белуга × стерлядь)	2,5 – 3,0	2 – 2+	2,5 – 3,0	2+ – 3

Оптимальным временем для определения пола является период после зимовки при температуре воды 8–12°C для хозяйств с естественным температурным режимом и после двух месяцев содержания при минимальных температурах воды для индустриальных хозяйств. При этом перед проведением диагностических исследований на индустриальных хозяйствах не следует кормить рыбу, как минимум, в течение 12 дней. Наименее приемлемым для идентификации половой принадлежности рыб является период активного нагула (кормления) и температуры выше 18°C.

Несмотря на более высокие темпы роста, идентификация пола рыб, постоянно содержащихся на индустриальных рыбоводных предприятиях, существенно сложнее из-за накопления значительного количества жира (подробнее в главах 4–5).

1.4. Словарь специальных терминов по ультразвуковым исследованиям

Акустический луч	Пучок ультразвуковых волн, производимый датчиком.
Акустическое сопротивление	Сопротивление тканей колебаниям частиц, создаваемым ультразвуковыми волнами. Визуализация различных сканируемых объектов возможна вследствие наличия различного акустического сопротивления.
Анэхогенные структуры	Объекты, полностью проводящие или поглощающие звук (не дающие отражений) на экране выглядит как очаги чёрного цвета. Например, кровь и другие жидкости.
Гиперэхогенные структуры	Объекты с высокой отражающей способностью, отражают большую часть ультразвуковых лучей (кость, газ, коллаген, хрящевая ткань) на экране видны в виде ярко-белых структур.
Гипоэхогенные структуры	Объекты, только частично пропускающие и отражающие ультразвук (мягкие ткани) на экране видны в виде тёмно-серых пятен.
Граница	Линия, разделяющая различные виды тканей, по-разному проводящих ультразвук, визуализируемая как зона отражения на поверхности раздела.
Датчик (трансдюсер)	Часть ультразвуковой установки, непосредственно соприкасающаяся с исследуемым объектом. Датчик преобразует электрическую энергию в энергию ультразвуковой волны, а также принимает отраженные волны и преобразует их в электрическую энергию.
Затухание	Снижение интенсивности ультразвуковых волн при прохождении их через ткани. Интенсивность затухания ультразвука усиливается (вследствие дивергенции, отражения, поглощения и рассеивания) при увеличении частоты ультразвуковых сигналов (датчика).

Неоднородные эхоструктуры	Характеризуются неравномерным распределением эхосигнала в органах со смешанной эхогенностью.
Однородные эхоструктуры	Характеризуются равномерным распределением по всему органу эхосигнала с одинаковой интенсивностью.
Отражение	Изменение направления ультразвукового луча на границе раздела сред, при этом ультразвуковая волна не проникает через вторую среду.
Скорость	Особенности перемещения ультразвуковой волны в среде, измеряется в м/с и зависит от частоты ультразвука, длины волны и акустического сопротивления среды.
Фокусировка	Формирование ультразвукового луча в целях его схождения на определенной глубине для увеличения разрешающей способности.
Частота	Частота звука это число полных звуковых волн в 1 секунду (МГц = 10^6 волн в 1 секунду).
Чувствительность	Усиление отраженных ультразвуковых волн ультразвуковой системой. Отраженным сигналам, идущим от глубокорасположенных тканей требуется более интенсивное усиление, чем лежащим ближе к поверхности.
Эхогенность	Способность ткани (органа) отражать ультразвуковой луч.
Эхоструктуры	Структуры ткани или органы полученные при ультразвуковом отображении.

Плоскости сканирования

Плоскость сканирования	Срез органов и тканей, через которые проходит ультразвуковой луч.
Продольно-латеральная (фронтальная)	Срез, проходящий вдоль длинной оси тела от одной латеральной части тела к другой, разделяя его на дорсальную и вентральную части.
Поперечно-латеральная (поперечная)	Срез, проходящий под прямым углом к продольному с латеральной части тела, разделяя его на краниальную и каудальную части.

**Поперечно-
вентральная
(брюшная)**

Срез, проходящий под прямым углом к продольному с вентральной части тела, разделяя его на краниальную и каудальную части.

Анатомо-топографические характеристики

Вентральный

Ближе к нижней стенке брюха.

Дорсальный

Ближе к спине.

Каудальная

Хвостовая часть тела.

Краниальная

Головная часть тела.

Латеральный

Ближе к боковым поверхностям тела.

Медиальный

Ближе к срединной линии.

ГЛАВА 2

Традиционные методы прижизненного определения пола у осетровых рыб

Для осетровых рыб характерно отсутствие четко выраженного полового диморфизма (Бурцев и др., 1984). В настоящее время, кроме УЗИ, существует несколько различных методов определения пола и стадий зрелости гонад неполовозрелых осетровых рыб:

- Биопсийные методы;
- Эндоскопия;
- Эндокринологический метод;
- Метод низкочастотного инфракрасного сканирования;
- Морфометрические методы.

2.1. Биопсия

Биопсия гонад осуществляется путем введения через брюшную стенку или через боковые мышцы специального стального щупа (диаметр для русского осетра – 4,5–5,0 мм, белуги – 5,5–6,0 мм, севрюги, шипа и стерляди – 3–4 мм, длина канавки – 3–6 см).

Во избежание повреждения внутренних органов и облегчения отбора участка генеративной ткани целесообразно предварительно делать прокол кожи шилом (рис. 2.1), а затем отбирать пробу при помощи щупа.

Рис. 2.1. Инструменты для биопсии гонад осетровых рыб:
1, 2 – щупы различного диаметра;
3 – шило

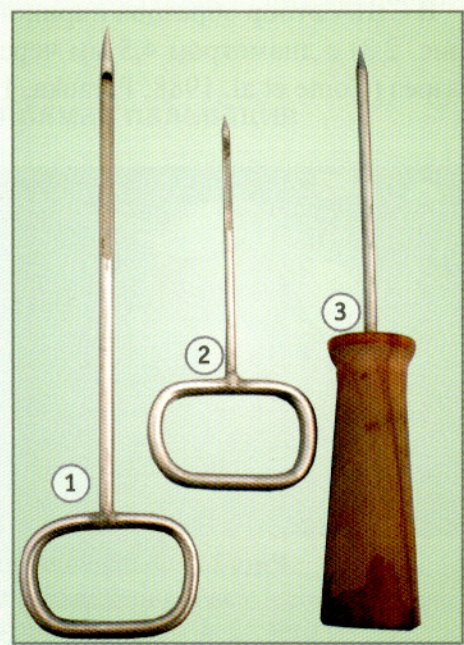




Рис. 2.2.

А – биопсия севрюге с использованием щупа;
Б – щуп с фрагментом яичника четвертой стадии зрелости

Предварительно продезинфицированный щуп вводят между рядами боковых и брюшных жучек в задней трети брюшка рыбы под острым углом к оси тела на глубину 5–7 см. При повороте щупа по оси в канавке остаётся ткань гонады (рис. 2.2).

В США отбор образцов икринок осуществляется при помощи катетера (рис. 2.3) с диаметром 4,5 мм через небольшой (6–8 мм) абдоминальный разрез (Conte et al., 1988; Parauka, 1993; Webb et al., 2009).

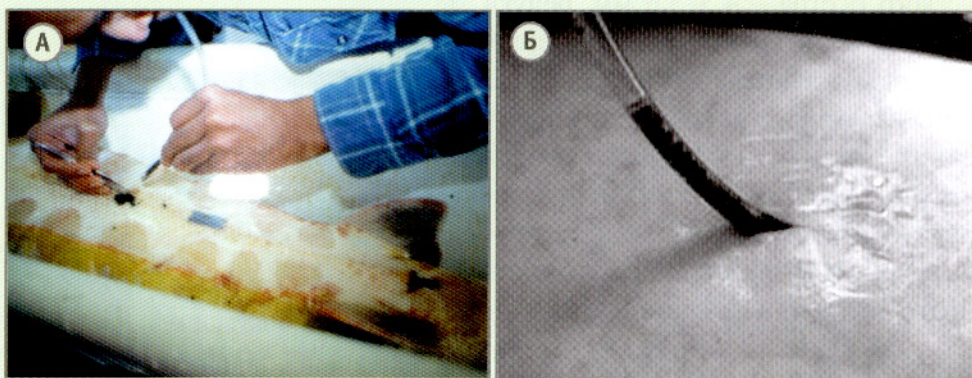


Рис. 2.3. Отбор образца икры с помощью катетера через небольшой абдоминальный разрез:
А – Parauka, 1993; Б – Webb et al., 2009

В гонадах рыб в период нагула или очень упитанных рыб доля жировой ткани значительно больше, чем генеративной, в связи с чем попасть шупом в генеративную часть гонад не всегда удается. Поэтому этот способ применим при тестировании самцов и самок, начиная только со II–III и III стадий зрелости гонад.

При биопсии, в качестве критерия отбора зрелых самок, рекомендуется использовать диаметр фолликулов (Williot & Brun, 1998; Williot, 2002). Например, самки, имеющие ооциты с диаметром не менее: русский осетр – 3,2 мм, севрюга – 2,6 мм, сибирский осетр – 2,8 мм, шип – 2,8 мм, имеют шанс созреть через несколько месяцев, что окончательно уточняется в ходе весенней бонитировки. Возможно использовать в качестве критерия для отбора зрелых самок минимальную массу ооцитов в пробе: русский осетр – 16 мг, белуга – 22 мг, севрюга – 11 мг, шип – 13 мг, стерлядь – 8 мг (Трусов, 1972).

В рыбоводной практике для того, чтобы отличить жир от ткани семенника, биоптат помещают в 4% формалин. Жир всплывает, в то время как ткань семенника тонет в формалине (Parauka, 1993).

Для точного установления пола и стадии развития гонад у незрелых рыб гистологическое изучение отобранной биопсийной пробы проводится под биноклем (Conte et al., 1988; Parauka, 1993; Van Eenennaam, Doroshov, 1998).

Метод биопсии продолжителен по времени, оказывает на рыб сильное стрессующее воздействие и вследствие последующего инфицирования может приводить к гибели до 5% рыб.

2.2. Лапароскопия и прямая пальпация

Исследование гонад может быть проведено с помощью пальпации. Определение пола предполагает аккуратное введение пальца в тело рыбы через операционное отверстие, для изучения структуры гонад на ощупь (Bruch et al., 2001) (рис. 2.4).

С помощью этого метода легко различить гонады самок и самцов, достигших 7–9 кг (3–4 года у белого осетра, Van Eenennaam et al., 2001). Опытный оператор



Рис. 2.4. Прямая пальпация яичника (Bruch et al., 2001)

может определять пол у 300–500 рыб в день. Семенник покрыт тонкой оболочкой, гладкой на ощупь. Яичник не имеет оболочки, его поверхность неровная, складчатая. Различия в структуре тканей гонад между самками и самцами описаны на всех стадиях полового развития (Трусов, 1972; Conte et al., 1988; Van Eenennaam et al., 2001).

Ограничения использования данного метода аналогичны методу биопсии (рис. 2.5).

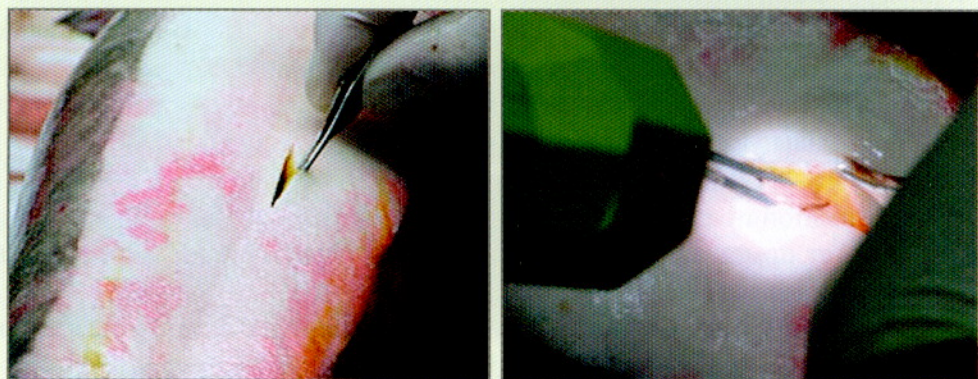


Рис. 2.5. Биопсия: надрез брюшной стенки и отбор биоптата

Прямая пальпация гонад через операционное отверстие является модификацией оперативного метода.

Точность данного метода несколько выше, чем биопсийного, однако он более травматичен, требует наложения операционных швов (рис. 2.6) и более продолжителен по времени.

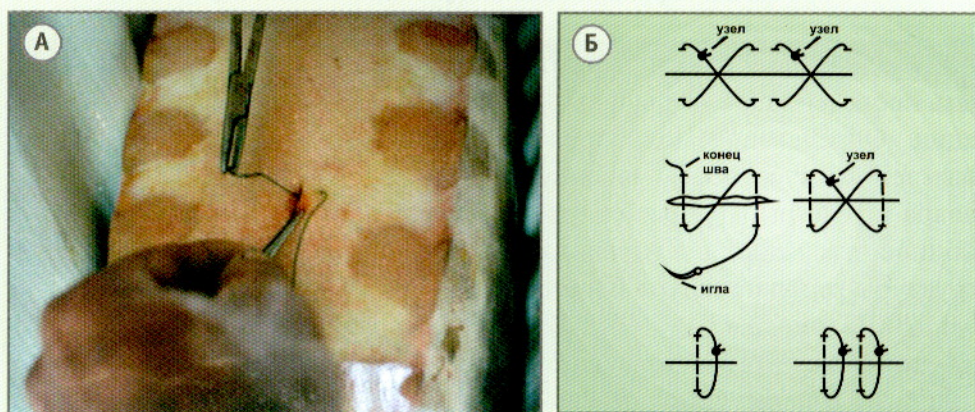


Рис. 2.6. Наложение швов после лапароскопии:

А – наложение швов атлантическому осетру (*A. oxyrinchus*) (Parauka, 1993);

Б – способы наложения швов (Conte et al., 1988)



При использовании метода лапароскопии в брюшной стенке тестируемой особи делается небольшой надрез (около 2 см), при этом визуальное изучение гонад может быть произведено с помощью отоскопа с подсветкой (рис. 2.7) (Conte et al., 1988; Powell, 2008).

Рис. 2.7. Отоскоп для исследования гонад осетровых при лапароскопии

2.3. Эндоскопия

Эндоскопические исследования относятся к методике визуального определения пола. Для проведения эндоскопии используют медицинский цистоуретроскоп или бороскоп (рис. 2.8).

Исследование гонад осуществляется через оптико-волоконную систему аппарата. Разрешающая способность метода довольно высока особенно для зрелых рыб, поскольку через оптическую систему прибора хорошо видны мельчайшие детали строения и окраска тканей (Ortenburger et al., 1996; Сафронов и др., 2006). При этом, поскольку у зрелых рыб зонд бороскопа вводится в полость тела через половое отверстие, диаметр и длина зонда должны соответствовать размерам генитального отверстия и яйцеводов.



Рис. 2.8. Эндоскопическая система для определения пола и стадий зрелости (на экране изображение яичника на III стадии зрелости)

К сожалению, для незрелых рыб требуется вводить зонд через небольшой (0,5–1 см) разрез в брюшной полости (рис. 2.9).



Рис. 2.9.
Введение зонда бороскопа через небольшой разрез в брюшную полость незрелого осетра для определения стадии половой зрелости

Хорошие результаты были получены при использовании бороскопов с диаметром зонда 4 мм (Kynard, Kieffer, 2002). Стандартное фокусное расстояние линз бороскопа составляет 1 мм, поэтому для повышения резкости изображения рекомендуется использовать фокусирующие насадки (кольца). Без них при соприкосновении зонда с тканью стенки уrogenитального канала изображение может становиться нечетким.

Важно также ограничивать глубину введения зонда в полость тела, чтобы не повредить клапан воронки яйцевода. Поскольку длина яйцеводов составляет 14–16% от длины тела рыбы, использование бороскопа с длиной зонда 16 см подходит для средних по размеру рыб, но для очень крупных рыб используются зонды длиной 25 см (Kynard, Kieffer, 2002).

При проведении эндоскопии, во избежание травмирования внутренних органов, всех рыб, даже небольших, необходимо полностью обездвигнуть с помощью анестезирующих препаратов. Исследования можно проводить в небольших бассейнах. В этом случае рыбу переворачивают на спину, оставляя голову погруженной в воду, и вводят зонд бороскопа в половое отверстие и далее в правый или левый яйцевод параллельно продольной оси тела, корректируя расположение зонда в теле визуальнo через объектив.

Эндоскопические изображения гонад разных стадий зрелости представлены на рисунке 2.10.

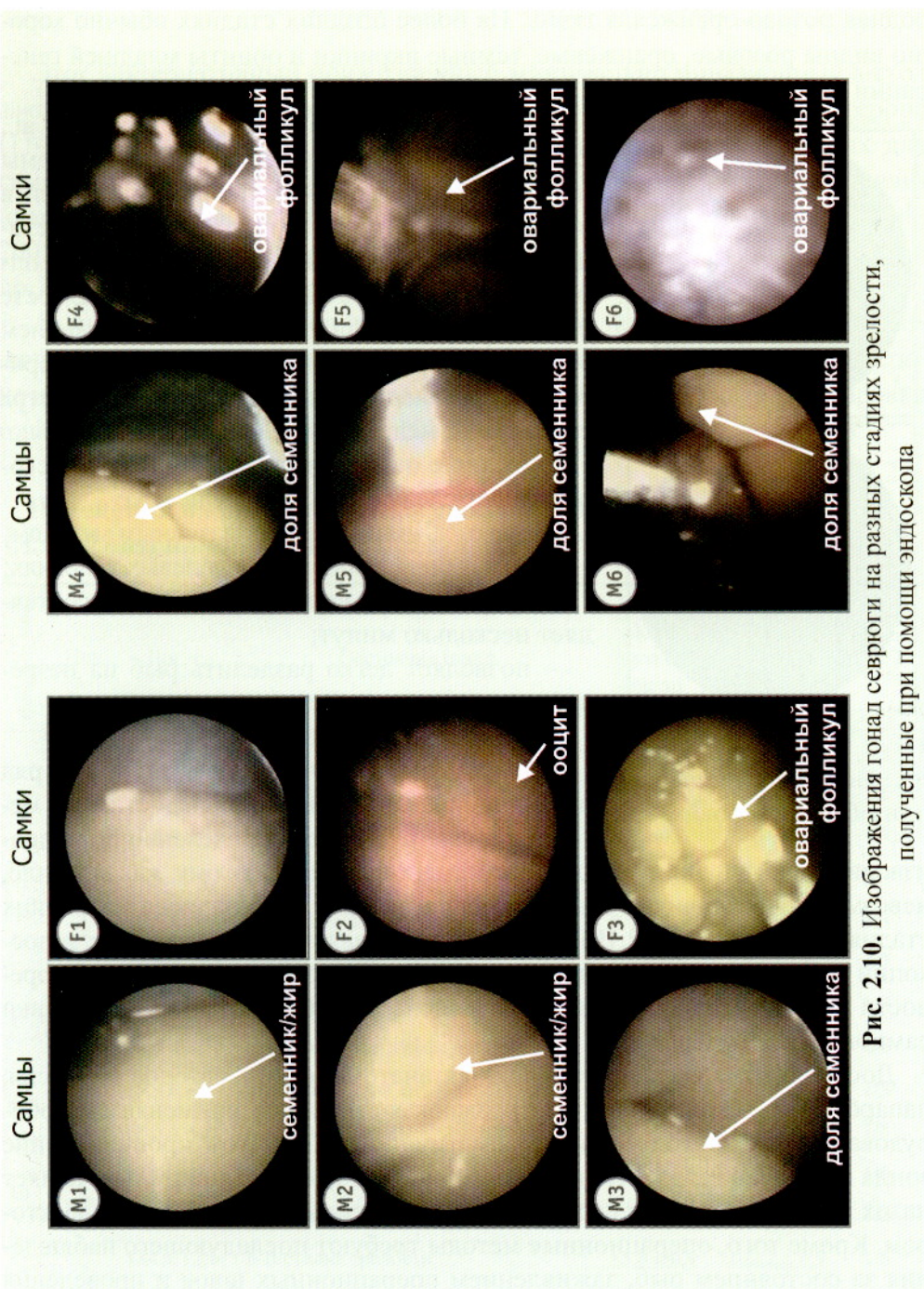


Рис. 2.10. Изображения гонад сеюруги на разных стадиях зрелости, полученные при помощи эндоскопа

Гонады осетровых на I–II стадиях развития визуализируются как однородная розово-оранжевая ткань. На более поздних стадиях обычно хорошо видны розовые, оранжевые, темные икринки и ооциты младшей генерации (рис. 2.11).

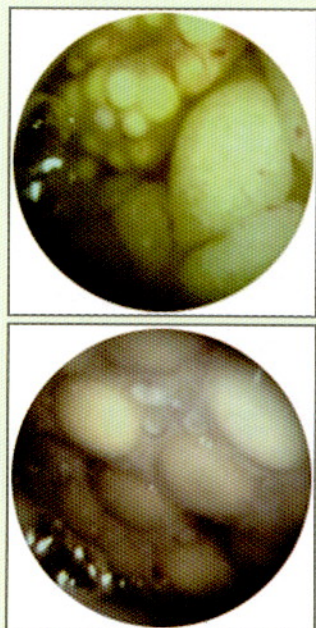


Рис. 2.11.
Эндоскопическое изображение ооцитов

Как показано Гурвиц и др. (Hurvitz et al., 2007), с помощью эндоскопической системы пол русского осетра может быть определен в возрасте 3 года, при этом у 5% рыб этим методом пол определить не удалось. Точность определения пола составила более 98%. Вместе с тем, 2% рыб были травмированы введением эндоскопа через абдоминальный разрез и период восстановления этих особей русского осетра составлял 2 недели.

В отличие от биопсийных методов, эндоскопия имеет следующие преимущества:

- является минимально инвазивным методом;
- может быть выполнена в полевых условиях;
- продолжительность исследования составляет несколько минут;
- позволяет легко разделить рыб на незрелых и готовых к нересту в текущем сезоне;
- легкость в освоении.

Следует отметить, что этот метод имеет ряд ограничений. Существенным недостатком методики является то, что определение пола про-

изводится по внешнему виду генеративной ткани, поэтому, как правило, невозможно различить гонады самок и самцов, находящиеся на ранних стадиях развития (рис. 2.10). Оптимальным является использование эндоскопии при работе со зрелыми самками для точного определения стадий зрелости икры и готовности к нересту. Использование эндоскопии для оценки самцов нецелесообразно.

Достоинством всех перечисленных анатомических методов (биопсия, лапаро- и эндоскопия) является невысокая стоимость применяемого оборудования, недостатком – их травматичность. При этом проникновение зонда в полость тела не только травмирует рыб, но и отрицательно влияет на их физиологическое состояние, являясь сильным стрессовым фактором. Кроме того, операционные методы требуют последующего наблюдения за состоянием рыб, заживлением операционных швов и проведения лечебно-профилактических мероприятий (Чебанов и др., 2004).

2.4. Эндокринологический метод

Этот альтернативный прижизненный минимально инвазионный метод заключается в оценке концентраций тестостерона (Т), 11-кетотестостерона (11-КТ), эстрадиола (Э) или других подобных гормонов, типичных для самцов или самок, содержание которых в плазме крови как диких (Баранникова и др., 2005; Ceara et al., 2002; Webb et al., 2002; Semenkova et al., 2005), так и выращенных (Amigi et al., 1996; Ахундов, 1997; Семенкова и др., 2006) рыб может быть измерено.

Ахундов (1997) отмечает, что данная методика позволяет достоверно различать пол молоди севрюги (на основе различий в концентрации тестостерона и эстрадиола в плазме) уже к моменту цитологической дифференцировки гонад первых самцов (в возрасте 10–12 мес., как видно из таблицы 2.1).

Таблица 2.1

Изменения в концентрации стероидов в плазме молоди севрюги (*A. stellatus*) при различных стадиях развития гонад (Ахундов, 1999)

Возраст, мес.	Пол	Вес, г	Состояние гонад	Эстрадиол (Е), ng/ml	Тестостерон (Т), ng/ml	Е/Т
2	♂+0	3,3 ± 0,42	ранняя дифференциация	1,0 ± 0,1	8,5 ± 0,3	1/8
	♂3+0	3,1 ± 0,37	-//-	1,0 ± 0,1	8,3 ± 0,5	1/8
3	♂+0	11,1 ± 0,75	ранняя дифференциация	2,6 ± 0,2	17,3 ± 0,6	1/7
	♂3+0	11,3 ± 0,67	-//-	2,3 ± 0,2	18,8 ± 0,9	1/8
4	♂+0	30,5 ± 2,26	анатомическая дифференциация	4,0 ± 0,5	31,6 ± 1,5	1/8
	♂3+0	29,8 ± 2,18	ранняя дифференциация	4,3 ± 0,4	32,1 ± 1,6	1/7
5	♂+0	55,7 ± 3,09	цитологическая дифференциация	5,8 ± 0,4	47,3 ± 2,3	1/8
	♂3+0	54,6 ± 3,78	анатомическая дифференциация	5,5 ± 0,3	44,8 ± 1,9	1/8
7	♂+0	69,9 ± 4,59	цитологическая дифференциация	7,6 ± 0,7	59,7 ± 2,9	1/8
	♂3+0	68,3 ± 4,21	анатомическая дифференциация	6,6 ± 0,5	55,7 ± 2,2	1/8
10	♂+0	121 ± 8,3	I–II стадия зрелости	<u>14,7 ± 1,0</u>	<u>93,4 ± 7,6</u>	1/6
	♂3+0	120 ± 7,9	цитологическая дифференциация	<u>7,2 ± 0,5</u>	<u>185,6 ± 11,9</u>	1/26
12	♂+0	184 ± 12,1	I–II стадия зрелости	<u>15,8 ± 0,9</u>	<u>102,2 ± 6,9</u>	1/6
	♂3+0	182 ± 14,7	цитологическая дифференциация	<u>7,1 ± 0,6</u>	<u>208,3 ± 12,9</u>	1/29



Рис. 2.12. Определение содержания половых стероидных гормонов (Webb et al., 2009)

М. Вебб и др. (Webb et al., 2001) отмечают, что концентрация тестостерона в плазме самцов белого осетра (*A. transmontanus*) с гонадами на II стадии зрелости была выше, чем в плазме самок (Рис. 2.12, 2.13). Данный показатель позволяет осуществлять определение пола на различных стадиях зрелости.

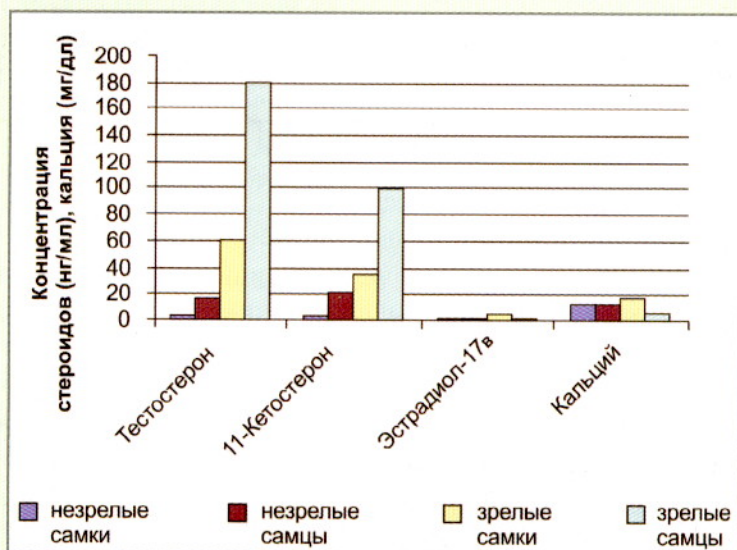


Рис. 2.13. Концентрация половых стероидов и кальция в плазме зрелых и незрелых диких особей белого осетра (*A. transmontanus*) (Webb et al., 2001)

Т. Семенкова и др. (2006), подтверждая данный вывод, отметили, что эффективное использование этого метода требует постоянного мониторинга состояния репродуктивной системы и измерения уровня Т, 11КТ и Е2 у самок и самцов различного возраста, которые должны быть проведены на конкретных осетровых хозяйствах.

2.5. Метод Фурье-преобразования инфракрасных спектров

В последних исследованиях Вебб и др. (Webb et al., 2009, Lu et al., 2010) возможности использования радиоиммунного анализа, содержания в плазме стероидных гормонов, кальция и т. д. расширяются использованием инфракрасной спектроскопии с Фурье-преобразованием (ИК-Фурье) для определения стадии зрелости гонад самок белого осетра (рис. 2.15).

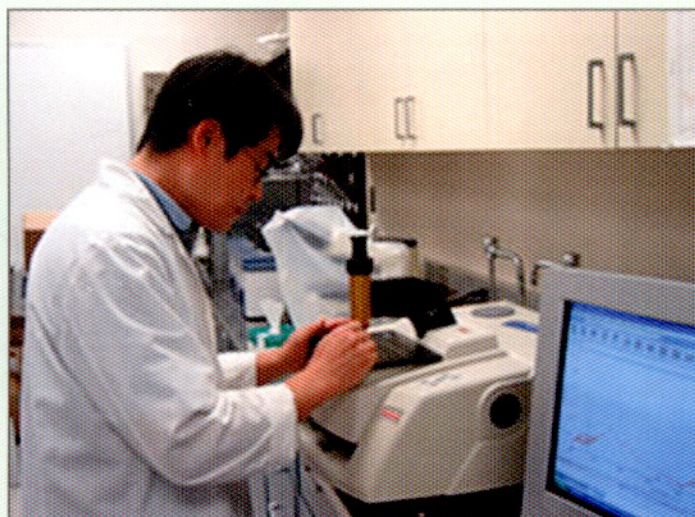


Рис. 2.15.
Инфракрасная
спектроскопия
с Фурье-
преобразованием
(из Webb et al., 2009)

В целом, в 65% случаев стадия зрелости для белого осетра была определена правильно с помощью дискриминантной функции на основе измерений концентрации Т и Е. Таким образом, согласно предварительным результатам, спектральный анализ плазмы с помощью ИК-Фурье может быть использован вместо биопсии и расчета индекса поляризации ооцитов.

Важный недостаток эндокринологических методов – высокая стоимость при проведении испытаний как в полевых, так и лабораторных условиях. Для проведения анализов крови необходимо соответствующее оборудование, определенный тип системы мечения рыб, дополнительное рабочее время для двукратного вылова рыбы (первый раз – для мечения и второй раз – для отделения самцов от самок), а также время для проведения самих анализов (на уровне достаточно крупных коммерческих ферм – порядка 5000–10 000 проб).

2.6. Коротковолновая спектроскопия в ближней инфракрасной области

В исследованиях Вебб и др. (Webb et al., 2009; Lu et al., 2010) были описаны потенциальные возможности метода коротковолновой спектроскопии в ближней инфракрасной области (КВС-БИК) при определении стадий зрелости осетровых с помощью спектров гонад. При проведении исследований на живых анестезированных особях белого осетра датчик помещался на брюшную полость и перемещался на участках локализации яичника (рис. 2.16).



Рис. 2.16. Получение спектров белого осетра с помощью неинвазивного метода коротковолновой спектроскопии в ближней инфракрасной области (Webb et al., 2009)

Спектры были получены с помощью спектрофотометра ProSpectra, оснащенного лампами с вольфрамовыми нитями и одним световодным жгутом. Получение спектров производилось в режиме рассеянного отражения в волновом диапазоне от 600 до 1100 нм. Перед получением спектра образца должны быть получены темный и стандартный спектры (Webb et al., 2009).

Для сравнительного спектрального анализа, при каждом взятии проб, у каждой самки хирургическим путем брали 30 см³ икры и помещали в тефлоновый контейнер для получения спектра (рис. 2.17).

Согласно предварительным результатам (Webb et al., 2009; Lu et al., 2010), абдоминальные сканы, полученные с помощью КВС-БИК, могут быть эффективно использованы для определения стадий зрелости самок осетровых, а также для диагностики атрезии фолликул.



Рис. 2.17. Подготовка к КВС-БИК-анализу образцов икры белого осетра (Webb et al., 2009)

2.7. Морфометрические методы

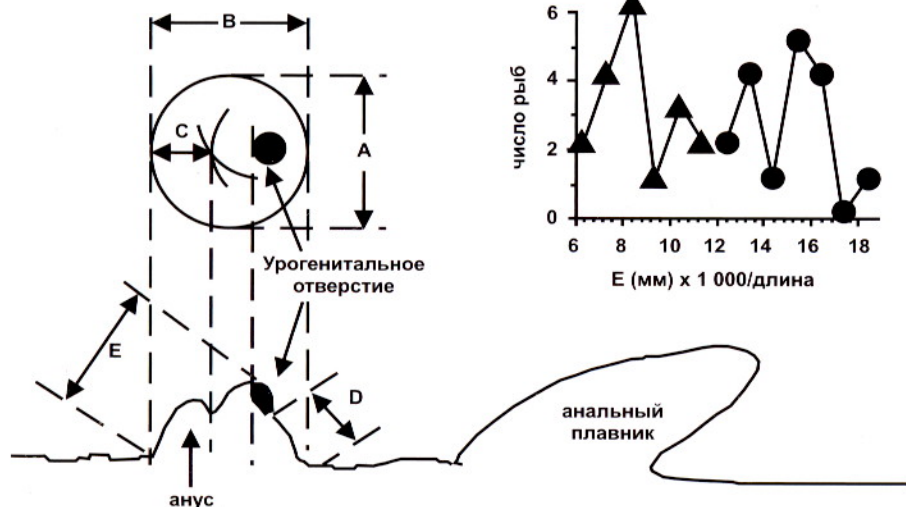
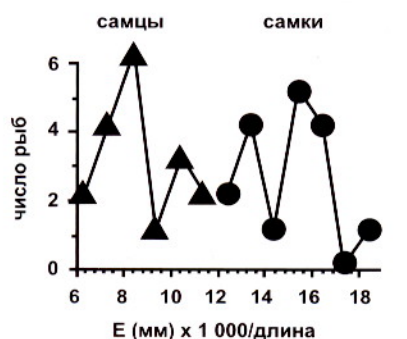
Морфометрия уrogenитальной области

Метод морфометрии уrogenитальной области описан в работах Фудзи и др. (Fuji et al., 1987) и Биярда (Billard, 2002). Обнаружены отдельные морфометрические различия в уrogenитальной области между самками и самцами бестера (в возрасте от 3 лет). Основные отличия, как видно из рисунка 2.18, достоверны для показателя E.

Значения измеряемых показателей

	самцы	самки
вес, кг	5,0	6,5
длина, см	102	109
B mm	8,65	7,62
D mm	4,87	3,14
E mm	14,78	9,7

Рис. 2.18. Метод морфометрии уrogenитальной области (Fuji et al., 1987 – Billard, 2002)



Вместе с тем очевидно, что точность определения показателя E зависит от угла измерения, что существенно снижает возможность практического применения этого метода.

Краниологические измерения

Возможность раннего определения пола с использованием биометрических методов показана на примере *A. ruthenus* (рис. 2.19) и *A. gueldenstaedtii* (Мальцев, Меркулов, 2006). С помощью этого метода получены коэффициенты дискриминантного уравнения, позволяющего достаточно легко определить пол осетровых на основе краниологических измерений. Установлены наиболее информативные краниологические показатели осетровых (применяемые в уравнении):

$$D^2 = a + b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_pX_p,$$

где D^2 – оценка выборочного расстояния Махаланобиса; a – константа; $b_1 \dots b_p$ – нестандартизированные коэффициенты; $X_1 \dots X_p$ – переменные; p – число переменных.

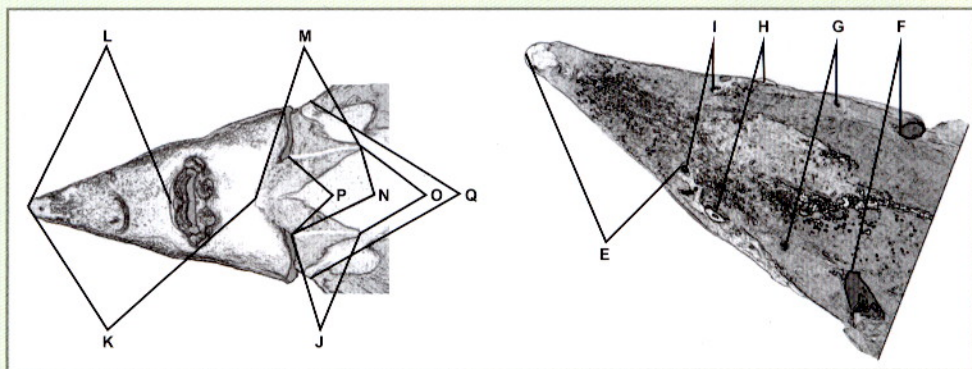


Рис. 2.19. Схема краниологических измерений *A. ruthenus* (Мальцев, Меркулов, 2006)

Дискриминантное уравнение¹ для определения пола *A. gueldenstaedtii*:

$$D^2 = -36.7303 - 0.696098 I + 0.193362 Q + 101.344 I/Q + 12.5249 E/H.$$

Однако морфометрические методы не были разработаны в полной мере и их использование носит пока только экспериментальный характер. Поэтому, несмотря на простоту применения, они не могут быть рекомендованы для широкого использования в рыбоводной практике.

¹ В оригинальной работе авторов была опечатка, здесь приведена исправленная формула.

2.8. Выявление отдельных признаков полового диморфизма у взрослых рыб

Как и для других видов рыб, для осетровых неоднократно предпринимались попытки установить внешние половые признаки, но удалось это, частично, только для взрослых особей.

