

КОМПЬЮТЕРНЫЙ АНАЛИЗ ПОДВИЖНОСТИ СПЕРМАТОЗОИДОВ АФРИКАНСКОГО СОМА (*CLARIAS GARIEPINUS*) В АКВАКУЛЬТУРЕ

М. В. ШУМСКАЯ, К. Л. ШУМСКИЙ

УО «Белорусская государственная орденов Октябрьской Революции
и Трудового Красного Знамени сельскохозяйственная академия»,
г. Горки, Республика Беларусь, 213407

(Поступила в редакцию 12.03.2026)

Ключевым моментом в технологиях искусственного воспроизводства любых организмов является успешное слияние яйцеклетки и сперматозоида. Для достижения этой цели необходимо проводить оценку качества получаемого полового материала. Это позволяет отсеять и не использовать в процессе оплодотворения сперму, не соответствующую установленным критериям.

Ранее используемые классические методы определения качества спермы имеют субъективный характер и подвержены ошибкам, обусловленным человеческим фактором. В связи с этим современные методы диагностики качества спермы, базирующиеся на высокоскоростной видеосъемке и специализированном программном обеспечении, позволяют более точно определять траекторию и скорость движения сперматозоидов.

С помощью CASA установлено, что средние значения подвижности сперматозоидов африканского сома очень высокие и находятся в диапазоне от 82,09 % до 99,71 %. Наибольшая средняя криволинейная скорость сперматозоидов категории А составила 80,05 мкм/с. Средняя VSL находится в пределах от 40 до 50 мкм/с, это говорит о том, что в основном сперматозоиды движутся с умеренной прямолинейной скоростью. Самая низкая средняя VSL 37,31 мкм/с, а самая высокая – 52,03 мкм/с. Различия между средними значениями VAP и VSL для одних и тех же проб указывают на то, что сперматозоиды в этих пробах двигаются не совсем прямолинейно, а по кривой траектории, но при этом они сохраняют общее направление. Установлено, что в целом качество спермы африканского сома высокое, так как процент подвижности составляет 93,98 % и содержится значительная доля сперматозоидов категории А 80,27 %.

Ключевые слова: аквакультура, африканский сом, сперма, сперматозоиды, подвижность.

The key to artificial reproduction of any organism is the successful fusion of the egg and sperm. To achieve this, it is necessary to assess the quality of the resulting reproductive material. This allows sperm that does not meet established criteria to be screened out and discarded in the fertilization process.

Previously used classical methods for determining sperm quality are subjective and prone to human error. Therefore, modern methods for diagnosing sperm quality, based on high-speed video recording and specialized software, allow for more accurate determination of sperm trajectory and velocity.

Using CASA, it was found that the average sperm motility values of African catfish are very high, ranging from 82.09 % to 99.71 %. The highest average curvilinear velocity of category A sperm was 80.05 $\mu\text{m/s}$. The average VSL ranged from 40 to 50 $\mu\text{m/s}$, indicating that sperm primarily move at a moderate, linear velocity. The lowest average VSL was 37.31 $\mu\text{m/s}$, and the highest was 52.03 $\mu\text{m/s}$. Differences between the average VAP and VSL values for the same samples indicate that sperm in these samples do not move in a completely linear motion, but rather along a curved trajectory, while maintaining a general direction. African catfish sperm quality has been found to be high overall, with a motility rate of 93.98 % and a significant proportion of grade A sperm (80.27 %).

Key words: aquaculture, African catfish, semen, sperm, motility.

Введение

Перспективным объектом тепловодной аквакультуры является африканский клариевый сом (*Clarias gariepinus*), обладающий высоким генетическим потенциалом роста и развития в условиях интенсивного культивирования. В Беларуси интерес к африканскому клариасу, до недавнего времени был низким, а сейчас начал расти. Тем не менее возникает целый ряд проблем, связанных с индустриальным разведением этой рыбы.

