



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES METALÚRGICAS
MAESTRÍA EN GEOCIENCIAS Y PLANIFICACIÓN DEL TERRITORIO

**IDENTIFICACIÓN AUTOMÁTICA DE DIATOMEAS DEL
LAGO DE PÁTZCUARO MEDIANTE FILTROS
COMPUESTOS NO LINEALES Y CARACTERIZACIÓN DE
LAS VALVAS UTILIZANDO DESCRIPTORES
GEOMÉTRICOS**

TESIS

QUE PRESENTA:

EDUARDO GESSEL PACHECO VENEGAS

Para obtener el Grado Académico de Maestro en Geociencias y Planificación del Territorio

ASESOR DE TESIS:

DRA. ISABEL ISRADE ALCÁNTARA

Doctorado en ciencias de la
Tierra

COASESOR:

DR. JOSUÉ ÁLVAREZ BORREGO

Doctorado con especialidad en
Óptica

Septiembre de 2015, Morelia Michoacán

Tabla de contenido

Resumen	i
Abstract.....	ii
Agradecimientos	iii
Dedicatoria.....	iv
Capítulo 1. Introducción.....	1
1.1 Antecedentes	3
1.2 Objetivo general.....	4
1.3 Objetivos particulares	4
1.4 Organización de la tesis	5
Capítulo 2. Características Generales de las Diatomeas.....	6
2.1 Célula de las diatomeas.....	6
2.2 Morfología de la valva	8
2.3 El sistema de costillas y estrías.....	11
2.4 Estructuras adicionales.....	13
2.5 Contorno de la valva	14
2.6 Consideraciones especiales	15
2.7 Identificación en el microscopio óptico	16
Capítulo 3 Toma de muestras y procesamiento de imágenes.....	17
3.1 Trabajo de laboratorio.....	18
3.2 Obtención de las imágenes.....	18
3.3 Segmentación de las imágenes.....	19
3.4 Selección de valvas	20
Capítulo 4. Identificación de diatomeas con filtros compuestos no lineales	22
4.1 La transformada de Fourier.....	23
4.2 Propiedades de la Transformada de Fourier	24
4.3 Filtros de correlación clásicos.....	27
4.3.1 Filtro de acoplamiento clásico (CMF)	28
4.3.2 Filtro solo de Fase (POF)	28
4.3.3 Filtro inverso (IF).....	28

4.3.4 Filtro de correlación no lineal (ley k).....	29
4.4 Filtros no lineales compuestos	30
4.4.1 Creación de los filtros compuestos no lineales	31
4.4.2 Relación pico a energía de correlación (PCE)	32
4.4.3 Obtención de un k óptimo mediante PCE.....	33
Capítulo 5. Clasificación de la valva mediante propiedades geométricas	35
5.1 Características	36
5.1.1 Área (A)	36
5.1.2 Perímetro (P)	36
5.1.3 Compacidad y redondez (C, R).....	37
5.1.4 Distancias al borde	38
5.1.5 Radio medio (R_m)	39
5.1.6 Complejidad de forma (f).....	39
5.1.7 Elongación o excentricidad (L).....	40
5.1.8 Simetría en las diatomeas.....	44
5.1.9 Momentos Invariantes.....	45
5.2 Resumen de descriptores.....	49
5.3 Clasificación de las valvas	50
Capítulo 6. Resultados	52
6.1 Aplicación de los filtros compuestos no lineales	52
6.2 Aplicación de los descriptores geométricos para clasificar valvas	54
6.3 Conteo de diatomeas mediante los métodos propuestos	55
6.4 Interfaz gráfica desarrollada.....	56
Capítulo 7. Conclusiones	59
Anexo A Láminas	61
Anexo B. Segmentación	63
Referencias.....	68

Lista de Figuras

Figura 1. Cingulum	7
Figura 2. Se muestran las dos principales vistas de la valva. A) Vista valvar, B) Vista lateral.....	8
Figura 3. Partes principales de la frústula	9
Figura 4. En A) ejemplo de diatomea céntrica. En B) ejemplo de diatomea pennada.....	10
Figura 5. Distintos tipos de terminaciones en las valvas de las diatomeas.	10
Figura 6. Aerolas loculate con forma hexagonal.	11
Figura 7. Distintas densidades de estrías ordenadas de mayor a menor en valvas de diatomeas.....	12
Figura 8. A) Rimoportula. B) Fultoportula	13
Figura 9. Estigma	14
Figura 10. En A) y B) se pueden observar las curvaturas presentes en <i>Rhoicosphenia</i> en vista latera y vista valvar, C) <i>Aulacoseira</i> formando colonias. D) Diatomeas con valvas heteropolares.....	16
Figura 11. Microscopio Olympus Bx50.....	19
Figura 12. A) imagen original. B) Imagen segmentada mediante canny o umbralización. C) Imagen rellenada. D) Imagen a la que se le extrajeron las áreas con menores pixeles. E) Producto punto con la imagen original. F) Valva individual	20
Figura 13. Procedimiento para llevar a cabo la identificación a partir de filtros no lineal.	30
Figura 14. Identificación por medio de filtros de correlación no lineal compuestos.	33
Figura 15. Valores de k óptimos para distintas especies.....	34
Figura 16. Búsqueda del valores óptimos del factor de no linealidad a partir de la optimización de PCE. 35	
Figura 17. Se observa el área y el perímetro de una figura.....	37
Figura 18. Redondez y excentricidad de distintas valvas de diatomeas.....	38
Figura 19. Cociente entre la distancias máxima y distancia promedio en distintas imágenes de <i>Gomphonema mexicanum</i>	39
Figura 20. Radio medio y complejidad de <i>Ulnarias goulardii</i>	40
Figura 21. A la izquierda la mejor elipse que se aproxima a la valva de la derecha.....	43
Figura 22. Simetría bajo un eje vertical y uno horizontal. La segunda diatomea no presenta simetría vertical.	45
Figura 23. Momentos invariantes de Hu para <i>Gomphonemas mexicanum</i> , las valvas fueron escaladas al 25% de su tamaño original.....	47
Figura 24. Gráfica de caja y bigotes para los resultados de PCE utilizando los filtros compuestos no lineales de <i>Gomphonema mexicanum</i>	52
Figura 25. Gráfica de caja y bigotes para los resultados de PCE utilizando los filtros compuestos no lineales de <i>fragilaria capucina va. Vaucheriae</i>	53
Figura 26. Gráfica de caja y bigotes para los resultados de PCE utilizando los filtros compuestos no lineales de <i>Navicula sp.</i>	53
Figura 27. Gráfica de caja y bigotes para los resultados de PCE utilizando los filtros compuestos no lineales de <i>Ulnaria goulardii</i>	54
Figura 28. Porcentaje de diatomeas clasificadas correctamente a partir de un clasificador bayesiano	54
Figura 29. Conteo real de diatomeas.....	55
Figura 30. Conteo de diatomeas utilizando filtros compuestos no lineales	55
Figura 31. Conteo utilizando clasificador bayesiano	56

