

Изобретение относится к сельскому хозяйству, в частности к искусственному осеменению животных, и может быть использовано для оценки качества спермы по подвижности (активности) спермиев.

Важнейшим этапом технологии искусственного осеменения животных является объективное и быстрое определение качества биоматериала, полученного от производителя (до замораживания и после размораживания перед искусственным осеменением).

Одним из основных качественных показателей спермы является количество спермиев с активным прямолинейным движением.

Известен способ определения качества спермиев, включающий смешивание спермы с питательной средой, содержащей два красителя - тиазиновый красный и этидиум бромид. При повреждении мембраны акросомы тиазиновый красный проникает в ак-росому и вызывает ее свечение, а этидиум бромид, проникает через поврежденную ци-топлазматическую мембрану спермия, вызывает свечение его головки. О качестве спермы судят по интенсивности их свечения под люминесцентным микроскопом (Ас. СССР №1329780, кл. А61D7/02, 1987).

Недостатком этого способа является большая погрешность и длительность процесса оценки. Это связано с субъективизмом оператора, его утомляемостью и зрительной способностью. Так под микроскопом нормальные спермин будут выглядеть более светлыми на темно-синем фоне, а при повреждении акросомы - светло-салатными, при повреждении цитоплазматической мембраны - ярко-малиновыми. Длительность подсчета спермиев с различными оттенками приводят к повышенной утомляемости оператора и снижению его зрительной способности и, естественно, к ошибкам.

Известен способ определения подвижности сперматозоидов в эякулятах самцов путем воздействия на них постоянным электрическим током. Для этого в емкость с проводящей электрический ток средой помещают сосуд с раствором спермы, на который воздействуют постоянным током. Сперматозоиды начинают двигаться от отрицательного полюса к положительному и через горизонтальные отверстия в стенках внутреннего сосуда проходят в среду наружной емкости. При этом мертвые сперматозоиды и сперматозоиды с маневным движением не выйдут из внутреннего сосуда. Подсчитав количество сперматозоидов в эякуляте и в среде наружной емкости определяют процент подвижных сперматозоидов в сперме, т.е. ее качество (Ас. СССР №1386186, кл. А61D7/02, 1988).

Недостатками известного способа являются длительность (подсчет сперматозоидов под микроскопом) и большая погрешность. На подвижность сперматозоидов, кроме воздействия постоянного тока, сказывается характер температурного поля, наличие градиента температуры в растворе и стенках сосудов, осмотическое давление. Указанные факторы влияют на точность оценки известного способа.

Наиболее близким по технической сущности к заявляемому является способ, реализованный в известном устройстве для считывания информации о подвижных микрообъектах в

жидком растворе (Ас. СССР №903918, кл. G06K9/46, 1982, прототип).

Способ включает освещение раствора спермы в проходящем свете, получение оптической информации и ее обработку.

Оптическую информацию в каждый заданный момент времени T фиксируют на видеоманитонной ленте. В полученной записи выделяют наиболее характерные кадры. После этого в каждый заданный момент времени T каждому спермию определяют коды координат "x" и "y".

При последующей обработке на ЭВМ координат "x" и "y" определяют подвижность спермиев в нереальном масштабе времени (по простотии события).

По сравнению с аналогами данный способ значительно точнее, требует меньшего времени для оценки и не зависит от субъективных качеств оператора.

Если необходимо контролировать подвижность большого количества спермиев, то реализация способа вызовет затруднения из-за дефицита памяти и быстродействия устройства.

Кроме того, известный способ позволяет вести обработку кодов координат отдельно каждого спермия и при большом их количестве требует больших затрат времени и памяти ЭВМ, что не всегда приемлемо, например, при анализе подвижности спермиев перед искусственным осеменением, когда требуется быстрый анализ в реальном масштабе времени.

Задачей изобретения является разработка такого способа определения подвижности спермиев сельскохозяйственных животных, в котором путем введения операций кодирования на четыре проекции всей массы спермиев с определением кода изображения каждого спермия повышается быстродействие способа.

