

CASABEE: EL PRIMER SISTEMA DE ANÁLISIS ESPERMÁTICO ASISTIDO POR ORDENADOR DESARROLLADO ESPECÍFICAMENTE PARA INSECTOS

Divason¹, J., Romero¹, A., Santolaria², P. y Yániz², J.

¹Departamento de Matemáticas y Computación, Universidad de La Rioja, Logroño, 26006, España

²Grupo de investigación BIOFITER. Instituto IUCA. Universidad de Zaragoza, Huesca, España

INTRODUCCIÓN

La calidad del semen producido por los zánganos determina el éxito reproductivo de la reina, el nivel de productividad de la colonia e incluso su supervivencia (Pettis *et al.*, 2016). También es un aspecto clave que determina el éxito de la inseminación instrumental (Collins, 2000). En consecuencia, el estudio de la calidad espermática en *Apis mellifera* y especies estrechamente relacionadas es de gran interés tanto para estudios básicos como aplicados. En este campo, existe la necesidad de desarrollar métodos informáticos para el análisis automático de la calidad del semen específicamente adaptados a esta especie, ya que los desarrollados para mamíferos no son de utilidad. En este trabajo presentamos el sistema CASABee, un software de código abierto diseñado específicamente para el análisis automático de la motilidad y concentración espermática en zánganos de abejas melíferas.

MATERIAL Y MÉTODOS

El software CASABee ha sido desarrollado en Python utilizando la librería OpenCV. Posee una interfaz simple que permite analizar uno o varios videos, obtener resultados numéricos que se pueden exportar a un archivo de Excel y generar nuevos videos donde se rastrean los espermatozoides móviles y estáticos en base a su circularidad. Para la validación del software, se utilizaron 115 secuencias de video de muestras de semen de diferente motilidad y concentración obtenidas siguiendo el protocolo descrito en Yániz *et al.* (2019). Los espermatozoides móviles, estáticos y totales en cada video se contaron manualmente de manera ciega (estimación visual por el mismo observador con la ayuda de la herramienta multipunto del software ImageJ, disponible en <http://rsbweb.nih.gov/ij/download.html>) y por el sistema CASABee. Los resultados de la concentración y la motilidad de los espermatozoides obtenidos manualmente y con el CASABee se compararon mediante la prueba de correlación de Pearson. También se realizó la prueba de Bland-Altman para estudiar la concordancia entre la determinación manual y automatizada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se procesaron un total de 115 videos que contenían alrededor de 4934 espermatozoides, de los cuales la mayoría de los espermatozoides móviles (98,8 %) mostraron una forma circular mientras que la mayoría de los espermatozoides estáticos (99,4 %) presentaron una forma lineal. El software CASABee pudo identificar espermatozoides móviles y estáticos con alta precisión. La concentración óptima de espermatozoides para la evaluación de la motilidad de los espermatozoides utilizando CASABee oscila entre 5 y 15 millones de espermatozoides/ml. Los resultados mostraron una alta correlación entre la determinación manual y con el sistema CASABee (0,98 y 0,96 para motilidad y concentración espermática, respectivamente; $p < 0,001$ en el test de correlación de Pearson). También se obtuvo una buena concordancia entre ambos sistemas de medición utilizando la prueba de Bland-Altman, especialmente para la motilidad.

CONCLUSIÓN

CASABee es una herramienta práctica para el análisis de la calidad del semen de los zánganos y en el estudio de aquellos factores con un impacto potencial en la eficiencia reproductiva de la abeja melífera y especies relacionadas. Tiene la ventaja añadida de ser un software gratuito y de código abierto (disponible en <https://github.com/jodivaso/CASABee> o a través de la página web del grupo <https://biofiter.com/#>).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Collins 2000. *Apidologie* 31: 421-429. • Pettis *et al.* 2016. *PLoS one* 11: e0147220. • Yaniz *et al.* 2019. *Apidologie* 50: 472-481.

Agradecimientos: Este trabajo fue financiado por (1) PID2020-112673RB-I00 de la Agencia Española Estatal de Investigación del Gobierno de España, (2) PID2020-116641GB-I00 de la Agencia Española Estatal de Investigación del Gobierno de España (3) A07-17R del Gobierno de Aragón y la European Social Fund (ESF).