Figura 32. Programa desarrollado para identificar diatomeas	57
Figura 33. Ventana que se abre cuando se identifica una diatomea.....	58
Figura 34. Coordenadas en una imagen	63
Figura 35. Imagen original y aplicando un umbral	64
Figura 36. Mascara y patrón de puntos utilizados para completar contornos	67

Resumen

Las diatomeas son organismos microscópicos acuáticos caracterizados por tener una pared celular compuesta de sílice que se conserva intacta cuando se procesa con ácidos concentrados u otros agentes oxidantes para eliminar toda la materia orgánica. Por ser altamente sensibles a los cambios en su ambiente, estas pueden ser utilizadas en monitoreos ecológicos, paleoecológicos y para la detección de cambios ambientales en diferentes escalas de tiempo: días, cientos, miles o millones de años (Stoermer,1999). Actualmente, la identificación de diatomeas es un trabajo manual realizado por investigadores expertos en el área. Varios problemas relacionados con esta actividad pueden ser identificados: en ocasiones, las diferencias entre especies son mínimas por lo que es difícil su clasificación; se requiere mucho tiempo para la identificación correcta de las diatomeas; además, existe una amplia variedad de especies y el número de investigadores capaces de reconocerlas es limitado. Por ello resulta importante buscar nuevas metodologías que faciliten este proceso. Una solución a este problema es el uso de algoritmos computacionales que permitan la identificación automática de estos organismos.

En esta tesis se implementaron y probaron dos algoritmos para la identificación automática de diatomeas: filtros compuestos no lineales y un clasificador naive bayes entrenado con características morfológicas de las valvas. Las imágenes utilizadas para entrenar el clasificador fueron tomadas de muestras de manantiales de Pátzcuaro, particularmente del manantial de Ichupio (Almanza, 2014). El sistema se probó con cinco especies de diatomeas: *Gomphonema mexicanum*, *Ulnaria goulardii*, *Rhoicosphenia abbreviata*, *Fragilaria capucina var. Vaucheriae* y *Navicula sp.* A partir de una imagen de microscopio el sistema selecciona posibles imágenes de diatomeas, el operador del sistema descarta las que no son, y el sistema realiza la clasificación. Para las cinco especies consideradas en este estudio, el sistema obtiene un 90% de efectividad de clasificación.

Palabras clave: Diatomeas, taxonomía, filtros de correlación, clasificación automática naive bayes.

Abstract

Diatoms are microscopic aquatic organisms characterized by having a cell wall composed of silicon that remains intact when processed with concentrated acids or other oxidizing agents to remove all organic matter. These are highly sensitive to changes in their environment, thus they can be used in ecological monitoring and paleoecological for detecting environmental changes on different timescales: days, hundreds, thousands or millions of years (Stoermer, 1999). Currently, the identification of diatoms is a manual work of skilled researchers in the field do. Several problems related to this activity can be identified: sometimes the differences between species are minimal so it is difficult to classify; a lot of time for the correct identification of diatoms is required; in addition, exist a wide variety of species and the number of researchers able to recognize them is limited. Therefore, it is important to look for new methodologies that facilitate this process. One solution to this problem is the use of computer algorithms to automatically identify these organisms.

In this thesis we implemented and tested two algorithms for automatic identification of diatoms: nonlinear filters compounds and naive Bayes classifier trained with morphological characteristics of the leaflets. The images used to train the classifier samples were taken from Patzcuaro springs, particularly Ichupio spring (Almanza, 2014). The system was tested with five species of diatoms: *Gomphonema mexicanum*, *Ulnaria goulardii*, *Rhoicosphenia abbreviata*, *Fragilaria capucina* var. *Vaucheriae*, and *Navicula* sp. The system selects possible images of diatoms from a microscope image, the system operator must discard those that are not, and the system performs the classification. For the five species considered in this study, the system obtains a 90% effectiveness rating.

Keywords: Diatoms, taxonomy, correlation filters, automatic classification naive Bayes.

Agradecimientos

Agradezco a:

Mi asesora la Dra. Isabel Israde por toda la paciencia que me ha tenido en la realización de mi tesis. Por el tiempo que me ha dedicado y por todas las enseñanzas que me ha brindado. Es un ejemplo a seguir para mí.

Mi coasesor el Dr. Josué Álvarez Borrego, por haberme aceptado como tesista. Siento una gran admiración por su dedicación a la investigación y por apoyar a futuros investigadores.