Поставленная задача достигается тем, что в способе определения подвижности спермиев сельскохозяйственных животных, включающим освещение раствора спермы в проходящем свете, получение оптической информации и ее обработку, включающую кодирование в проекциях, согласно изобретению кодирование производят на четыре проекции всей массы спермиев с определением кода изображения каждого спермия, а определение пути и скорости по каждому спермию осуществляют путем вычитания соответствующих кодов координат из первого одновременно для всей массы спермиев в реальном масштабе времени.

Благодаря проецированию местонахождения каждого спермия в заданные моменты времени на четыре проекции повышается точность способа, т.к. любое перемещение спермия будет отражено на проекциях в кодах координат изображений и поступит для дальнейшего анализа.

Предлагаемый способ предусматривает обработку информации всего изображения сразу в реальном масштабе времени, что значительно ускоряет процесс определения подвижности спермиев по сравнению с прототипом, где обработка кодов координат каждого микрообъекта осуществляется последовательно и в нереальном масштабе времени.

При поиске по патентной и научно-технической литературе не выявлены объекты с признаками, сходными с отличительными признаками заявляемого технического решения, на основании

чего можно сделать вывод о соответствии его критерию "существенные отличия".

Предлагаемый способ реализуют следующим образом.

Концентрированную сперму разбавляют до концентрации, в которой количество спермиев в растворе является статистически значимо.

Разбавленную сперму помещают в канюлю с размерами, не затрудняющими движение спермиев. Температура канюли должна соответствовать температуре, характерной для жизнеспособности спермиев (38 - 40°C).

Канюлю с раствором спермы освещают в проходящем свете. Оптическая информация о спермиях в канюле регистрируется, например, микроскопом, обрабатывается, например, преобразуется в электрические сигналы о каждом спермие, а затем в бинарный двоичный код. Потом это бинарное изображение одновременно кодируется на четыре проекции в заданные моменты времени с определением кода изображения каждого спермия. Затем осуществляют вычитание кодов проекций последующих изображений во времени из первого по каждому спермию одновременно для всего массива информации. Все выше перечисленные операции производят в реальном масштабе времени.

В результате последней операции получают общую оценку подвижности каждого спермия одновременно для всей массы исследуемого объема, т.е. путь, пройденный каждым спермием и его скорость.

Устройство, реализующее способ, иллюстрируется чертежами.

На фиг.1 приведена блок-схема устройства, реализующая операции способа; на фиг.2 - положение спермиев в начальный момент наблюдения T_1 с соответствующим кодированием оптической обработанной информации о них на четыре оси координат; на фиг.3 - то же, но в следующий момент времени T_2 ; на фиг.4 иллюстрируется подтверждение необходимости введения четырех проекций, поскольку двух (проекций только на оси OX и OY) мало. Это связано с тем, что перемещение, например двух спермиев A и B (фиг.4) соответственно в точки A_1 и B_1 не изменяет кодирования на оси OX и OY , хотя местоположение спермиев изменилось.

Устройство содержит источник 1 света, освещающий канюлю 2 с разбавленной спермой самца. Канюля 2 может быть помещена в термостат 3 с прозрачными стенками и теплоносителями. В зависимости от температуры в помещении и учитывая незначительное время исследования каждой канюли (3 - 5сек), термостат 3 может отсутствовать.

За канюлей 2, со стороны, противоположной источнику 1, установлен микроскоп 4, совмещенный с телевизионным датчиком 5, содержащим матричный фотоприемник на приборе с зарядовой связью (ПЗС), например, КТМ-1.

Датчик 5 своим выходом связан со входом блока 6 кодирования с компаратором. Выход блока 6 соединен с вычитающим узлом 7 с памятью, который связан с анализатором 8, выполненным в виде арифметического устройства с монитором.

Способ осуществляется следующим образом

При включении источника 1 света канюля 2

освещается. Предположим, что в поле зрения микроскопа 4 попали спермин A, B и C . Степень увеличения изображения микроскопа 4 выбирается такой, чтобы минимальный из характерных геометрических размеров спермиев совпадал с несколькими элементами матричного фотоприемника на ПЗС в датчике 5. Кроме того, частота съема информации выбирается с учетом того, чтобы время между двумя кадрами обеспечивало перемещение самых быстрых спермиев на 1 - 2 элемента матричного фотоприемника. Это позволит повысить точность считывания и кодирования информации. Таким образом информация о местонахождении спермиев A, B и C в канюле 2 для каждого

момента времени T_1, T_2, \dots, T_n порциями (кадрами) с помощью объектива микроскопа 4 проецируется на фоточувствительные секции ПЗС датчика 5, где преобразуется в видеoeлектрические сигналы.