Размножение клариевых сомов в естественных условиях северного полушария происходит в период дождей. Сомы обычно размножаются один раз в сезон в водоемах, наполнившихся дождевой или грунтовой водой, маленьких речках, иногда во время дождя [1]. Основными факторами, регулирующими размерно-весовое соотношение при первом созревании, являются питание и температура воды. Низкий уровень питания положительно влияет на развитие яичников, температура воды – ведущий фактор регуляции, развития и созревания семенников [2].

В индустриальной аквакультуре производители *Clarias gariepinus* утрачивают способность продуцировать зрелые половые продукты, что вызывает необходимость проведения гормональной подготовки данного вида перед нерестом [3]. Общая методика воспроизводства клариевого сома сходна с воспроизводством большинства промышленных видов рыб, основными же отличиями являются: хирургическое получение половых продуктов у самцов, короткие сроки инкубации и перехода на экзотическое питание и, самое главное, возможность применения только искусственных методов воспроизводства [4]. Посмертная эктомия гонад существенно влияет на возможности селекционной работы с

данным видом [5]. В то же время имеются данные об использовании криоконсервированной спермы клариевого сома [6]. Ключевым моментом в технологиях искусственного воспроизводства любых организмов является успешное слияние яйцеклетки и сперматозоида. Для достижения этой цели необходимо проводить оценку качества получаемого полового материала. Это позволяет отсеять и не использовать в процессе оплодотворения сперму, не соответствующую установленным критериям.

В ветеринарной практике и животноводстве для оценки качества спермы применяют ряд основных методов. К ним относятся: анализ морфологии сперматозоидов, а также оценка цвета, запаха, объема и консистенции эякулята. Помимо этого, проводится анализ подвижности, устойчивости, густоты, и интенсивности дыхания спермиев.

В аквакультуре применяется 5-балльная шкала Персова. Подсчет сперматозоидов с использованием микроскопа дает возможность оценить их общее число, однако данный метод подвержен погрешностям, связанным с разбавлением и подсчетом.

Все используемые в аквакультуре Беларуси методы имеют субъективный характер и подвержены ошибкам, обусловленным человеческим фактором. В связи с этим современные методы диагностики качества спермы, базирующиеся на высокоскоростной видеосъемке и специализированном программном обеспечении, позволяют более точно определять траекторию и скорость движения сперматозоидов [7].

Автоматизированный компьютерный анализ подвижности сперматозоидов (CASA) обеспечивает точную оценку таких параметров, как криволинейная скорость, прямолинейная скорость, средняя скорость движения по траектории и линейность движения. Полученные таким образом результаты позволяют получить объективную оценку качества спермы, устраняя субъективность, характерную для традиционной спермограммы.

Цель работы – оценка качества спермы самцов-производителей африканского сома с помощью компьютерного автоматического анализа спермы (CASA).

Основная часть

Экспериментальная часть работы проводилась на базе кафедры ихтиологии и рыбоводства УО «Белорусской государственной орденов Октябрьской Революции и Трудового Красного Знамени сельскохозяйственной академии».

В качестве объектов исследований использовали половозрелых особей африканского сома живой массой более 500 г, выращенных в условиях УЗВ в УО БГСХА в соответствии с рекомендациями [8].

Были отобраны 9 самцов гонады, которых находились на IV стадии зрелости. Стимуляция созревания гонад осуществлялась однократной внутримышечной инъекцией суспензии карпового гипофиза в дозе 4 мг/кг массы тела. После извлечения семенники измельчались скальпелем и протирались через сито.

Для исследования подвижности сперматозоидов использовалась система CASA состоящая из тринокулярного электронного микроскопа с камерой и персонального компьютера с автоматизированным программным обеспечением MMC Сperm. В качестве микроскопа использовался биологический тринокулярный микроскоп (тип Зидентофа) проходящего света MMC-KZ-900. Для анализа подвижности использовались одноразовые счетные стекла Leja с четырьмя камерами глубиной 10 микрон (точность $\pm 5\%$) и объемом около 1 мкл. Для записи подвижности сперматозоидов использовалась профессиональная цифровая камера для микроскопии MMC-31C12-M, созданная на основе КМОП сенсора Artina. Данная камера позволяла проводить цветную видеосъемку с частотой кадров 12, 60, 95 и 135 к/с при разрешении 2048×1536, 800×600, 640×480 и 512×384, соответственно.