Mis sinodales la Dra. Karina Figueroa, la Dra. Ruth Alfaro, el Dr. Víctor Garduño y el Dr. Alejandro Ávila por el tiempo que dedicaron en la revisión de mi tesis y por sus valiosos comentarios.

A la coordinadora de la maestría en geociencias, la Dra. Erna López por el apoyo brindado a lo largo de estos dos años.

Mis compañeros de maestría por sus consejos y compañía que me han dado a lo largo de estos dos años.

Dedicatoria

A mi esposa Diana y a mi hijo Alex, por haberme dado el tiempo, el apoyo necesario y por todos los sacrificios que han tenido que hacer para que pudiera terminar mi tesis. Gracias por todos los momentos que he pasado a su lado. Este logro es de los tres.

A mis padres Rosa y Noel, a mis hermanos Ricardo, Nancy, Elena por ser mi gran apoyo incondicional cuando lo he necesitado y ser mi ejemplo a seguir, porque de cada uno de ustedes he aprendido el valor de la familia.

A mis cuñados Pablo y Claudia por sus consejos y enseñanzas que me han brindado desde que formaron parte de nuestra familia.

¡Gracias a todos ustedes!

Capítulo 1. Introducción

Las diatomeas son algas unicelulares pertenecientes a la clase *Chrysophyta*, división *Bacillariophyceae*, siendo de gran importancia para la detección de los cambios ambientales en escalas de tiempo de días, cientos, miles a millones de años (Stoermer, 1999). Dominan entre el fitoplancton por ser las más ricas en producción de nutrientes, responsables de casi el 20% o más de la red de producción primaria de carbono en todo el mundo (Mann, 1999).

Tienen como característica principal una pared celular compuesta de sílice hidratada ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$). A los componentes de sílice de la pared celular se les llama frústula, y a sus dos extremos se les denomina valvas. Otros organismos metabolizan silicio y producen estructuras de sílice, por ejemplo las algas *Chrysophytes* forman escamas ornamentadas; los radiolarios y silicoflagelados, endoesqueletos, pero ninguno produce una pared bipartita.

Las diatomeas suelen ser invisibles a simple vista o pueden aparecer como pequeñas manchas marrones. La mayoría de las especies miden entre 10 y 200 μm de longitud, por lo que su descubrimiento se retrasó hasta la invención de los microscopios.

Las diatomeas se encuentran en hábitats acuáticos, tanto de agua dulce como en el mar, particularmente cuando las columnas de agua son turbulentas y ricas en nutrientes. Por ser organismos fotosintéticos se limitan a hábitats poco profundos adhiriéndose a través de sus mucílagos a superficies de roca, grava, arena, limo, sobre la superficie de plantas y animales y otros objetos en el fondo de los lagos, ríos y mares.

En el ambiente lacustre, su limitación más importante es la cantidad de sílice presente en el medio, conformando grandes desarrollos en ambientes vulcanotectónicos desde el Mioceno en el medio continental, mientras que en el ambiente marino están presentes desde el Cretácico inferior (Harwood y Gersonde, 1990). A través de métodos modernos (Medling et al, 1997) se considera que pueden haber aparecido hace 240 Ma. y se diversificaron rápidamente a partir del

Eoceno siendo las diatomitas de la formación Tarahumara en Sonora de las más antiguas formas lacustres conocidas. (Chacon-Baca et al., 2002).

También hay especies individuales que tienen necesidades específicas de hábitat. Las especies marinas no pueden generalmente crecer en agua dulce, ni viceversa; son escasas aquellas que comparten hábitats en ambos ambientes y generalmente están en aguas salmastras de lagos con alta concentración iónica o en lagunas costeras; algunas especies están restringidas a hábitats ácidos, algunos a alcalinos; etcétera. El conocer estas preferencias es esencial para que las diatomeas puedan ser utilizadas en monitoreos ecológicos y paleoecológicos.

Las diatomeas han evolucionado, produciendo una desconcertante variedad de especies. Probablemente hay alrededor de 20,000 en total (Droop, 1999) y se continua con la descripción y reclasificación gracias al uso de técnicas de microscopía electrónica tanto en antiguas y recientes colecciones científicas así como en sitios no estudiados - lo que ha dado lugar a renombrar nuevos géneros y numerosas especies.

El desequilibrio entre la variedad de especies de diatomeas, por una parte, y el grupo muy pequeño y disperso de investigadores capaces de identificarlos, hace relevante la búsqueda de nuevas herramientas que permitan facilitar su identificación.

En el presente trabajo de investigación se proponen dos metodologías para el diseño de un sistema de reconocimiento automático de diatomeas, uno basado en filtros compuestos de correlación no lineal y otra mediante la obtención de características representativas de la morfología de las valvas.

1.1 Antecedentes

Entre los trabajos relacionados a la identificación automática de diatomeas y los filtros compuestos no lineales se puede mencionar los siguientes:

En el 2002 se presentaron los resultados preliminares de ADIAC (Automatic Diatom Identification And Classification) que fue un proyecto financiado por el programa MAST (Marine Science and Technology) y que tenía por objetivo desarrollar algoritmos para la identificación automática de las diatomeas utilizando información de la imagen, es decir, tanto en forma como en ornamentación (Buf, 2002).

La aplicación de filtros compuestos no lineales se ha utilizado para la identificación de copépodos y tarjetas de sonido (Guerrero, 2008; Guerrero y Álvarez, 2009). En la presente tesis se aplicó para la identificación de diatomeas.

Posteriormente en el 2014 se implementaron tres diferentes metodologías de reconocimiento de patrones invariantes a escala, posición y rotación basadas en correlación: correlación no lineal con transformada de escala, firmas vectoriales y máscaras binarias, además de que se realizó un análisis comparativo de las metodologías con las imágenes de diferentes especies de diatomeas fósiles (Flores, 2014).