В практике осетроводства долгие годы использовали следующие морфологические критерии для отбора диких зрелых самок на осетровые заводы (М. Гусейнов, цит. по: Мильштейн, 1982):

- самки, близкие к овуляции, имеют тонкую тѣшку, у менее зрелых рыб она более толстая и жирная;
- хвостовой стебель от заднего края спинного плавника до начала хвостового плавника имеет в поперечнике овальную форму, указывающую на похудение рыбы;
- рыло заострено за счёт похудения головы и всего тела;
- жучки менее острые, так как у самок, близких к овуляции, кожа больше покрыта густой слизью.

Впервые В. Владиковым (1931) было отмечено, что парные плавники у самок стерляди длиннее, чем у самцов.

R. Billard (2002) отмечает, что брюшная часть самцов адриатического (*A. naccarii*), сибирского (*A. baerii*) и русского (*A. gueldenstaedtii*) осетров и белуги (*H. huso*) темнее, чем у самок. Жучки (вентральные и анальные) самок зрелого белого осетра (*A. transmontanus*) становятся мягкими вследствие минерализации в период завершения вителлогенеза.

Сравнительный морфологический анализ взрослых особей североамериканских осетровых: белого *A. transmontanus*, атлантического *A. oxyrinchus* и короткорылового *A. brevirostrum* позволил установить некоторые внешние половые отличия (Vescei et al., 2003).

Например, уrogenитальное отверстие самцов напоминает латинскую букву «Y», в то время как половое отверстие самок имеет форму буквы «O» (рис. 2.20). Установлено, что точность половых различий по этому признаку была значительно выше у живых рыб (82%), чем у погибших (29%).

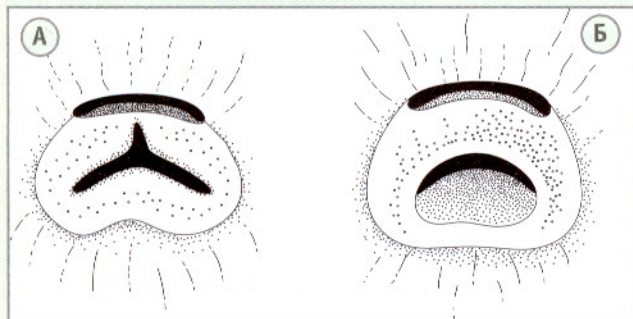


Рис. 2.20. Различия формы уrogenитального отверстия:
А – самец; Б – самка
(Vescei et al., 2003)

Половой диморфизм по форме и строению парных плавников, характерный для многих костистых рыб, был установлен С. Подушкой (2008) у производителей амурского осетра (*A. schrenkii*), выращенных в аквакультуре. Как видно из рисунка, более короткие и округлые грудные плавники наблюдаются у зрелых самок (рис. 2.21 А), а плавники самцов отличаются большим размером и заострённой формой (рис. 2.21 В). Эти различия, как отмечает автор, наблюдаются у домашних особей амурского осетра даже со спины у рыб, плавающих в бассейне.

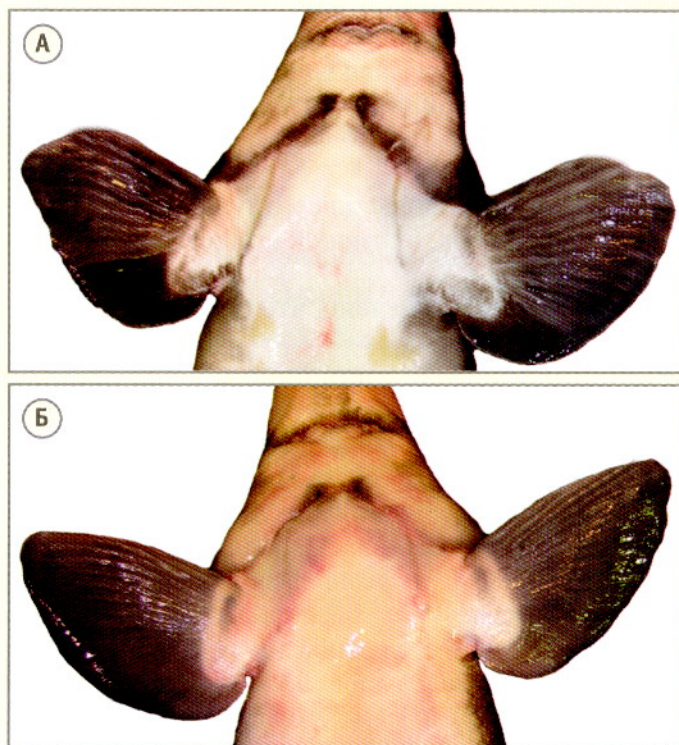


Рис. 2.21.
Форма грудных плавников домашних особей амурского осетра: А – самка; Б – самец (Подушка, 2008)

Подобные различия отмечены и в строении брюшных плавников производителей этого вида. Однако неизвестно, связано ли проявление этого признака только с началом полового созревания амурского осетра или подобные различия имеются также у неполовозрелых особей. Не установлены также подобные различия и для дикого амурского осетра (Подушка, 2008).

Рассмотренные выше преимущества и недостатки различных методов определения пола и стадий зрелости гонад должны учитываться при планировании и проведении осенней бонитировки осетровых рыб. Вместе с тем многолетний опыт формирования маточных стад различных видов осетровых рыб показывает, что наиболее эффективным методом является неинвазивная ультразвуковая экспресс-диагностика (Chebanov, Galich, 2009).

ГЛАВА 3

Анатомическая структура и нетравматичное исследование внутренних органов и тканей осетровых рыб с использованием УЗИ

3.1. Строение внутренних органов

Для того чтобы успешно проводить УЗИ-тестирование осетровых, необходимо чётко представлять анатомию исследуемой области. Детальное изложение анатомии осетровых (Гуртовой и др., 1976) не входит в задачи данной работы, поэтому она будет рассмотрена кратко, касаясь вопросов, связанных с целью данного руководства.

3.1.1. Генеративная система

Яичники

Яичники (*ovarium*) – гонады самок, расположены по бокам полости тела и крепятся к дорзальной стенке тела брыжейками. Состоят из яйцеклеток различных генераций, расположенных на яйценосных пластинах.

Семенники

Семенники (*testis*) – расположены справа и слева от пищеварительной системы, в отличие от яичников покрыты оболочкой из соединительной ткани и имеют дольчатое строение. По бокам у самцов и самок располагаются воронки яйцеводов, соединяющиеся с половыми протоками (рис. 3.1).

3.1.2. Выделительная система

Почки

Почки (*ren*) – располагаются вдоль промежуточной и спиральной кишки на спинной стороне, пронизаны кровеносными сосудами и покрыты оболочкой.

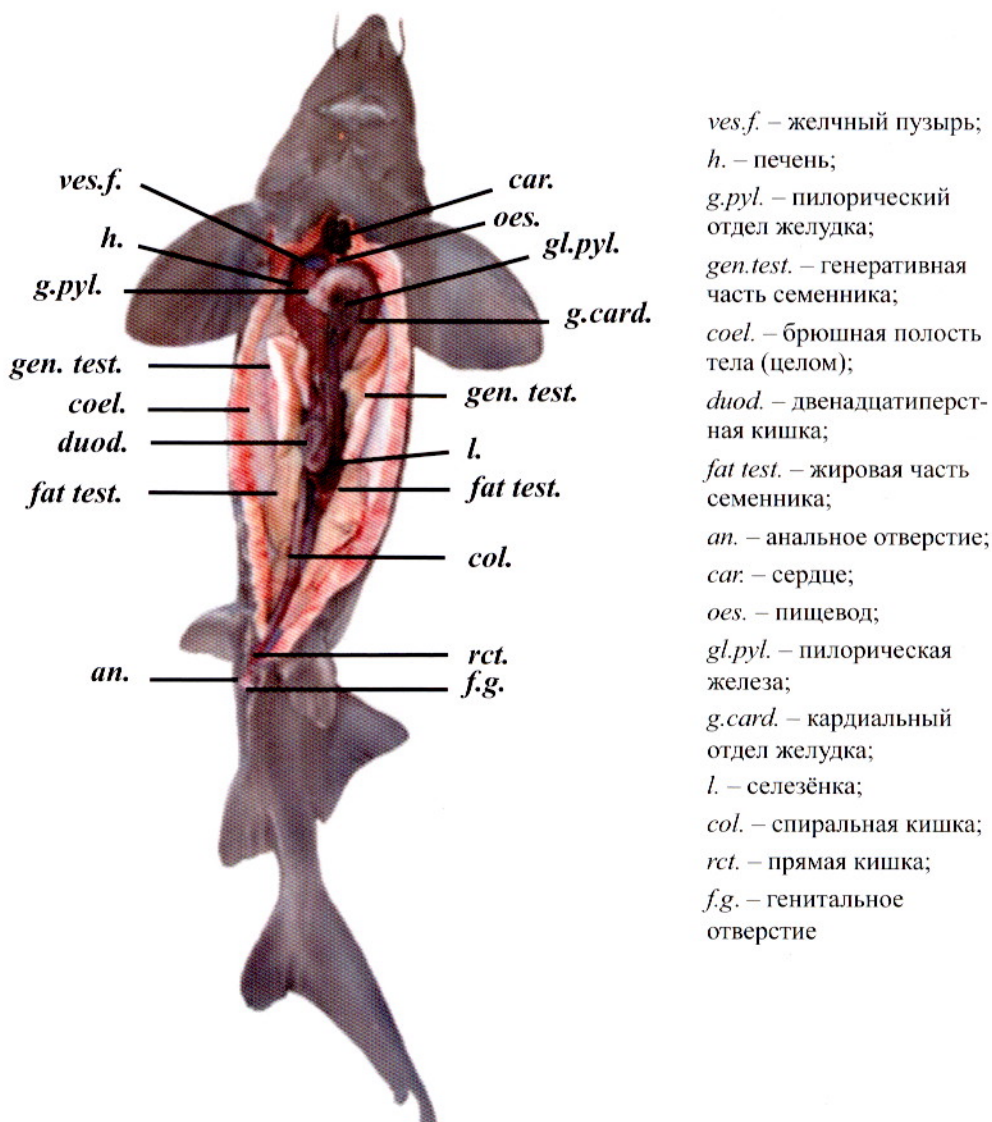


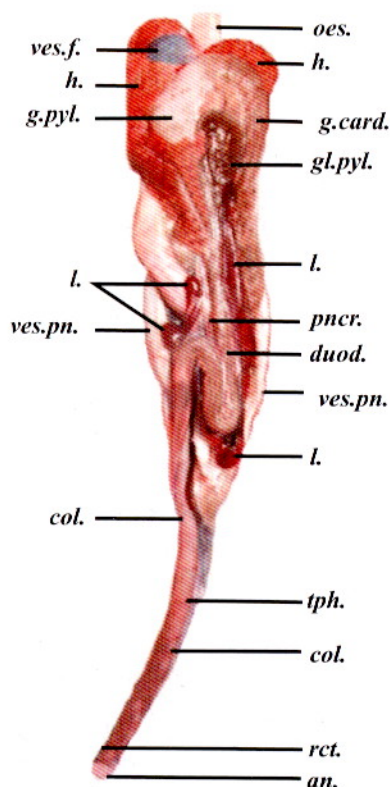
Рис. 3.1. Строение внутренних органов сибирского осетра

Мочеточники

Мочеточниками (*ureter*) и семяпроводами (*vas defferens*) служат почечные протоки. Начинаются мочеточники у переднего края почки с наружной стороны отдельными почечными канальцами, образующими общий проток, к которому присоединяется воронка яйцевода.

3.1.3. Пищеварительная система

По своему строению пищеварительная система осетровых (рис. 3.2) занимает промежуточное положение между хрящевыми и костистыми рыбами. Особенности пищеварительного тракта, увеличивающими площадь всасывающей поверхности пищеварительного эпителия, является как система петель, образуемая кишечником (характерная для костных рыб), так и сохранение спирального клапана в области средней кишки, свойственного хрящевым рыбам (Гуртовой и др., 1976).



ves.f. – желчный пузырь;
h. – печень;
g.pyl. – пилорический отдел желудка;
l. – селезёнка;
ves.pn. – плавательный пузырь;
col. – спиральная кишка;
oes. – пищевод;
g.card. – кардиальный отдел желудка;
gl.pyl. – пилорическая железа;
pncr. – поджелудочная железа;
duod. – двенадцатиперстная кишка;
tph. – спиральный клапан;
rct. – прямая кишка;
an. – анальное отверстие

Рис. 3.2. Строение пищеварительной системы русского осетра

Печень

Печень (*hepar*) пищеварительная железа неправильной формы, разделена на доли: правую и левую. На правой доле печени помещается овальный желчный пузырь (*vesica fellea*), который посредством желчного протока (*ductus choledochus*) соединён с двенадцатиперстной кишкой.

Глотка

Короткая глотка связана с пищеводом (*oesophagus*), который далее переходит в кардиальную часть желудка.

Желудок

Желудок (*gaster*) – прикрыт с боков печенью так, что видна только его задняя часть, имеет форму сифона и состоит из двух отделов: кардиального (*g. card*) и пилорического (*g. pyl.*). В полость кардиального отдела желудка со спинной стороны впадает проток плавательного пузыря.

Пилорический отдел желудка

Пилорический отдел желудка (*g. pylorus*) – соединяется с кишечником пилорическим клапаном, регулирующим сообщение желудка с передним отделом средней кишки, называемой двенадцатиперстной кишкой (*duodenum*), имеющей характерный ячеистый рельеф слизистой оболочки и отделенной от спиральной кишки кольцевой складкой – клапаном.

Пилорические придатки погружены в соединительную ткань, окружённую серозной оболочкой и образуют одно компактное образование «бобовидной» формы – *пилорическую железу* (*glandula pylorica*), имеющую выход в средний отдел кишечника.

Проведённый Е. Артюхиным (2008) анализ строения пищеварительной системы всех представителей осетровых рыб показал, что желудок большинства видов бентосоядных вида *Acipenser* в препилорической части образует толстостенное «бульбообразное» расширение (камеру), предназначенное для дробления раковин моллюсков (рис. 3.3. А).

Морские виды рода *Acipenser* (*A. sturio*, *A. oxyrinchus*, *A. medirostris*, *A. transmontanus*, *A. sinensis*) с переходом на хищнический образ жизни вторично утратили эту особенность и имеют строение пищеварительного тракта, как у хищников рода *Huso* (рис. 3.3. Б), белуги и калуги (Артюхин, 1995).

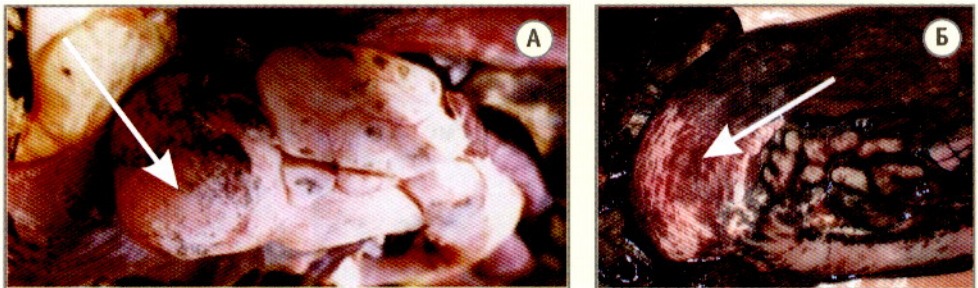


Рис. 3.3. А – желудок персидского осетра (Артюхин, 2008);
Б – желудок белуги (одомашненной формы) – «бульбообразное» расширение не выражено (маточное стадо ЮФ ФГУП «ФСГЦР»)

Двенадцатиперстная кишка

Двенадцатиперстная кишка (*duodenum*) – начинается около пилорической железы, идёт вниз до середины тела, загибаясь вверх, и, делая петлю до нижнего края правой доли печени или до пилорической железы, вновь поворачивает налево вниз, переходя в спиральную кишку.

Поджелудочная железа

Поджелудочная железа (*pancreas*) – расположена вдоль правой, частично заходя с левой стороны двенадцатиперстной кишки. Передний её конец находится в тесном контакте с лопастями правой доли печени и дополнительной долей селезёнки. У крупных осетровых можно различить отдельные лопасти поджелудочной железы (одна расположена вдоль наружной стенки двенадцатиперстной кишки, другая – по внутреннему её краю), подходящие к центральной доле печени.

Спиральная кишка

Спиральная кишка (*colon*) – отдел кишечника, имеющий толстые мускулистые стенки. Она образуется скрученностью кишечной трубки и созданием внутри неё закрученной складки слизистой оболочки. Число витков спиральной складки колеблется от 5 до 10 у разных видов осетровых. Помимо крупных складок на внутренних стенках кишки находятся мелкие, переходящие в гладкие стенки задней кишки (Гуртовой и др., 1976).

Прямая кишка

Прямая кишка (*rectum*) – характеризуется значительно развитым кольцевым слоем мускулатуры, заканчивается анальным отверстием.

Анальное отверстие

Анальное отверстие (*anus*) – переднее из четырёх (анальное, две малые абдоминальные поры, расположенные по бокам, и заднее – половое) отверстий, расположенных позади брюшных плавников.

3.1.4. Другие внутренние органы

Плавательный пузырь

Плавательный пузырь (*vesica pneumatica*) – занимает всю дорзальную область брюшной полости, представляет собой полый мешок, который плотно срастается верхней стенкой с брюшиной. Плавательный пузырь у всех осетровых сообщается каналом с пищеварительной трубкой.

Селезёнка

Селезёнка (*lien*) – железистый орган V-образной формы, огибающий слева и справа петлю двенадцатиперстной кишки и подстилающий её. Селезёнка делится на две доли: основную и добавочную. Добавочная доля прилегает непосредственно к печени и поджелудочной железе.

3.2. Нетравматичное исследование органов и тканей с помощью метода УЗИ-диагностики

3.2.1. Порядок сканирования

Нетравматичное ультразвуковое экспресс исследование гонад осетровых рыб проводится во фронтальной или поперечной плоскостях, при этом датчик плотно прижимается к поверхности тела в районе 3–4 брюшных жучек (счет ведется от брюшных плавников) так, чтобы один край датчика находился прямо над жучками (рис. 3.4 и 3.5).

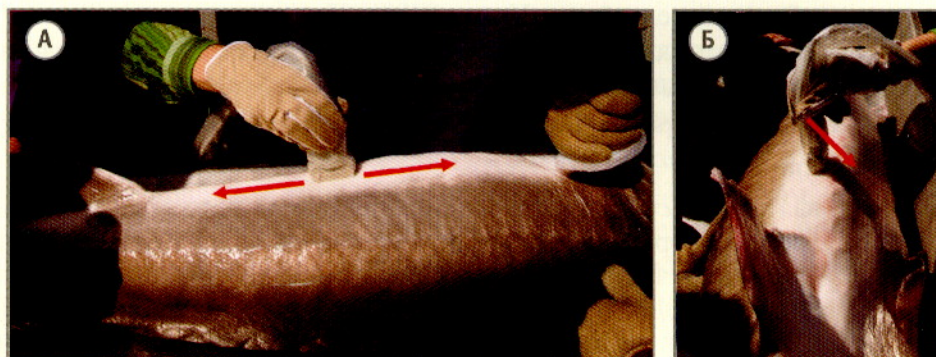


Рис. 3.4. Правильное положение датчика при сканировании в продольной (фронтальной) плоскости: А – датчик передвигается в направлении от хвоста к голове и обратно; Б – наклоны датчика влево-вправо

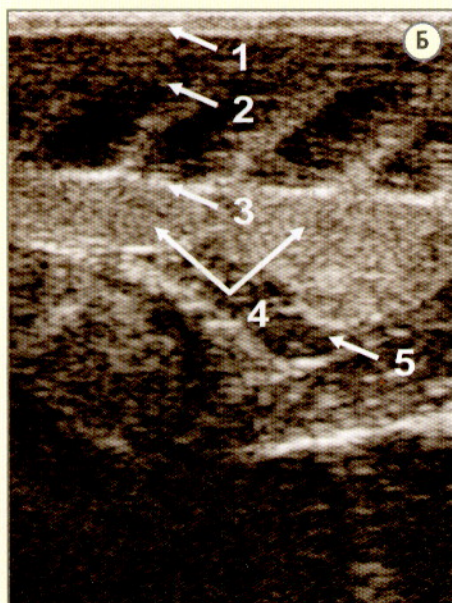
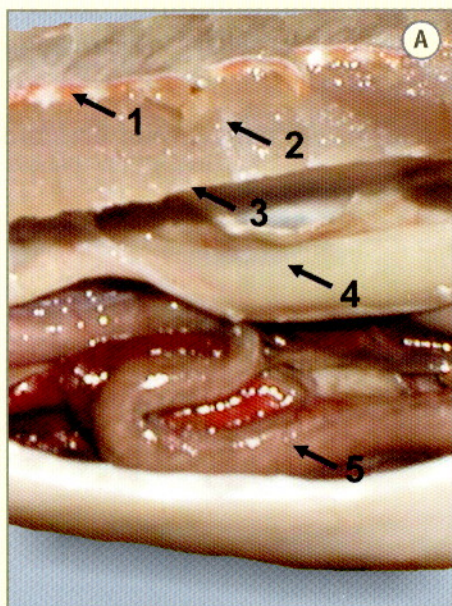
Периодическими наклонами датчика влево-вправо (рис. 3.4 Б) определяется оптимальный фронтальный разрез, далее, в случае если есть необходимость, датчик медленно перемещается в выбранной плоскости в направлении головы примерно до середины тела (рис. 3.4. А). При этом исследование проводится вдоль всей гонады.



Рис. 3.5. Правильное положение датчика при сканировании в поперечной плоскости: А – наклоны датчика влево-вправо; Б – датчик передвигается в направлении от хвоста к голове и обратно

3.2.2. Особенности визуализации органов при продольном сканировании

При продольном сканировании видны следующие ткани и органы в порядке от сканирующей поверхности датчика (рис. 3.6):



1 – кожа – в виде тонкой гиперэхогенной зоны и подкожная жировая клетчатка, узкая (2–3 мм) зона средней эхогенности;

2 – мышечная ткань – широкая зона смешанной эхогенности, на которой собственно мышечная ткань (средней яркости) чередуется с межмиотомными перегородками из соединительной ткани (на мониторе выглядят как наклонные, почти вертикальные, более яркие, чем мышцы, узкие полосы);

3 – серозная оболочка брюшной полости – выглядит как яркая ровная четкая граница;

4 – гонады – половые железы самок и самцов по-разному визуализируются на экране УЗИ-сканера:

– у гонад самцов отмечается структура однородной эхогенности, заключённая в яркую гиперэхогенную оболочку, диагностируемую по всей длине (Чебанов и др., 2004);

Рис. 3.6. Расположение органов в теле самца: А – локализация внутренних органов и тканей в теле рыбы; Б – эхограмма, продольный срез (1 – кожа и подкожная жировая клетчатка; 2 – мышечная ткань; 3 – серозная оболочка брюшной полости; 4 – гонада; 5 – кишечник)

- гонады самок – структуры смешанной эхогенности, без чётких границ (оболочек) и при динамическом изучении визуализируются в виде наплывающих облакообразных структур;
- может иметь оболочку и иметь сложную структуру эхогенности: гиперэхогенную, гипозэхогенную, анэхогенную или смешанную эхогенность (более подробное описание см. гл. 4);
- 5 – кишечник имеет вид продольной трубчатой структуры с гиперэхогенными оболочками и внутренним гипозэхогенным содержимым.

У рыб небольших размеров (до 4 кг) под гонадой просматривается вторая гонада и далее мышцы и кожа в обратном порядке (рис. 3.7).

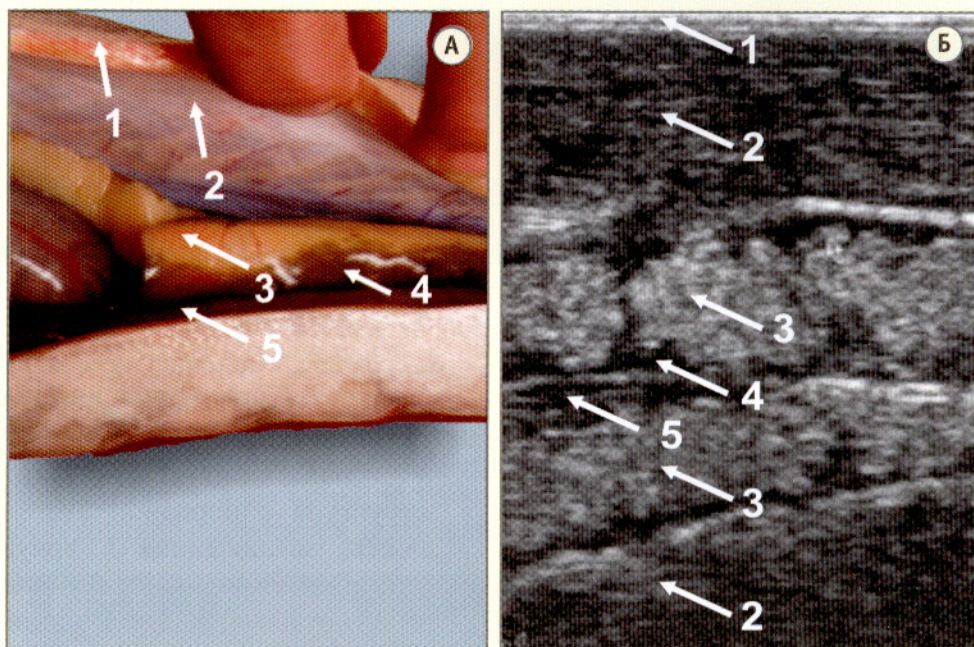


Рис. 3.7. Расположение органов в теле самки русского осетра:

- А – локализация внутренних органов и тканей в теле рыбы;
 Б – эхограмма, продольный срез (1 – кожа и подкожная жировая клетчатка; 2 – мышечная ткань; 3 – гонада; 4 – жир; 5 – кишечник)

3.2.3. Особенности визуализации органов при поперечном сканировании

При поперечном сканировании меняется расположение органов на экране монитора (рис. 3.8 и 3.9).

Кожа

Кожа, подкожная клетчатка, мышечная ткань и серозная оболочка брюшной полости визуализируются так же, как и при продольно-латеральном сканировании.

Гонады

Генеративная часть семенника (рис. 3.9) имеет овально-миндалевидную форму, заключённую в чёткую гиперэхогенную оболочку с внутренней эхооднородной структурой и располагается в отличие от яичника у самок сразу под мышечной тканью.

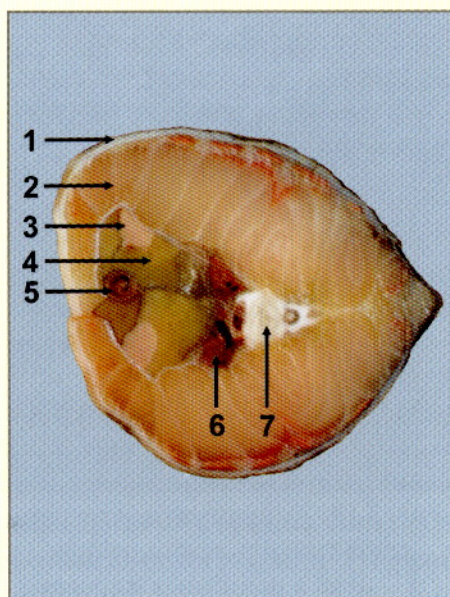


Рис. 3.8. Локализация внутренних органов и тканей в теле самца русского осетра (поперечный срез):

- 1 – кожа и подкожная жировая клетчатка; 2 – мышечная ткань;
- 3 – гонада; 4 – жир гонады;
- 5 – кишечник; 6 – почка;
- 7 – хорда

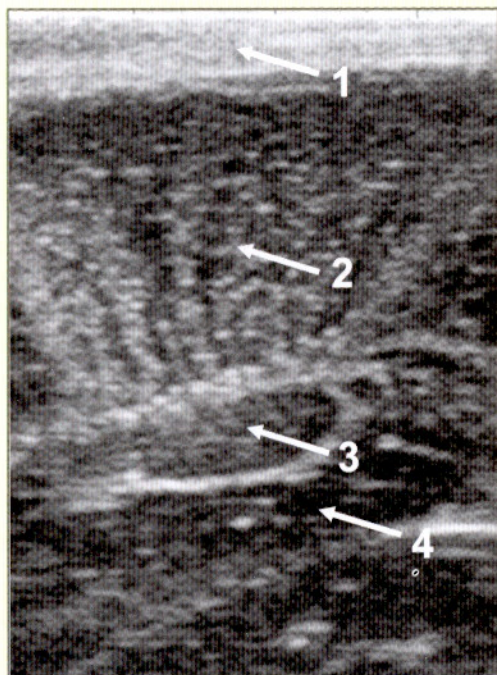


Рис. 3.9. Эхограмма поперечного среза самца русского осетра:

- 1 – кожа и подкожная жировая клетчатка; 2 – мышечная ткань;
- 3 – семенник; 4 – жир семенника

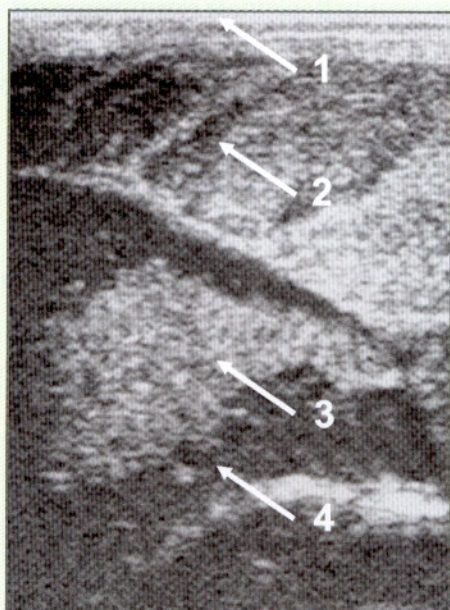


Рис. 3.10. Эхограмма поперечного среза самки русского осетра:
1 – кожа и подкожная жировая клетчатка; 2 – мышечная ткань;
3 – яичник; 4 – жир яичника

На второй стадии (II, II полужировая, II–III) развития семенников генеративная ткань частично (или полностью – II жировая) окружена жировой тканью, которая на экране монитора выглядит как гипозоногенная (тёмная, почти чёрная) зона.

Генеративная часть яичника (зона смешанной эхогенности) не прилегает к мышцам, не имеет четко выраженных границ и на некоторых стадиях **отделена от мышечной ткани гипозоногенной жировой частью** гонады (рис. 3.10).

При небольших размерах рыб при поперечном сканировании хорошо визуализируются кишечник, хорда и почки (гл. 5.1).

ГЛАВА 4

Раннее определение пола и стадий зрелости осетровых с использованием экспресс-метода УЗИ

4.1. Начало анатомической дифференциации гонад

Для описания стадий зрелости гонад осетровых нами используется шкала зрелости, разработанная В.З. Трусовым для русского осетра (1972).

Пол осетровых на первой стадии развития гонад достаточно сложно определить визуально, поскольку, как у самок, так и у самцов, они представлены тонкими тяжами розовато-желтовато-белого цвета (Персов, 1975).

Ниже приводится краткое описание особенностей различных стадий развития семенников и яичников, которые важны для последующего анализа эхографических изображений гонад.

4.2. Стадии зрелости гонад осетровых рыб

В настоящее время разработано несколько классификаций стадий зрелости гонад осетровых рыб, отличающихся различной степенью детализации и даже числом выделяемых стадий (Трусов, 1972; Баранникова, 1975; Кукурадзе, 1975; Шилов, 1971; Conte et al., 1988; Williot et al., 1991; Vaini et al., 2001).

Наиболее детальной является классификация В.В. Трусова (1972), в которой выделены не только отдельные стадии, но и подстадии гонадогенеза. Данная классификация принята за основу при использовании ультразвуковой диагностики пола и стадий зрелости осетровых рыб.

Ниже приведена более генерализованная шкала стадий зрелости осетровых (Conte et al., 1988) которая наиболее часто используется в англоязычной литературе (табл. 4.1).

Таблица 4.1

**Стадии гаметогенеза у белого осетра
(Conte et al., 1988)**

Стадия	Самка	Самец
I	Хорошо различимый яичник состоит из жирных адипоцитов с оогониями и ооцитами протоплазматического роста на периферии яйцenesущих пластинок. Ооциты протоплазматического роста имеют небольшие размеры (диаметр 50 мкм) и содержат большие ядра (до 30 мкм).	Семенник состоит из жировой ткани с тонким (3–5 мм) тяжем генеративной ткани, содержащим делящиеся сперматогонии.
II	По меньшей мере 50% ткани яичника состоит из растущих ооцитов, имеющих размер порядка 100–250 мкм.	Генеративная часть семенника увеличивается примерно на одну треть объема железы и состоит из хорошо различимых цист, содержащих сперматоциты I порядка.
III	В яичнике остается небольшое количество жира, либо он полностью отсутствует. Имеется два типа половых клеток, один соответствует описанному на стадии II, а второй – старшей генерации, состоящей из ооцитов диаметром 800–1200 мкм.	Увеличенные семенники, примерно на одну треть состоящие из жировой ткани. Половые клетки различных мейотических стадий от сперматоцитов I порядка до сперматидов. В некоторых из них присутствует небольшое количество зрелых сперматозоидов.
IV	Присутствует два типа ооцитов, один подобен описанному на стадии II, второй представлен черными икринками большого размера (диаметр 3500–4000 мкм). Цитоплазма наполнена зернами желтка, жировыми капельками и содержит гранулы с меланиновым пигментом. По мере созревания икринки поляризуются, и увеличенные ядра (зародышевые пузырьки) мигрируют к анимальному полюсу.	Семенники значительно увеличены, содержат небольшое количество жировой ткани, либо она отсутствует. Все цисты и каналы заполнены зрелыми сперматозоидами.

Кроме того, в последние годы в ходе проведения специализированных семинаров по определению пола стадий зрелости гонад производителей осетровых рыб в рамках Международных симпозиумов (Oshkosh, USA, 2001; Ramsar, Iran, 2005) использовалась классификация, изложенная в работе Р. Брука (Bruch et al., 2001), отличающаяся по числу выделяемых стадий зрелости. Поэтому в таблице 4.2 приводятся соотношения стадий зрелости гонад самок и самцов осетровых рыб по классификациям (Bruch et al., 2001) и шкале зрелости Трусова.

Таблица 4.2

**Сравнительная таблица стадий зрелости (I–VI)
самок (F) и самцов (M) осетровых рыб**

Автор	Пол		Стадии зрелости гонад					
Bruch et al., 2001	Самки	F ювенальная	F1	F2	F3	F4	F5 нерест	F6
Трусов, 1972	Самки	F1	F2, F2sf, F2f	F2-3	F3	F4i, F4c	F5 нерест	F6
Bruch et al., 2001	Самцы	M ювенальная	M1	M2	M3 нерест			
Трусов, 1972	Самцы	M1	M2, M2sf, M2f	M3, M4	M5 нерест			

F* – стадии зрелости самок; M* – стадии зрелости самцов;

sf – полужировая; f – жировая; i – незавершённая; c – завершённая.

4.3. Анализ УЗИ изображений семенников на различных стадиях зрелости

4.3.1. I стадия зрелости (M1)

Семенники представляют собой тонкие тяжи беловато-серого или светло-розового цвета (рис. 4.1). В начале стадии, в основном, состоят из соединительной ткани, к концу стадии ширина семенника достигает 5–7 мм. Жировая часть семенника практически отсутствует, генеративная ткань имеет молочно-белый цвет.

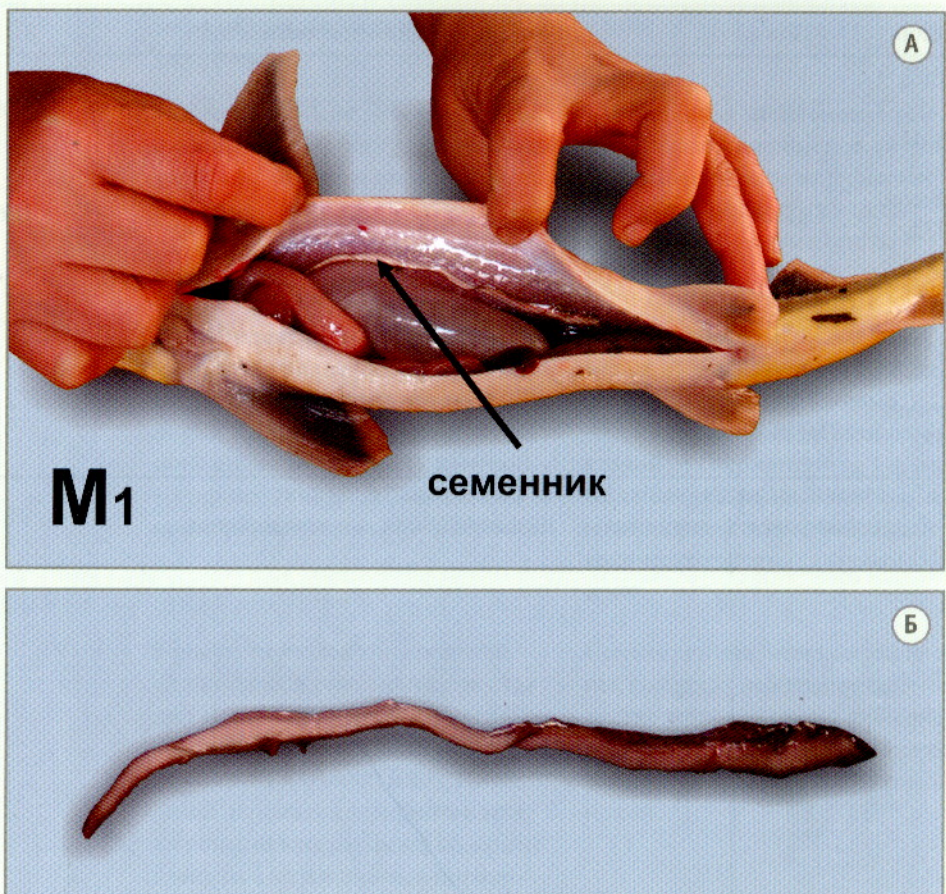


Рис. 4.1. Семенники самца стерляди первой стадии зрелости: возраст – 1 год; вес – 0,25 кг; длина – (L/l) 41,0/33,0 см; ширина семенника – 0,4 см. А – локализация семенника в теле рыбы; Б – вид семенника

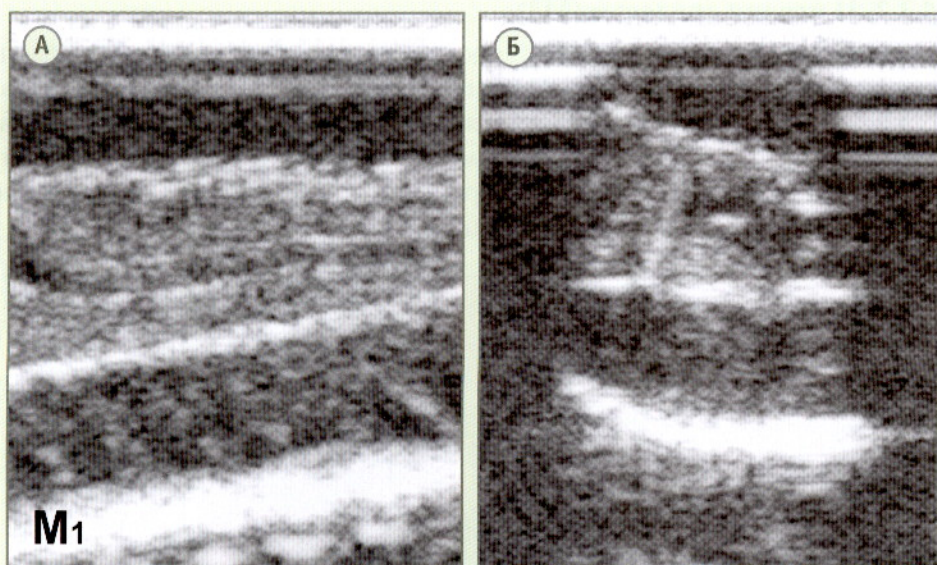


Рис. 4.2. Эхограммы семенников самца стерляди первой стадии зрелости:
А – продольный срез; Б – поперечный срез

При УЗИ-сканировании самцов I стадии зрелости (рис. 4.2) генеративная ткань семенников из-за малых размеров не визуализируется.