С целью изучения качественных параметров спермы африканского сома были рассмотрены динамические и количественные показатели такие как общая средняя криволинейная скорость сперматозоидов (VCL), средняя криволинейная скорость сперматозоидов категории А (VCL (A)), процент общей подвижности сперматозоидов, процент подвижности сперматозоидов категории А.

Была изучена спермопродукция, полученная от 9 половозрелых самцов африканского сома. Вся сперма соответствовала нормативным значениям оплодотворяющей способности и имела высокие значения.

При делении сперматозоидов на классы в зависимости от скорости и прямолинейности движения были использованы референтные значения для CASA применяемые при племенной оценке самцов-производителей [9].

Общая средняя криволинейная скорость сперматозоидов (VCL) является важным и объективным показателем подвижности спермиев, измеряемым с помощью CASA. Этот параметр позволяет оценить качество спермы, выявить проблемы с подвижностью и спрогнозировать оплодотворяющую способность. Чем выше значение VCL, тем более активны и эффективны сперматозоиды. Значения

средней криволинейной скорости (VCL) сперматозоидов и сперматозоидов категории А (VCL (А)) африканского клариевого сома представлены в табл. 1.

Таблица 1. Определение средней криволинейной скорости (VCL) сперматозоидов африканского клариевого сома

Номер пробы (самца)	VCL, мкм/с			VCL (А), мкм/с		
	$\bar{X} \pm m$	$C_v, \%$	объем выборки	$\bar{X} \pm m$	$C_v, \%$	объем выборки
1	59,27 ± 4,16	37,83	237	68,33 ± 4,03	27,02	178
2	59,52 ± 3,01	36,51	199	71,55 ± 1,89	15,81	138
3	53,22 ± 7,38	33,96	264	63,66 ± 5,66	17,77	176
4	67,76 ± 3,81	29,23	155	72,88 ± 2,84	19,10	138
5	71,33 ± 5,60	33,33	211	80,05 ± 3,7	17,90	176
6	69,94 ± 2,33	33,38	254	71,76 ± 2,35	31,73	216
7	52,57 ± 4,78	30,14	155	60,05 ± 2,84	13,38	113
8	63,63 ± 3,99	25,84	226	66,99 ± 3,73	21,58	199
9	72,69 ± 4,97	28,99	195	79,91 ± 3,75	18,16	163

Видно, что наибольшее значение средней криволинейной скорости сперматозоидов было зарегистрировано у сома № 9 и составило 72,69 мкм/с, наименьшее значение у сома под номером 7 (52,57 мкм/с).

Средняя криволинейная скорость сперматозоидов категории А (VCL категории А) является важным и более точным показателем качества подвижности спермы, чем общая средняя VCL. Она характеризует среднюю скорость только тех сперматозоидов, которые движутся активно и поступательно. Высокая VCL категории А ассоциируется с лучшей оплодотворяющей способностью и является важным критерием при выборе спермы для искусственного оплодотворения.

Наибольшая средняя криволинейная скорость сперматозоидов категории А наблюдалась у сперматозоидов самца № 5 составив 80,05 мкм/с. Наименьшая скорость была зарегистрирована у сома № 7 составив 60,05 мкм/с.

Наряду со скоростью подвижности сперматозоидов, особенно в условиях высокой продуктивности самок, процент подвижности (количество подвижных) сперматозоидов является важным показателем. При оценке общей подвижности учитываются все сперматозоиды, которые двигаются, вне зависимости от того, являются ли их движения прогрессивными (поступательными) или непрогрессивными (круговыми, колебательными и т.д.). Общая подвижность выражается в процентах от общего числа сперматозоидов, подсчитанных в образце. Это один из самых простых и широко используемых показателей при анализе спермы, который часто используется в качестве первого шага в оценке качества спермы. Результаты исследования подвижности сперматозоидов африканского сома представлены в табл. 2.