Adicionalmente en la región de Pátzcuaro las diatomeas han sido caracterizadas a detalle (Almanza, 2014; Almanza et al., 2014), lo que permite tener una base taxonómica sólida para implementar un programa de caracterización utilizando filtros compuestos no lineales.

1.2 Objetivo general

Realizar un identificador automático de diatomeas de Pátzcuaro, utilizando filtros compuestos no lineales.

Desarrollar una clasificación de valvas de diatomeas de Pátzcuaro mediante descriptores geométricos.

1.3 Objetivos particulares

Realizar las descripciones taxonómicas de las valvas usadas para probar los métodos de clasificación.

Diseñar una interfaz gráfica que permita visualizar los métodos de clasificación utilizados y la extracción de características.

1.4 Organización de la tesis

En el capítulo 2 se describe la morfología general de las diatomeas, algunas de las características utilizadas por los taxónomos para realizar su identificación, así como su ecología y sus aplicaciones.

En el capítulo 3 se especifica el sitio de muestreo así como el trabajo de laboratorio realizado para el procesamiento de las muestras y la descripción de las valvas elegidas para probar los métodos de identificación.

En el capítulo 4 se aborda la teoría de filtros clásicos, y la metodología utilizada para la identificación de diatomeas mediante filtros compuestos no lineales.

En el capítulo 5 se trata la clasificación de las diatomeas mediante descriptores geométricos de las valvas utilizando un clasificador naive bayes.

En el capítulo 6 se muestran los resultados obtenidos mediante la metodología utilizada.

En el capítulo 7 se presentan las conclusiones de la tesis, proponiendo un método para la identificación automática de diatomeas de la región de Pátzcuaro a través de la utilización de un programa para identificar cinco taxones que pueden extrapolarse a estudios inicialmente en la cuenca del Lerma.

Capítulo 2. Características Generales de las Diatomeas

En este capítulo son descritas algunas características que permiten a los taxónomos realizar la identificación de diatomeas, las cuales son tomadas en cuenta para caracterizar las valvas.

2.1 Célula de las diatomeas

El protoplasto contiene todos los organelos que son característicos de las plantas eucariontes, incluyendo un núcleo, un aparato de Golgi, mitocondrias y cloroplastos.

La célula es altamente vacuolada y el citoplasma y la mayoría de orgánulos a menudo se limitan a la periferia de la célula, el núcleo, generalmente se encuentra en o cerca del centro.

La pared celular es sólo una de las características que se utilizan en la clasificación e identificación: la forma, la posición y la replicación de los cloroplastos (Droop, 1996), la posición y el comportamiento del núcleo (Mann, 1988), el desarrollo de la pared celular, el método de reproducción sexual (Stickle, 1995), y recientemente los datos genéticos moleculares (Lundholm, 2001) son también muy importantes en el desarrollo de nuevas clasificaciones para diatomeas.

Los cloroplastos de las diatomeas son de color marrón, dorado o amarillo verdoso. En especies planctónicas hay regularmente numerosos cloroplastos pequeños, en cambio las especies bentónicas a menudo tienen menos (1,2 ó 4) que son mucho más grandes y más elaborados, y se someten a reordenamientos sufriendo cambios complejos durante el ciclo celular (Droop, 1996). En estas diatomeas, su morfología es suficientemente constante dentro de las especies o géneros por sus características y es útil para la clasificación (Droop, 1996) e identificación (Cox, 1996).

Cabe señalar que las frústulas silíceas de las que se componen las diatomeas se conservan intactas aun cuando estas se digieren con ácidos concentrados u otros agentes oxidantes para eliminar toda la materia orgánica, siendo el primer paso tradicional en cualquier estudio que requiere la identificación de diatomeas a nivel de especie.

Desde alrededor de 1850 hasta 1980, la taxonomía de diatomeas dependía casi totalmente de las características de la frústula, y en muchas aplicaciones de diatomeas importantes, especialmente en estudios paleoecológico (el cambio climático o la degradación del medio ambiente) y en estudios bioestratigráficos, la frústula es la única parte de la diatomea disponible para el estudio.

Las valvas, pueden ser de forma plana o muy elaborada y por lo general son los elementos de sílice de la frústula.

Los lados de la frústula que conforman la unión de las valvas son llamados mantos, presentan numerosas bandas de sílice, denominadas cinturones, que en conjunto forman la faja conectiva.

Un examen más detallado revela que la frústula es bipartita, y consiste en dos mitades que se superponen en o cerca del centro del cinturón.

Las bandas de la cintura se dividen en dos series llamadas cingulum, cada uno asociado a una de las valvas. (Figura 1)

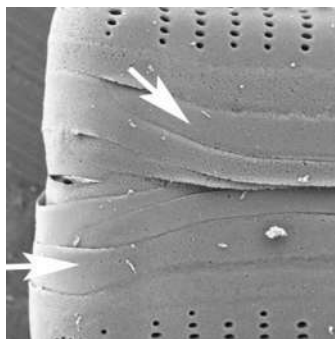


Figura 1. Cingulum

Por lo tanto, podemos distinguir una media frústula exterior, denominado la " epiteca ", que consiste en la epivalva y epicingulum, y una media frústula inferior, la " hipoteca ", que consiste en hipovalva e hipocingulum.