4.3.2. II стадия зрелости (M2)

Семенники II стадии зрелости хорошо различимы, имеют, как правило, розовато-белый цвет (рис. 4.3). Ширина генеративной ткани семенников у рыб, созревающих впервые, составляет 0,3–0,6 см, а у повторно созревающих – 1,0–1,5 см. Общая ширина вместе с жировой частью составляет у первых около 1,5 см, у повторно созревающих – до 3,5 см. Это позволяет отличать повторно-созревающих самцов.

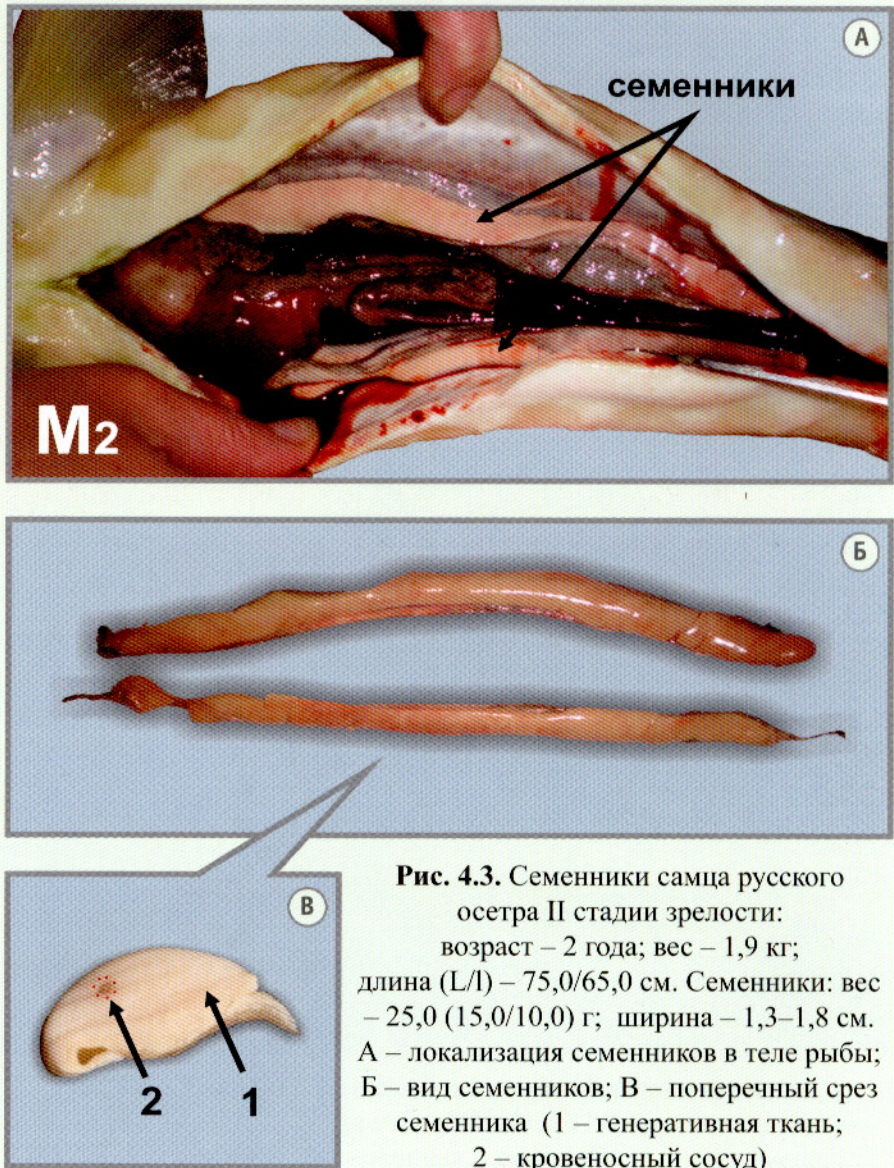


Рис. 4.3. Семенники самца русского осетра II стадии зрелости: возраст – 2 года; вес – 1,9 кг; длина (L/l) – 75,0/65,0 см. Семенники: вес – 25,0 (15,0/10,0) г; ширина – 1,3–1,8 см. А – локализация семенников в теле рыбы; Б – вид семенников; В – поперечный срез семенника (1 – генеративная ткань; 2 – кровеносный сосуд)

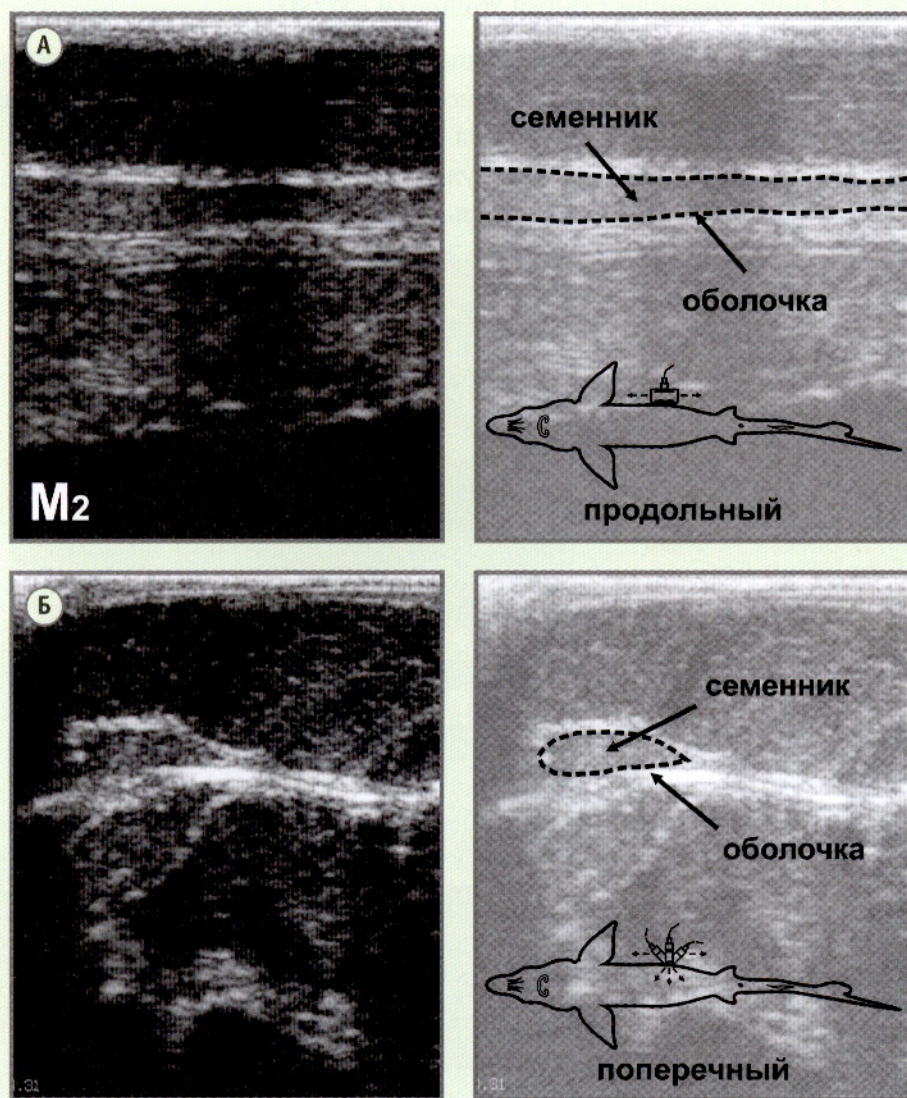


Рис. 4.4. Эхограммы семенников самца стерляди второй стадии зрелости: А – продольный срез; Б – поперечный срез

Начиная со II стадии развития, генеративная часть гонады самцов легко идентифицируется при продольном и поперечном сканировании (рис. 4.4). Генеративная часть гипоэхогенна и имеет чёткие границы. Жировая часть гонады не развита или незначительно развита с медиальной стороны и практически не визуализируется. Края гонады плавно изогнуты, при этом хорошо просматривается яркая гиперэхогенная оболочка семенника.

4.3.3. II полужировая стадия зрелости (M2sf)

Накопление жира начинается с медиальной стороны и постепенно распространяется к латеральной стороне (рис. 4.5). Состояние, когда генеративная часть гонады наполовину ее толщины покрыта жиром и видна только с латеральной стороны считается II полужировой стадией. Ширина 0,2–2,5 см (вместе с жиром 1,0–5,0 см), цвет варьирует от розово-белого до белого.

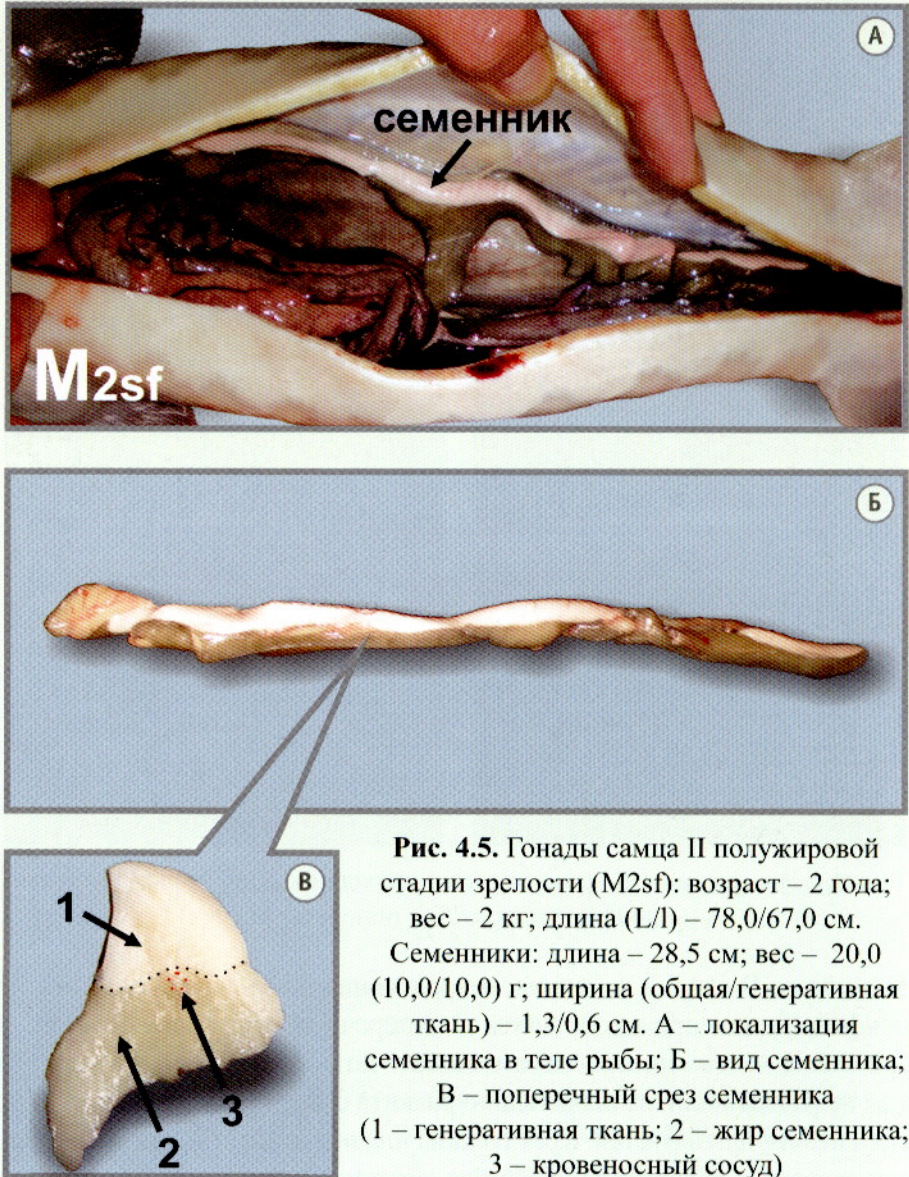


Рис. 4.5. Гонады самца II полужировой стадии зрелости (M2sf): возраст – 2 года; вес – 2 кг; длина (L/l) – 78,0/67,0 см. Семенники: длина – 28,5 см; вес – 20,0 (10,0/10,0) г; ширина (общая/генеративная ткань) – 1,3/0,6 см. А – локализация семенника в теле рыбы; Б – вид семенника; Б – поперечный срез семенника (1 – генеративная ткань; 2 – жир семенника; 3 – кровеносный сосуд)

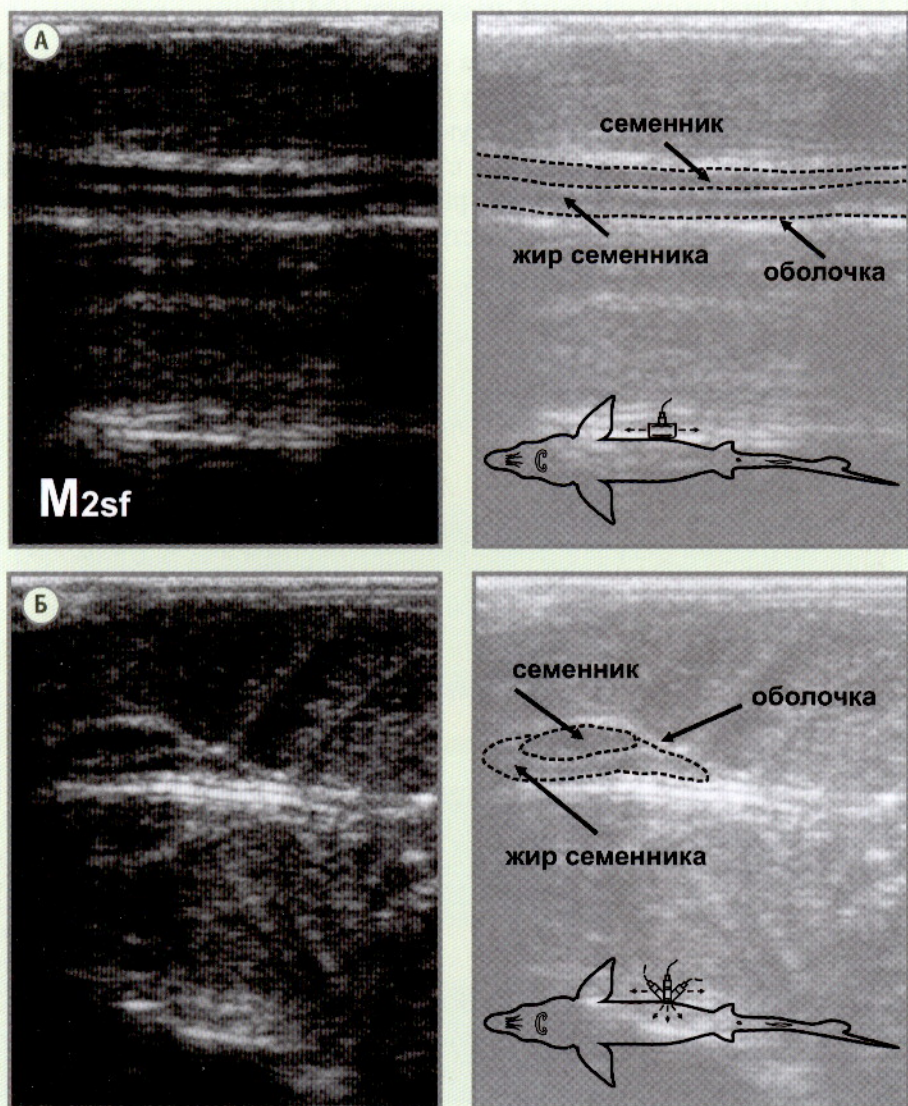


Рис. 4.6. Эхограммы продольного (А) и поперечного (Б) срезов семенника II полужировой стадии зрелости (M2sf)

На II полужировой и II жировой стадиях развития генеративная часть семенника увеличивается незначительно. Общий объём гонады увеличивается за счёт накопления жира. В связи с накоплением жира в генеративной части гонады цвет генеративной и жировой части на эхограмме практически идентичен. Ткань семенников на стадии M2sf (рис. 4.6) гипоэхогенна, на экране визуализируется как тёмные зоны, разделенные между собой светлой полосой (граница жировой и генеративной тканей).

4.3.4. II жировая стадия зрелости (M2f)

Одновременно с отложением жира в семенниках происходит накопление его и в мышцах. В полости тела жир откладывается в виде тяжей, которые затем сливаются в сплошную массу, увеличиваются в ширину и толщину. В процессе развития от II до II жировой стадии масса семенников увеличивается в 5–10 раз (за счёт жира). Масса жира составляет 85–94% от массы гонады. Визуально генеративная часть полностью закрыта жиром (рис. 4.7).

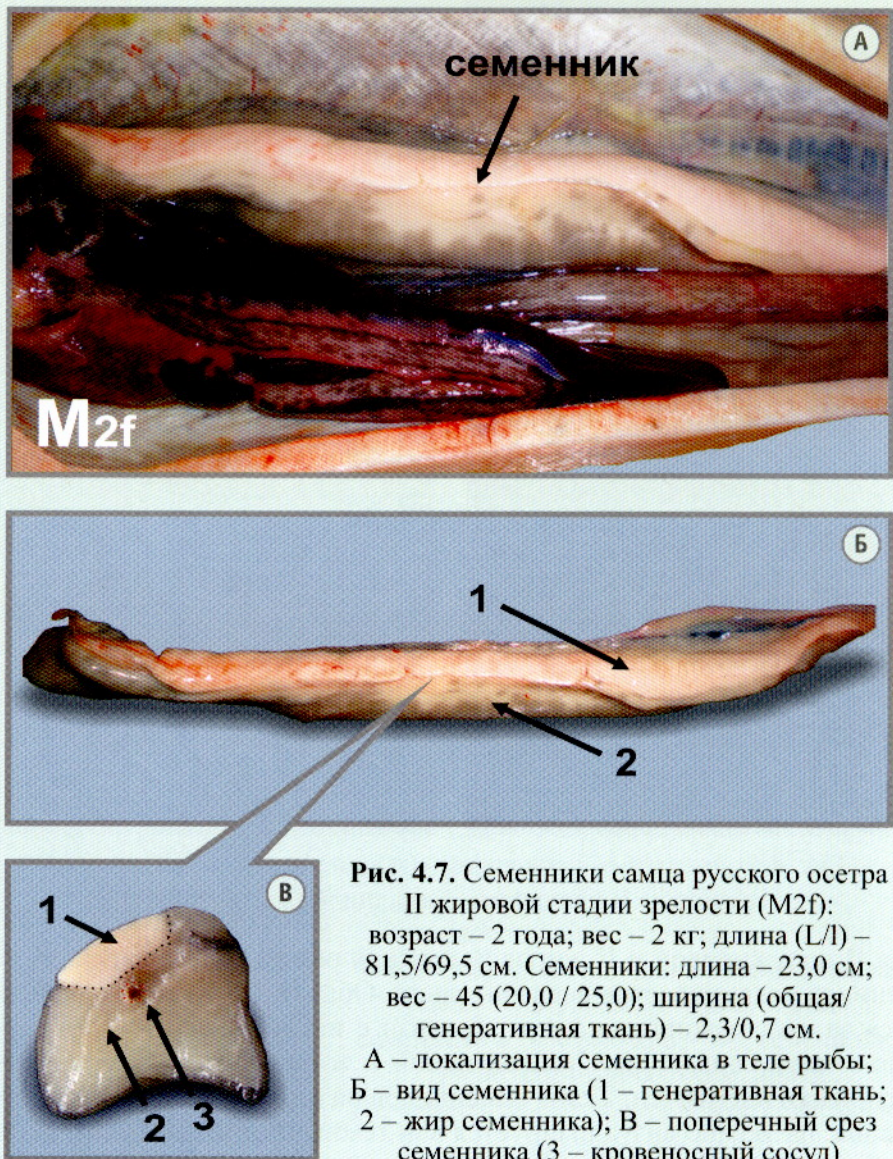


Рис. 4.7. Семенники самца русского осетра II жировой стадии зрелости (M2f): возраст – 2 года; вес – 2 кг; длина (L/l) – 81,5/69,5 см. Семенники: длина – 23,0 см; вес – 45 (20,0 / 25,0); ширина (общая/ генеративная ткань) – 2,3/0,7 см.
 А – локализация семенника в теле рыбы;
 Б – вид семенника (1 – генеративная ткань; 2 – жир семенника); В – поперечный срез семенника (3 – кровеносный сосуд)

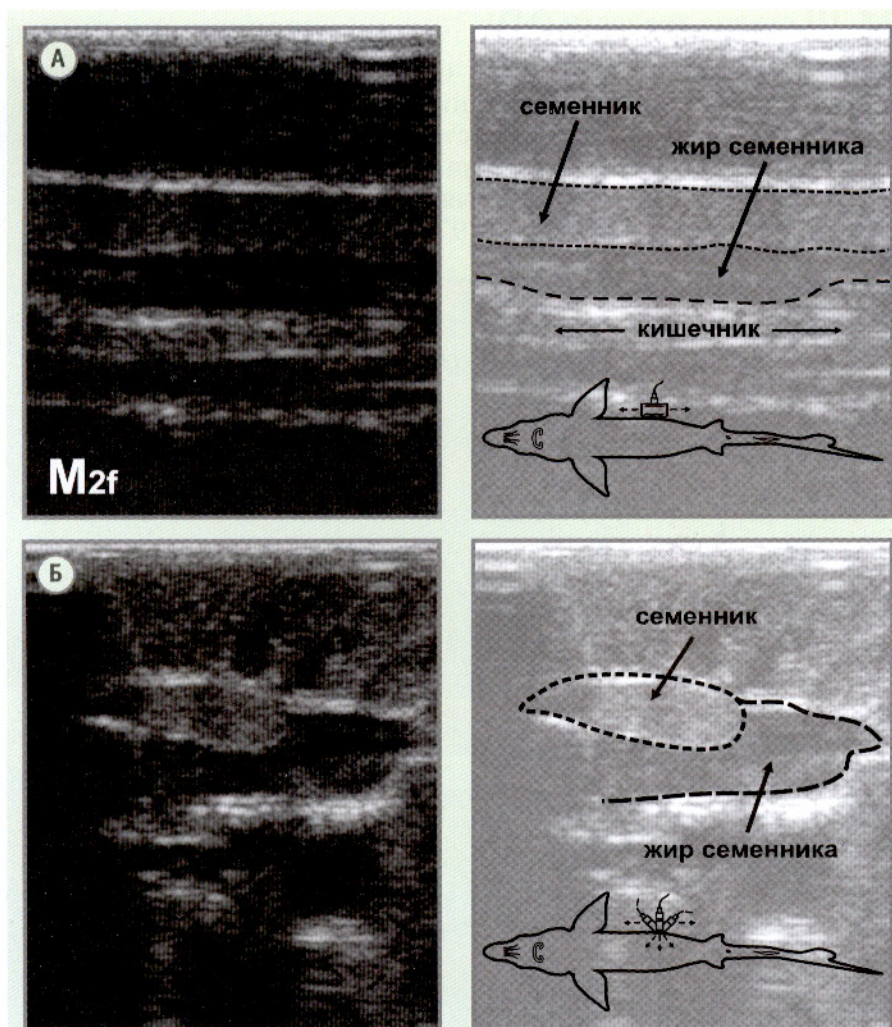


Рис. 4.8. Эхограммы продольного (А) и поперечного (Б) срезов семенника самца русского осетра II жировой стадии зрелости (M2f)

На этой стадии развития семенников существенных изменений в сперматогенезе не происходит. Вследствие этого, экзогенность генеративной части гонады остается невысокой, однако по сравнению со II и III полужировой генеративная часть незначительно увеличивается, поэтому семенник становится хорошо различим. Генеративная часть семенника приобретает однородную мелкозернистую структуру (на эхограмме – серого цвета) и отделена от жировой (гипоэхогенной, темной) гиперэхогенной границей, визуализирующейся в виде яркой белой линии. На поперечном срезе хорошо видно, что семенник вплотную прилегает к боковым мышцам (рис. 4.8).

Начиная со второй стадии зрелости, самцы на эхограммах легко идентифицируются (Чебанов и др., 2004).

4.3.5. III стадия зрелости (M3)

Данная стадия зрелости – очень непродолжительна. Жир почти полностью расходуется для формирования половых клеток – сперматогоний и сперматоцитов, а генеративная часть железы значительно увеличивается (рис. 4.9). На поверхности семенника ярко выражена сетка кровеносных сосудов. При этом типичным для данной стадии является гиперемия (покраснение) семенника (Трусов, 1972).

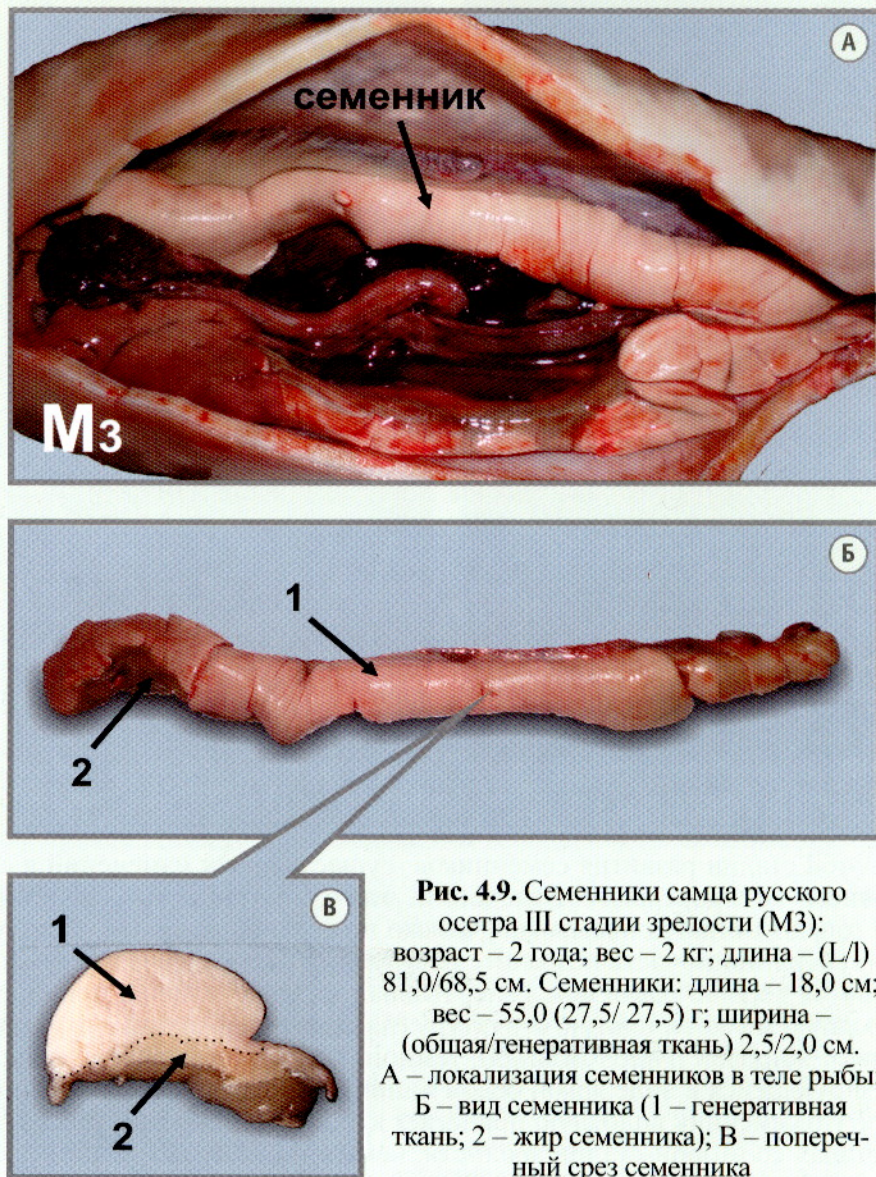


Рис. 4.9. Семенники самца русского осетра III стадии зрелости (M3): возраст – 2 года; вес – 2 кг; длина – (L/l) 81,0/68,5 см. Семенники: длина – 18,0 см; вес – 55,0 (27,5/ 27,5) г; ширина – (общая/генеративная ткань) 2,5/2,0 см. А – локализация семенников в теле рыбы; Б – вид семенника (1 – генеративная ткань; 2 – жир семенника); В – поперечный срез семенника

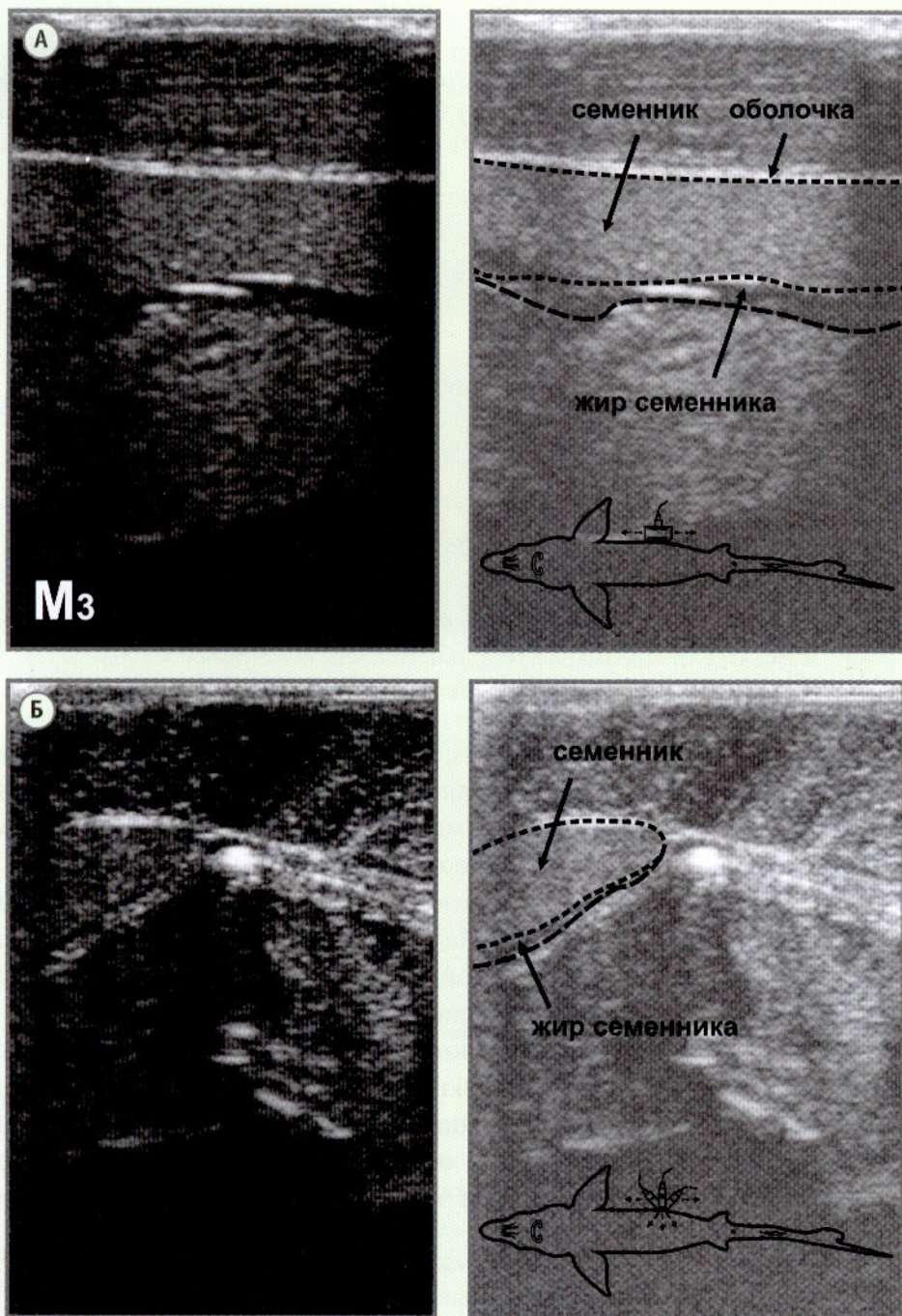


Рис. 4.10. Эхограммы продольного (А) и поперечного (Б) срезов семенника самца осетра третьей стадии зрелости (М3)

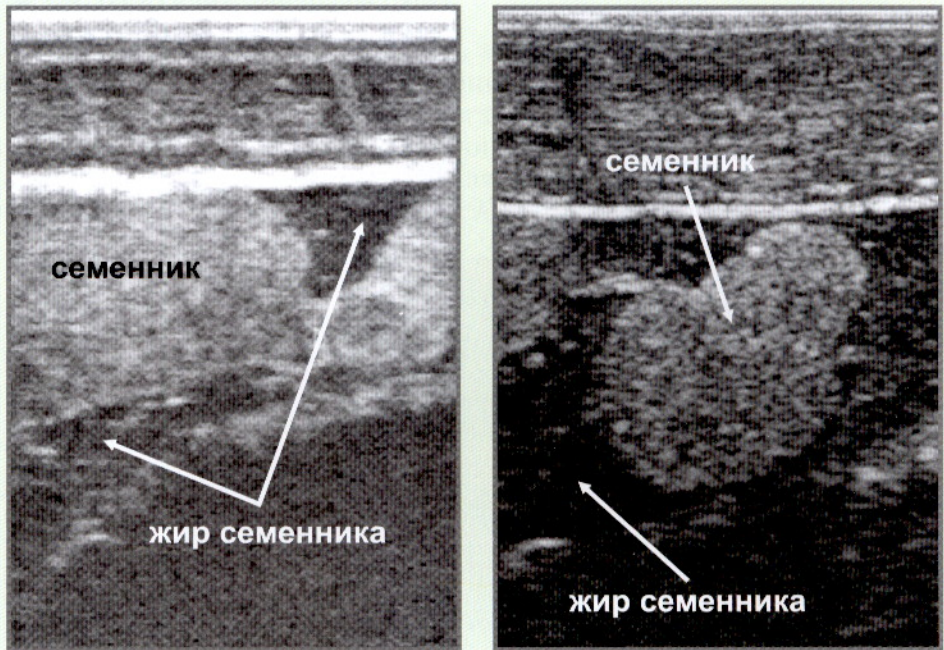


Рис. 4.11. Эхограммы продольного среза семенника осетра третьей стадии зрелости (M3) после зимовки

За счет высокого темпа роста семенников в период прекращения линейного роста тела (обычно, в период зимовки рыб) на эхограмме они выглядят «смятыми» или «дольчатыми» с плавно изгибающимися краями или в виде отдельных округлых гиперэхогенных однородных структур.

На стадии III эхогенность генеративной части семенника значительно усиливается (Чебанов и др., 2004). На эхограмме семенники выглядят как однородная мелкозернистая структура светло-серого (иногда почти белого) цвета с четкими гиперэхогенными границами (рис. 4.10, 4.11).

Генеративная часть семенника плотно прилегает к мышцам. В некоторых случаях хорошо заметны две яркие гиперэхогенные линии – границы гонады и выстилки брюшины (серозная оболочка). С латеральной стороны гонады жир полностью отсутствует, оставаясь в небольшом количестве с медиальной стороны, и выглядит на эхограмме как тонкая гипозэхогенная полоса.

4.3.6. IV стадия зрелости (M4)

На данной стадии завершается процесс сперматогенеза. Семенники приобретают светлый, почти молочный цвет, полностью лишены жира (рис. 4.12). Поверхность семенника становится блестящей, «словно покрыта тонким слоем воска» (Трусов, 1972).