Таблица 2. Определение процента подвижности сперматозоидов африканского сома

Номер пробы (самца)	Повторность эксперимента, раз	Подвижность, %		Доля сперматозоидов (А), %	
		$\bar{X} \pm m$	$C_v, \%$	$\bar{X} \pm m$	$C_v, \%$
1	3	97,22 ± 1,31	0,02	75,86±0,28	0,65
2	3	98,44 ± 1,15	0,02	69,23±4,07	0,09
3	3	90,46 ± 5,47	0,10	66,67±11,24	0,29
4	3	99,71 ± 0,29	0,01	88,89±8,07	0,26
5	3	99,15 ± 0,85	0,01	83,33±9,89	0,41
6	3	82,09 ± 2,43	0,05	85,00±6,25	0,48
7	3	95,00 ± 1,82	0,03	72,73±3,53	0,43
8	3	85,06 ± 9,97	0,20	88,24±0,64	0,20
9	3	98,44 ± 1,15	0,02	83,33±1,53	0,94

Средние значения подвижности очень высокие для большинства проб, находятся в диапазоне от 82,09 % до 99,71 %. Самая низкая средняя подвижность наблюдается в пробе № 6 (82,09 %), а самая высокая в пробе № 4 (99,71 %).

В целом подвижность сперматозоидов в этих пробах очень хорошая. Хотя этот показатель важен, он не дает полной информации о качестве подвижности сперматозоидов, так как не различает поступательное и непродуктивное движение. Для более точной оценки необходимы дополнительные параметры, такие как процент прогрессивно подвижных сперматозоидов (категория А) и другие показатели подвижности, которые измеряются с помощью CASA.

Сперматозоиды категории А (иногда также называют «прогрессивно подвижными») – это сперматозоиды, которые демонстрируют активное и поступательное движение. Это означает, что они движутся в основном прямо или по дуге большого радиуса, эффективно продвигаясь вперед. Они проявляют заметную и энергичную подвижность. Они двигаются в определенном направлении, преимущественно вперед. Их движение обеспечивает прогрессию сперматозоида в пространстве. Процент

сперматозоидов категории А отражает, какая часть популяции сперматозоидов способна эффективно двигаться к яйцеклетке. Процент сперматозоидов категории А является одним из наиболее важных параметров при оценке мужской фертильности. Он более точно, чем общая подвижность, отражает способность спермы к оплодотворению. Более высокий процент сперматозоидов категории А ассоциируется с более высокой вероятностью успешного оплодотворения.

Средние значения доли сперматозоидов категории А варьируют в диапазоне от 66,67 % до 88,89 %. Наименьшая средняя доля категории А наблюдается в пробе № 3 (66,67 %), а наибольшая в пробе № 4 (88,89 %). Пробы № 2 и 3 показывают более низкую долю сперматозоидов категории А по сравнению с остальными пробами.

Все пробы демонстрируют очень высокую подвижность сперматозоидов в целом, что является хорошим показателем качества спермы. Пробы 4 и 5 имеют как высокую подвижность, так и высокую долю сперматозоидов категории А.

Прямолинейная скорость – это еще один важный параметр, измеряемый при компьютерном анализе подвижности сперматозоидов (CASA). Она представляет собой среднюю скорость движения сперматозоида вдоль прямой линии, проведенной между начальной и конечной точкой его траектории. Прямая линия: VSL не учитывает фактическую, извилистую траекторию движения сперматозоида. Вместо этого она измеряет скорость по прямой линии, соединяющей начальную и конечную точки траектории. VSL показывает, насколько эффективно сперматозоид перемещается в заданном направлении, игнорируя любые отклонения от прямой. Результаты исследования прямолинейной скорости (VSL) представлены в табл. 3.

Таблица 3. Определение прямолинейной скорости (VSL) сперматозоидов африканского сома

Номер пробы (самец)	(VSL), мкм/с		
	$\bar{X} \pm m$	Cv, %	объем выборки n
1	40,22±2,90	53,96	237
2	52,03±5,17	28,11	199
3	37,31±7,6	64,44	264
4	46,56±6,21	56,60	155
5	42,47±5,74	40,51	211
6	46,47±6,21	56,60	254
7	42,83±3,20	29,87	155
8	44,59±6,47	45,90	226
9	45,98±9,28	53,39	195

Из данных табл. 3 видно, что средняя VSL находится в пределах от 40 до 50 мкм/с, это говорит о том, что в основном сперматозоиды движутся с умеренной прямолинейной скоростью. Самая низкая средняя VSL наблюдается в пробе № 3 (37,31 мкм/с), а самая высокая в пробе № 2 (52,03 мкм/с).