La frústula presenta dos vistas principales: su vista valvar y su vista lateral. (Figura 2)

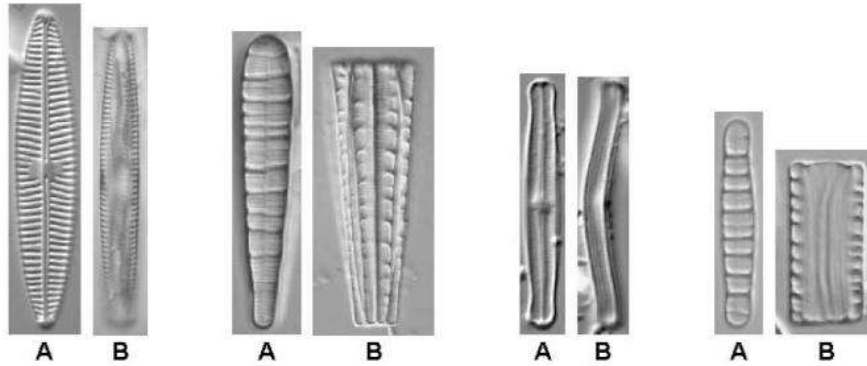


Figura 2. Se muestran las dos principales vistas de la valva. A) Vista valvar, B) Vista lateral

La estructura bipartita de la frústula se

relaciona con la forma en que las diatomeas crecen y se dividen. (Figura 3).

2.2 Morfología de la valva

Las valvas se componen esencialmente de costillas de sílice, separadas por filas de poros. La función de los poros es permitir el paso de agua y solutos disueltos dentro y fuera de la célula, y para permitir la secreción de polisacáridos y otros materiales orgánicos.

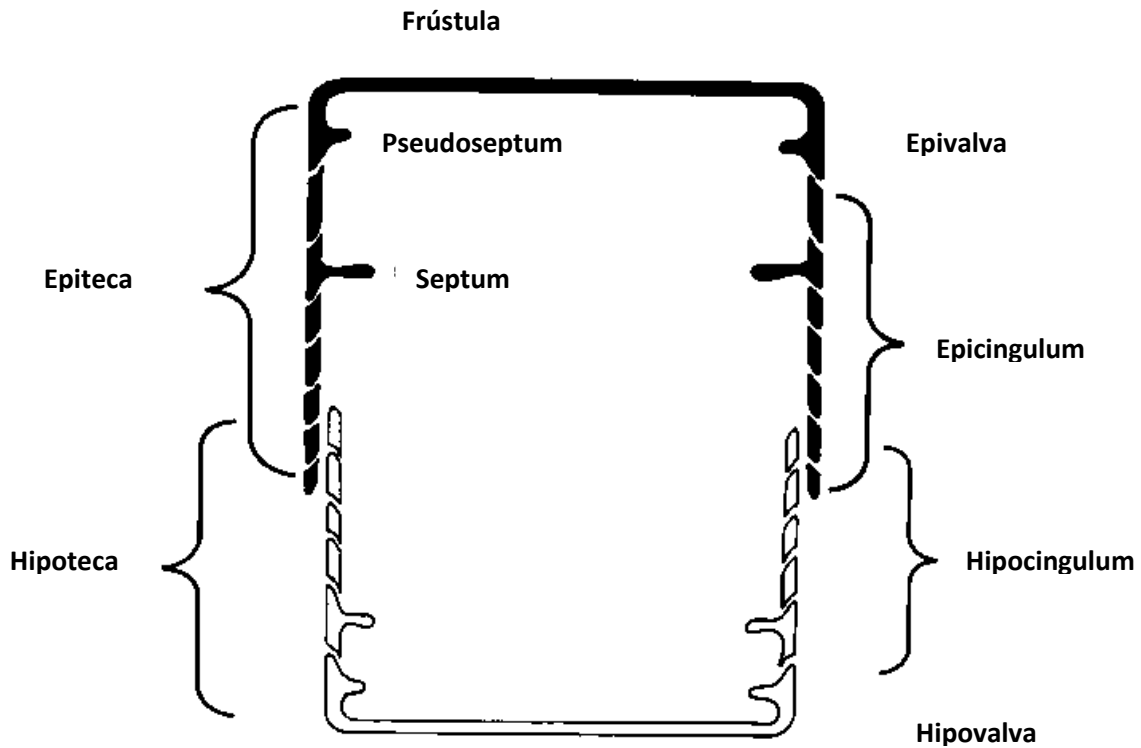


Figura 3. Partes principales de la frústula

Las costillas a menudo se ramifican y se pueden seguir desde el margen de la valva, que es compuesta de una tira de sílice imperforado, a una "forma central", que es por lo general ya sea un anillo de sílice, llamado el "annulus", o una costilla alargada, llamada "sternum" (Mann, 1984).

Se pueden distinguir dos tipos principales de diatomeas de acuerdo a qué forma central está presente. Las diatomeas "céntricas" tienen un annulus y un sistemas de estrías radiales, y las diatomeas "pennadas" que tienen un sternum, con una serie de estrías a cada lado. (

Figura 4).

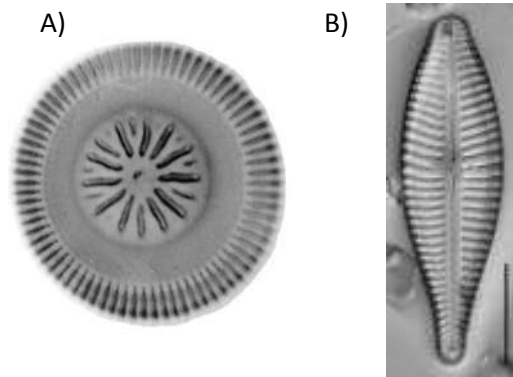


Figura 4. En A) ejemplo de diatomea céntrica. En B) ejemplo de diatomea pennada

El annulus y el sternum también son los centros ontogenéticos de las valvas céntricas y pennadas: durante la formación de la valva, el annulus y el sternum se establecen primero y luego las costillas o estrías que son más finas se desarrollan hacia el exterior de los mismos (Li, 1985).

