

Desarrollo y evaluación de nuevos métodos de automatización de experimentos con *C. elegans* basados en visión activa

TESIS DOCTORAL

Joan Carles Puchalt

Director

Antonio José Sánchez Salmerón

Resumen

Esta tesis se centra en el desarrollo de nuevas técnicas automatizadas que permiten inspeccionar nematodos *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) en placas de Petri estándar, para el análisis de sus comportamientos. *C. elegans* es un nemátodo de 1mm de longitud, con el cual se pueden realizar distintos experimentos para analizar los efectos de fármacos, compuestos o alteraciones genéticas en su longevidad, su salud física o su cognición. El campo principal metodológico del presente trabajo para el análisis de esos efectos es la visión por computador; y con ello, el desarrollo completo del sistema de visión activo: sistema de iluminación inteligente, sistema de captura óptimo, procesamiento de las imágenes para detección y clasificación de nematodos. Los campos secundarios en esta investigación son el control y robotización.

Los *C. elegans* son animales sensibles a la luz y por ello el primero de los métodos está en la rama de la iluminación inteligente, con el cual se permite regular la intensidad y las longitudes de onda de la luz que reciben los nematodos. El siguiente método es el procesado para la detección y clasificación de movimiento a partir de las imágenes obtenidas con esa iluminación controlada. Tener el ambiente controlado es fundamental, los nematodos son muy sensibles a las condiciones ambientales por lo que puede alterarse su actividad biológica, y con ello los resultados, así que el tercer método es la integración de las técnicas en un nuevo dispositivo que permite automatizar ensayos de lifespan y validar los resultados automáticos comparándolos con los manuales. El movimiento del animal es clave para poder realizar inferencias estadísticas que puedan mostrar tendencias en sus comportamientos, por ello la estimulación automatizada que provoque una reacción de su movilidad es el cuarto de los métodos. Por último, el aumento de la resolución en las imágenes muestra mayor detalle, mejorando el procesamiento y extracción de características. El quinto método es un robot multivista que posibilita tomar imágenes a distintas resoluciones, lo que permite mantener el seguimiento global de los gusanos, al mismo tiempo que se toman imágenes con un encuadre de mayor detalle del nematodo objetivo.