В отличие от VCL (криволинейной скорости), которая измеряет скорость вдоль фактической, извилистой траектории, VAP измеряет скорость вдоль усредненной траектории. Усредненная траектория – это сглаженная версия фактической траектории, которая отфильтровывает небольшие колебания и повороты. Этот процесс сглаживания позволяет лучше оценить общую направленность движения сперматозоида, нивелируя небольшие и часто неэффективные колебания. Результаты исследования средней скорости движения по усредненной траектории (VAP) сперматозоидов африканского сома представлены в табл. 4.

Таблица 4. Определение средней скорости движения по усредненной траектории (VAP) сперматозоидов африканского сома

Номер пробы (самец)	(VAP), мкм/с		
	$\bar{X} \pm m$	Cv, %	Объем выборки n
1	42,32 ± 2,15	30,51	237
2	53,28 ± 4,56	20,96	199
3	42,70 ± 7,94	52,6	264
4	51,87 ± 5,92	47,07	155
5	45,20 ± 7,70	48,20	211
6	64,30 ± 5,82	52,78	254
7	51,72 ± 4,45	29,82	155
8	52,47 ± 8,07	34,40	226
9	51,60 ± 12,97	56,21	195

Данные табл. 4 показывают, что сперматозоиды африканского сома имеют умеренную скорость движения по усредненной траектории, однако наблюдается значительная вариабельность в значениях как внутри проб, так и между ними. Самая низкая средняя VAP наблюдается в пробе № 1 (42,32 мкм/с), а самая высокая в пробе № 6 (64,30 мкм/с). Различия между средними значениями VAP и VSL

для одних и тех же проб указывают на то, что сперматозоиды в этих пробах двигаются не совсем прямолинейно, а по кривой траектории, но при этом они сохраняют общее направление.

Проанализировав данные всех таблиц, можно объективно судить о качестве спермопродукции самцов африканского сома, участвующих в искусственном воспроизводстве. Так, сперма самца № 1 подвижная, с хорошей долей А (75,86 %), но со средней общей скоростью (59,27 мкм/с) и низкой прямолинейностью. У самца № 2 сперма очень подвижная, со средней долей А (69,23 %), но с высокой прямолинейностью, это компенсирует не очень высокую VCL (59,52 мкм/с). Сперматозоиды имеют не самую высокую скорость, но двигаются в большинстве случаев прямолинейно, повышая продуктивность искусственного оплодотворения. Сперма самца № 3 подвижна, со средней долей А (66,67 %), но с низкими скоростными показателями, что делает ее менее эффективной. Сперму с отличной подвижностью и долей А, а также высокой VCL, но средней прямолинейностью имеет самец № 4. Из всех самцов он обладает спермой лучшего качества. Сперма самца № 5 имеет высокие значения по всем показателям, кроме прямолинейности. Сперматозоиды имеют высокую скорость, но часто изменяют траекторию движения, что при естественном нересте могло бы снизить эффективность оплодотворения. У самца № 6 сперма со средней подвижностью (82,09 %) и хорошей долей А (85,00 %), но при этом с высокой VCL (69,94 мкм/с) и VAP (64,30 мкм/с), но средней VSL (46,47 мкм/с). Сперма самца № 7 со средней скоростью (52,57 мкм/с) и средней прямолинейностью, хотя подвижность хорошая (95,00 %). У самца № 8 сперма с хорошей подвижностью (85,06 %) и долей А (88,24 %), но средней скоростью (63,63 мкм/с) и прямолинейностью. Сперма самца № 9 имеет одни из лучших показателей. Сперматозоиды характеризуются отличной подвижностью (98,44 %) и долей А (83,33 %), высокой VCL (72,69 мкм/с), но средней прямолинейностью.