Hay una modificación importante en un grupo muy grande de diatomeas pennadas, en la que se incorporan uno o dos ranuras longitudinales en el sternum, formando una estructura compuesta que se refiere como el "rafe-sternum" (Mann, 1984).

Estas hendiduras constituyen parte del sistema de rafe, que es un complejo de componentes de la pared y de protoplastos que permite a las diatomeas que se muevan de forma activa, a velocidades de hasta 25 $\mu\text{m}/\text{s}$ o más (Edgar, 1984).

La presencia del rafe y la forma de las ranuras del rafe, especialmente en el centro y los polos, son características importantes para la clasificación y la identificación. (Figura 5).

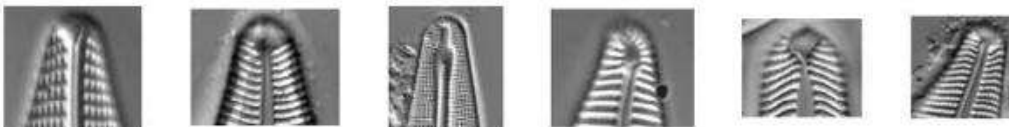


Figura 5. Distintos tipos de terminaciones en las valvas de las diatomeas.

2.3 El sistema de costillas y estrías.

Las líneas de poros que se encuentran entre las costillas se llaman "estrías", y los poros mismos, que pueden ser circulares, elípticos, rectangulares o poligonales, son llamados "areolas."

A veces, varias filas de poros se forman entre las costillas (estrías bi- o multiseriadas) y algunas veces el sistema básico de costilla-estría se modifica o se oculta por la superposición de capas adicionales de sílice, añadidas más tarde durante el desarrollo de la valva, de modo que la areola puede convertirse en cámaras complejas (lóculos, de ahí areolas loculate), cuyas aberturas son constreñidas tanto interna como externamente. Las areolas loculate son frecuentemente hexagonales y pueden formar matrices en forma de panal. (Figura 6).

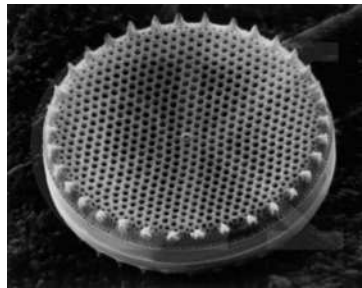


Figura 6. Aerolas loculate con forma hexagonal.

En el microscopio óptico, la cámara de la areola es poco visible, pero la presencia de matrices hexagonales es una buena guía para su presencia. Incluso areolas no loculate con frecuencia tienen una estructura compleja, que contiene finas membranas tamiz, pero también rara vez pueden ser detectadas con el microscopio óptico, ocupando normalmente el microscópico electrónico.

En algunas diatomeas la estructura y el espaciamiento de las costillas, estrías y areolas cambia a través de la valva, del centro al margen.

Dentro de una especie, el patrón general formado por las costillas, estrías y areolas es constante.

En algunas diatomeas pennadas, por ejemplo, las estrías son generalmente paralelas (por ejemplo, en *Neidium*), mientras que en otras son fuertemente radiales

En las diatomeas, los poros y las costillas varían poco en tamaño y espacio dentro de una especie, pero los números cambian a medida que las valvas reducen su tamaño durante el ciclo vital.

Esto se correlaciona con el hecho de que el sistema de costilla-estría se forma a partir del centro hacia fuera: las costillas se inician desde el annulus o del sternum en un espaciamiento fijo y cuando crecen, la ramificación se extiende para llenar el espacio disponible, mientras se mantiene la misma distancia unos de otros. Así, en valvas más grandes de una especie dada, más ramificación ocurren que en las valvas más pequeñas.

En ocasiones, como consecuencia de la perturbación de la célula durante la formación de la valva (por ejemplo, a través de efectos osmóticos o envenenamiento con sustancias químicas que afectan el citoesqueleto), el centro del patrón puede ser desplazado de su posición habitual, pero el sistema de costilla-estría, sin embargo, se puede desarrollar para crear una valva completamente funcional.

Por lo tanto, para la identificación, es más importante concentrarse en el espaciamiento de las estrías y areolas que en números absolutos. La descripción de especies de diatomeas casi siempre expresa esta información como una densidad, por lo general como el número de estrías en 10 μm . La densidad de las estrías generalmente se encuentra entre 5 y 50 estrías por 10 μm ., aunque este rango está cerca de los límites de resolución del microscopio óptico, en la práctica densidades por encima de 35 estrías en 10 μm son difíciles de medir (Figura 7).

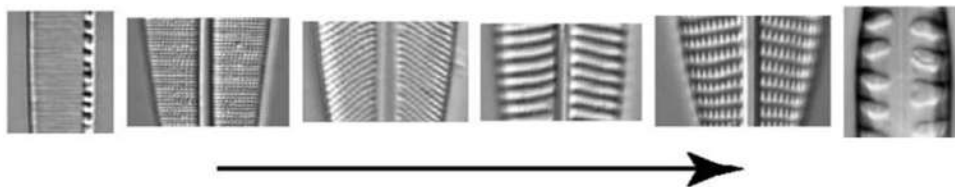


Figura 7. Distintas densidades de estrías ordenadas de mayor a menor en valvas de diatomeas.

2.4 Estructuras adicionales

Por lo general, la valva posee una o más estructuras adicionales que no pertenecen al sistema de estrías y costillas. La mayoría de las diatomeas céntricas, y también las diatomeas pennadas que carecen de un sistema de rafe (diatomeas arrafideas), tienen una o más "rimoportulas" (procesos labiados) que son estructuras tubulares de función desconocida que perforan la pared y tienen una abertura interna de labio. (Figura 8A).