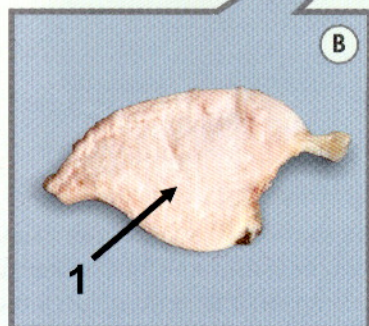
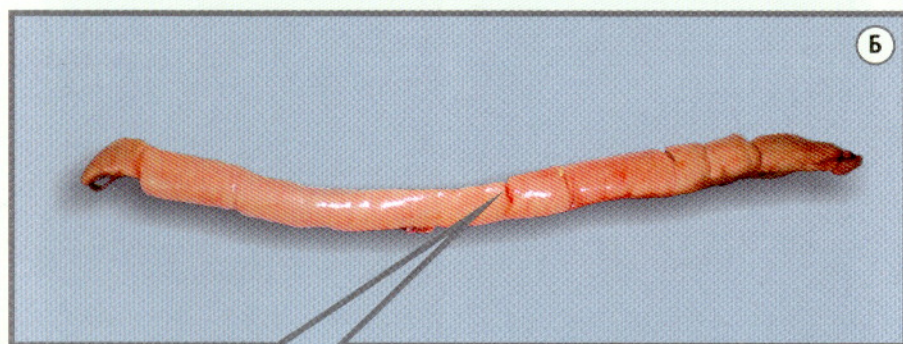
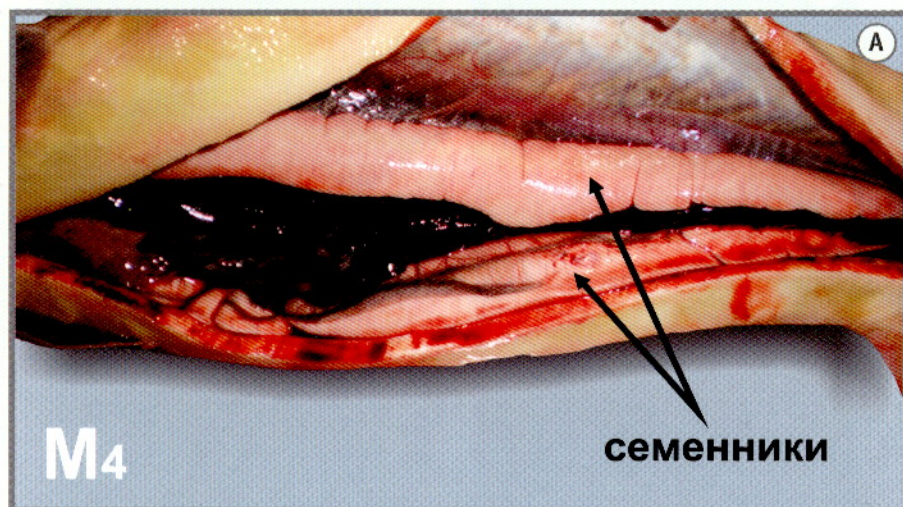


Рис. 4.12. Семенники русского осетра IV стадии зрелости (M4): возраст – 2,5 года; вес – 1,9 кг; длина (L/l) – 76,0/66,0 см. Семенники: длина – 28,5 см; вес – 65,0 (32,5/ 32,5) г; ширина – (ткань семенника) 1,9 см. А – локализация семенников в теле рыбы; Б – вид семенника; В – поперечный срез семенника (1 – генеративная ткань)

На эхограмме (рис. 4.13) семенники IV стадии визуализируются как яркая гиперэхогенная мелкозернистая однородная структура с четкими яркими краями и хорошо выраженными оболочками, которые отчетливо видны как на продольном, так и на поперечном срезе.

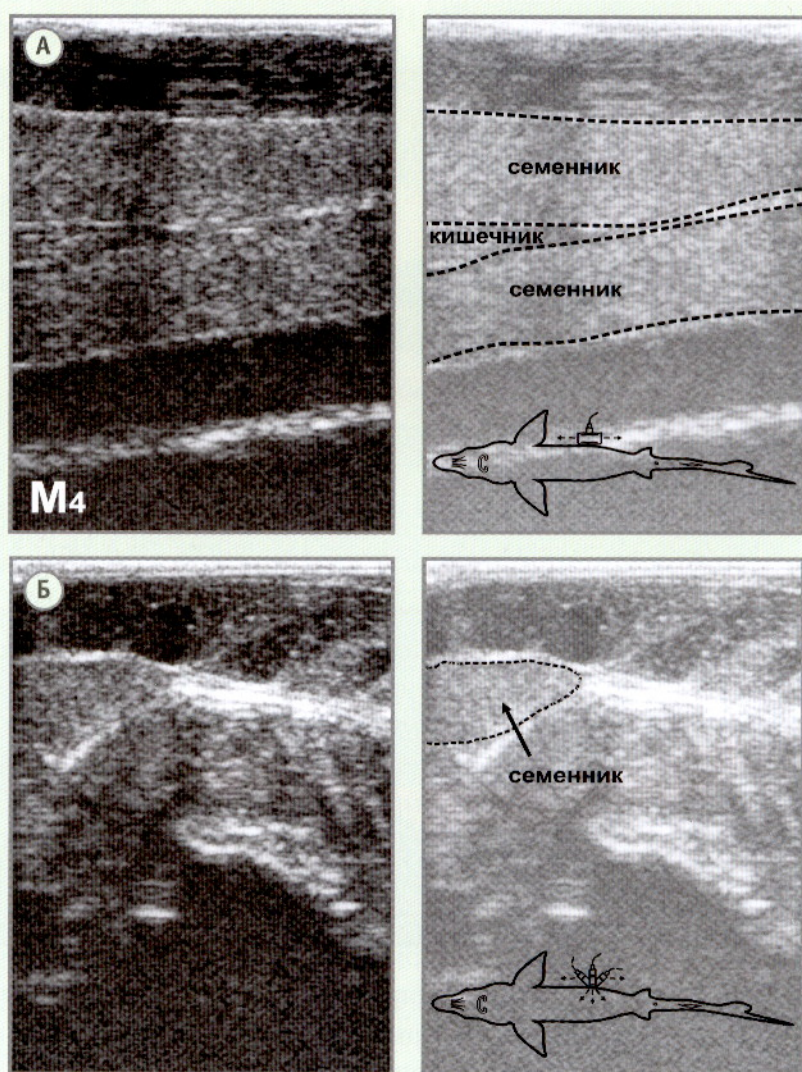


Рис. 4.13. Эхограммы продольного (А) и поперечного (Б) срезов семенников русского осетра четвертой стадии зрелости (M4)

На IV стадии зрелости гиперэхогенность семенников достигает максимального значения (на эхограмме цвет зрелого семенника приближается к белому). По степени яркости изображения семенника можно судить о степени зрелости и готовности самца к нересту.

4.3.7. V стадия зрелости (M5)

В период нереста эхогенность генеративной части гонады несколько снижается (темнеет) в результате образования семенной жидкости (рис. 4.14). Медиальная граница семенника «размывается» и в отдельных случаях может не просматриваться.

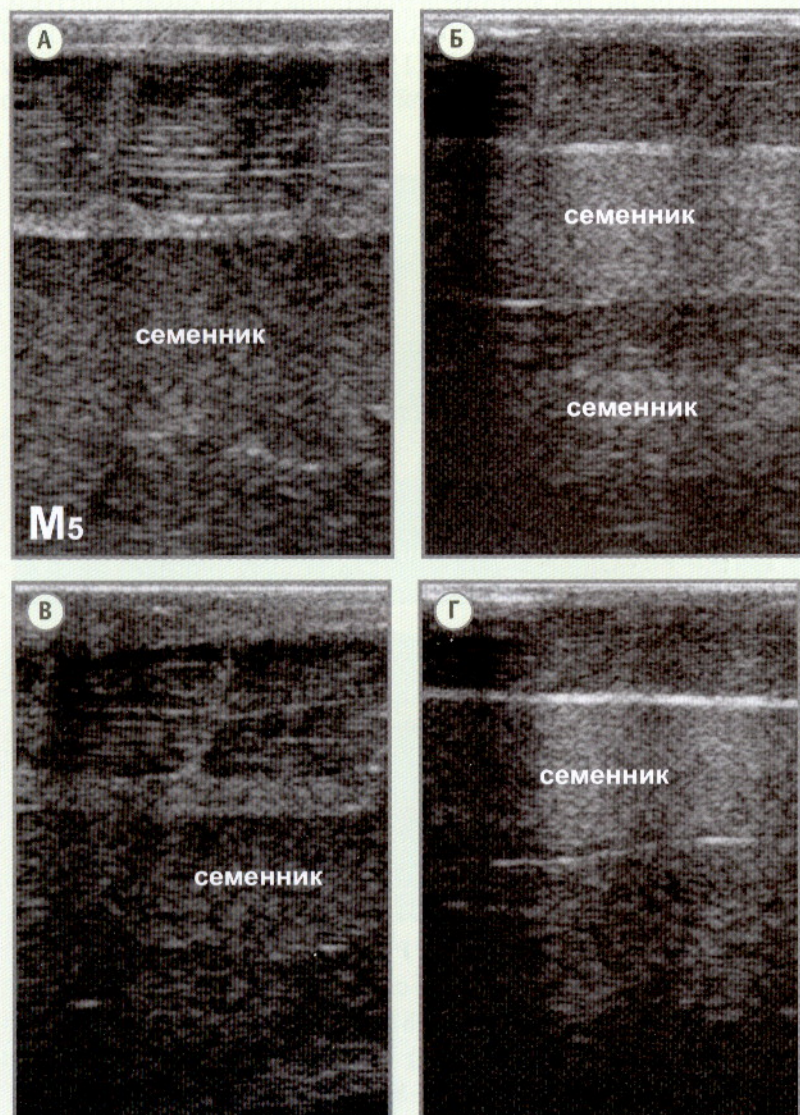


Рис. 4.14. Эхограммы продольных срезов семенников зрелых самцов (M5): А – белуга; Б – севрюга (различима вторая гонада с полностью размытыми границами); В – русский осетр; Г – шип

4.4. Анализ УЗИ изображений яичников на различных стадиях зрелости

4.4.1. I стадия зрелости (F1)

Первая стадия развития яичников осетровых рыб характеризуется появлением на латеральной стороне гонады продольной щели-борозды, более заметной в каудальной части (рис. 4.15). Половые клетки самок группируются в области щели, позднее по всей ее длине начинается формирование поперечных яйценосных пластин.

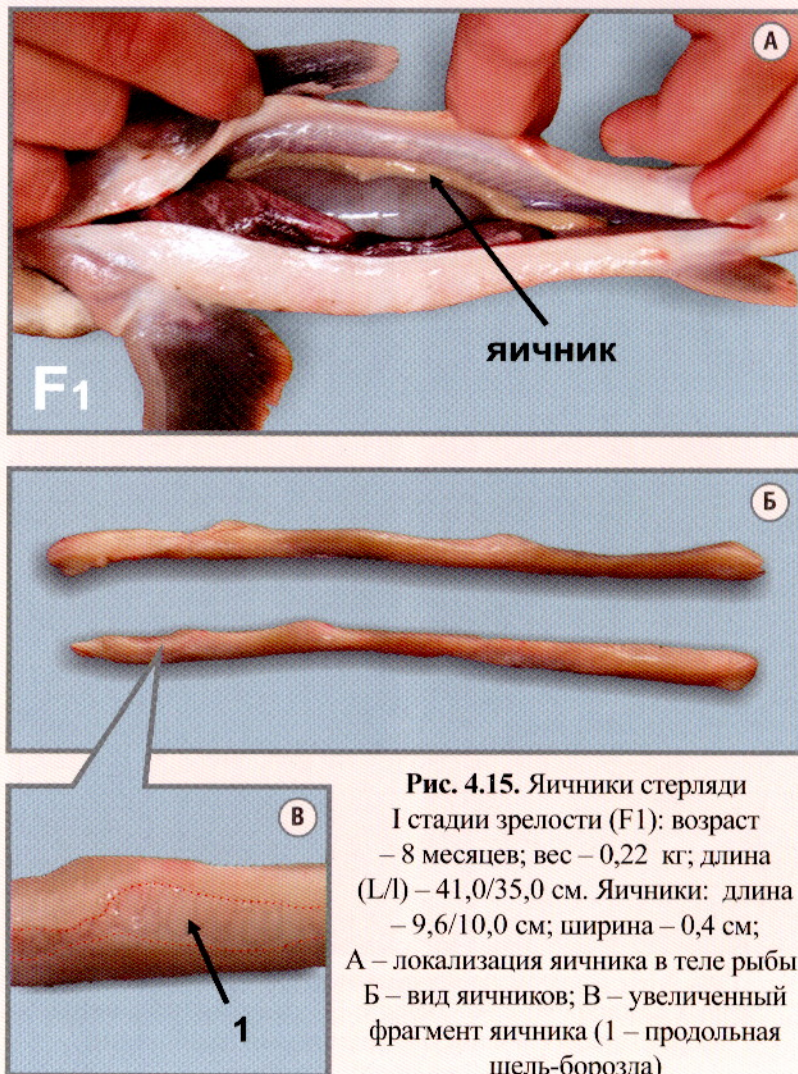


Рис. 4.15. Яичники стерляди I стадии зрелости (F1): возраст – 8 месяцев; вес – 0,22 кг; длина (L/l) – 41,0/35,0 см. Яичники: длина – 9,6/10,0 см; ширина – 0,4 см; А – локализация яичника в теле рыбы; Б – вид яичников; В – увеличенный фрагмент яичника (1 – продольная щель-борозда)

Яичники представляют собой розовато-белые или розовато-фиолетовые тяжи максимальной шириной до 5 мм, несколько сужающиеся в каудальном направлении. На гистологических препаратах для самок I стадии зрелости обнаруживаются единичные ооциты начальных ступеней протоплазматического роста.

На эхограмме яичников I стадии зрелости (рис. 4.16), в отличие от семенников, достаточно хорошо визуализируется генеративная часть гонады.

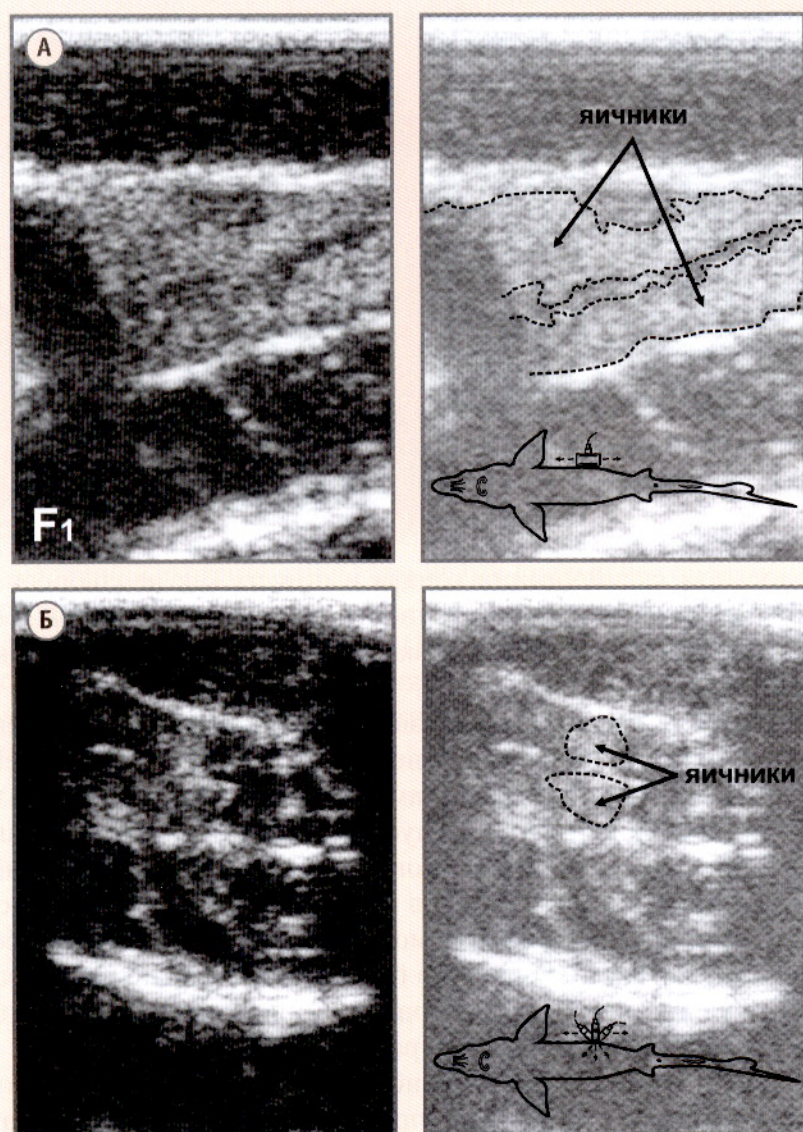


Рис. 4.16. Эхограммы продольного (А) и поперечного (Б) срезов яичников стерляди первой стадии зрелости (F1)

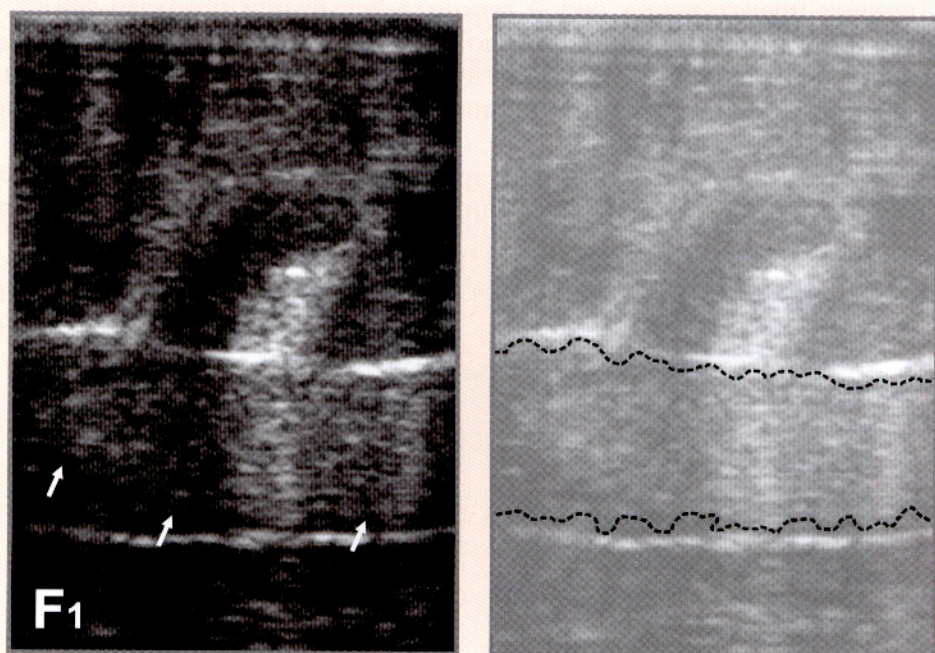


Рис. 4.17. Эхограмма продольного среза яичника русского осетра первой стадии зрелости (F1). Стрелки указывают на неровный край яичника (без оболочки)

При продольном сканировании гонада выглядит как неоднородная зернистая структура смешанной эхогенности неправильной формы, без оболочки. При поперечном срезе просматриваются обе гонады, но размеры их незначительны.

Преобладание в гонаде генеративной ткани повышенной эхогенности является причиной ошибочного отнесения самок в завершающей фазе I стадии зрелости (рис. 4.17) к самцам (рис. 4.18). Чтобы избежать подобных ошибок, особое внимание следует обращать на характер края гонады и отсутствие оболочек, что на эхограмме яичника видно по нечёткому медиальному краю гонады (Чебанов и др., 2004). Нижнюю яркую гиперэхогенную линию на рисунке 4.17 можно ошибочно принять за оболочку семенника. В действительности, это граница между тканями, по-разному проводящих ультразвук (граница гонады – кишечник), визуализируется как зона отражения на поверхности раздела.

Завершение I стадии зрелости наиболее удобно диагностировать в динамическом режиме «Сine mode», предварительно переместив датчик в каудально-краниальном направлении (при продольном сканировании), при этом у самок генеративная ткань выглядит как «наплывающая» струк-

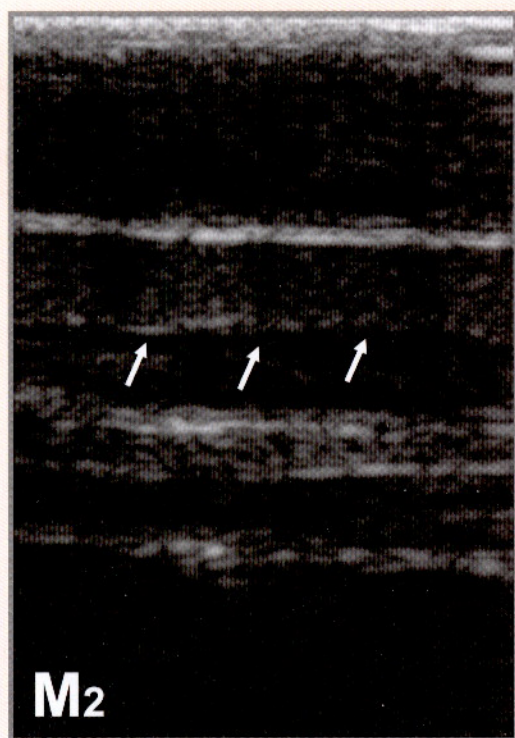


Рис. 4.18. Эхограмма продольного среза семенника русского осетра второй стадии зрелости (M2). Стрелки указывают на оболочку семенника

тура повышенной эхогенности с неровными краями без оболочек в анэхогенном жире.

Следует отметить, что I стадию (F1) отмечают только у неполовозрелых особей (один раз в жизни). Яичники половозрелых рыб после нереста переходят во вторую стадию зрелости.

4.4.2. II стадия зрелости (F2)

В начале II стадии зрелости количество жира в гонаде невелико. При этом, в отличие от самцов, на стадии (F2) жир у самок начинает аккумулироваться в генеративной части гонады, а не за ее пределами (рис. 4.19).

С латеральной стороны гонады хорошо видны «мозгоподобные» (Bruch et al., 2001) поперечные складки (яйценосные пластины). Цвет яичников варьирует от розовато-белого до желтовато-розового.

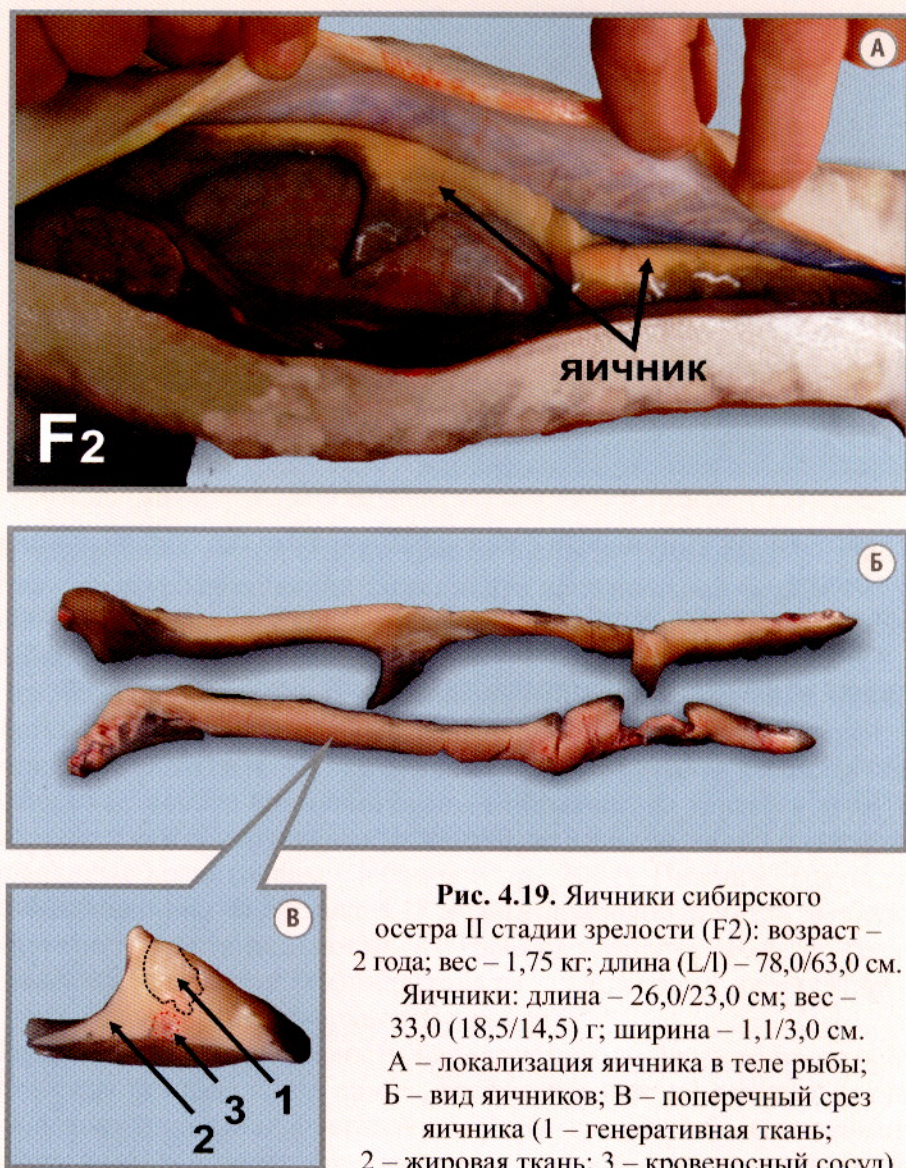


Рис. 4.19. Яичники сибирского осетра II стадии зрелости (F2): возраст – 2 года; вес – 1,75 кг; длина (L/L) – 78,0/63,0 см. Яичники: длина – 26,0/23,0 см; вес – 33,0 (18,5/14,5) г; ширина – 1,1/3,0 см. А – локализация яичника в теле рыбы; Б – вид яичников; В – поперечный срез яичника (1 – генеративная ткань; 2 – жировая ткань; 3 – кровеносный сосуд)

На эхограмме генеративная часть яичников (рис. 4.20) выглядит как зернистая «облако-образная» структура смешанной эхогенности с неровными краями, без оболочек. Жировая часть гонады как при продольном, так и при поперечном сканировании незначительна и визуализируется в виде более тёмных областей, в отличие, от более светлой генеративной ткани.

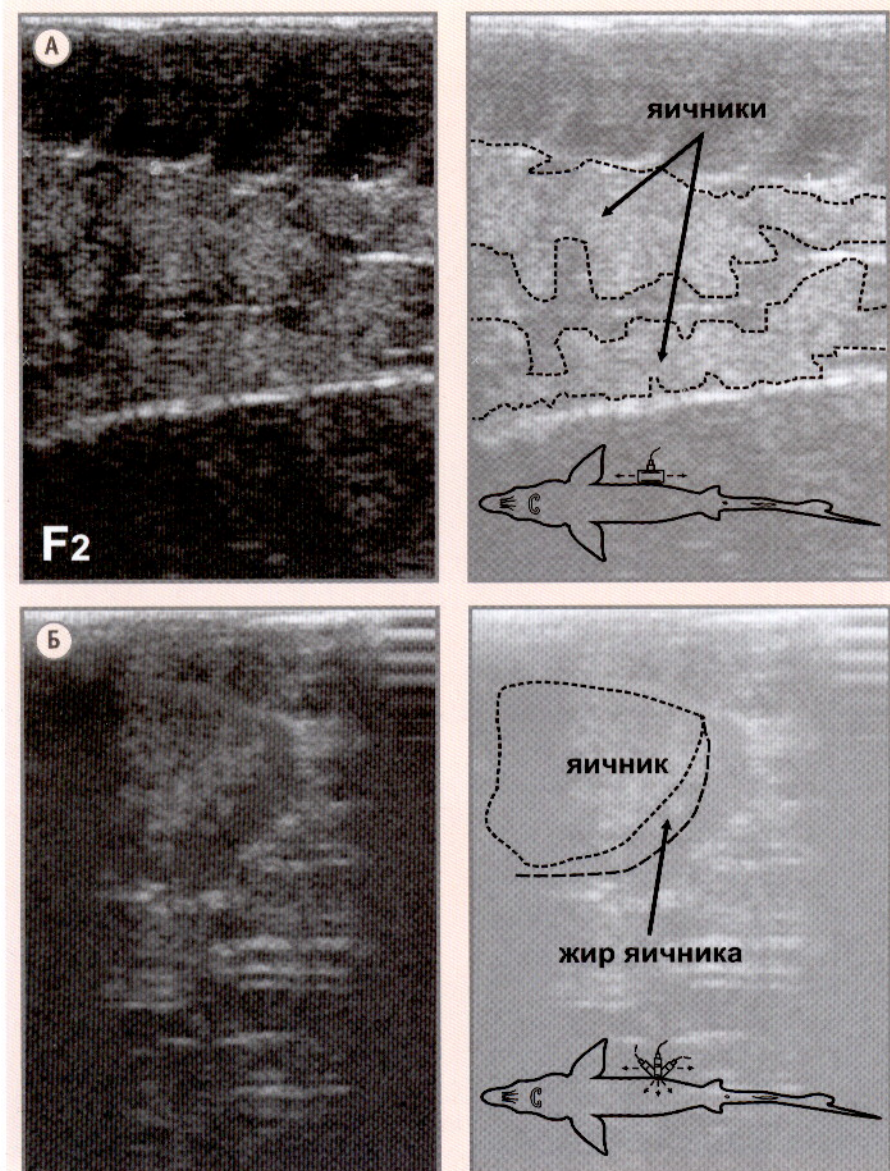


Рис. 4.20. Эхограммы продольного (А) и поперечного (Б) срезов яичников второй стадии зрелости (F2)

На II стадии (рис. 4.20 и 4.21) при достаточных размерах яичников (ширина – 5–6 мм) на фронтальном срезе самки легко идентифицируются.

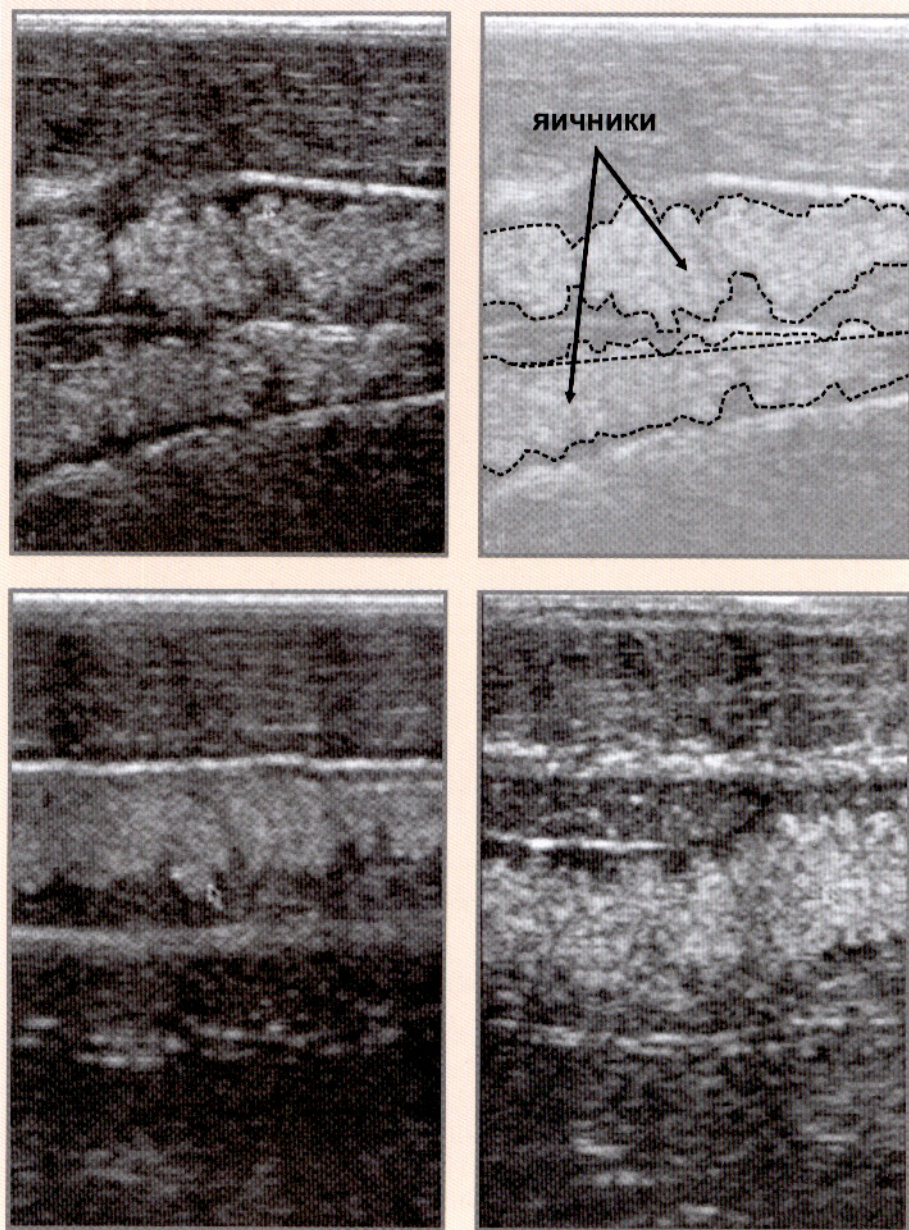


Рис. 4.21. Типичные примеры эхограмм самки второй стадии зрелости гонад (F2)

4.4.3. II полужировая стадия зрелости (F2sf)

Дальнейшее развитие яичников в период II полужировой стадии зрелости (рис. 4.22) сопровождается отложением жира, которое начинается с яйценесущих пластинок (визуально – генеративная часть гонады «обрастает» жиром), а затем продолжается на медиальной и латеральной сторонах (Трусов, 1972).

При «обрастании» жиром генеративной части яичника более чем наполовину ее ширины, но сохранении ее видимости вдоль всей латеральной стороны, гонады переходят во II полужировую стадию зрелости (F2sf).

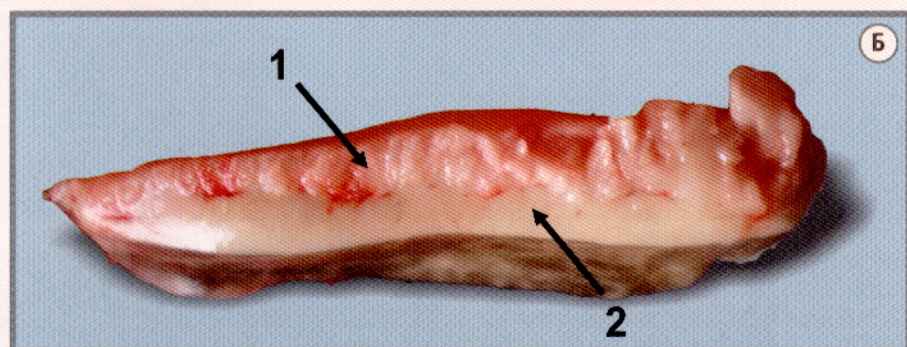
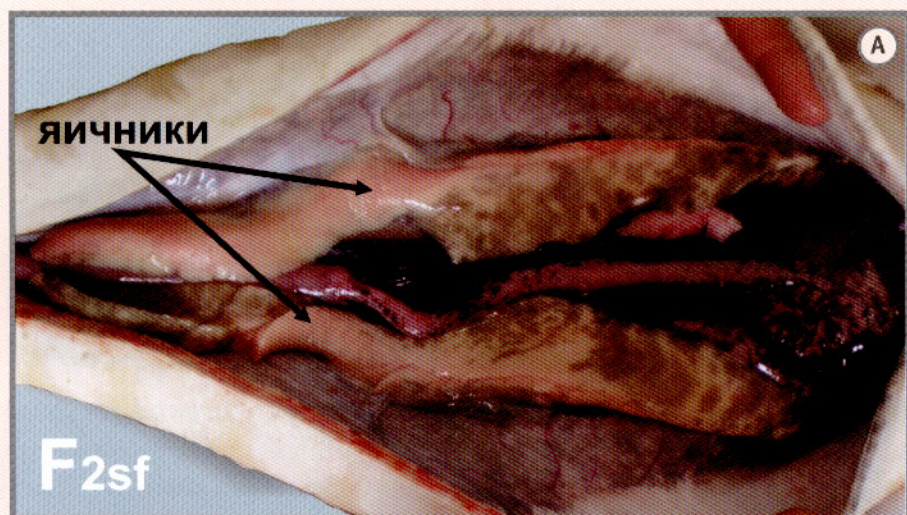


Рис. 4.22. Яичники русского осетра II полужировой стадии зрелости (F2sf):

А – локализация яичников в теле рыбы; Б – продольный срез яичника (1 – генеративная ткань яичника; 2 – жировая ткань)

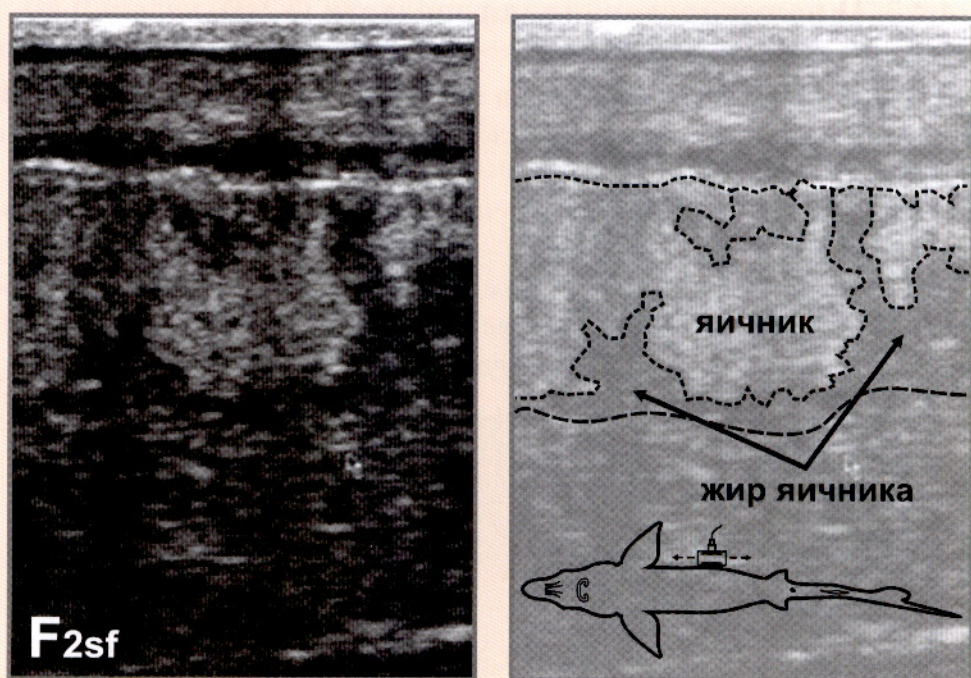


Рис. 4.23. Эхограмма продольного среза яичника самки второй полужировой стадии зрелости (F2sf)

На эхограмме (рис. 4.23) видны отдельные яйценосные пластины в виде зон повышенной эхогенности (серого или светло-серого цвета), чередующиеся с гипоэхогенными (темными) жировыми зонами. При этом яйценосные пластины «прорастают» от латеральной в медиальную зону гонады.