Затем эти сигналы поступают на компаратор блока 6, который срабатывает при превышении амплитуды видеосигнала заданного значения, осуществляя таким образом преобразование видеoeлектрических импульсов в бинарный двоичный код.

После этого в блоке 6 это бинарное изображение кодируется на четыре проекции.

Для идентификации спермиев кодирования их местоположения в плоскостях изображения воспользуемся преобразованием Радона (Хелгасон С. Преобразование Радона. - М.: Мир, 1983).

Для такого кодирования информации, находящейся в каждом из кадров (фиг.2) вводится четыре прямые $\varphi_1, \varphi_2, \varphi_3, \varphi_4$ под углами соответственно $0^\circ, 90^\circ, 45^\circ$ и 135° к оси OX . В начальный момент T_1 спермий A, B и C (фиг.2) имеют в декартовой системе следующие значения координат $A(x, y); B(x', y'); C(x'', y'')$, где $x = 5, y = 7, x' = 8, y' = 10, x'' = 10, y'' = 4$.

Телекамера (блок 5) раскладывает изображение на прямоугольную сетку-ПЗС-матрицу, состоящую из строк и столбцов.

Блок 6 фиксирует положение спермиев в момент времени T_1 и далее осуществляет кодирование местоположения спермиев на четыре проекции (прямые) $\varphi_1, \varphi_2, \varphi_3, \varphi_4$ (фиг.2). Тогда коды проекций изображений спермиев на прямые $\varphi_1, \varphi_2, \varphi_3, \varphi_4$ определяются следующим образом.

Для случая прямой φ_3 под углом 45° (табл.3) номер разряда (значение координаты), в котором появится "1" (сигнал) в результате кодирования на прямую φ_3 местоположения спермия определяется как $N = \bar{x} + \bar{y}$, где $N = 13$ для рассматриваемого примера (размер кадра 13×13); \bar{x} - принимает значения x, x', x'' , т.е. значения координат спермиев на оси OX ; \bar{y} - соответственно принимает значения y, y', y'' .

Для случая прямой φ_4 под углом 135° (табл.4) номер разряда (значение координаты), в котором появится "1" (сигнал) в результате кодирования на прямую φ_4 местоположения спермия определяется как $\bar{x} + \bar{y} - 1$, где \bar{x} , как и в предыдущем случае принимает значения x, x', x'' , а \bar{y} -

соответственно y, y', y'' .

Следует отметить, что число разрядов на прямых φ_1 и φ_2 меньше, чем число разрядов на прямых φ_3 и φ_4 . Это связано с тем, что для первой группы кодов на прямых φ_1 и φ_2 проецирование осуществляется на отрезки, равные длине стороны квадрата (кадра), а для второй группы кодов на прямых φ_3 и φ_4 - на отрезки, равные длине диагонали квадрата (кадра).

Таким образом, в начальный момент времени T_1 спермий А, В и С (фиг.2) имеют следующие коды проекций изображения спермиев на прямые $\varphi_1, \varphi_2, \varphi_3, \varphi_4$:

$$\begin{aligned}\varphi_1 &= (0000100101000); \\ \varphi_2^1 &= (0001001001000); \\ \varphi_3^1 &= (0000001000000020000000000); \\ \varphi_4^1 &= (00000000001010001000000000); \end{aligned} \quad (1)$$

Значения кодов проекций изображений спермиев в момент времени T_1 , т.е. $\varphi_1^1, \varphi_2^1, \varphi_3^1, \varphi_4^1$ передают в память блоки 7.

Вполне очевидно, что изменение местоположения спермиев изменяет значение кодов - проекций изображений спермиев. Анализ во времени изменения соответствующих кодов дает возможность оценить подвижность спермиев.