Таким образом, из 9 исследуемых самцов спермой наилучшего качества обладает самец № 4. Сперматозоиды показали лучший результат по всем показателям, кроме VSL/VAP.

Заключение

При искусственном воспроизводстве использование компьютерных программ для исследования качества спермы рыб является перспективным для аквакультуры. Установлено, что средние значения подвижности сперматозоидов африканского сома очень высокие для большинства проб и находится в диапазоне от 82,09% до 99,71%. Наибольшая средняя криволинейная скорость сперматозоидов категории А составила 80,05 мкм/с. В целом подвижность сперматозоидов в этих пробах очень хорошая.

Установлено, что средняя VSL находится в пределах от 40 до 50 мкм/с, что говорит о том, что в основном сперматозоиды движутся с умеренной прямолинейной скоростью. Самая низкая средняя VSL 37,31 мкм/с, а самая высокая – 52,03 мкм/с. Различия между средними значениями VAP и VSL для одних и тех же проб указывают на то, что сперматозоиды в этих пробах двигаются не совсем прямолинейно, а по кривой траектории, но при этом они сохраняют общее направление. Установлено, что в целом качество спермы африканского сома высокое, так как процент подвижности 93,98 % и значительная доля сперматозоидов категории А 80,27 %. При оценке качества производителей нами рекомендуется больше уделять внимания категории производителей с более высокими показателями подвижности сперматозоидов категории А.

ЛИТЕРАТУРА

1. Заки, М. Размножение и развитие *Clarias gariepinus* (Pisces, Clariidae) из озера Манзала (Египет) / М. Заки, А. Абдула // Вопр. ихтиологии. – 1983. – Т.51. Вып. 23. – С. 48–58.
2. Крыжановский, С. Г. Эколого-морфологические закономерности развития карповых, вьюновых и сомовых рыб // Тр. Инс-та морфологии животных АН СССР. – М., 1949 – Вып. 1. – 236 с.
3. Сравнительная характеристика плодовитости самок клариевого сома, выращенных при разных температурных режимах [Электронный ресурс] / В. Н. Любомирова, Е. М. Романова, В. В. Романов [и др.] // Науч.-метод. эл. ж-л «Концепт». – 2016. – Т. 26. – С. 1011–1015. – Режим доступа: <http://ekoncept.ru/2016/76305.htm>. – (Дата обращения: 22.09.2023).
4. Kumar, G. S. Development of a cell culture system from the ovarian tissue of African catfish (*Clarias gariepinus*) / G. S. Kumar, I. S. B. Singh, R. Philip // Aquaculture. – 2001. – Vol. 194, № 1-2. – P. 51–62.
5. Kucharczyk, D. Optimization of artificial insemination outcomes of African catfish (*Clarias gariepinus*) with differing hatchery conditions / D. Kucharczyk, D.J. Kucharczyk, J. Nowosad [et al.] // Animal reproduction science. – 2019. – Vol. 211. – P. 106–222.
6. Müller, T. Artificial insemination of African catfish (*Clarias gariepinus*) using cryopreserved sperm / T. Müller, T. Szabó, T. Kollár [et al.] // Theriogenology. – 2019. – Vol. 123. – P. 145–150.
7. Барулин, Н. В. Компьютерный анализ подвижности сперматозоидов ленского осетра в аквакультуре / Н. В. Барулин, К. Л. Шумский // Животноводство и ветеринарная медицина. – 2018. – № 3(30). – С. 11–16.
8. Власов, В. А. Воспроизводство и выращивание клариевого сома (*Clarias gariepinus*) с использованием установок с замкнутым циклом водообеспечения (УЗВ) / В. А. Власов, А. П. Завьялов, Ю. И. Есавкин. М.: Росинформагротех, 2010. – 48 с.
9. Шумский, К. Л. Результаты определения оптимальных референтных значений подвижности сперматозоидов осетровых рыб для метода компьютерного автоматического анализа спермы (CASA) / К. Л. Шумский, Н. В. Барулин // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. – 2022. – № 25-1. – С. 13–22.