4.4.4. II жировая стадия зрелости (F2f)

На II жировой стадии зрелости генеративная часть гонады обрастает с латеральной и медиальной стороны жиром и оказывается покрыта жировым «чехлом» (рис. 4.24). С латеральной стороны гонады заметна жировая складка, прикрывающая практически всю генеративную часть яичника.

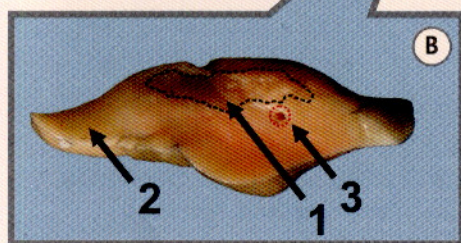
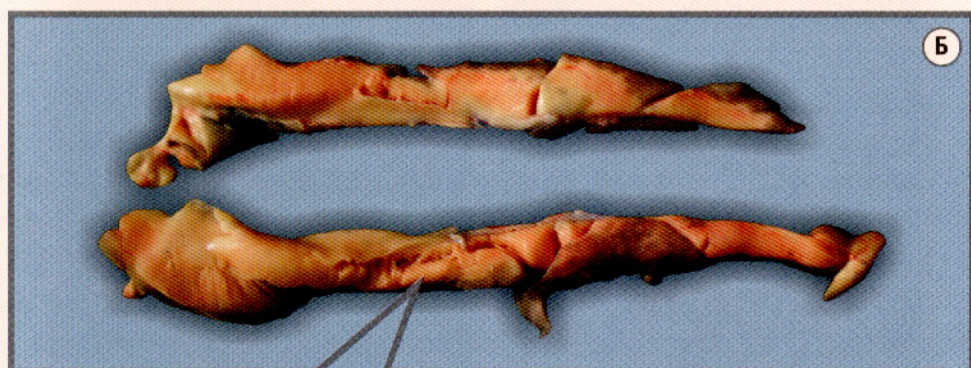
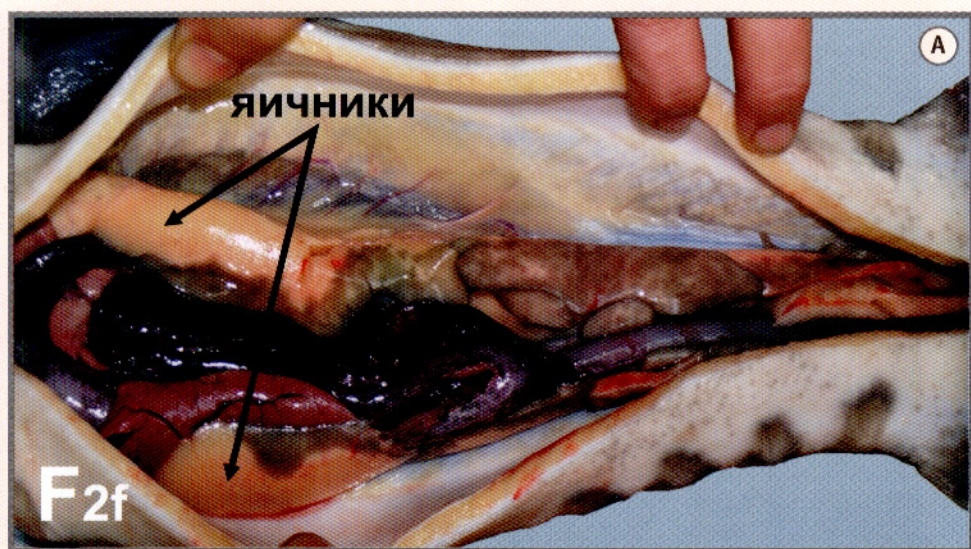


Рис. 4.24. Яичники русского осетра II жировой стадии зрелости (F2f): возраст – 30 месяцев; вес – 3,2 кг; длина (L/l) – 85,0/71,0 см. Яичники: длина – 30,2/26,0 см; вес – 126,0 г; ширина – 1,5-5,5 см.

А – локализация яичника в теле рыбы; Б – вид яичников; В – поперечный срез яичника (1 – генеративная ткань; 2 – жировая ткань; 3 – кровеносный сосуд)

В отличие от предшествующих стадий зрелости, на эхограмме изменяется видимое соотношение генеративной и жировой ткани (F2f). Генеративная (светлая, умеренно-эхогенная) ткань гонады как с медиальной, так и с латеральной стороны окружена жировой тканью (темные анэхогенные области). Между мышцами и гонадой хорошо различима анэхогенная (тёмная) прослойка жира (рис. 4.25).

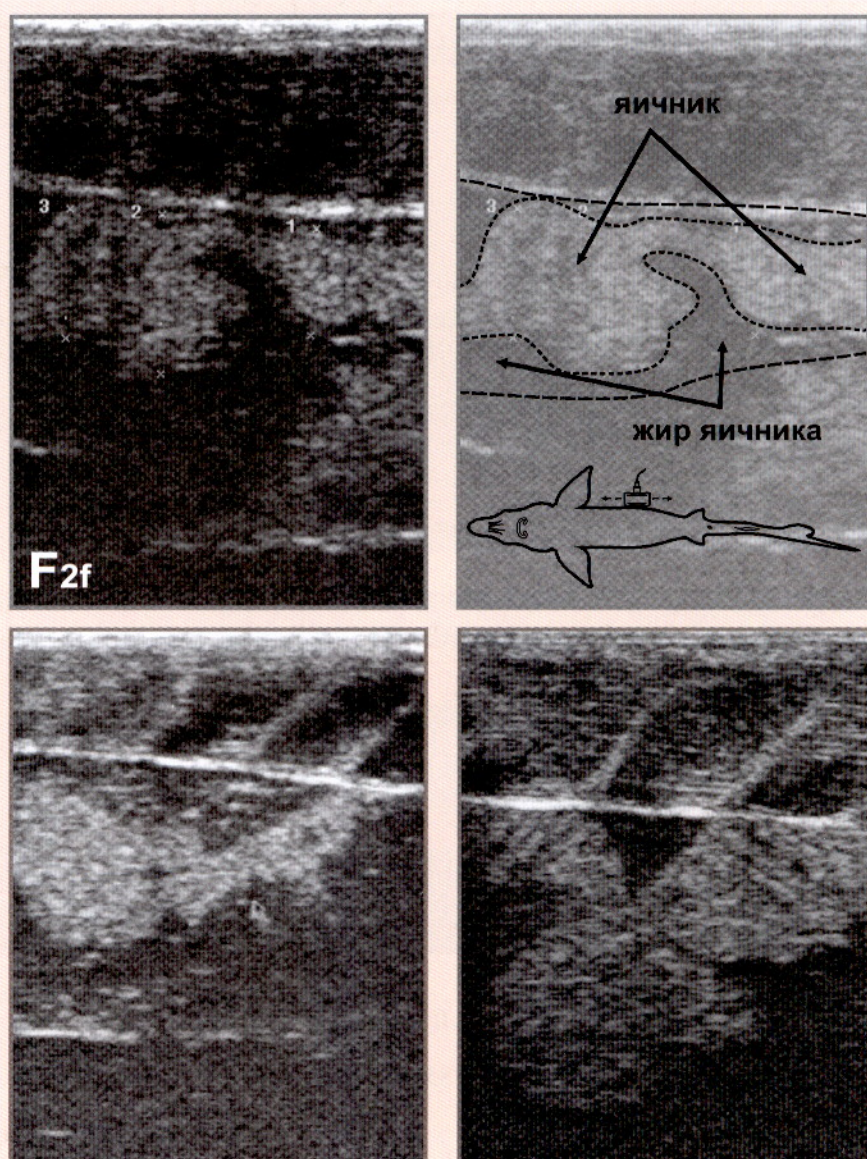


Рис. 4.25. Эхограммы продольных срезов яичников второй жировой стадии зрелости (F2f)

При поперечном сканировании (рис. 4.26) жировая (более тёмная) часть гонады окружает генеративную (более светлую), что является одним из наиболее характерных признаков эхограмм самок с гонадами II жировой стадии зрелости (F2f).

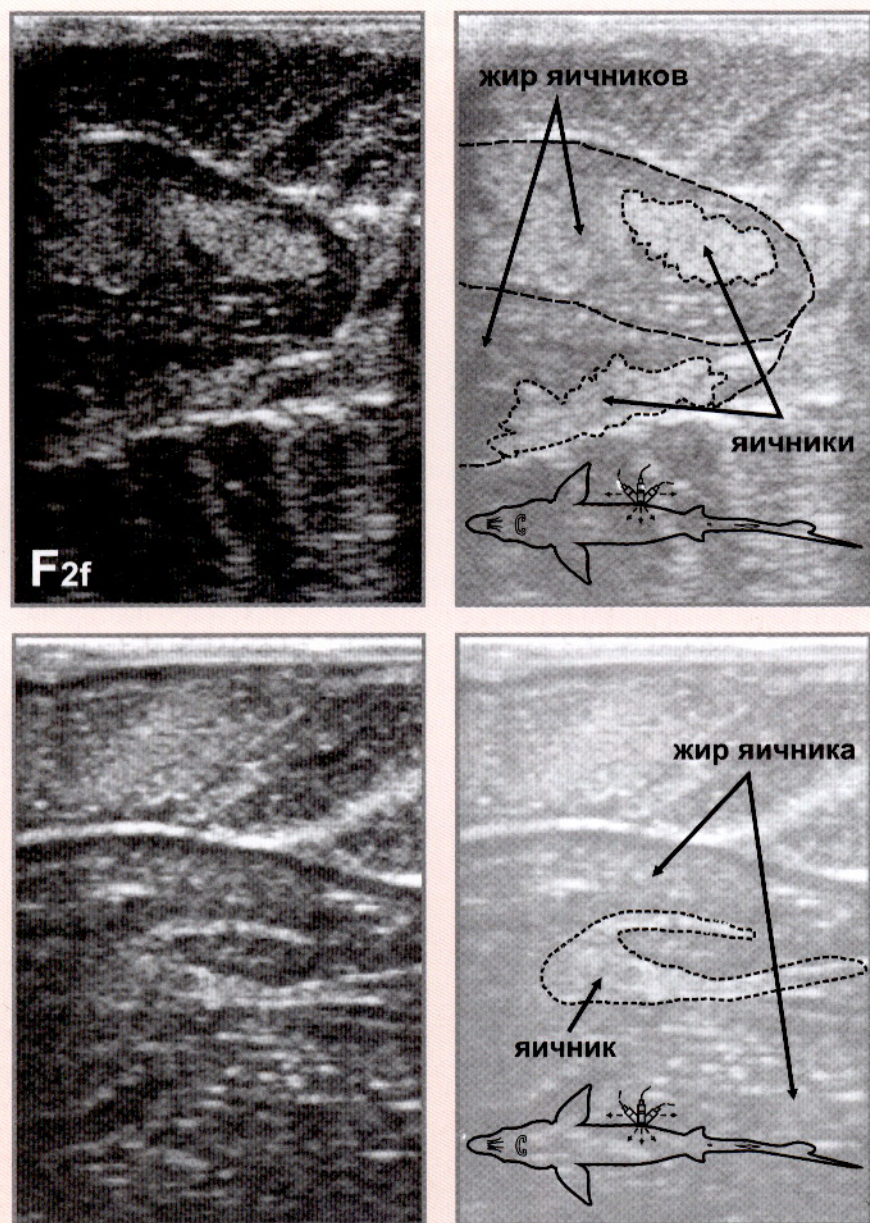


Рис. 4.26. Эхограммы поперечных срезов яичников второй жировой стадии зрелости (F2f)

4.4.5. II–III стадия зрелости (F2-3)

В период начала вителлогенеза дальнейшее созревание яичников характеризуется трофопластическим ростом ооцитов за счет продолжающегося синтеза желтка. Жирность гонад снижается, генеративная ткань становится более открытой от жира (рис. 4.27). Ооциты старшей генерации (диаметр около 0,5 мм) выступают над латеральной поверхностью яичника и за счет образования в цитоплазме жировых капель приобретают насыщенный желтоватый оттенок.

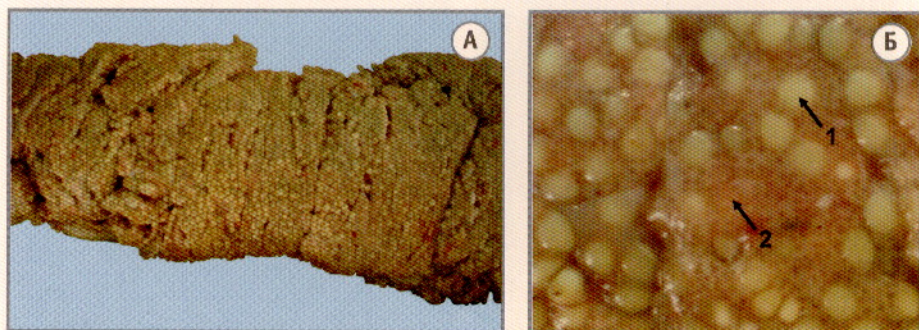


Рис. 4.27. А – вид яичника самки II–III стадии зрелости (F2-3);
Б – увеличенное изображение ооцитов
(1 – старшей генерации; 2 – младшей генерации)

На эхограмме яичник (рис. 4.28) практически полностью представлен умеренно-эхогенной генеративной тканью (серого и светло-серого цвета). Яйценосные пластины «пронизывают» тело гонады в виде разветвленных вертикальных образований («коралловидной» или «бахромчатой» формы), повышенной эхогенности, «прорастающих» в темную гипозэхогенную область (жировую ткань).

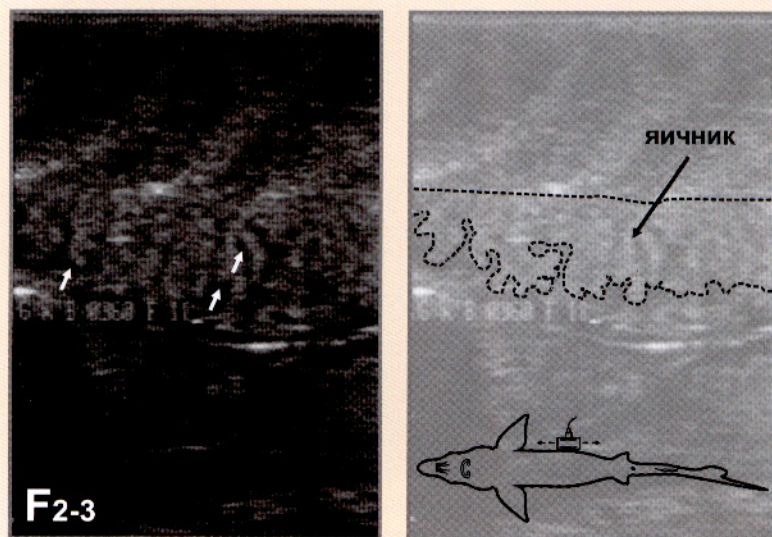


Рис. 4.28. Эхограмма продольного среза яичников самки второй-третьей стадии зрелости (F2-3) (Му Sono-201)

4.4.6. III стадия зрелости (F3)

Переход яичников на III стадию зрелости (рис. 4.29) характеризуется ростом фолликулов, утолщением яйценосных пластин и значительным увеличением линейных размеров гонад и их объема. В период начала вителлогенеза количество жира в яичнике на протяжении стадии значительно уменьшается.

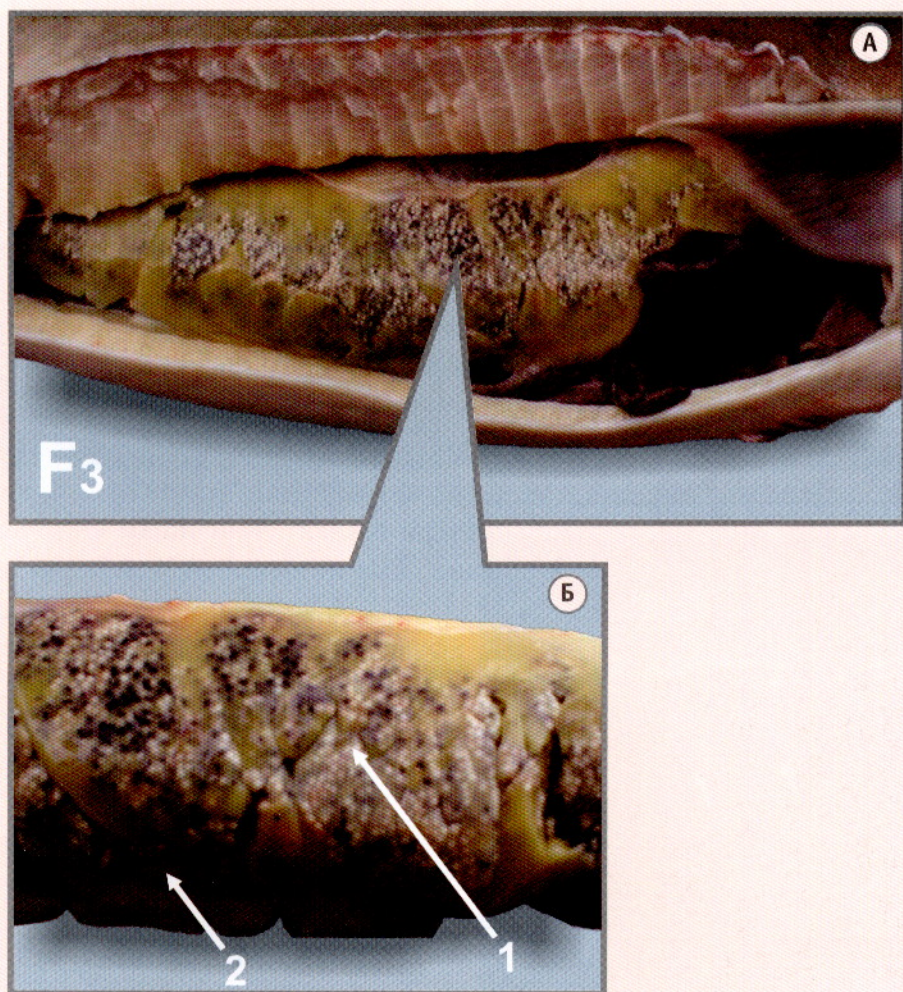


Рис. 4.29. Яичники стерляди III стадии зрелости (F3):
 возраст – 4 года; вес – 1,9 кг; длина (L/l) – 69,0/54,0 см.
 Яичники: длина – 25,0/25,5 см; вес – 205,0 (101,0/104,0) г.
 А – локализация яичников в теле рыбы; Б – вид яичника
 (1 – яичник с бело-серыми икринками; 2 – жировая ткань)

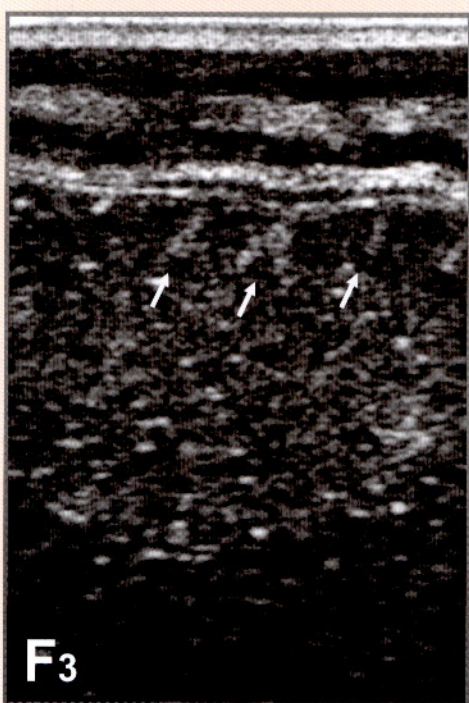
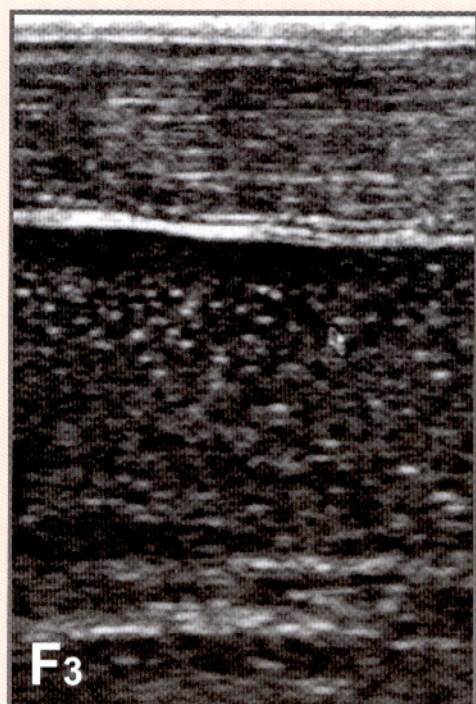


Рис. 4.30. Эхограммы
продольных срезов яичников
конца третьей- начала четвертой
стадии зрелости (F3-4).

Стрелки указывают
на яйценосные пластины

Икринки белого цвета увеличиваются в размерах от 0,5–0,7 мм до 1,6–2,0 мм, появляются икринки сероватого цвета. В конце стадии в гонадах, среди ооцитов старшей генерации, преобладают полностью пигментированные (серые) ооциты, поляризация ядра которых еще не выражена, что является характерным визуальным признаком III стадии зрелости.

На эхограмме яичники III стадии зрелости приобретают отчетливо выраженную зернистую структуру (рис. 4.30). Яйценосные пластины на эхограмме визуализируются в виде светлых размытых участков, «погруженных» в гипоехогенную генеративную ткань, в которой просматриваются мелкие ооциты.

В дальнейшем небольшие участки яйценосных пластин просматриваются только в латеральной части гонады. Продолжающийся рост ооцитов сопровождается снижением эхогенности генеративной ткани. Увеличение размеров гонад и накопление желтка в ооцитах приводит к поглощению эхосигнала яичником, поэтому расположенные ниже органы на эхограмме не идентифицируются.

На эхограмме яичника, находящегося на этапе завершения III– начала IV стадии зрелости при продольном и поперечном сканировании сразу под мышечной тканью визуализируются мелкие разноразмерные ооциты. У небольших рыб гонада просматривается почти полностью.

Следует отметить, что III стадия зрелости имеет весьма малую продолжительность и традиционно протекает в период летнего нагула рыбы, и при ранне-весеннем и поздне-осеннем проведении УЗИ-диагностики наблюдается редко.

4.4.7. IV незавершённая стадия зрелости (F4i)

На IV незавершённой стадии зрелости – все ооциты тёмно-серого (черного) цвета близки к дефинитивным размерам (рис. 4.31) (> 2,5 мм для русского осетра). Полярность ооцитов явно выражена, ядро смещено к анимальному полюсу. Сохраняются небольшие остатки жирового чехла, покрывающего генеративную часть гонады (в большей степени с медиальной стороны).

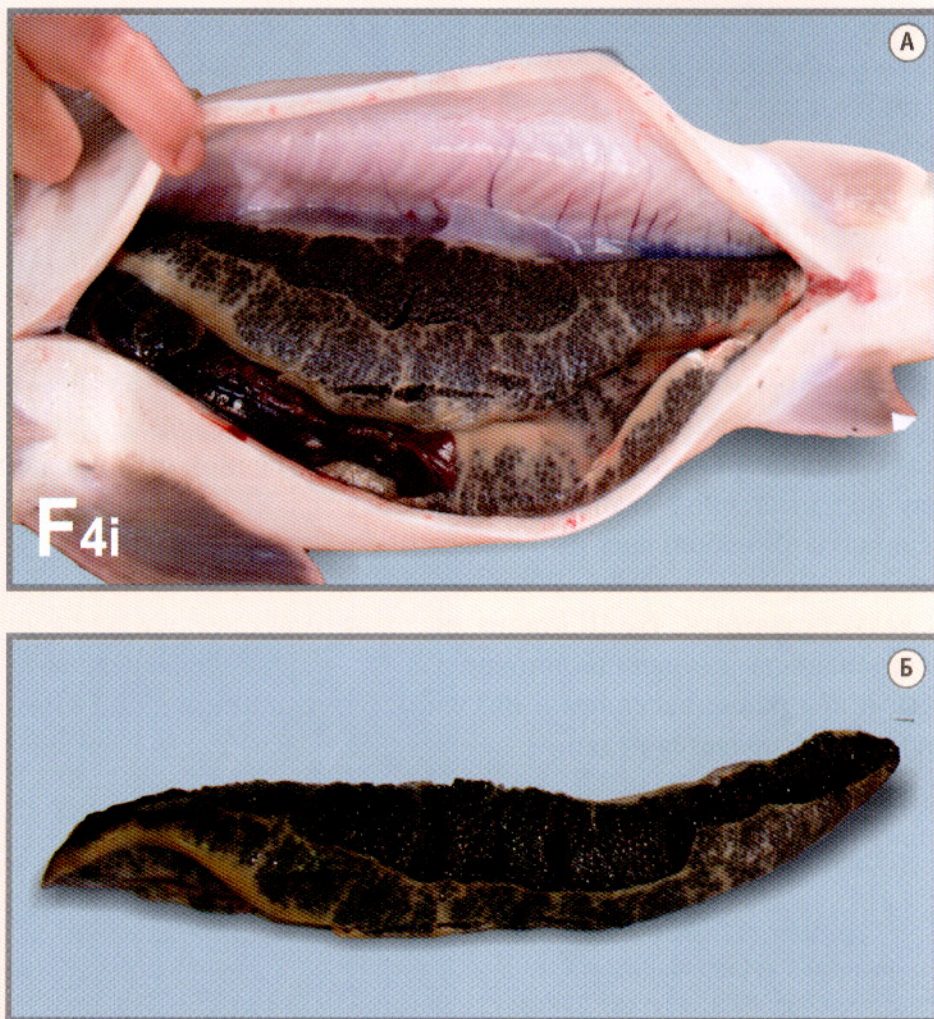


Рис. 4.31. Яичники стерляди четвертой незавершенной стадии зрелости (F4i): возраст – 30 месяцев; вес – 2,0 кг; длина (L/L) – 73,0/57,0 см. Яичники: длина – 29,3/29,0 см; вес – 267,0 г. А – локализация яичников в теле рыбы; Б – вид яичника

На эхограмме (рис. 4.32) хорошо различимы крупные, однородные по размеру ооциты. Способность яичников пропускать ультразвуковые волны значительно снижается и медиальная сторона гонады, как и нижележащие органы, уже не просматривается (Чебанов и др., 2004).

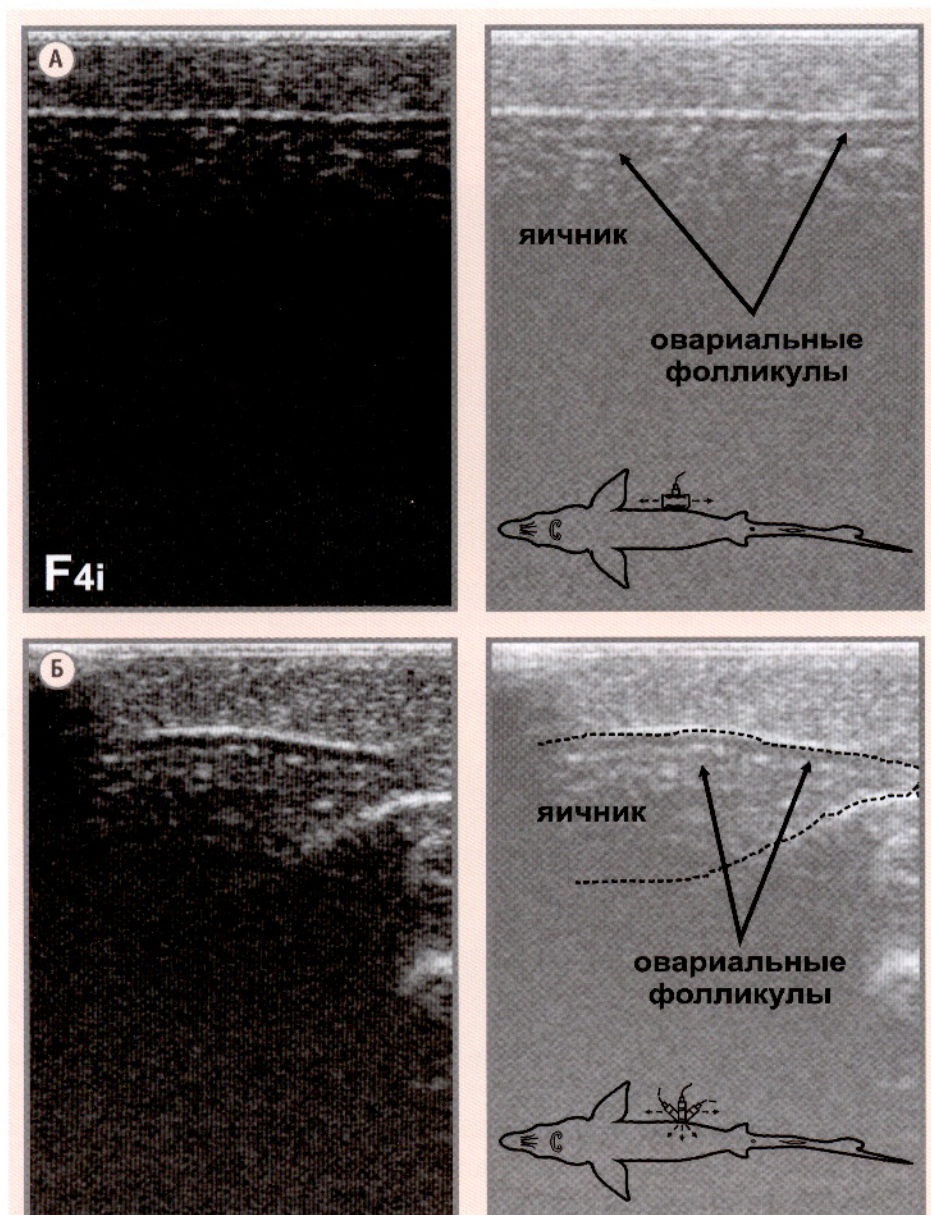


Рис. 4.32. Эхограммы продольного (А) и поперечного (Б) срезов яичника четвертой незавершенной стадии зрелости (F4i)

4.4.8. IV завершённая стадия зрелости (F4c)

На IV завершённой стадии зрелости (при состоянии развития гонад, когда отмечается готовность самок к гормональной инъекции) (рис. 4.33) яичники занимают практически всю полость тела, жир отсутствует, а полностью пигментированные ооциты (чёрного цвета) достигают дефинитивных размеров (диаметр $> 2,9$ мм, вес $> 16,7$ мг для русского осетра). Ядро ооцита смещено близко к анимальному полюсу и находится в мелкозернистой зоне желтка (Детлаф и др., 1981).

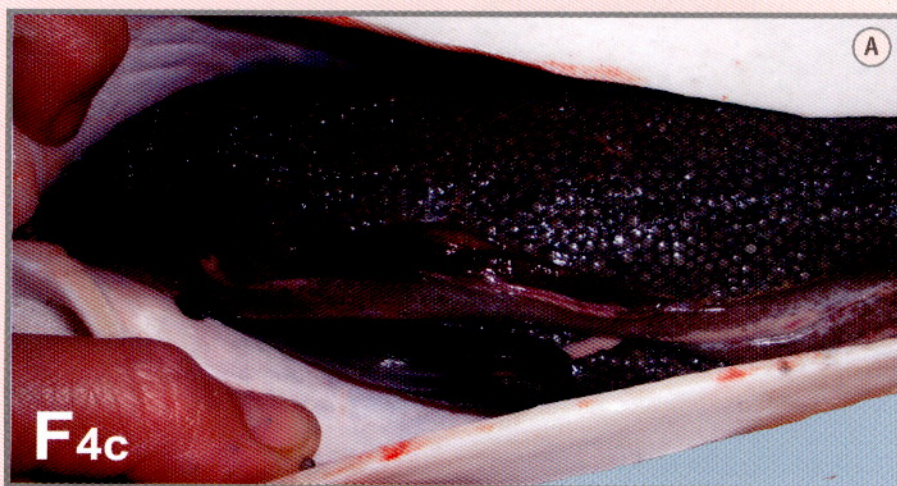


Рис. 4.33. Локализация гонад в теле стерляди IV завершённой стадии зрелости (F4c): возраст – 30 месяцев; вес – 2,1 кг; длина (L/l) – 74,0/61,0 см. Яичники: длина – 31,5/30,0 см; вес 383,0 г.

А – локализация яичников в теле рыбы; Б – вид яичников



Рис. 4.34. Эхограммы продольного (А) и поперечного (Б) срезов яичника самки четвертой завершённой стадии зрелости (F4c)

На эхограмме (рис. 4.34) видны отдельные икринки в виде зернистых включений практически одинакового размера, яичник имеет зернистую неоднородную структуру (Чебанов и др., 2004; Чебанов, Галич, 2009). Ряды (линии) ооцитов более выражены.

При этом ультразвук практически полностью поглощается в верхнем (1 см) слое яичника и поэтому нижележащая часть гонады и органы под ней не визуализируются.

Таким образом, основными отличиями эхограмм IV завершённой от IV незавершённой стадии зрелости яичников являются: более выраженные **ряды** одноразмерных ооцитов, большее поглощение эхосигнала верхним слоем зрелых ооцитов и отсутствие визуализации нижней (медиальной) части яичника.

4.4.9. V стадия зрелости (F5) – нерест

На эхограмме (рис. 4.35) хорошо визуализируются овулировавшие икринки одинакового размера, расположенные рядами. Это основное визуальное отличие эхограммы гонад в стадии зрелости V при продольном сканировании от IV завершённой стадии. За счет накопления в фолликулах значительного количества жидкости под ооцитами отмечается эффект дистального усиления, который на экране монитора выглядит как гиперэхогенные (белые) пунктирные линии более контрастные, чем на эхограммах IV стадии.

Следует отметить, что описанные выше отличия IV незавершенной (F4c) и V стадии (F5) зрелости яичников позволяют точно определить время полной овуляции икры, что имеет важное значение для рыбоводной практики. Во избежание стресса, для оценки степени овуляции крупных рыб (белуги и др.) рекомендуется использовать метод УЗИ, оставляя рыб в воде.

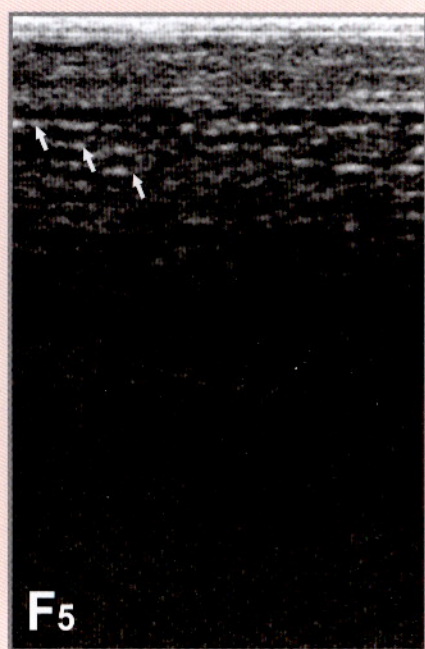


Рис. 4.35. Эхограмма яичника самки пятой стадии зрелости (F5)

4.4.10. VI стадия зрелости (F6)

После естественного нереста или искусственного прижизненного отбора икры у зрелых самок оставшиеся зрелые ооциты резорбируют, в яичнике остаются только ооциты младшей генерации. Яичники отнерестившихся рыб переходят во II стадию половой зрелости.

Типичные изображения яичников VI стадии зрелости приводятся в работе Р. Брука (Bruch et al., 2001), который отмечает, что «непосредственно после нереста в яичниках образуются складки, их ткань выглядит как бесформенная структура, в большинстве образцов мягкая, розоватая, дряблая покрытая небольшим количеством жира, либо жир отсутствует» (рис. 4.36).



Рис. 4.36. Состояние яичника VI стадии зрелости озерного осетра (*A. fulvescens*) (Bruch et al., 2001)

Эхограмма яичника на VI стадии зрелости (рис. 4.37) сходна с эхограммой самок II стадии зрелости, при этом основным отличием являются оставшиеся резорбированные зрелые ооциты. Генеративная ткань гонады умеренно эхогенная. Сразу после нереста или отбора икры микрохирургическим методом (Подушка, 1999) ооциты младшей генерации малозаметны, поскольку их размеры еще малы (0,2–0,4 мм).