В момент времени T_2 коды проекций $\varphi_1^2, \varphi_2^2, \varphi_3^2, \varphi_4^2$ (фиг.3) будут иметь значения (таблицы не приведены, т.к. построение их аналогично табл.1 - 4):

$$\begin{aligned}\varphi_1^2 &= (0001000002000); \\ \varphi_2^2 &= (0001010100000); \\ \varphi_3^2 &= (0000001000100010000000000); \\ \varphi_4^2 &= (0000000010001000100000000). \end{aligned} \quad (2)$$

Эти коды в момент времени T_2 также поступают в блок 7, где производят поразрядное вычитание соответствующих одноименных кодов проекций изображений спермиев в моменты времени T_1 и T_2 :

$$\begin{aligned}P_{11} &= \varphi_1^1 - \varphi_1^2; \\ P_{22} &= \varphi_2^1 - \varphi_2^2; \\ P_{33} &= \varphi_3^1 - \varphi_3^2; \\ P_{44} &= \varphi_4^1 - \varphi_4^2; \end{aligned} \quad (3)$$

где P_{ii} ($i = 1, 2, 3, 4$) - результат разности кодов изображений.

Подставив значения соответствующих кодов и произведя вычитания получим:

$$\begin{aligned}\varphi_1^1 &= (0000100101000) \\ - \\ \varphi_1^2 &= (0001000002000) \\ \hline P_{11} &= (000-110010-1000) \end{aligned} \quad (4)$$

$$\begin{aligned}\varphi_2^1 &= (0001001001000) \\ - \\ \varphi_2^2 &= (0001010100000) \\ \hline P_{22} &= (00000-11-101000) \end{aligned} \quad (5)$$

$$\begin{aligned}\varphi_3^1 &= (0000001000000020000000000) \\ - \\ \varphi_3^2 &= (0000001000100010000000000) \\ \hline P_{33} &= (0000000000-100010000000000) \end{aligned} \quad (6)$$

$$\begin{aligned}\varphi_4^1 &= (0000000000101000100000000) \\ - \\ \varphi_4^2 &= (0000000010001000100000000) \\ \hline P_{44} &= (00000000-1010000000000000) \end{aligned} \quad (7)$$

По результатам анализа кодов P_{11}, P_{22}, P_{33} и P_{44} в блоке 8 определяют число подвижных и неподвижных спермиев, а также путь (число дискретов ПЗС-матрицы телекамеры в каждом из направлений) пройденный тем или иным спермием за исследуемый промежуток времени, что дает возможность определить скорость перемещения спермиев.

Например, из анализа результирующего кода P_{11} видно, что спермий А за время $\Delta T = T_2 - T_1$ сместился на один дискрет "влево" по оси φ_1 (перемещение "1" с пятого разряда кода φ_1^1 в четвертый разряд кода φ_1^2). Это обусловило появление "-1" в четвертом разряде результирующего кода P_{11} .

Спермий В за то же время переместился на два дискрета "вправо" (перемещение "1" с восьмого разряда кода φ_1^1 в десятый разряд кода φ_1^2).

Спермий С остался неподвижным, т.к. в десятом разряде кода φ_1^2 появилась "2", свидетельствующая о том, что спермий В и С лежат на одной прямой, перпендикулярной к оси φ_1 . Это обусловило появление "-1" в десятом разряде результирующего кода P_{11} .

Аналогично проводится анализ кодов P_{22}, P_{33}, P_{44} , что дает возможность получить информацию об изменении положения спермиев в других анализируемых направлениях.

Моменты времени исследования $T_1, T_2, T_3, \dots, T_n$ выбирает оператор. При выделении траектории каждого спермия в блоке 8

анализируют результаты двух соседних промежутков времени, т.е.

$$T_2 - T_1; T_3 - T_2; T_4 - T_3; \dots; T_n - T_{n-1}.$$

На мониторе блока 8 оператор видит траектории подвижных спермиев.

Зная пройденный путь каждого спермия (число дискретов ПЗС-матрицы телекамеры) и время, за которое произошло смещение, определяют скорость движения спермиев.

Все измерения и преобразования происходят в момент наблюдения за спермиями, т.е. в реальном масштабе времени, что значительно повышает быстродействие предлагаемого способа по сравнению с прототипом.