El orden *Thalassiosirales* posee "fultoportulas", que son estructuras implicadas en la secreción de hilos de quitina. Ambos tipos de estructuras generalmente aparecen en el microscopio óptico sólo como puntos o círculos, pero su presencia y ubicación puede ser importante para la identificación. (Figura 8B).

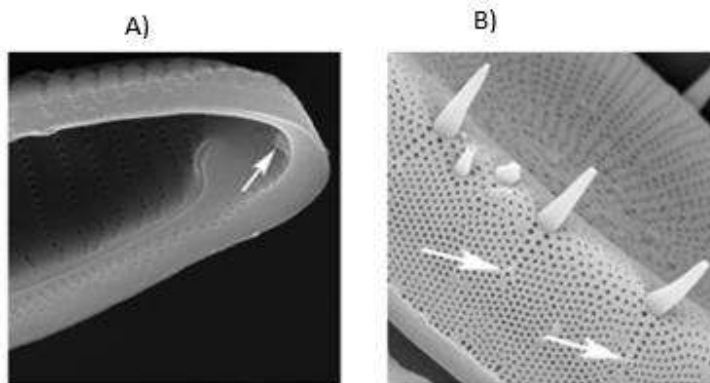


Figura 8. A) Rimoportula. B) Fultoportula

Hay otras características que incluyen costillas especiales no relacionadas con el sistema de costilla estría, y poros especiales que participan en la secreción de almohadillas o tallos que adhieren las células de diatomeas a sustratos sólidos.

En diatomeas pennadas estas estructuras secretoras se encuentran en los extremos de la célula y por lo tanto pueden ser casi invisibles en el microscopio óptico; en diatomeas céntricas se encuentran elevaciones especiales de la valva que parecen ojos (de ahí que se les conoce como ocelos).

Solo poros especiales (estigmas) están presentes cerca del centro del rafe y son importantes para el reconocimiento de especies. (Figura 9).

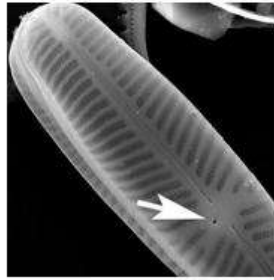


Figura 9. Estigma

2.5 Contorno de la valva

El punto de partida para la forma que tomará la valva es la primera célula formada después de la auxosporación. Por ejemplo en las diatomeas céntricas, la auxospora se expande igualmente en todas las direcciones moldeándose una forma esférica sin modificación y las valvas de la célula inicial son por lo tanto circulares así como todas las formadas a partir de entonces (Medlin, 1996).

Cuando se restringe la expansión de la auxospora, por lo general a través de la incorporación en la pared de tiras de sílice o bandas más rígidas (Mann, 1994), se producen contornos bipolares, tripolares o multipolares, y estas formas se pueden modificar adicionalmente a través de contracciones del protoplasto en la auxospora expandida antes del desarrollo de la valva inicial.

Por lo tanto, dentro de las diatomeas céntricas, hay ejemplos de contornos elípticos, alargados, triangulares, cuadriláteros, o incluso más elaborados.

Las diatomeas pennadas tienen generalmente valvas alargadas, bipolares y la mayoría son de forma bilateral simétrica. Sin embargo, algunas diatomeas pennadas son asimétricas, como resultado de la expansión antisimétrica de la auxospora y / o variación en la flexibilidad en toda

la banda; la asimetría puede ser con respecto ya sea al eje más largo de la valva, al eje corto o ambos.

Estos aspectos más burdos de forma tienden a ser constantes en los niveles superiores de la jerarquía taxonómica. Así, por ejemplo, géneros como *Cymbella* y *Gomphonema* se caracterizan por tener asimetría bilateral y heteropolar, respectivamente.

Sin embargo, no se puede suponer a priori que sea constante dentro de un grupo evolutivo natural. Por ejemplo el género *Biremis* incluye representantes simétricos y asimétricos (Round, 1990).

2.6 Consideraciones especiales

En secciones precedentes se integraron las principales características de carácter morfológico que pueden ser utilizadas para la identificación visual de las valvas: su tamaño, la forma del contorno de la valva, la organización y la densidad del sistema de costilla-estría, el espaciamiento de areolas y la presencia de costillas especiales, poros y espinas.

Enseguida se enumeraran algunas dificultades que se presentan en la identificación debidas a las complejas características morfológicas de ciertas diatomeas.

- Algunas diatomeas presentan curvaturas en su valva y cuando son observadas en el microscopio solo es posible observar por lo regular su vista lateral. Además en su proyección bidimensional no pueden ser observadas adecuadamente debido a estas curvaturas. (Figura 10A y 10B)
- Muchas diatomeas forman colonias. Las valvas se unen por medio de espinas o procesos de sílice, por lo que cuando se identifican se deben considerar estas uniones. (Figura 10C)
- Hay géneros de diatomeas que tienen sus valvas diferentes, en forma o patrón del sistema de costillas-estrías o ambos, presentando morfología heterovalvar. Ejemplos se encuentran en *Achnanthes*, *Achnantheidium*, *Cocconeis* y *Rhoicosphenia*. (Figura 10D).