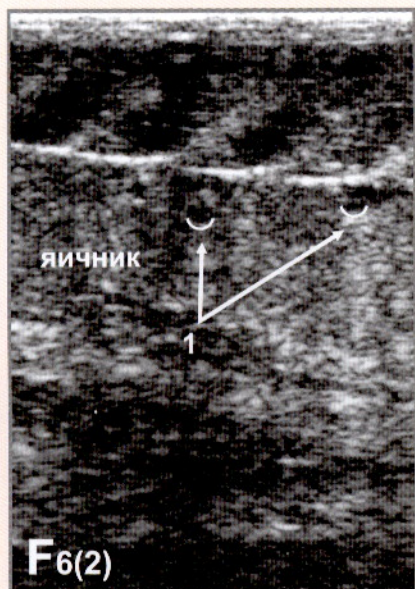
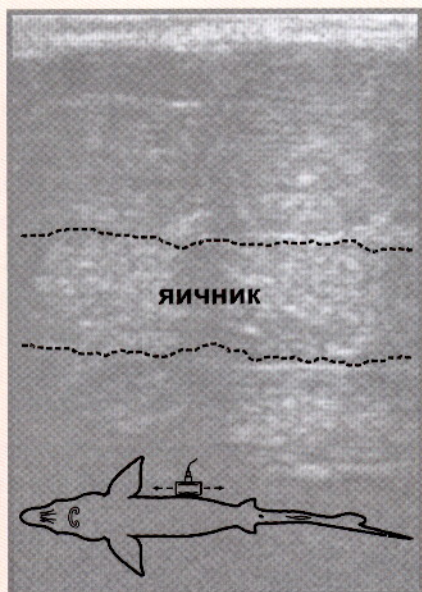
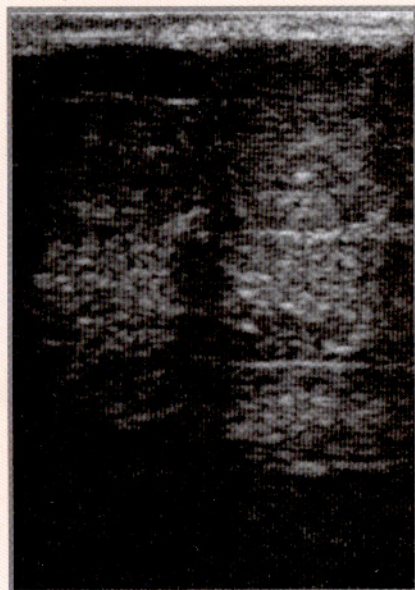


Рис. 4.37. Эхограммы гонад самки через 10 месяцев после получения зрелых половых продуктов (1 – резорбирующие зрелые ооциты)



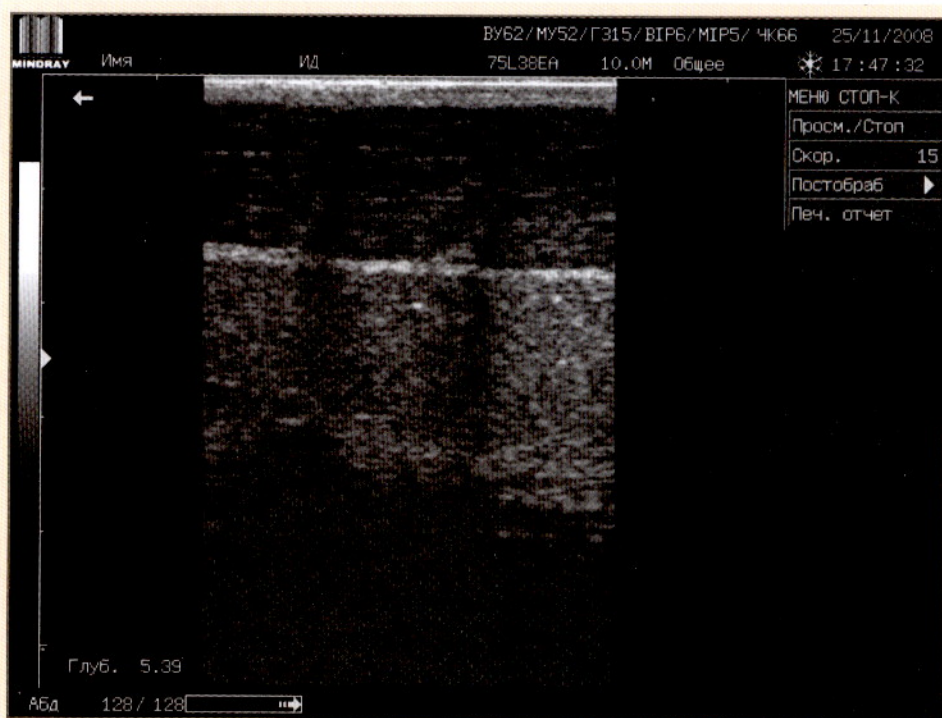


Рис. 4.38. Изображение экрана монитора УЗИ-сканера с эхограммой самки русского осетра VI стадии зрелости (в левой части экрана размерная шкала в см)

Через шесть месяцев после нереста, на эхограмме наблюдаются единичные резорбированные ооциты (гипоэхогенные включения неправильной формы), а также становятся видны мелкие разноразмерные ооциты новой генерации.

Следует отметить, что эхограммы гонад отнерестившихся рыб несколько отличаются от впервые созревающих. Это связано с накоплением жира в теле гонады, склеротизацией гематом и разрывов генеративных тканей, которые представлены зоной смешанной экзогенности. Кроме того, гонады таких рыб имеют значительно больший размер, чем у впервые созревающих, что хорошо заметно на вертикальной размерной шкале (в левой части эхограммы) (рис. 4.38).

4.5. Эхограммы производителей в период резорбции семенников и икры

4.5.1. Самцы

В летний и зимний период в хозяйствах индустриального типа, а также при длительном содержании рыб при нерестовых (и выше) температурах наблюдается перезревание самцов и резорбция семенников, которая выражается в их сильной гиперемии, разрыхлении и уменьшении размеров.

На эхограмме данный процесс выражается снижением эхогенности семенника (Чебанов и др., 1999, 2004). При этом, в начале данной стадии (рис. 4.39), оболочки и края семенника хорошо заметны, в то время как при дальнейшем перезревании они становятся менее отчетливыми.

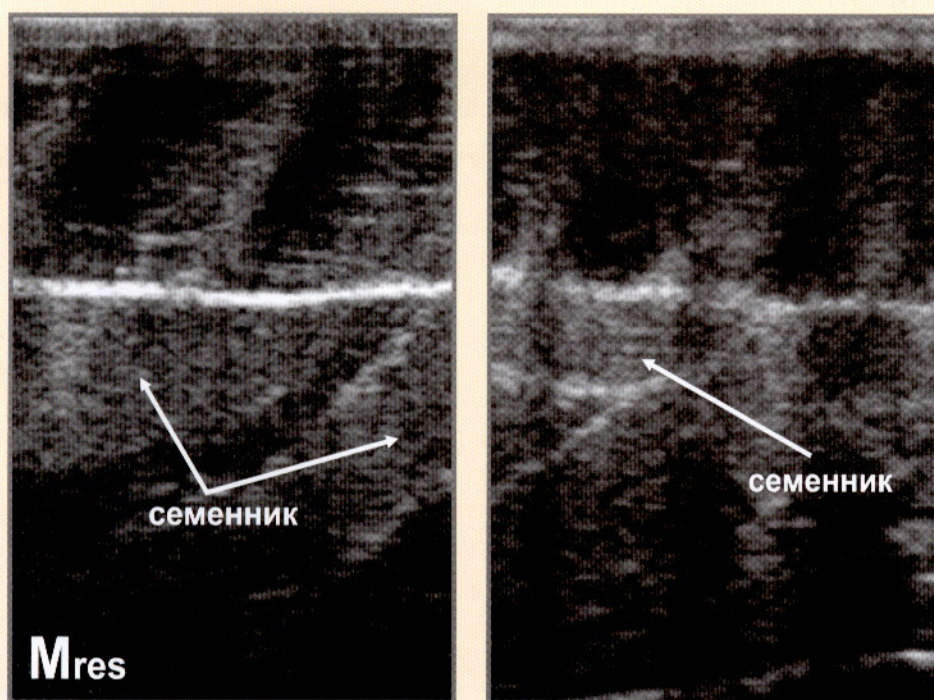


Рис. 4.39. Эхограммы резорбированных семенников самца после нереста (начало резорбции)

4.5.2. Самки

В случае выдерживания зрелых самок более 20 суток при нерестовых (и выше) температурах, в яичниках рыбы наблюдается резорбция (атрезия) зрелых ооцитов и фолликулярного эпителия (Фалеева, 1971; Гончаров и др., 2009). На эхограммах (рис. 4.40 и 4.41) этот процесс выражается следующим образом: экзогенность яичника понижается, оставшиеся зрелые ооциты приобретают неправильную форму с нечеткими краями, ооциты младшей генерации визуализируются между резорбированными икринками.

В некоторых случаях, после получения овулировавшей икры для воспроизводства (или производства пищевой икры) или после естественного нереста, гонады (F6) значительно уменьшаются в размерах и теряют прежнюю экзогенную структуру. Пол таких рыб очень сложно определить на эхограмме.

Следует отметить, что своевременная УЗИ диагностика начала частичной резорбции позволяет избежать полной резорбции зрелых овариальных фолликулов посредством контролируемого температурного режима или немедленного использования самок для искусственного воспроиз-

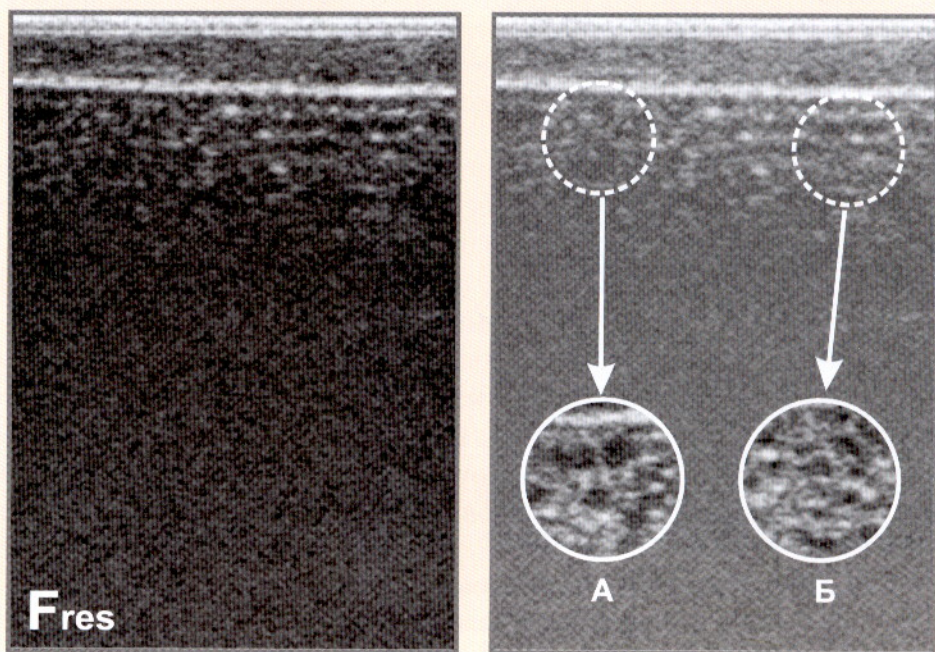


Рис. 4.40. Эхограмма самки стадии VI (Fr) с икринками в процессе начальной резорбции. А, Б – увеличенные участки яичника



Рис. 4.41. Эхограмма продольного среза яичника самки русского осетра VI стадии зрелости (F6) через четыре месяца после получения икры

водства. В некоторых случаях, когда процесс резорбции распространяется на значительную часть яичника, УЗИ-диагностика позволяет избежать неэффективного использования самок в текущем нерестовом сезоне своевременной отменой гонадотропного стимулирования.

4.6. Нетравматичный ультразвуковой мониторинг гонадогенеза крупных особей осетровых рыб

Большие возможности УЗИ-диагностика предоставляет для оптимизации формирования маточных стад редких и исчезающих видов (*ex situ* и *in situ*). Особенно это касается таких видов, как *A. sinensis* (рис. 4.42), *A. sturio*, при изучении и содержании которых использование травматичных методов (биопсия, лапароскопия, эндоскопия) нежелательно (а иногда и запрещено).



Рис. 4.42. Анестезия крупных особей китайского осетра с использованием препарата MS-222

Особенностью китайского осетра является способность к накоплению трофоπλαстических запасов, связанная с длительной (1,5 года) нерестовой миграцией (более 3300 км от устья реки) (Wei et al., 1997; Xiao et al., 2005)¹. Несмотря на необходимость значительных энергетических затрат на преодоление более 3000 км против течения (включая тёплый летний период второго года миграции, что было возможно в условиях

¹ Авторы признательны проф. Джианбо Чангу, д-ру Жу Бину (Институт Гидроэкологии, Китайской АН), а также проф. Ксяо Ху (НИИ китайского осетра) за помощь в организации нетравматичной Узи-диагностики крупных особей китайского осетра из доместцированного маточного стада.

юга Китая только в очень глубокой реке), китайский осётр в р. Янцзы не питался. Конечно, это требовало предшествующего накопления значительных трофопластических запасов в период нагула в море и эстуарии р. Янцзы.

Из-за значительного накопления жира, как отмечали (Fan et al., 2006), даже при вскрытии рыб, визуально определять пол и степень зрелости гонад китайского осетра надёжно возможно только в возрасте 5 лет (у рыб с массой от 18 до 25 кг). Хотя самки могут достигать II стадии зрелости гонад уже в возрасте 3 года, массой 4–8 кг, из-за накопления жира в гонадах использование биопсии очень затруднительно, поскольку ширина генеративной ткани достигает только 1,5–2,5 мм.

В связи с большими размерами некоторых видов осетровых (калуга, белуга, китайский и белый осётр) использование при УЗИ-сканировании стандартного линейного трансдюсера (Глава 1, рис. 1.1) с частотами 5–7,5–10 МГц, хотя и позволяющего получать эхограммы с высоким разрешением (Chebanov, 2005), но имеющего, в связи с высокими частотами ультразвука, относительно малую глубину сканирования (проникновения), неэффективно.

Поэтому основным датчиком при сканировании крупных особей является конвексный трансдюсер (рис. 4.43) с частотами 2–3,5 МГц, с глубиной проникновения ультразвука более 20 см, но, к сожалению, имеющий относительно низкую разрешающую способность (Чебанов, Галич, 2009).

В ряде случаев для крупных особей (более 80 кг) проводят анестезию в бассейне глубиной воды 40–50 см.

В практике осетроводства используются следующие анестетики:

– **трикаинметансульфонат (MS-222)** 40 мг/л (ванны). В мягкой слабощелочной воде (< 30 мг/л CaCO_3) необходимо повышать pH добавлением NaHCO_3 . Например, в раствор MS-222 100 мг/л необходимо добавлять 200–250 мг бикарбоната натрия;

– **гвоздичное масло:** эвгенол – 4-allyl-2-methoxyphenol ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2$) – 70–90%, ацетат эвгенола до 17% и kariofilen-5 до 12% (Коуржил и др., 2004). Концентрация гвоздичного масла 0,1 мл/л была эффективно использована для анестезии различных видов и гибридов осетровых (Подушка, Чебанов, 2007). В случае использования 5% раствора эвгенола (95% этанола) – ванны при температуре воды 15°C – 200 мг/л, при более высоких, выше 20°C, – 100 мг/л (Mohler, 2003). Другие авторы (Van Eenennaam et al., 2001) при использовании гвоздичного масла применяли концентрацию 17–60 мг/л.



Рис. 4.43. Нетравматичное ультразвуковое определение пола и стадий зрелости крупных особей китайского осетра (сканирование проводилось, оставляя рыбу в воде)

Чувствительность рыб к воздействию гвоздичного масла зависит от температуры воды, при более высоких температурах анестезия и процесс восстановления наступают быстрее. Вместе с тем, следует отметить, что при использовании этого препарата процесс восстановления производителей дольше в 5–6 раз, чем при использовании MS-222.

Кроме того, можно использовать прописцин (*Propiscin*) для орошения жабр (Trzebiatowski et al., 1996), или 5% раствор кетамина, который перед орошением жабр разводится физиологическим раствором в концентрации 1:3. Также возможно внутривенное введение 5% раствора **кетамина-гидрохлорида** (*Ketamine* – $C_{13}H_{16}ClNO$), 4–10 мг/кг массы рыбы). Анестезия достигается через 4–5 мин. и продолжается около 10 мин.

Для орошения жабр при анестезии производителей русского осетра использовались также **бензокаин** (*Benzocaine* – $C_9H_{11}NO_2$) (0,3 г/л) дозой 0,06 г, **лидокаин** (*Lidocaine* – $C_{14}H_{22}N_2O$) (0,4 г/л) 0,08 г, **новокаин** (*Novocainum* – $C_{13}H_{20}N_2O_2$) (0,4 г/л) дозой 0,1–0,2 г (Голованова и др., 2004).

Исследование проводится в режимах продольного и поперечного В-сканирования. Во время исследования все основные установки сканера, кроме фокуса, глубины проникновения и частоты проникновения ультразвука оставались постоянными.

На рисунках 4.44–4.46 приведены эхограммы самок и самцов китайского осетра с указанием размеров рыб и установки глубины фокуса сканирования (в см от поверхности тела рыбы). Различия между стадиями зрелости самцов и самок соответствуют описанным выше диагностическим признакам (п.п. 4.3. и 4.4.).

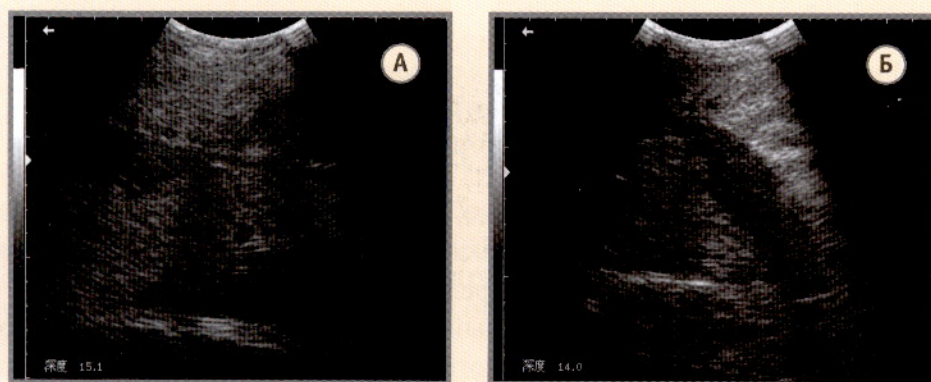


Рис. 4.44. Эхограммы яичника самки китайского осетра второй жировой стадии (F2f) (длина (L/l) – 233/200 см). А – продольный срез; Б – поперечный срез

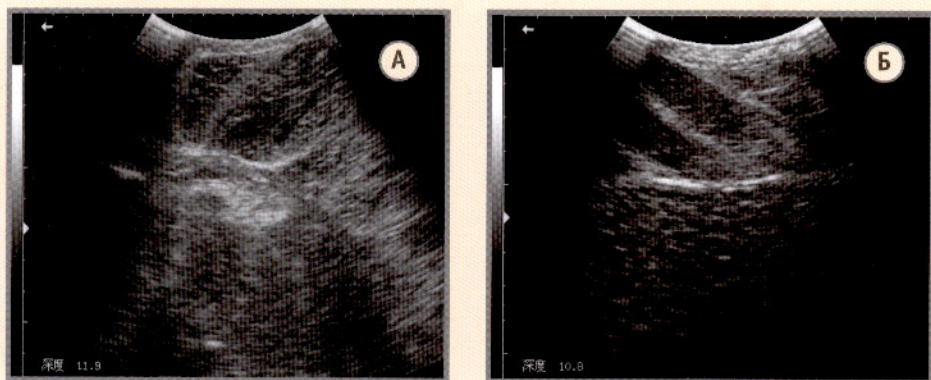


Рис. 4.45. Эхограммы яичников самки китайского осетра: А – поперечный срез самки китайского осетра второй жировой стадии зрелости (F2f) (длина (L/l) – 212/195 см, вес – 85 кг); Б – продольный срез самки китайского осетра четвертой незавершенной стадии зрелости (F4i).

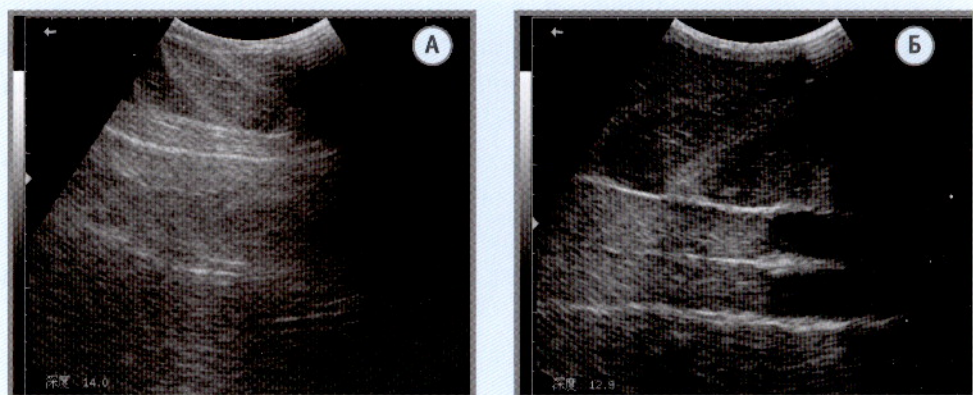


Рис. 4.46. Эхограммы продольных срезов самцов китайского осетра:
А – семенник второй стадии зрелости (M2) (длина (L/L) – 180/155 см);
Б – семенники третьей стадии III зрелости (M3) (длина (L/L) – 180/162 см)

В ходе исследования установлено, что надёжная ультразвуковая диагностика пола китайского осетра также возможна в начале II стадии зрелости (для самок в конце I стадии зрелости гонад).

Следует отметить, что постоянный мониторинг гонадогенеза осетровых из доместцированного маточного стада позволяет, как было указано ранее, предотвратить резорбцию зрелых ооцитов путём своевременного регулирования температурного режима, скоростей течения воды и прекращения кормления рыб. Кроме того, при оценке степени овуляции зрелых производителей возможно предотвратить стресс, оставляя крупных рыб в воде при проведении неоднократных УЗИ-просмотров.

ГЛАВА 5

Функциональная ультразвуковая нетравматичная диагностика внутренних органов осетровых рыб

5.1. Эхограммы внутренних органов осетровых рыб

Ультразвуковая диагностика уже давно эффективно используется в ветеринарии (Goddart, 1995) при изучении функциональных нарушений и морфологических аномалий внутренних органов сельскохозяйственных и домашних животных.

Как показали экспериментальные работы авторов, использование недорогих ультразвуковых сканеров для исследования осетровых рыб (даже младших возрастов) также возможно (Chebanov, Galich, 2009).

Вайхи и др. (Vajhi et al., 2001) показали возможность использования 5,0–7,5 МГц медицинских датчиков (глава 1) при исследовании 5 крупных диких особей персидского осетра (средние: длина 152 см, масса 25,5 кг и возраст 16,5 лет). Этими авторами были предложены оптимальные места сканирования, при проведении ультразвуковых исследований различных органов пищеварительной системы осетровых (табл. 5.1).

Таблица 5.1

Оптимальные ультразвуковые «окна» для различных органов пищеварительной системы осетровых (Vajhi et al., 2001)

Исследуемый орган	Поперечный		Поперечно-вентральный		Продольный		Сагиттально-вентральный		Пара-сагиттально-вентральный		Наклонный в области грудных плавников	
	левый	правый	левый	правый	левый	правый	левый	правый	левый	правый	левый	правый
Рот			*				*	*				
Пищевод			*				*					
У-желудок	*		*	*								
Мускульный желудок	*	*	*	*	*		*	*				
Отверстие между У-желудком и мускульным желудком											*	
Пилорус		*	*		*				*			
Нисходящая тонкая кишка	*	*	*	*	*	*	*	*				
Восходящая тонкая кишка	*	*	*	*	*	*	*	*				
Спиральная кишка	*	*	*	*	*	*	*	*				
Прямая кишка	*	*	*	*	*	*	*	*				
Пилорический придаток	*		*	*					*			
Правая и средняя доли печени		*	*		*		*	*			*	
Левая и средняя доли печени	*		*	*	*		*	*			*	
Желчный пузырь									*		*	

Примечание: сагиттально-вентральный – вдоль оси тела ближе к нижней стенке брюшной области.

Особенно важно нетравматичное изучение внутренних органов domesticированных маточных стад осетровых, включая редких и исчезающих. В данной главе рассмотрены особенности ультразвукового исследования состояния различных внутренних органов осетровых, а также диагностические признаки типичных нарушений воспроизводительной системы, заболеваний и травм внутренних органов.

5.1.1. Почки

Почки расположены между брюшной полостью (от которой отделены экзогенной оболочкой) и хордой, имеют мелкозернистую структуру по экзогенности схожую с гонадой, на поперечном срезе выглядят как миндалевидные структуры смешанной экзогенности (рис. 5.1).

5.1.2. Хорда

Хрящевая оболочка хорды при поперечном сканировании визуализируется как округлая, многослойная структура с неоднородной экзогенностью. Внешняя оболочка – хрящевая, гиперэхогенная. Хорда – область смешанной экзогенности (рис. 5.1).

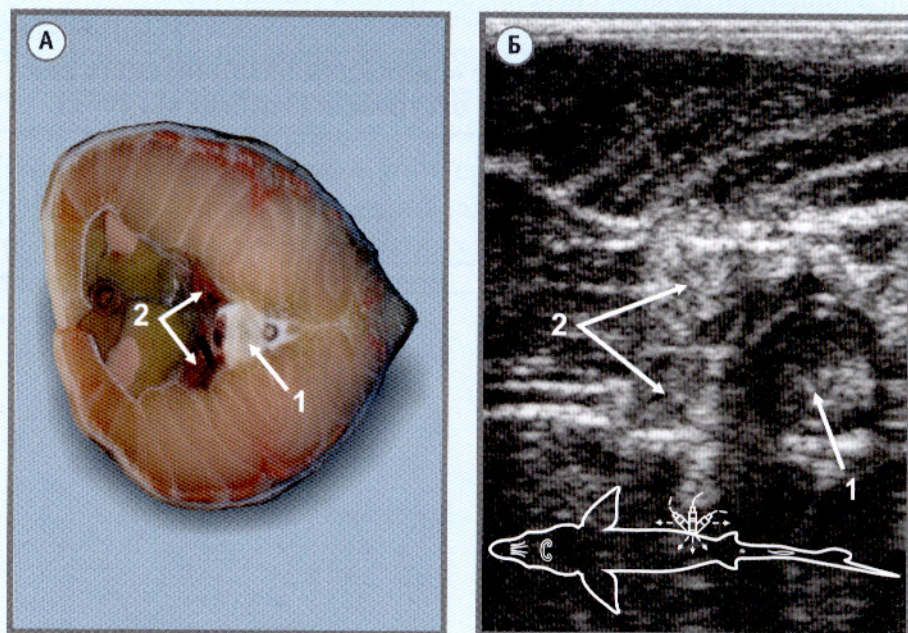


Рис. 5.1. А – поперечный срез (в области почек) самца русского осетра; В – эхограмма поперечного сканирования самца русского осетра (хорошо визуализируются: 1 – хорда; 2 – почки)

5.1.3. Печень

Обе доли печени осетровых сложно диагностировать одновременно и в полном объеме из-за анатомических особенностей. Рыбу укладывают на спину, область сканирования находится под грудными плавниками (рис. 5.2). Датчик располагают под углом 30° в поперечно-вентральном направлении.

Эхографическая структура паренхимы печени в норме – мелкозернистая, характеризуется хорошим проникновением эхосигнала (от нормальной до немного повышенной эхогенности), а также очагами повышенной эхогенности (фиброзная ткань), отличающимися от остальной паренхимы. Края здоровой печени – гладкие и острые.

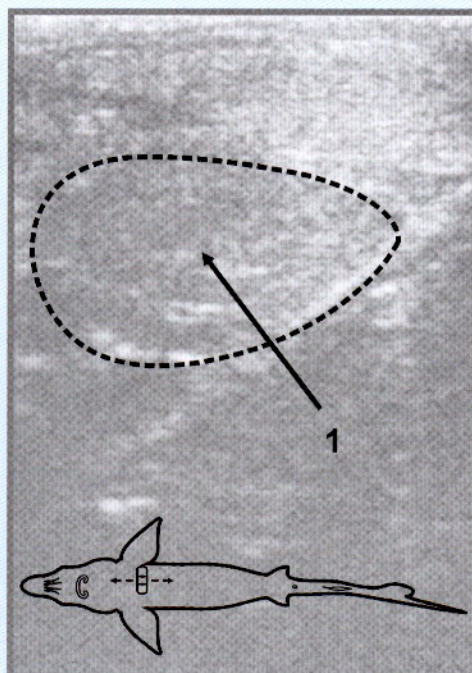
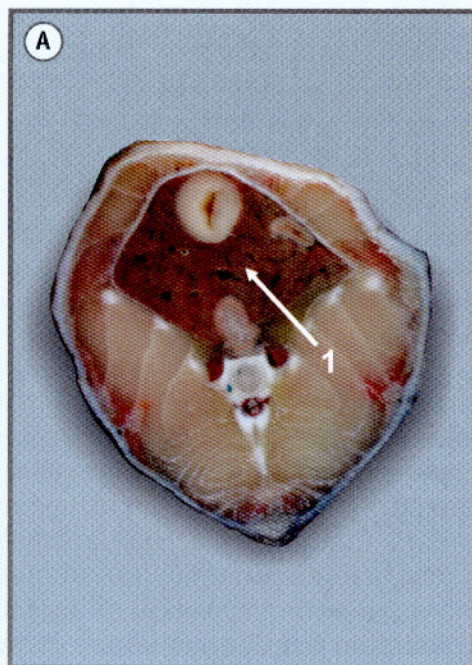


Рис. 5.2. А – поперечный срез русского осетра в районе печени;
Б – эхограмма левой доли здоровой печени (1)

5.1.4. Желчный пузырь

Желчный пузырь (рис. 5.3) располагается непосредственно под мышечной тканью, погружён в паренхиму печени и имеет неправильную округлую форму, при этом оболочка желчного пузыря на эхограмме не визуализируется. Желчь анэхогенна и выглядит на эхограмме как тёмное пятно с акустическим усилением под ним.

Для повышения эффективности использования экспресс-методов функциональной УЗИ-диагностики при мониторинге состояния здоровья особей из маточных стад, а также диких производителей и незрелых особей осетровых в ходе «доместикации» (адаптации к искусственным условиям) в будущем необходимо разработать шкалу степени патологии печени (в баллах) на основе хорошо выявляемых визуальных различий эхограмм здоровых и больных рыб. При этом в качестве диагностических признаков, визуализируемых на эхограммах различной степени поражения печени (в баллах), могут быть использованы: характер границ печени, ожирение (липоидная дегенерация), изменение структуры паренхимы и т. д.

Таким же образом может быть осуществлена подобная типизация эхограмм степени патологии желчного пузыря.

5.1.5. Сердце

При исследовании сердца (рис. 5.4) область сканирования находится в верхней зоне между грудными плавниками. При продольном положении датчика для лучшего контакта с ограниченной поверхностью следует применять акустический контактный гель. На эхограмме желудочек сердца выглядит как округлая анэхогенная область. Внешняя оболочка желудочка – зона смешанной эхогенности покрыта лимфоидной железой, имеющей пузыревидную структуру (характерную для осетровых). В глубине

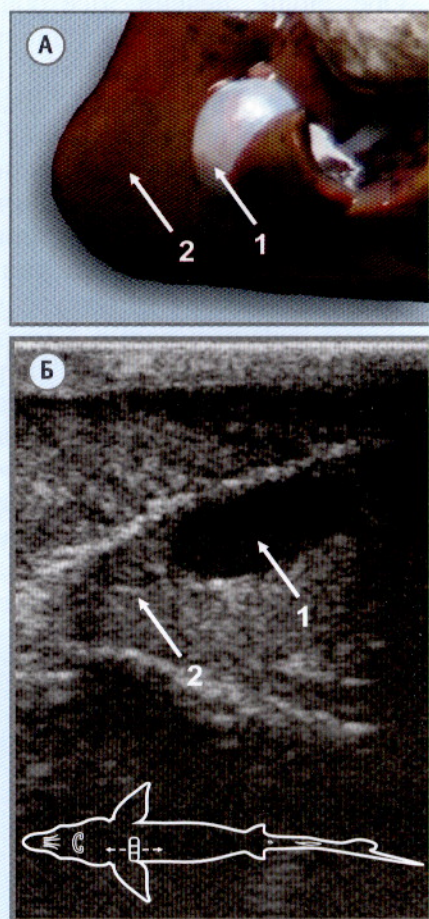


Рис. 5.3. А – вид правой доли печени (2) русского осетра с желчным пузырём (1); Б – эхограмма правой доли печени с желчным пузырём

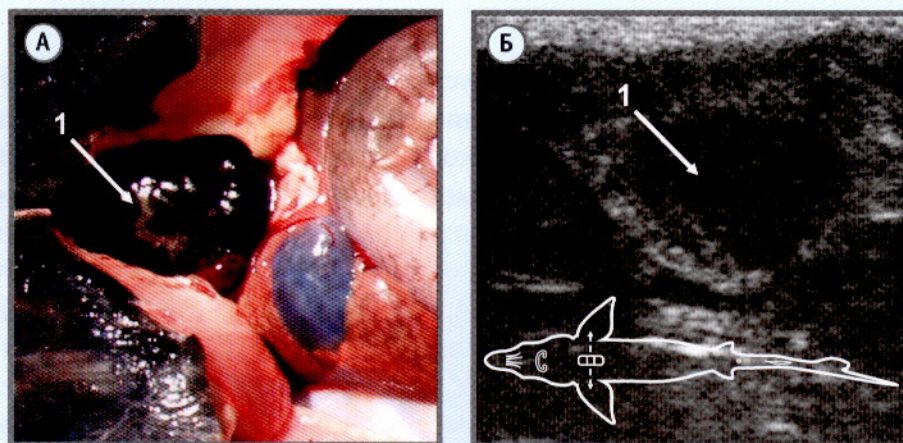


Рис. 5.4. Сердце осетра: А – сердце (1); Б – эхограмма поперечного среза

под желудочком располагаются предсердие и венозный синус, имеющий вид полой трубки с чёткими гиперэхогенными границами и внутренним анэхогенным (тёмным, почти чёрным) слоем.

5.1.6. Кровеносные сосуды

При сканировании кровеносные сосуды (рис. 5.5) выглядят на эхограмме как удлиненная полость (при продольном сканировании) или округлая структура (при поперечном сканировании) с гиперэхогенными (почти белыми) стенками и анэхогенным (почти чёрным) внутренним просветом.

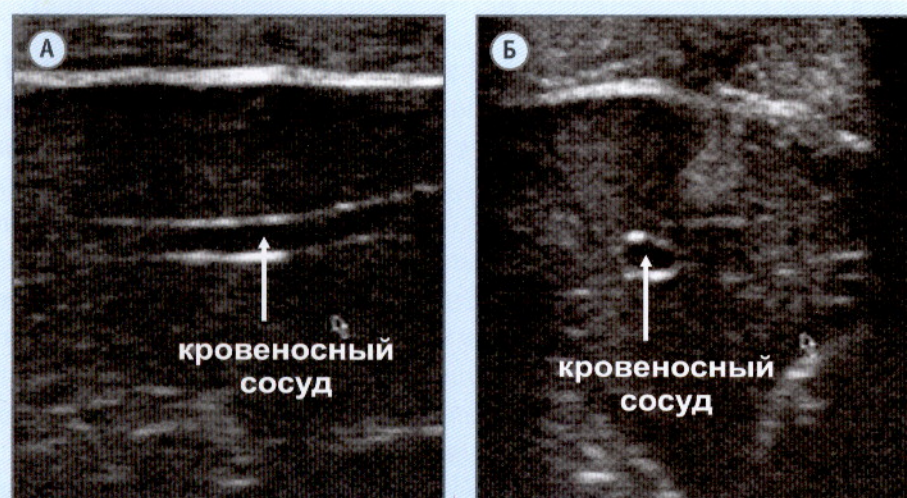
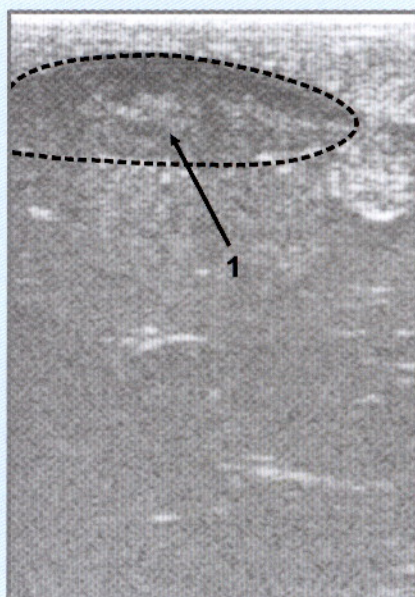


Рис. 5.5. Эхограммы кровеносного сосуда в яичнике русского осетра: А – продольный срез; Б – поперечный срез

5.1.7. Пилорическая железа

Пилорическая железа визуализируется при поперечно-вентральном сканировании. Имеет чёткие гиперэхогенные границы и сложную внутреннюю (дольчатую) структуру, которая на эхограмме выглядит как тёмные анэхогенные участки, разделённые гиперэхогенными линиями (рис. 5.6).

Рис. 5.6. Вид области пилорической железы русского осетра: А – поперечный срез в области пилорической железы (1); Б – эхограмма с визуализацией пилорической железы



5.1.8. Кишечник

На эхографических снимках при продольном и поперечном сканировании детальная визуализация кишечника осетровых рыб зависит от угла среза и разрешающей способности датчика. При продольном сканировании датчиком с частотой 3,5–7,5 МГц кишечник определяется в виде трубчатых структур (см. гл. 3.2.2.). Эхографическая картина спирального отдела кишечника с внутренними складками спирального клапана хорошо видна при правильно выбранном угле сканирования и наполнении анэхогенной жидкостью (рис. 5.7). Газы в кишечнике отражают и рассеивают ультразвук.