Кроме того, в прототипе производят обработку координат последовательно для каждого отдельного элемента объекта (например, - спермия). В предлагаемом способе обрабатывают все изображения сразу, т.е. все K спермиев. Таким образом предлагаемый способ увеличивает за счет этого быстродействие в K раз, где K - число спермиев.

Особенно ощутимы преимущества заявляемого способа по сравнению с прототипом при анализе большого количества спермиев, например в условиях промышленной технологии заготовки спермодоз (банка спермодоз), до и после их замораживания.

Разрешающая способность аппаратной реализации зависит от числа ячеек ПЗС-матрицы типа КТМ-1 этих ячеек 260 × 380 шт. При необходимости можно использовать ПЗС-матрицы на 1024 × 1024 ячеек и более.

Для прямой φ_2 под углом

Номер разряда	1	2	3	4	5	6
Значение координаты на прямой φ_2	1	2	3	y''	5	6
Значение кода проекции спермиев на прямую φ_2	0	0	0	1	0	0

Для прямой φ_3 под углом

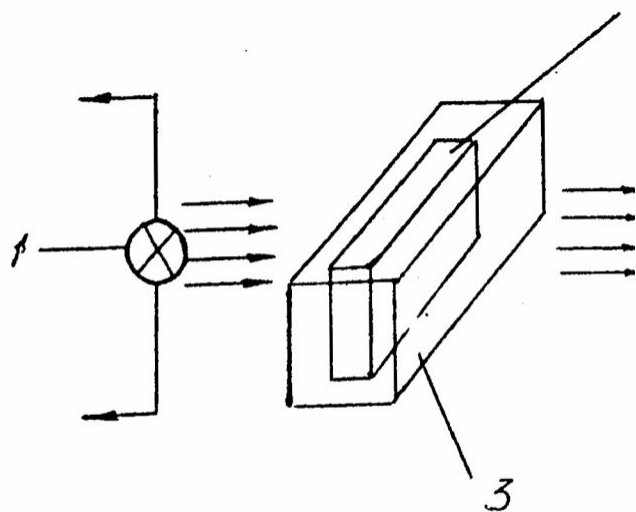
Номер разряда	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Значение координаты на прямой φ_3	1	2	3	4	5	6	$N-x''+y''$	8	9	10	11	12	13	14
Значение кода проекции спермиев на прямую φ_3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

Для прямой φ_4 под углом 1

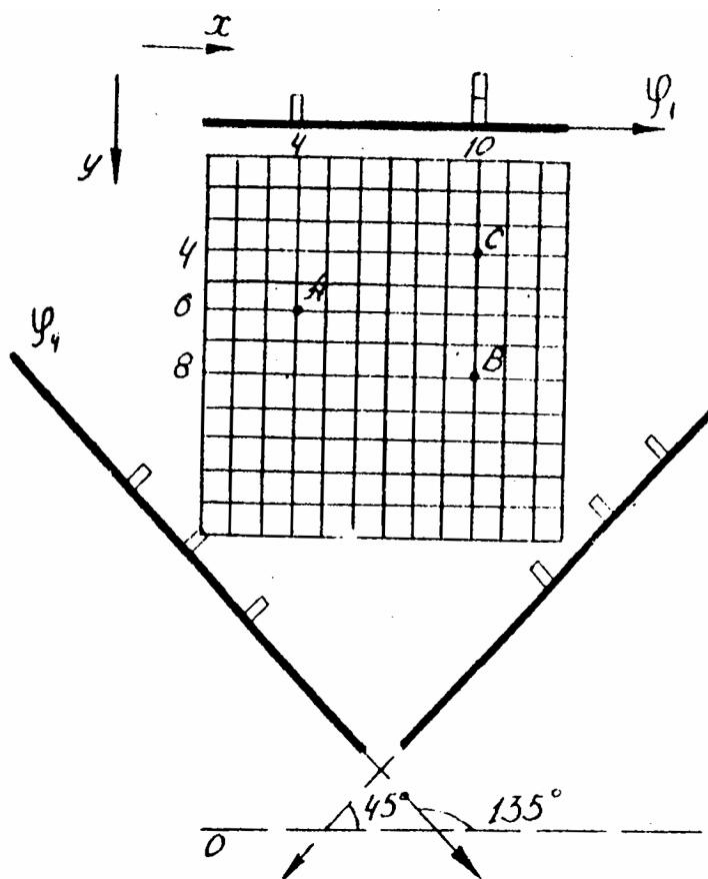
Номер разряда	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Значение координаты на прямой φ_4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	$x+y-1$	12	$x''+y''-1$
Значение кода проекции спермиев на прямую φ_4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	;