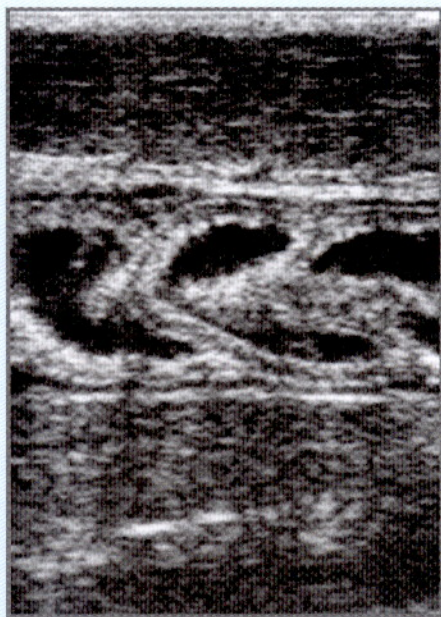


Рис. 5.7. Эхограмма спирального отдела кишечника

5.2. Ультразвуковая нетравматичная диагностика аномалий развития воспроизводительной системы осетровых

Применение этого метода позволяет на ранних стадиях развития отбраковывать особей с аномалиями воспроизводительной системы, неперспективных для рыбоводных целей. Кроме того, установленные особенности проявления на эхограммах различных аномалий позволяют осуществлять мониторинг формирования воспроизводительной системы осетровых, как в естественных водоёмах при биоэкологической индикации среды обитания, так и при оценке эффективности условий содержания производителей в аквакультуре (температурный режим, качество воды, рецептура используемых кормов и т. д.) или селекционного эффекта в программах выведения одомашненных форм и пород (Чебанов и др., 2008; Чебанов, Галич, 2009).

Таким образом, развитие нетравматичных методов функциональной диагностики позволит повысить эффективность оценки состояния здоровья осетровых, особенно в маточных стадах редких и исчезающих видов, когда долговременное использование различных гранулированных кор-

мов (например, с высоким содержанием жира) может привести к значительным поражениям печени и других органов.

Весьма полезной экспресс-оценка состояния внутренних органов будет и при отборе «диких» производителей или незрелых рыб, планируемых для доместикации (Vilio, 2007) (адаптации к искусственным условиям содержания). Действительно, учитывая долговременность, трудоёмкость и большие затраты на одомашнивание «диких» рыб, эффективность предварительной отбраковки особей со «скрытой» патологией внутренних органов с помощью нетравматичного экспресс-метода УЗИ-диагностики трудно переоценить.

5.2.1. Дольчатость семенников

Дольчатость (рис. 5.8) – разделение генеративной ткани семенника на мелкие доли по сравнению с нормой, при этом на эхограмме при продольном сканировании выделяются гипозоногенные (тёмные) полосы.

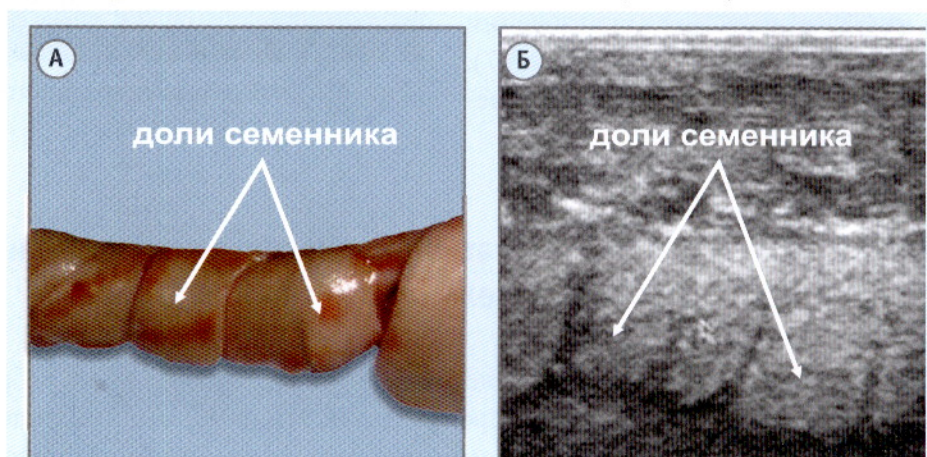


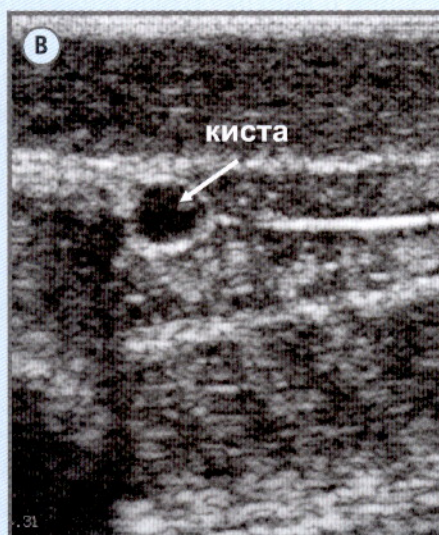
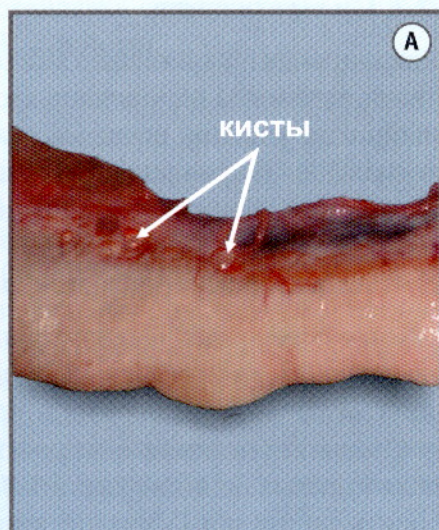
Рис. 5.8. А – вид долей семенника русского осетра; Б – эхограмма продольного среза долей семенника

5.2.2. Киста

Киста (от греческого *kystis* – пузырь) – патологическое образование с плотными стенками и полостью, заполненной жидким содержимым. В генеративной ткани осетровых кисты (диаметром 2–4 мм) встречаются на различных стадиях зрелости (рис. 5.9). На эхограмме они выглядят как тонкостенные анэхогенные образования округлой формы с акустическим усилением под ними.

Рис. 5.9. А – кисты на семеннике русского осетра;

Б – эхограмма продольного среза семенника с кистозными образованиями и дистальным акустическим усилением;
В – эхограмма продольного среза яичника с кистозным образованием у 2-летней самки стерляди



Кистозные образования можно идентифицировать как органотипические опухоли типа липом и фибром человека, развивающиеся в результате перерождения яйценосных пластинок (Моисеева, 1997). Такие нарушения в развитии половых желёз снижают и ухудшают репродуктивные возможности рыб, но не препятствуют нормальному развитию половых клеток в остальной части гонады.

Подобные новообразования могут формироваться также при развитии тератом, опухолей, гранулём, воздействия паразитов.

5.2.3. Склеротизация

Склеротизация (от греческого *sklerosis*) – затвердевание участков генеративной ткани, вызванное нарушением кровообращения, обмена связанного с возрастными изменениями, после многократного получения половых продуктов или воспаления. Выражается в замещении генеративной части ткани гонады соединительной тканью и формированием хрящевых новообразований.

5.2.4. Жировое перерождение яичников

Жировое перерождение генеративной ткани яичников отмечается вследствие чрезмерного ожирения рыб, содержащихся в тепловодных хозяйствах при круглогодичном интенсивном кормлении. При этом в жировой ткани могут отмечаться отдельные островки генеративной ткани с небольшим количеством зрелых ооцитов (рис. 5.10). Как видно из рисунка, несмотря на то, что ооциты достигают IV стадии зрелости, гамето-соматический индекс при созревании подобных самок может составлять менее 1%.

Для предотвращения избыточного ожирения и, особенно, в целях синхронизации гонадогенеза у большинства самок необходимо обязательное временное (2 месяца) их содержание при низких температурах воды (4–6°C), обеспечивая при этом пищевую депривацию (Chebanov, Billard, 2001; Chebanov et al., 1999, 2002; Чебанов и др., 2004). Это особенно важно для оптимизации формирования маточных стад и контроля за воспроиз-

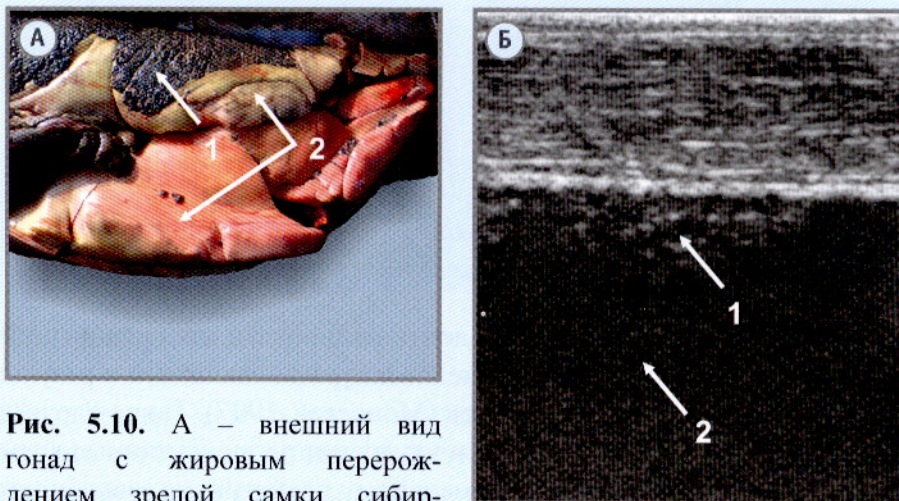


Рис. 5.10. А – внешний вид гонад с жировым перерождением зрелой самки сибирского осетра в условиях постоянного содержания при высокой температуре (15–23°C) и непрерывного кормления (фото Эрнеста Хачатряна); Б – эхограмма продольного среза (1 – зрелые ооциты; 2 – жировая ткань)

изводством на крупных осетровых хозяйствах с регулируемым температурным режимом (УЗВ и тепловодных хозяйств).

5.2.5. Гермафродитизм

Гермафродитизм обычно проявляется в присутствии на одних и тех же гонадах участков семенника и яичника (овотестис), реже встречаются рыбы, когда одна гонада полностью представлена семенником, а другая яичником.

Как указывается П. Вийо (Williot, 2002; Williot et al., 2005), гермафродитизм может достигать 5% для одного поколения стерляди (старше 14 лет). Случаи гермафродитизма с подобной частотой описаны для других видов как в аквакультуре, так для производителей «заводского» происхождения в естественных водоемах (Романов и др., 2001). Следует отметить, что по этой причине в некоторых случаях УЗИ-сканирование отдельного участка гонады может привести к ошибочному определению пола осетровых.

5.3. Экспресс диагностика заболеваний и травм внутренних органов

Кроме описанных выше аномалий воспроизводительной системы, в рыбноводной практике достаточно часто отмечают следующие заболевания: кисты, опухоли, искривление хорды, воспаление плавательного пузыря, ожирение печени и сердца, водянка брюшной полости, а также камни и другие инородные предметы в органах пищеварения.

5.3.1. Воспаление плавательного пузыря

При некоторых заболеваниях отмечается воспаление плавательного пузыря, сопровождающееся увеличением его объёма. На эхограмме (рис. 5.11) воспаленный плавательный пузырь занимает всю область исследования и выглядит как обширная область умеренной эхогенности, которая «экранирует» другие внутренние органы.

При этом диагностика состояния гонад в этом месте сканирования затруднена (газ не пропускает ультразвук), поэтому необходимо найти оптимальный угол сканирования.

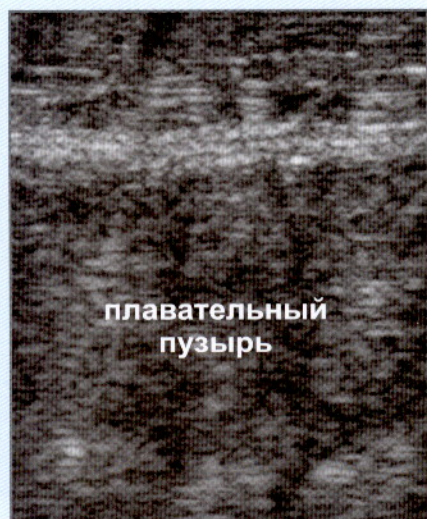


Рис. 5.11. Эхограмма воспаления плавательного пузыря у белуги

5.3.2. Искривление хрящевой оболочки хорды

Возможными причинами искривления хрящевой оболочки хорды (рис. 5.12) могут быть: травмы, несбалансированность кормов, нарушение гидрохимического режима, кисты, опухоли. Изменения в районе хрящевой оболочки хорды воспалительной или опухолевой природы могут проявляться в виде увеличивающихся объёмных образований, которые могут диагностироваться с помощью УЗИ.

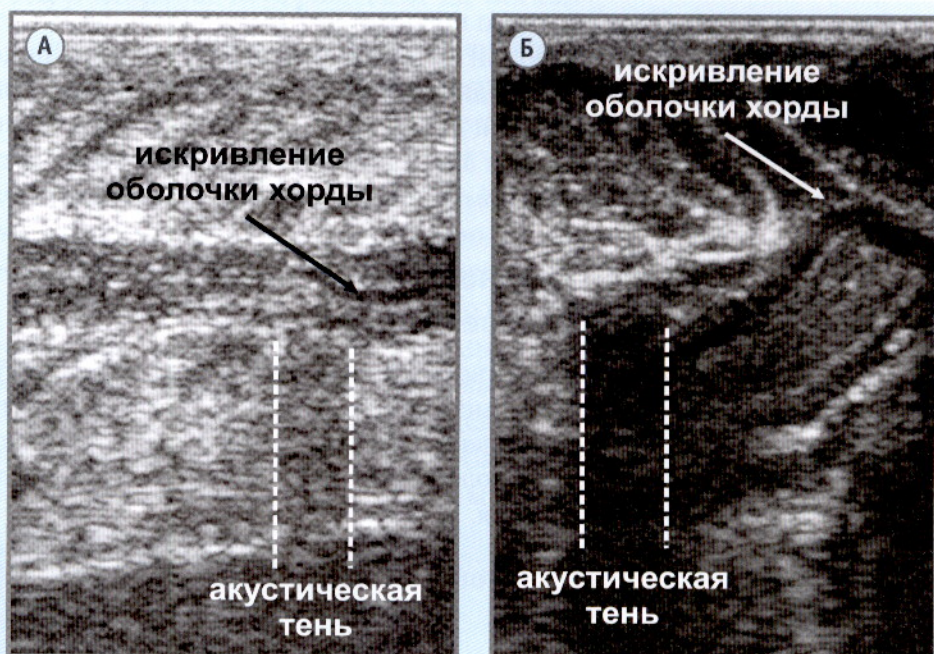
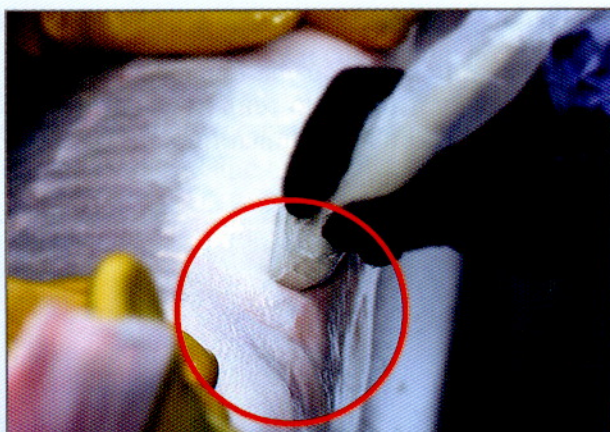


Рис. 5.12. Эхограммы искривления хорды: А – продольный срез (сибирский осетр); Б – поперечный срез (белуга)

5.3.3. Аномалии в строении мышечной ткани

Подобные нарушения встречаются у многих видов осетровых рыб на ранних стадиях онтогенеза. Аномалии в строении мышечных тканей (нарушение сегментации миомеров, отсутствие мышечных волокон, изменение толщины отдельных миомеров, локальное укорочение миомеров) образуются в результате нарушения процесса миогенеза ещё в эмбриональный период развития. У взрослых рыб это выглядит как наличие ямок на теле (рис. 5.13).

Рис. 5.13.
Дефект
мышечной
ткани у взрослой
особи белуги



На эхограммах рыб с подобными аномалиями (рис. 5.14) отсутствуют хорошо сформированные мышечные миомеры (гипоэхогенная область). Иногда, по этой причине, в связи с недостаточно плотным прилеганием датчика к телу рыб затрудняется визуализация внутренних органов.

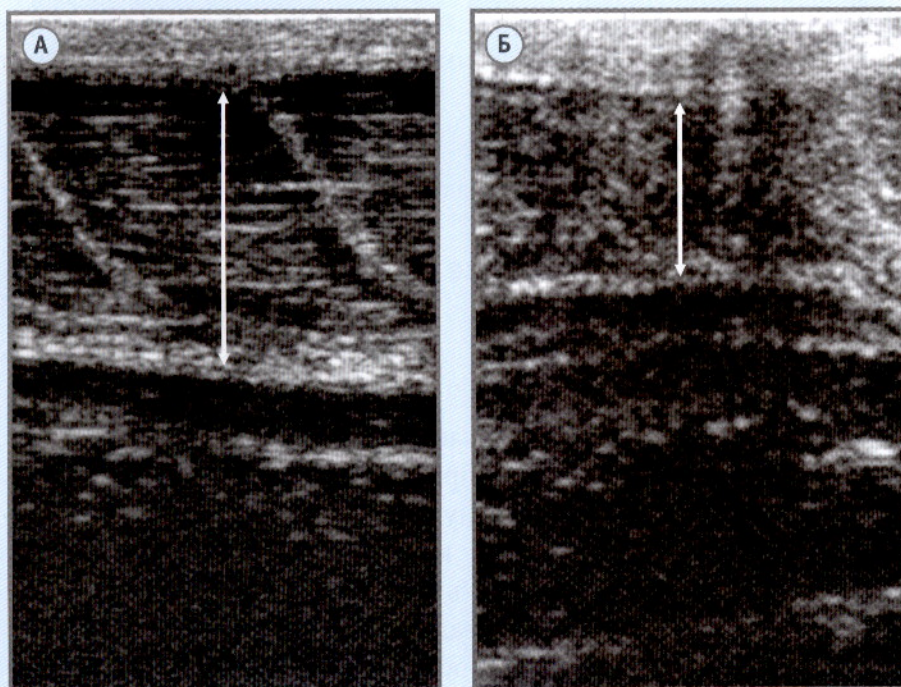


Рис. 5.14. Эхограммы продольных срезов самки белуги IV стадии зрелости: А – ширина мышечной ткани в норме; Б – аномалия (истончение мышечной ткани)

5.4. Инородные тела в пищеварительной системе

Камень в кишечнике создаёт яркое эхо от передней поверхности и плотную заднюю акустическую тень (рис. 5.15). Подобные случаи часто отмечаются у белуги при выращивании в прудах, что связано с особенностями ее питания (захват пищи).

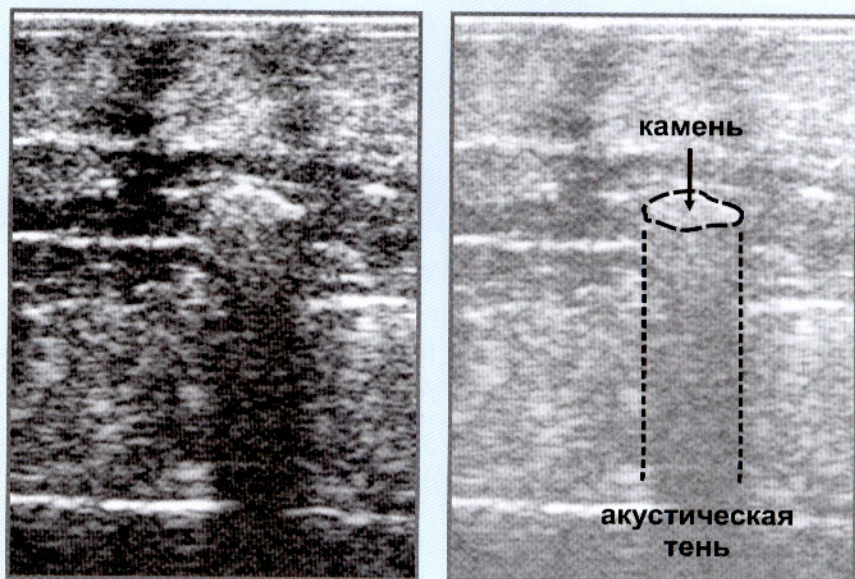


Рис. 5.15. Эхограмма продольного среза кишечника белуги с камнем

5.5. Оптимальное положение датчика при проведении биопсии

При изучении сложных случаев, требующих отбора биопсийных проб (биоптата), для позиционирования щупа целесообразно использовать УЗИ, которое позволяет быстро обнаружить и точно определить локализацию гонады (рис. 5.16) или другого органа. Это особенно важно для особей осетровых не-

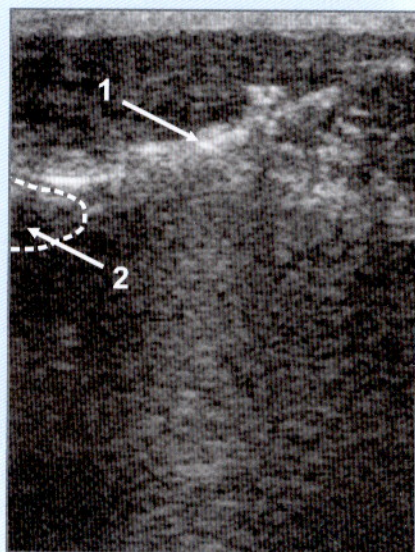


Рис. 5.16. Эхограмма биопсии гонад (1 – щуп, 2 – гонада)

большого размера. В этом случае полезно использовать специальный набор для биопсии, в который входит адаптер к датчику, и специальную иглу, позволяющие оптимизировать проведение процедуры отбора биопсийных проб.

В любом случае, процедура биопсии должна проводиться в динамическом режиме (реального времени) – «Cine mode».

5.6. Артефакты (ложные изображения)

Артефакт – информация о сигнале, которая не соответствует реальным исследуемым объектам (искажение или исчезновение изображения).

В практике ультразвуковой диагностики для исключения ложной интерпретации, очень важно уметь выявить обычно встречающиеся артефакты, наиболее типичные из которых рассмотрены ниже.

5.6.1. Акустическая тень

Акустическая тень (рис. 5.17) формируется за сильно отражающими («жучки», камни в кишечнике) или сильно поглощающими и рассеивающими (газ) ультразвук структурами и визуализируется в виде чёрной полосы, что затрудняет диагностику ниже расположенных органов и тканей.

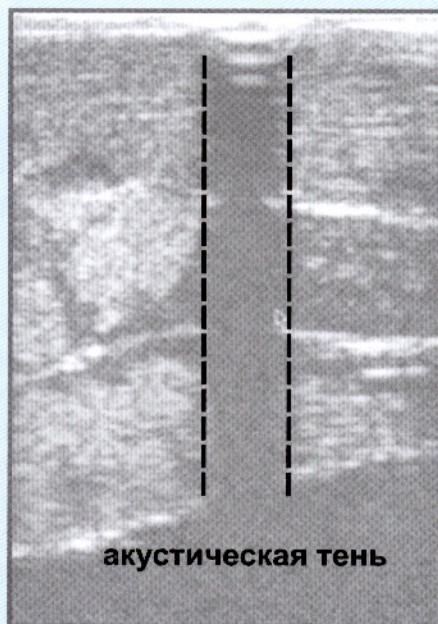
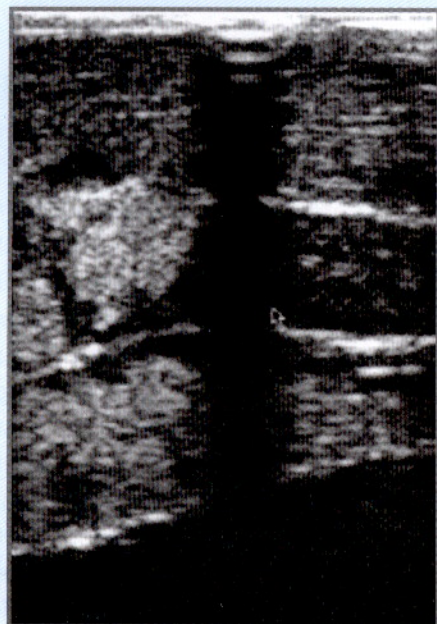


Рис. 5.17. Эхограмма акустической тени за боковой жучкой севрюги

5.6.2. Дистальное акустическое псевдоусиление сигнала

Дистальное акустическое псевдоусиление сигнала (рис. 5.18) возникает при пересечении звуком слабо поглощающих структур (жидкости, жидкостьсодержащие образования), при этом происходит снижение затухания сигнала и поэтому усиление акустической энергии за этой структурой, имеющей меньший коэффициент затухания сигнала.

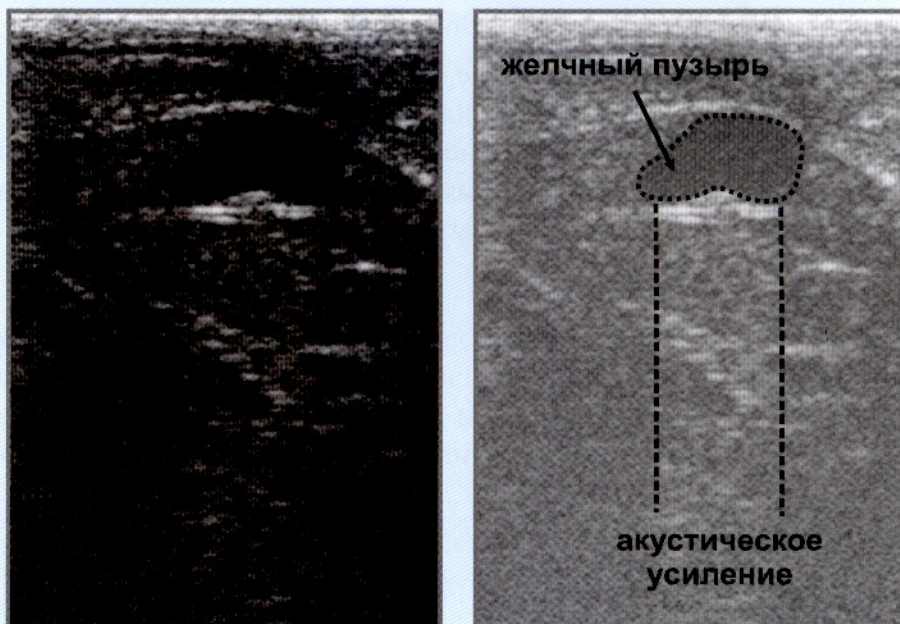


Рис. 5.18. Эхограмма желчного пузыря с акустическим псевдоусилением сигнала, выраженном в увеличении эхогенности сразу за анэхогенной областью

5.6.3. Реверберация

Реверберация (многократное отражение) – попадание ультразвукового луча между двумя или более отражающими поверхностями, выглядит как периодически возникающие яркие полосы. Реверберации могут возникать при прохождении ультразвука от одного вида ткани к другому (например, газ в кишечнике) со значительно отличающимися значениями коэффициента сопротивления (табл. 1.1). Реверберации могут полностью изменять изображения, создавая линейные структуры или зеркальные отображения. Одной из разновидностей реверберации является «хвост кометы» – когда ультразвук вызывает собственные колебания объекта, посылающего к датчику ультразвуковые импульсы, визуализирующиеся на эхограмме в виде светлых полосок за объектом.

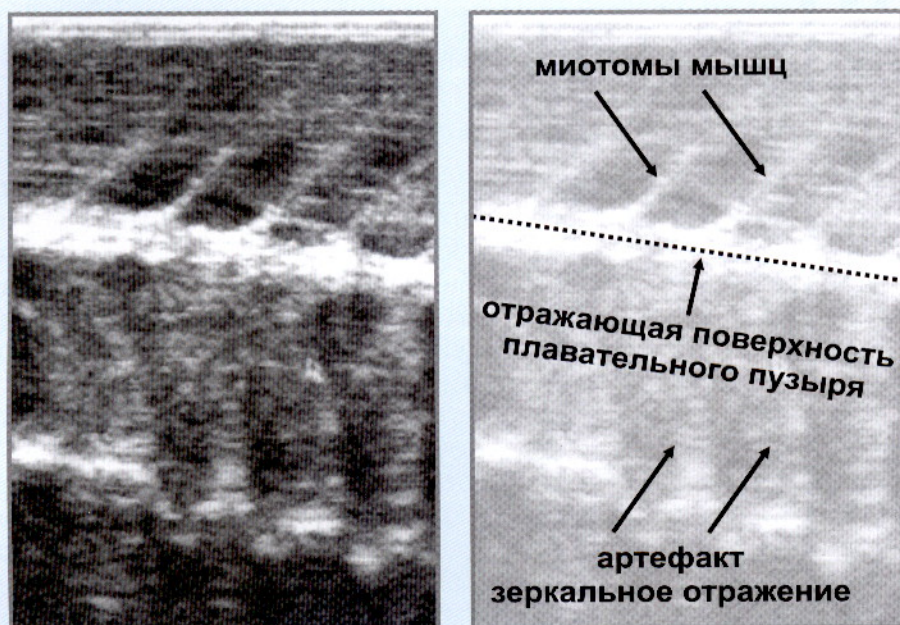


Рис. 5.19. Артефакт зеркального отражения (дубликация миотом мышц от плавательного пузыря)

5.6.4. Зеркальное отражение

Зеркальное отражение (рис. 5.19) – мираж реальной структуры, возникающий позади сильно отражающей границы между средами (ткани с различным акустическим отражением). Изменение положения датчика позволяет снизить вероятность неверной диагностики (Palmer et al., 1995).

5.6.5. Газ

Газ (рис. 5.20) экранирует расположенные позади него ткани и органы в результате преломления сигнала и акустической тени от газа.



Рис. 5.20. Эхограмма, иллюстрирующая экранирование структур, расположенных за плавательным пузырём

5.7. Основные нетравматичные измерения линейных и вычисления объемных волюметрических показателей внутренних органов гонад с помощью УЗИ экспресс-диагностики

В практике формирования domestцированных маточных стад, а также при проведении ихтиологических исследований, задачам измерения размеров внутренних органов рыб уже давно уделяется особое внимание. При этом, как правило, целью подобных измерений (обычно, это взвешивание) являются не абсолютные значения массы отдельных органов (гонад, сердца, печени, почек, селезенки), а относительные (безразмерные) показатели – индексы (отношения) к массе тела осетровых.

В первую очередь, это касается коэффициента зрелости (гонадосоматического индекса), обычно используемого при изучении динамики гонадогенеза, как при исследовании осетровых рыб в естественных водоемах (Трусов, 1964; Bruch et al., 2001), так и при анализе состояния гонад осетровых на различных стадиях зрелости в ремонтно-маточных стадах (Doroshov et al., 1997; Webb et al., 2002; Чебанов и др., 2004).

Довольно часто применялись также, так называемые, морфофизиологические показатели (индексы сердца, селезенки и т. д.) для сравнительного анализа диких производителей различных сроков нерестового хода, возраста и пола (Распопов, Кобзева, 2008). Кроме того, морфофизиологические индексы в ряде исследований (Пискунова и др., 2001; Федосеева и др., 2006) служили также индикаторами условий содержания (нагула, зимовки) разновозрастных особей осетровых рыб при формировании маточных стад.

Несмотря на эффективность использования гонадосоматических и морфо-физиологических индексов (Трусов, 1964; Doroshov et al., 1997), в практике формирования domestцированных маточных стад, основным недостатком при их использовании, является умерщвление рыб для изъятия и взвешивания гонад. Совершенно очевидно, что подобный подход не может быть использован при разработке и внедрении оптимальной рыбоводной технологии формирования domestцированных маточных стад осетровых, особенно редких и исчезающих видов.

По этой причине при формировании и использовании живой генетической коллекции 8 видов осетровых (Чебанов и др., 2002, 2004, 2006) было предложено использовать новые волюметрические показатели – индексы объемов гонад к общему объему тела рыб (последний быстро измеряется погружением живых рыб в градуированный сосуд). Объемы гонад рассчитываются по данным измерений линейных показателей на эхограммах, полученных с помощью нетравматичного экспресс-метода УЗИ. Стандартная процедура автоматических измерений отрезков и площадей (рис. 5.21) обычно подробно излагается в руководствах по эксплуатации различных цифровых ультразвуковых диагностических систем.

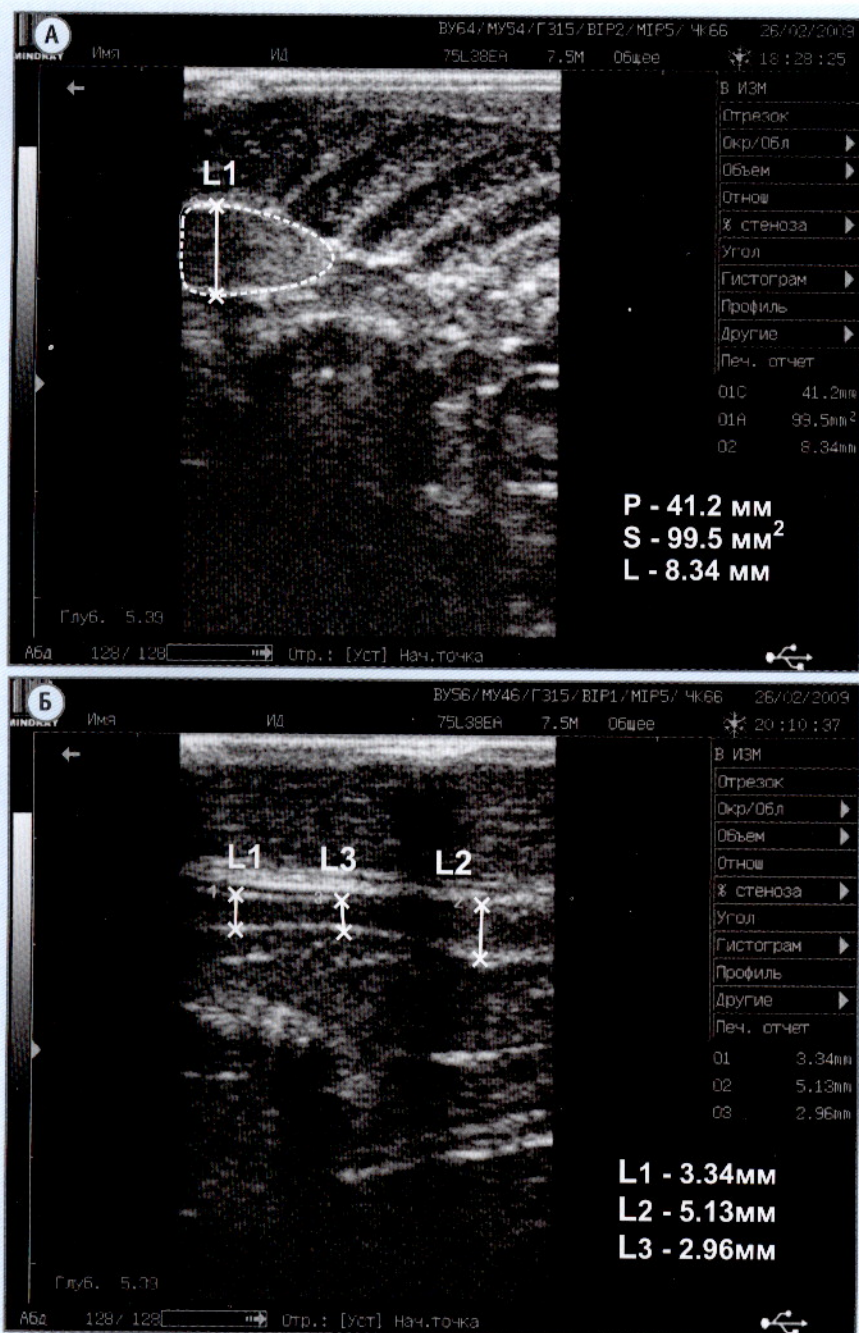


Рис. 5.21. Примеры автоматического измерения на эхограмме отрезков (L), периметров (P) и площадей (S) фигур, образованных замкнутом контуром на эхограммах продольного (А) и поперечного (Б) срезов семенника

Необходимые измерения линейных размеров внутренних органов можно легко провести (в прямоугольной системе координат) в режиме «В» при поперечном и продольном сканировании. Для этого практически все УЗИ-сканеры имеют режим «Measure», в котором все перемещения курсора по измеряемым траекториям с фиксации начальных и конечных точек позволяют автоматически осуществить измерения (периметров, площадей и т. д.) с демонстрацией показателей на мониторе сканера.

Для определения объема внутренних органов осуществляется условная сегментация (разделение) на доли органа, в зависимости от продольных изменений его формы (рис. 5.22). Это позволяет упростить вычисление суммарных объемов гонад, рассчитывая объемы отдельных долей (сегментов) с помощью аппроксимации их классическими геометрическими фигурами (эллипсоидами вращения, цилиндрами, усеченными конусами и т. д.).

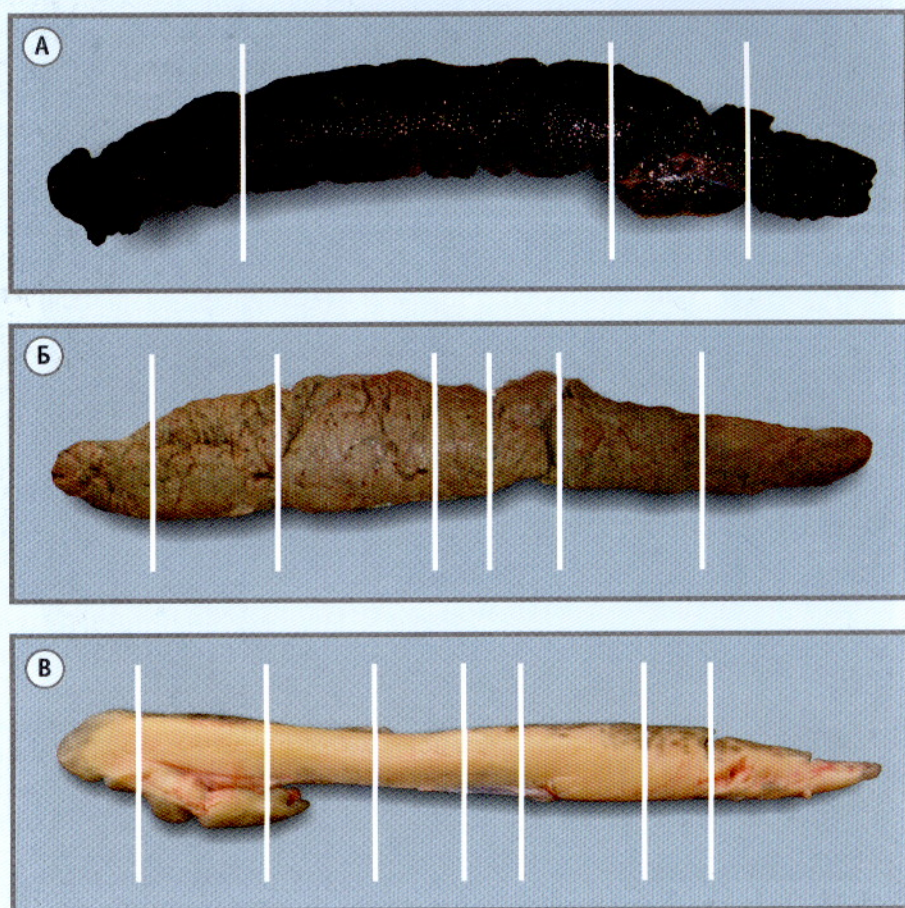


Рис. 5.22. Сегментарное деление гонад различных стадий зрелости на доли: А – IV стадия зрелости; Б – III стадия зрелости; В – II стадия зрелости

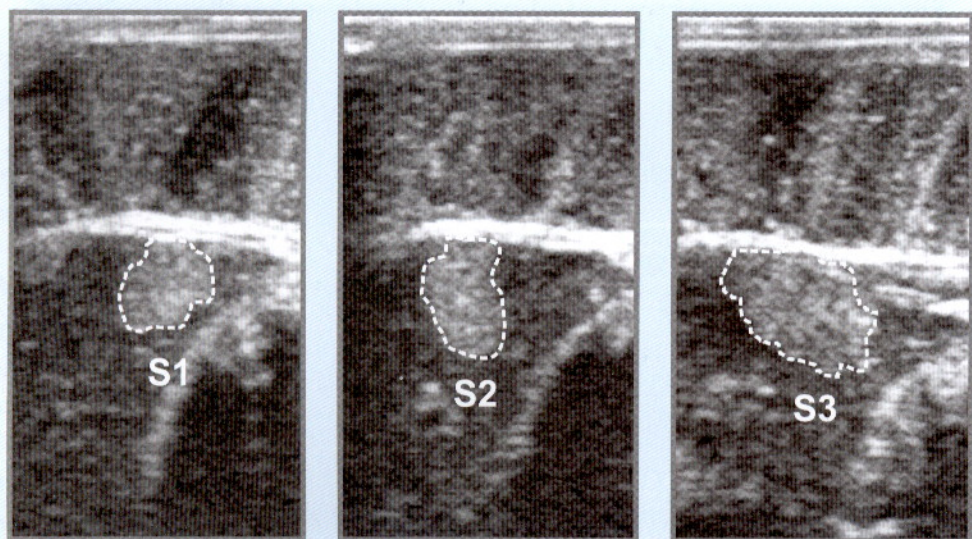


Рис. 5.23. Примеры эхограмм поперечных срезов отдельных сегментов яичника русского осетра, для измерения площадей (S1-S3)

Автоматическое измерение площадей замкнутых областей S_i , образованных контурами на эхограммах «контрольных» поперечных срезов отдельных сегментов внутренних органов (гонад на рис. 5.23), и непосредственное измерение длины каждого сегмента (между поперечными срезами) по внешней поверхности рыбы (рис. 5.24) позволяют получить исходные данные для вычисления объемов отдельных сегментов.

В этом случае, вычисление объемов отдельных сегментов гонад (Vg) рекомендуется производить с помощью следующих формул:

1. В случае если сегмент имеет форму, близкую к цилиндру: $Vg_i = S_i L_i$.

2. В случае если сегмент имеет форму, близкую к усеченным конусу или пирамиде:

$$Vg_i = 1/3 L_i (S_i + S_{i+1} + \sqrt{S_i S_{i+1}}),$$

где S_i – площадь i -го поперечного сечения гонады (рис. 5.22);

L_i – длина i -го сегмента (доли) гонады;

S_{i+1} – площадь $i+1$ -го поперечного сечения гонады.



Рис. 5.24. Измерение длины (L_i) каждого сегмента (расстояния между поперечными УЗИ-срезами) по внешней поверхности тела рыбы



Рис. 5.25. Определение размера икринки (D1) с помощью УЗИ-сканера

Точность вычисления объема гонады с помощью данных формул будет определяться количеством сегментов, а также степенью продольных изменений формы гонады.

Для снижения ошибки вычислений (V) можно вводить поправочные коэффициенты, определяемые с помощью регрессионного анализа вычисленных и истинных объемов внутренних органов в ходе контрольных измерений для каждого вида осетровых рыб.

Вычисленные с помощью УЗИ объемы яичников IV стадии зрелости и объемы зрелых ооцитов (по измеренным на эхограммах диаметрам (рис 5.25) или по отобранным путем биопсии икринкам позволяют прогнозировать абсолютную и относительную плодовитость самок перед получением овулировавшей икры.

Например, объем ооцитов (v), отобранных с применением биопсии, может быть вычислен с помощью формулы, приведенной в работе М. Ленхардт и др. (Lenhardt et al., 2004), для икры русского осетра дунайской популяции:

$$v = 4/3 \times \pi \times (D_1 / 2) \times (D_2 / 2),$$

где D_1 и D_2 представляют больший и меньший диаметры икринки соответственно.

Таким образом, абсолютная плодовитость самки будет равна отношению вычисленного объема гонады (V) к среднему объему одного ооцита (v).

Ошибки подобных измерений и расчетов объемов гонад осетровых будут снижаться с приобретением опыта и адаптации методов и процедур стандартных расчетов, применяемых в медицине. При этом, конечно, следует отметить, что авторами ставилась задача изучить возможности эффективного и широкого использования в осетроводстве самых недорогих УЗИ-сканеров, особенно ветеринарных, а это несколько сложнее, чем использование наиболее совершенных и дорогих медицинских УЗИ-аппаратов.

Виды осетрообразных рыб

Виды	Русское название	Английское название
<i>Acipenser baerii</i>	Сибирский осётр	Siberian sturgeon
<i>Acipenser brevirostrum</i>	Короткорылый осётр	Shortnose sturgeon
<i>Acipenser dabryanus</i>	Корейский осётр	Yangtze (or Changjiang) sturgeon
<i>Acipenser fulvescens</i>	Озёрный осётр	Lake sturgeon
<i>Acipenser gueldenstaedtii</i>	Русский осётр	Russian sturgeon
<i>Acipenser medirostris</i>	Зелёный осётр	Green sturgeon
<i>Acipenser mikadoi</i>	Сахалинский осётр	Sakhalin sturgeon
<i>Acipenser naccarii</i>	Адриатический осётр	Adriatic sturgeon
<i>Acipenser nudiventris</i>	Шип	Ship sturgeon
<i>Acipenser oxyrinchus</i>	Атлантический (американский) осётр	Atlantic sturgeon
<i>Acipenser persicus</i>	Персидский осётр	Persian sturgeon
<i>Acipenser ruthenus</i>	Стерлядь	Sterlet
<i>Acipenser schrenckii</i>	Амурский осётр	Amur sturgeon
<i>Acipenser sinensis</i>	Китайский осётр	Chinese sturgeon
<i>Acipenser stellatus</i>	Севрюга	Stellate sturgeon
<i>Acipenser sturio</i>	Атлантический (европейский) осётр	Atlantic (Common sturgeon)
<i>Acipenser transmontanus</i>	Белый осётр	White sturgeon
<i>Huso dauricus</i>	Калуга	Kaluga
<i>Huso huso</i>	Белуга	Beluga
<i>Pseudoscaphirhynchus fedtschenkoi</i>	Сырдарьинский лжелопатонос	Syr-Dar shovelnose sturgeon
<i>Pseudoscaphirhynchus hermanni</i>	Малый Амударьинский лжелопатонос	Small Amu-Dar shovelnose sturgeon
<i>Pseudoscaphirhynchus kaufmanni</i>	Большой Амударьинский лжелопатонос	Large Amu-Dar shovelnose sturgeon
<i>Scaphirhynchus albus</i>	Бледный лопатонос	Pallid sturgeon
<i>Scaphirhynchus platorynchus</i>	Лопатонос	Shovelnose sturgeon
<i>Scaphirhynchus suttkusi</i>	Алабамский осётр	Alabama sturgeon
<i>Polyodon spathula</i>	Веслонос	Paddlefish
<i>Psephurus gladius</i>	Китайский веслонос	Chinese paddlefish

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённые многолетние исследования показали, что метод УЗИ-диагностики (эхографии, ультрасонографии) является высоко информативным, общедоступным неинвазивным экспресс-методом определения пола и стадий зрелости гонад, позволяющим оптимизировать формирование маточных стад осетровых рыб на основе раннего направленного формирования их половой структуры.

Важно отметить, что уже сейчас этот метод позволяет не только задолго (3–6 лет, в зависимости от вида осетровых) до полового созревания отбраковывать «лишних» самцов для ранней реализации, но и отбирать из всех остающихся раннесозревающих («скороспелых») самок. Это позволяет существенно ускорить как формирование маточных стад, так и селекционную работу по выведению одомашненных форм и пород осетровых рыб. Более того, как было показано выше, УЗИ-диагностика в осетроводстве не ограничивается задачами определения пола и стадий зрелости, но и может быть успешно использована для оценки состояния внутренних органов, включая выявление аномалий развития воспроизводительной системы, раннюю диагностику заболеваний, расчет гонадосоматических индексов, плодовитости самок, прогноза созревания производителей и т. д. Это позволяет в ходе постоянного мониторинга корректировать режимы содержания ремонтно-маточных стад (кормление, температуру, плотность посадки) для достижения наиболее раннего созревания производителей.

Следует отметить, что во многом благодаря внедрению описанных в работе приемов УЗИ-диагностики сформировано одно из крупнейших гетерогенных маточных стад 8 видов осетровых (Chebanov, Billard, 2001). Массовое созревание домашних самок ряда видов осетровых (азовские белуга, севрюга, шип, русский и персидский осетры) и нескольких высокопродуктивных гибридов, выращенных только на искусственных кормах и получение от них жизнестойкого потомства с 2000 г. отмечается ежегодно (Чебанов, 2002).

В настоящее время на крупных осетроводных (воспроизводственных и «икорных») предприятиях УЗИ-диагностика пола незрелых рыб стала стандартным элементом биотехники при формировании маточных стад.

В ближайшем будущем данный метод также позволит осуществлять неинвазивный мониторинг половой структуры, динамики гаметогенеза

при проведении фундаментальных исследований по оценке гиногенетического потомства от различных видов осетровых (Бадтрдинов и др., 2007), диспермного андрогенеза редких и исчезающих видов осетровых (Грунина и др., 2007), влияния различных факторов на регуляцию развития гонад (Wurtz et al., 2005) и других направлений экспериментальных работ, проводившихся в последние годы с различными видами осетровых из генетической коллекции ФСГЦР.

Проведёнными исследованиями установлена возможность эффективного использования УЗИ-диагностики при осуществлении прижизненного мониторинга морфофункциональных нарушений гонадо-гаметогенеза осетровых рыб в естественных водоёмах (оценки частоты встречаемости и степени проявления опухолей, кист, новообразований, гермафродитизма, жирового перерождения гонад и наличия в них соединительнотканых разрастаний, частичной или тотальной резорбции половых продуктов.

Частота подобных нарушений, обусловленная негативными изменениями условий обитания, достигала 7–8% у осетровых рыб в Каспийском море в конце 80-х годов прошлого столетия (Романов и др., 2001). Учитывая резкое сокращение численности осетровых в Каспийском и Азово-Черноморском бассейнах в последние годы, возможность неинвазивной (полевой) оценки указанных нарушений у осетровых в естественных водоёмах будет иметь большое значение.

В последние годы в медицине используются компьютерные программы трехмерной обработки изображений в «серошкальном» режиме (Насникова, Маркина, 2008), включая мультипланарные реконструкции, послойное использование продольных и поперечных срезов, архивирование волюметрической (объемной) информации о внутренних органах. По сравнению с изложенными авторами в настоящей книге методами двухмерной ультрасонографии, трехмерная эхография в будущем позволит более точно определять объем изучаемых органов различной формы.

В связи с вышеизложенным скорейшее внедрение современных методов УЗИ-диагностики при исследовании и разведении осетровых рыб поможет не только сохранить редкие и исчезающие виды, но и ускорить инновационное развитие осетроводства.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Артюхин Е.Н.* Осетровые (экология, географическое распространение и филогения). – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского ун-та, 2008. – 137 с.
2. Атлас нарушений в гаметогенезе и строении молоди осетровых / Н.В. Акимова, В.Б. Горюнова, Е.В. Микодина, М.П. Никольская, Г.И. Рубан, С.А. Соколова, И.Г. Шагаева, М.И. Шатуновский. – М.: Изд-во ВНИРО, 2004. – 120 с.
3. *Ахундов М.М.* Пластичность дифференцировки пола у осетровых рыб. – Баку, 1997. – 197 с.
4. *Бадтрдинов О.А., Ковалёв К.В., Лебедева Е.Б., Васильева Е.Д., Рекубратский А.В., Грунина А.С., Чебанов М.С., Васильев В.П.* Однополо-мужской состав гиногенетического потомства севрюги *Acipenser stellatus* (Pisces, Acipenseridae) // Доклады РАН. – 2008. – Т. 423. – № 1. – С. 120–123.
5. *Баранникова И.А.* Функциональные основы миграции рыб. – Л.: Наука, 1975. – 210 с.
6. *Бурцев И.А., Смольянов И.И., Гершанович А.Д., Николаев А.И.* Методические указания по формированию и эксплуатации маточных стад сибирского осетра. – М.: ВНИРО, 1984. – 23с.
7. *Блок Б.* УЗИ внутренних органов. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – 256 с.
8. *Голованова Т.С., Климонов В.О., Дубов В.Е., Никоноров С.И.* Действие анестетиков каиновой группы на молодь и производителей русского осетра (*A. gueldenstaedtii*) // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития: Матер. докл. III Межд. науч.-практ. конф. – Астрахань, 2004. – С. 162–168.
9. *Гуртовой Н.Н., Матвеев Б.С., Дзержинский Ф.Я.* Практическая зоотомия позвоночных. – М., 1976. – 351 с.
10. *Детлаф Т.А., Гинзбург А.С., Шмальгаузен О.И.* Развитие осетровых рыб (созревание яиц, оплодотворение, развитие зародышей и предличинок). – М.: Наука, 1981. – 224 с.
11. *Зубова С.Э.* Сроки дифференцировки гонад и соотношение самцов и самок у молоди волжской стерляди // Вопросы ихтиологии. – 1971. – Т. 11. – Вып. 3. – С. 524–526.
12. *Коуржил Я., Хамачкова Й., Ступка З., Микодина Е.В., Седова М.А., Вахта Р.* Влияние температуры на чувствительность сеvрюги (*Acipenser stellatus*) к анестезирующему действию гвоздичного масла // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития: Матер. докл. III Межд. науч.-практ. конф. – Астрахань, 2004. – С. 184–186.
13. *Мальцев А.В., Меркулов Я.Г.* Биометрический метод определения пола осетровых, в частности – русского осетра *Acipenser gueldenstaedtii* (Acipenseridae) азовской популяции // Вопросы ихтиологии. – 2006. – Т. 46. – № 4. – С. 536–540.
14. *Мусеева Е.Б., Фёдоров С.И., Парфёнова Н.А.* О нарушениях строения половых желёз у самок осетровых (Acipenseridae) Азовского моря // Вопросы ихтиологии. – 1997. – Т. 37. – № 5. – С. 660–666.

15. Насникова И.Ю., Маркина Н.Ю. Ультразвуковая диагностика. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 176 с.

16. Персов Г.М. Дифференцировка пола у рыб. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1975. – 148 с.

17. Пискунова Л.В., Чернова П.В., Маринова Г.П., Магзанова Д.К. Физиолого-биохимическая и гистологическая оценка ремонтно-маточного стада осетровых в Астраханской области // Рыбохозяйственные исследования на Каспии: Результаты НИР за 2000 год. – Астрахань: Изд-во КаспНИРХа, 2001. – С. 310–320.

18. Подушка С.Б. Способ получения икры от самок осетровых рыб. Авт. Свид. СССР. № 1412035. 1986.

19. Подушка С.Б. Половые различия в форме парных плавников у амурского осетра // Осетровое хозяйство. – 2008. – № 2. – С. 69–71.

20. Подушка С.Б., Чебанов М.С. Икорно-товарное осетроводство в Китае // Научно-технический бюллетень лаборатории ихтиологии ИНЭНКО. – 2007. – № 13. – С. 5–15.

21. Распов В.М., Кобзева Т.Н. Экологические основы воспроизводства осетровых в условиях современного стока р. Волги. – Астрахань: Изд-во АГТУ, 2007. – 156 с.

22. Романов А.А., Романов Ал.А., Беляева Е.С. Мониторинг гистоморфологических нарушений гонадо-гаметогенеза осетровых рыб Волго-Каспийского региона // Экология молодежи и проблемы воспроизводства каспийских рыб: Сб. научн. трудов. М.: ВНИРО, 2001. – С. 246–268.

23. Сафронев А.С., Солохин И.В., Николаев А.И., Бураченко И.В., Филипова О.П., Дудин К.В. Использование эндоскопа для ранней прижизненной диагностики пола у осетровых рыб // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития: Матер. докл. IV Межд. науч.-практ. конф. Астрахань, 2006 г. – М.: Изд-во ВНИРО, 2006. – С. 121–124.

24. Семенкова Т.Б., Баюнова Л.В., Колмаков Н.Н., Баранникова И.А. Использование анализа содержания половых стероидных гормонов для раннего определения пола у осетровых // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития. – Астрахань, 2006. – С. 124–126.

25. Трусов В.З. Созревание половых желез Волго-Каспийского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*) в морской период жизни // Труды ЦНИОРХа. – 1972. – Т. 4. – С. 95–122.

26. Федосеева Е.А., Распов В.М., Астафьева С.С. Сравнительный анализ органо-соматических показателей гибридов осетровых, полученных в искусственных условиях, и естественной генерации // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития: Матер. докл. IV Межд. науч.-практ. конф. – М.: Изд-во ВНИРО, 2006. – С. 60–63.

27. Чебанов М.С. Формирование генетической коллекции осетровых рыб в Южном филиале ФГУП «ФСГЦР» // Генетика, селекция и воспроизводство рыб: Докл. 1-й Всерос. конф. – СПб.: ФГУП «ФСГЦР», 2002. – С. 73–80.

28. Чебанов М.С., Галич Е.В. Китайский осётр (*Acipenser sinensis* Gray): искусственное воспроизводство и оптимизация формирования маточного стада методами УЗИ-диагностики пола и стадий зрелости гонад // Осетровое хозяйство. – 2008. – № 2. – С. 43–58.
29. Чебанов М.С., Галич Е.В., Остапенко В.А., Чмырь Ю.Н. Производство пищевой икры осетровых рыб в аквакультуре: от экспериментов к ускоренному промышленному производству // Рыбоводство. – 2006. – № 3–4. – С. 20–23.
30. Чебанов М.С., Галич Е.В., Чмырь Ю.Н. Руководство по разведению и выращиванию осетровых рыб. – М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2004. – 136 с.
31. Чебанов М.С., Чмырь Ю.Н. Новые методы оптимизации осетроводства // Рыбоводство и рыболовство. – 2002. – № 1. – С. 20–21.
32. Amiri B.M., Maebayashi M., Adachi S., Yamauchi K. Testicular development and serum sex steroid profiles during the annual sexual cycle of the male sturgeon hybrid, the bester // J. Fish Biol. – 1996. – № 48. – P. 1039–1050.
33. Bahmani M., Kazemi R., Hallajian A. Workshop on Sturgeon Sexing and Gonad Staging // 5th Intern. Symp. on Sturg., May 9–13, Ramsar, Iran. – 2005. – 20 p.
34. Barannikova I.A., Bayunova L.V., Semenkova T.B. Serum sex steroids and their specific cytosol binding in the pituitary and gonads of Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt) during final maturation // J. Appl. Ichthyol. – 2005. – № 22. – P. 331–333.
35. Barannikova I.A., Burtsev I.A., Vlasenko A.D., Gershanovich A.D., Makarov E.V., Chebanov M.S. Sturgeon fisheries in Russia // Proc. 2th Intern. Sturg. Symp. – Moscow: VNIRO, 1995. – P. 124–130.
36. Billard R. (ed.) Esturgeons et caviar. Laurent Sabeau. – Paris: Tec et Doc, 2002. – 298 p.
37. Billard R., Lecointre G. Biology and conservation of sturgeon and paddlefish // Reviews in Fish Biology and Fisheries. – 2001. – № 10. – P. 355–392.
38. Bilio M. Controlled reproduction and domestication in aquaculture // Aquaculture Europe. – 2007. – № 32(1). – P. 5–14.
39. Bonput E. Sexeage des sturgeons par echographie // AquaFilia. – 2006. – № 12. – P. 5–8.
40. Bruch R. M., Dick T.A., Choudhury A. A practical field guide for the identification of stages of lake sturgeon gonad development with notes on lake sturgeon reproductive biology and management implications. Publ. Sturgeon for Tomorrow, Malone, WI. – USA, 2001. – 38 p.
41. Chebanov M.S. Conservation culture of sturgeons in the Azov Sea Basin // 1st Intern. Workshop on the Biology. Conservation and Sustainable Development of Sturgeons in Southern Europe. – Granada. Spain, 2005. – P. 69–73.
42. Chebanov M.S., Billard R. The culture of sturgeons in Russia: production of juveniles for stocking and meat for human consumption // Aquat. Living Resour. – 2001. – № 14. – P. 375–381.

43. Chebanov M.S., Chmyr Yu.N. Early sexing and staging of farmed and wild sturgeon juveniles by using ultrasound technique // 5th Intern. Symp. on Sturg. Ramsar. Iran. Extended Abstracts Aquaculture. – 2005. – P. 33–35.
44. Chebanov M.S., Galich E.V. Ultrasound diagnostics for sturgeon broodstock management. – Krasnodar: Prosveshenie-Yug, 2009. – 116 p.
45. Chebanov M.S., Galich E.V., Ananyev D.V. Strategy for conservation of sturgeon under the conditions of the Kuban River flow regulation // Special Publication of the World Sturgeon Conservation Society. – 2008. – № 2. – P. 70–82.
46. Chebanov M.S., Karnaukhov G.I., Galich E.V., Chmyr Yu. N. Hatchery stock enhancement and conservation of sturgeon, with an emphasis on the Azov Sea populations // J. Appl. Ichthyol. – 2002. – № 18. – P. 463–469.
47. Chebanov M.S., Savelyeva E.A. New strategies for brood stock management of sturgeon in the Sea of Azov basin in response to changes in patterns of spawning migration // J. Appl. Ichthyol. – 1999. – № 15. – P. 183–190.
48. Conte F.S., Doroshov S.I., Lutes P.B., Strange E.M. Hatchery manual for the white sturgeon *Acipenser transmontanus* Richardson with application to other north American Acipenseridae. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources. – Oakland. California, 1988. – 104 p.
49. Doroshov S.I., Clark W.H., Jr. Lutes P.B., Swallow R.L., Beer K.E., Mc Guire A. B., Cochran M. D. Artificial propagation of the white sturgeon, *Acipenser transmontanus* Richardson // Aquaculture. – 1983. – № 32. – P. 93–104.
50. Doroshov S.I., Moberg G.P., Van Eenennaam J.P. Observation on the reproductive cycle of cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus* // Environmental Biology of Fishes. – 1997. – № 48. – P. 265–278.
51. FAO. Code of Conduct for Responsible Fisheries Rome, FAO. – 1995. – 41 p.
52. Fan X., Wei Q., Chang J., Rosenthal H., He J., Chen D., Shen L., Du H., Yang De-Guo. Observations on the formation and development of the primary germinal tissue of cultured Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis* // 5th Intern. Symp. on Sturg., Ramsar, Iran, May 9 to 13, 2005 // J. Appl. Ichthyol. – 2006. – № 22 (Suppl.1). – P. 358–360.
53. Goddard P.G. Veterinary Ultrasonography, CABI, Pub. – 1995. – P. 293–297.
54. Goncharov B.F., Skoblina M.N., Trubnikova O.B., Chebanov M.S. Influence of Temperature on the Sterlet (*Acipenser ruthenus* L.) Ovarian Follicles State // Biology, Conservation and Sustainable Development of Sturgeons. Fish & Fisheries Series. – 2009. – Vol. 29. Springer Science+Business Media B.V. – P. 205–214.
55. Grunina A.S., Recoubratsky A.V., Barmintsev V.A., Tsvetkova L.I., Chebanov M.S. Dispermic androgenesis as a method of recovering endangered sturgeon species // Biology, Conservation and Sustainable Development of Sturgeons. Fish & Fisheries Series. – 2009. – Vol. 29. Springer Science + Business Media B.V. – P. 187–204.
56. Hochleithner M., Gessner I. Sturgeons and Paddlefishes (Acipenseriformes) of the world Biology and Aquaculture. AquaTech. Public. – Austria, 1999. – 165 p.

57. Hurvitz A., Jackson K., Degani G., Levavi-Sivan, B. Use of endoscopy for gender and ovarian stage determinations in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) grown in aquaculture // Aquaculture. – 2007. – № 270. – P. 158–166.
58. Karlsen O., Holm J.C. Ultrasonography, a noninvasive method for sex determination in cod (*Gadus morhua*) // J. Fish Biol. – 1994. – № 44. – P. 965–971.
59. Lenhardt M., Finn R.N., Cakic P., Kolarevic J., Krpo-Cetkovic J., Radovic I., Fyhn H.J. Analysis of the post-vitellogenic oocytes of the three species of Danubian Acipenseridae // Belg. J. Zool. – 2004. – № 134 (Suppl. 1). – P. 77–79.
60. Lu X., Webb M., Talbott M., Van Eenennaam J., Palumbo A., Lunares-Casensve J., Doroshov S., Struffenegger P. & Rasco B. Distinguishing Ovarian Maturity of Farmed White Sturgeon (*Acipenser transmontanus*) by Fourier Transform Infrared Spectroscopy: A Potential Tool for Caviar Production Management // J. Agric. Food Chem. – 2010. – № 58(7). – P. 4056–4064.
61. Mattson N.S. A new method to determination sex and gonad size in live fishes by using ultrasonography // J. Fish Biol. – 1991. – № 39. – P. 673–677.
62. Moghim M., Vajhi A.R., Veshkini A., Masoudifard M. Determination of sex and maturity in *Acipenser stellatus* by using ultrasonography // J. Appl. Ichthyol. – 2002. – № 18. – P. 325–328.
63. Mohler J.W. Culture manual for the Atlantic sturgeon (*Acipenser oxyrinchus desotoi*) // US Fish & Wildlife Service. Hadly. – 2003. – 68 p.
64. Ortenburger A.I., Jansen M.E. & Whyte S.K. Nonsurgical videolaparoscopy for determination of reproductive status of the Arctic charr // Can. Vet. J. – 1996. – № 37. – P. 96–100.
65. Palmer P.E.S., Breyer B., Bruguera C.A., Gharbi H.A., Goldberg B.B., Tan F.E.H., Wachira M.W., Weill F.S. Manual on diagnostic ultrasound. World Health Organization. – Geneva, 1995. – 334 p.
66. Parauka F.M. Guidelines for artificially spawning gulf sturgeon (*Acipenser oxyrinchus desotoi*) // US Fish & Wildlife Service. – Panama City, 1993. – 33 p.
67. Ramsar Declaration on Global Sturgeon Conservation // J. Appl. Ichthyol. – 2006. – № 22 (Suppl.1). – P. 5–11.
68. Rosenthal H., Bronzi P., Mc Kenzie D. Highlights of the 3th Intern. Sturg. Symp.: Session Summaries, Conclusions and Recommendations // J. Appl. Ichthyol. – 1999. – № 15. – P. 1–6.
69. Rosenthal H., Pourkazemi M., Bruch R.M. The 5th Intern. Symp. on Sturg.: A conference with major emphasis on conservation, environmental mitigation and sustainable use of the sturgeon resources // J. Appl. Ichthyol. – 2006. – № 22 (Suppl. 1). – P. 1–11.
70. Semenikova T.B., Canario A.V., Bayunova L.V., Couto E., Kolmakov N.N., Barannikova I.A. Sex steroids and oocyte maturation in the sterlet (*Acipenser ruthenus* L.) // J. Appl. Ichthyol. – 2005. – № 22. – P. 340–345.
71. Trzebiatowski R., Stepanovska K., Siwicki A.K., Kazun K. Badania nad przydatnoszcia preparatu propiscin znieczulenia ogolnogo suma europejskiego // Komunikaty Rybackie. – 1996. – № 1. – P. 14–18.

72. Vaini F., Pazzaglia M., Ruzza C. Female identification and checking of ovary development in caviar producing white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) – Preliminary results // Extended Abstracts of 4th Intern. Symp. on Sturg., Oshkosh, WI, USA. – 2001. – PP96.

73. Vajhi A.R., Masoudifard M., Veshkini A., Akhtarzadeh M., Moghim M. Normal ultrasonographic findings of the digestive system of Persian Sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii persicus*) // Extended Abstracts of 4th Intern. Symp. on Sturg., Oshkosh, WI, USA. – 2001. – PP97.

74. Van Eenennaam J.P., Bruch R., Kroll K. Sturgeon sexing, staging maturity and spawning induction workshop // 4th Intern. Symp. on Sturg., Oshkosh, WI, USA. – 2001. – 50 p.

75. Van Eenennaam J.P., Doroshov S. I. Effects of age and body size on gonadal development of Atlantic sturgeon // J. Fish Biol. – 1998. – № 53. – P. 624–637.

76. Vecsei P., Litvak M.K., Noakes D.L.G., Rien T., Hochleithner M. A noninvasive technique for determining sex of live adult North American sturgeons // Env. Biol. Fish. – 2003. – № 68. – P. 333–338.

77. Vladikov V.D. 1931. Poissons de la Russie Sous-Carpathique (Tchecoslovaquie). Mem. Soc. Zool. France 29: 217-374. Cited in: Hoicik J. (ed.) 1989. The Freshwater Fishes of Europe. I part II. General Introduction to Fishes Acipenseriformes. AULA-Verlag, Wiesbaden.

78. Webb M.A.H., Feist G.W., Foster Eu.P., Schreck C.B., Fitzpatrick M.S. Classification of sex and stage of maturity of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) using blood plasma and mucus indicators // Extended Abstracts of 4th Intern. Symp. on Sturg., Oshkosh, WI, USA. – 2001. – LH73.

79. Webb M., Doroshov S., Rasco R., Cavinato A., Sealey W., Fornshell G., Lemon L., Ray L. Determining Ripeness in White Sturgeon Females to Maximize Yield and Quality of Caviar. ANNUAL PROGRESS REPORT. Part II. Western Region Aquaculture Center, U.S. Department of Agriculture. – 2009. – P. 1–36.

80. Wei Q., Ke Fuen, Zhang J., Zhuang P., Luo J., Zhou R., Yang W. Biology, fisheries and conservation of sturgeons and paddlefish in China // Env. Biol. Fish. – 1997. – № 48. – P. 241–255.

81. Williot P. Reproduction // Esturgeons et caviar (dir. R. Billard), pref. Laurent Sabeau. Paris: Tec et Doc. – 2002. – P. 63–90.

82. Williot P., Arlati G., Chebanov M.S., Gulyas T., Kasimov R., Kirschbaum F., Patriche N., Pavlovskaya L.P., Poliakova L., Pourkazemi M., Kim Yu., Zhuang P., Zholdasova I.M. Status and management of Eurasian sturgeon: an overview // Intern. Review of Hydrobiology. 87 Issue 5-6. – 2002. – P. 483–506.

83. Williot P., Brun R., Ronuault T., Pelard M., Mercier D., Ludwig A. Artificial spawning in cultured sterlet sturgeon, *Acipenser ruthenus* L., with special emphasis on hermaphrodites // Aquaculture. – 2005. – № 246. – P. 263–273.

84. Wuertz S., Nitsche A., Gessner J., Kirschbaum F., Kloas W. IGF-I and its role in maturing gonads of female sterlet, *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758 // J. Appl. Ichthyol. – 2005. – № 22. – P. 346–352.



MEDIC·SERVICE

ВАШ ПАРТНЕР С 1992 ГОДА

Современные УЗИ сканеры

из Китая и Японии

ПРЯМЫЕ ПОСТАВКИ ●
НИЗКИЕ ЦЕНЫ ●
ВЫСОКОЕ КАЧЕСТВО И НАДЕЖНОСТЬ ●

Россия, 111024, Москва
Шоссе Энтузиастов, дом 5, офис 1007
E-mail: info@medic-service.ru
тел.: +7 (495) 918-1735, 781-4562
www.medic-service.ru

Медик-Сервис - официальный дистрибьютор и сервисный центр Mindray на территории РФ



Научное издание

ЧЕБАНОВ Михаил Степанович
ГАЛИЧ Елена Васильевна

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ДИАГНОСТИКА ОСЕТРОВЫХ РЫБ

Дизайн обложки Е. В. Стефанов

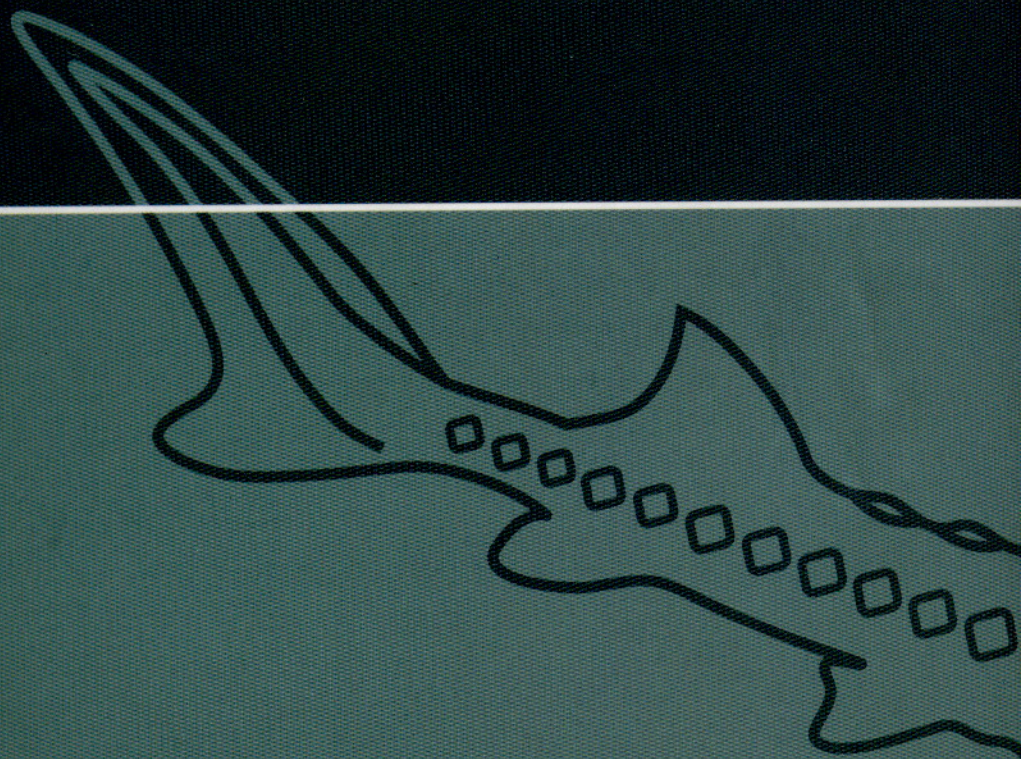
Подписано в печать 10.09.2010. Формат 70×100^{1/16}
Бумага мелованная. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 10,96. Уч.-изд. л. 11,27.
Тираж 1000 экз. Заказ 10205.

По вопросам реализации обращаться по адресу:
Россия, 350000, г. Краснодар, ул. Гимназическая, 59
Южный филиал ФГУП
«Федеральный селекционно-генетический
центр рыбоводства»,

Тел./Факс: +7 (861) 2629671, +7 (861) 2622559
E-mail: MChabanov@rambler.ru
Web: www.sturgeon.su

Издательство ООО «Просвещение-Юг»
350059, г. Краснодар, ул. Селезнева, 2.

Тираж изготовлен в типографии издательства ООО «Просвещение-Юг»
350059, г. Краснодар, ул. Селезнева, 2.
Тел./факс: 239-68-31. E-mail: edu_s@kubannet.ru



В книге описана методика проведения УЗИ-диагностики осетровых рыб, которая позволяет не только быстро (за несколько секунд) определять пол и стадии зрелости, но также может быть успешно использована для нетравматичного мониторинга маточных стад на основе оценки состояния внутренних органов осетровых рыб, включая выявление аномалий развития, диагностику заболеваний, определение гонадо-соматического индекса, прогноза созревания производителей, определения плодовитости самок, размеров зрелых ооцитов, времени их полной овуляции, начала резорбции ооцитов и ее завершения и др.