Для прямой φ_1 по

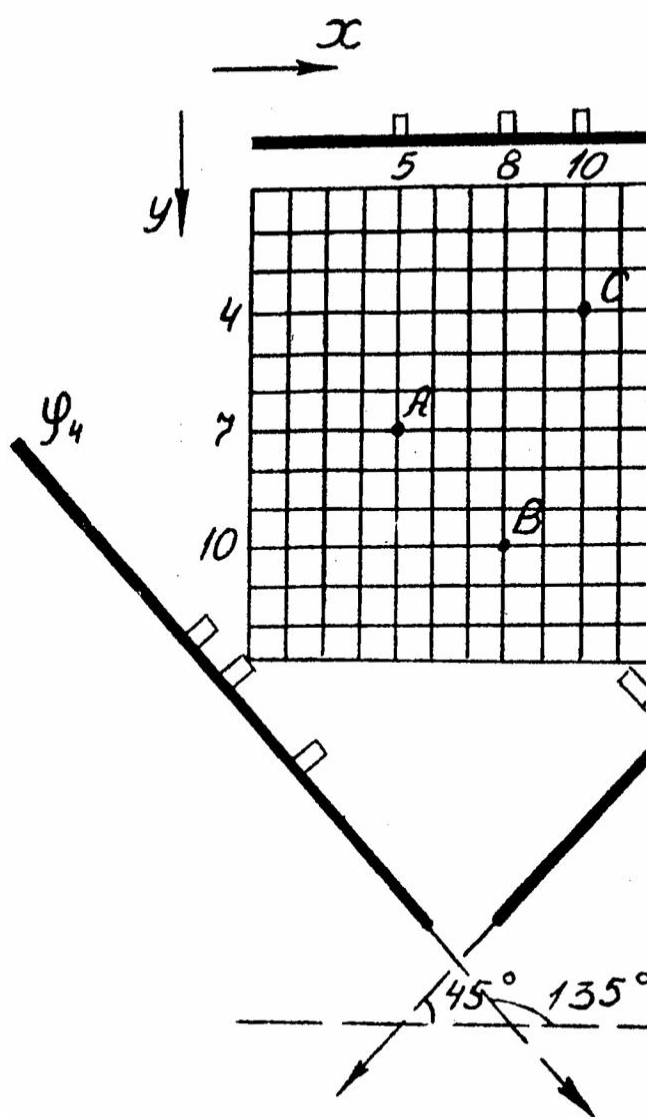
Номер разряда	1	2	3	4	5
Значение координаты на прямой φ_1 (блок 5)	1	2	3	4	x
Значение кода проекции спермиев на прямую φ_1 (блок 6)	0	0	0	0	1



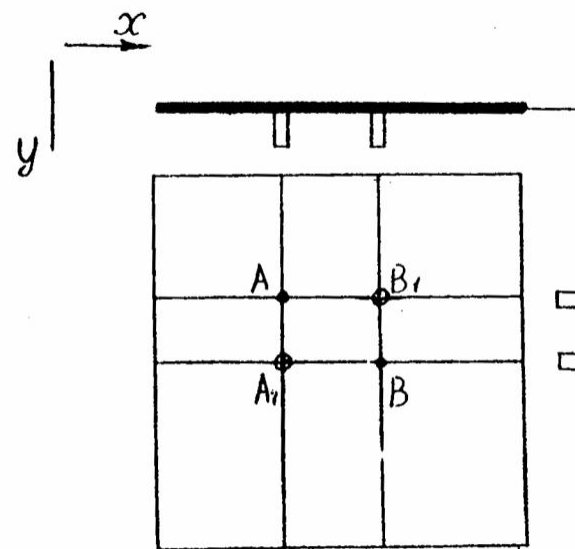
Фиг. 1



Фиг. 3



Фиг. 2



Фиг. 4