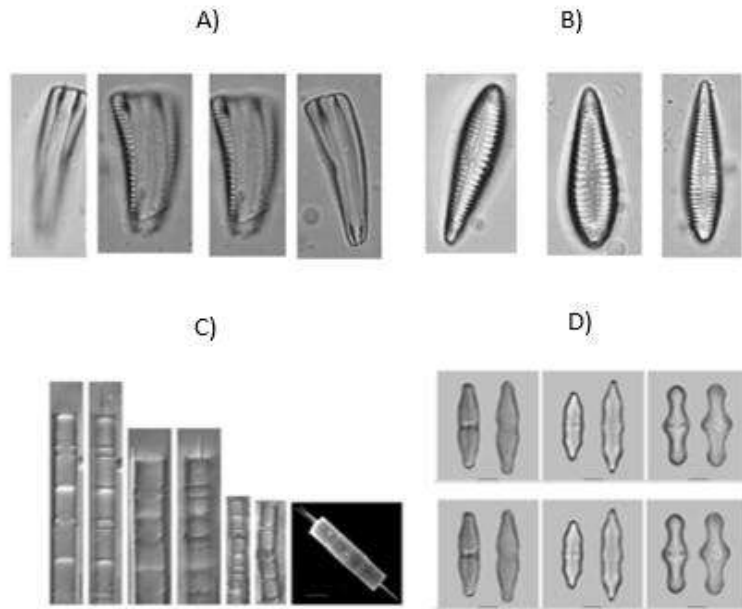


Figura 10. En A) y B) se pueden observar las curvaturas presentes en *Rhoicosphenia* en vista lateral y vista valvar, C) *Aulacoseira* formando colonias. D) Diatomeas con valvas heteropolares.

2.7 Identificación en el microscopio óptico

Desde 1970 se han utilizado muchas más características en taxonomía y esto, junto con mejores métodos de análisis, ha llevado al desarrollo de más clasificaciones naturales para diatomeas. Nueva información ha sido proporcionada por microscopía electrónica, investigaciones de las valvas y uniones conectivas y por los estudios de los protoplastos y la reproducción sexual (Round, 1990).

Aunque se ha producido un profundo cambio en los tipos de datos utilizados para la clasificación, los métodos de identificación mediante el estudio de las valvas con microscopía óptica han cambiado poco. Algunas de las razones son las siguientes:

- La microscopía óptica de las valvas es relativamente barata y conveniente.

- En las principales aplicaciones de diatomeas, por ejemplo, ecología, paleoecología y estratigrafía, a menudo las únicas características disponibles para la identificación son las de la valva.
- La mayoría de las especies pueden ser reconocidas a partir de sus valvas, utilizando microscopía óptica. El género al que pertenecen puede haber sido definida sobre la base de protoplastos y las características reproductivas (tal es el caso, por ejemplo, con *Sellaphora*) y por lo tanto puede ser irreconocible de la morfología de la valva, como se ve en el microscopio óptico, pero si las especies pueden ser identificados, el género puede ser determinado fácilmente, simplemente a través de una guía de identificación taxonómica.

Capítulo 3 Toma de muestras y procesamiento de imágenes

El lago de Pátzcuaro situado en Altiplano Mexicano, se caracteriza por presentar un relieve complejo en un entorno volcánico. Su clima es templado, subhúmedo, con lluvias en verano. Tiene una precipitación pluvial y temperatura anual de 983.3 mm y 14-20 °C.

Cuenta con un gran número de manantiales donde las aguas son alcalinas fluctuando su ph entre 7 y 8. También existen corrientes subterráneas y superficiales, pozos profundos y norias, destinadas para consumo humano, agricultura y ganadería.

Debido a que en los manantiales de Pátzcuaro las valvas de las diatomeas se conservan completas y presentan un gran tamaño se decidió para el desarrollo del presente trabajo de investigación utilizar muestras recolectadas en particular en el manantial de Ichupio. (Almanza, 2014).

3.1 Trabajo de laboratorio

Las muestras se procesaron con el fin de eliminar la materia orgánica e inorgánica que podrían dificultar la identificación y también para obtener imágenes con un menor grado de ruido. El procedimiento realizado se describe a continuación:

- a) Las muestras son depositadas en vasos precipitados a los que se les agrega ácido clorhídrico al 30% con el fin de eliminar carbonatos y se procede a su calentamiento en una parrilla.
- b) Se agrega peróxido de hidrogeno al 30% para la eliminación de materia orgánica y se calienta para su evaporación.
- c) Se realizan lavados con agua destilada hasta su neutralización.
- d) Las muestras son diluidas al 50% con la finalidad de que las diatomeas estén uniformemente distribuidas.
- e) En un portaobjetos se deposita la muestra y se deshidrata en un desecador.
- f) Las muestras procesadas se montan en una resina con alto índice de refracción (Naphrax).

3.2 Obtención de las imágenes

Mediante un microscopio Olympus Bx50, se obtuvieron 1075 imágenes de diatomeas en formato tiff de dimensiones 1200X1600 pixeles observadas mediante un objetivo de 100x (Figura 11).



Figura 11. Microscopio Olympus Bx50

3.3 Segmentación de las imágenes

Una vez obtenidas las imágenes del microscopio se segmentaron con el fin de utilizarlas tanto como imágenes de entrenamiento o como imágenes de prueba.

Debido a que en las imágenes obtenidas del microscopio óptico las diatomeas presentes se encontraban en distintas posiciones y además una imagen podía tener más de una diatomea, se buscó como resultado final obtener cada diatomea centrada individualmente en fondo blanco.

La segmentación de la imagen consistió en las siguientes etapas:

- 1.- Obtención del contorno de las formas en la imagen original, mediante el algoritmo de canny o mediante umbralización. Si se encontraban contornos abiertos se cerraban mediante la transformación morfológica de dilatación o mediante el algoritmo de Deriche y Cocquerez. (Figura 12B)
- 2.- Relleno de los contornos cerrados. (Figura 12C)
- 3.- Eliminación de las formas con un número pequeño de píxeles. (Figura 12D)
- 4.- Producto punto con la imagen original. (Figura 12E)
- 5.- Extracción individual de las formas restantes de la etapa anterior. (Figura 12F)

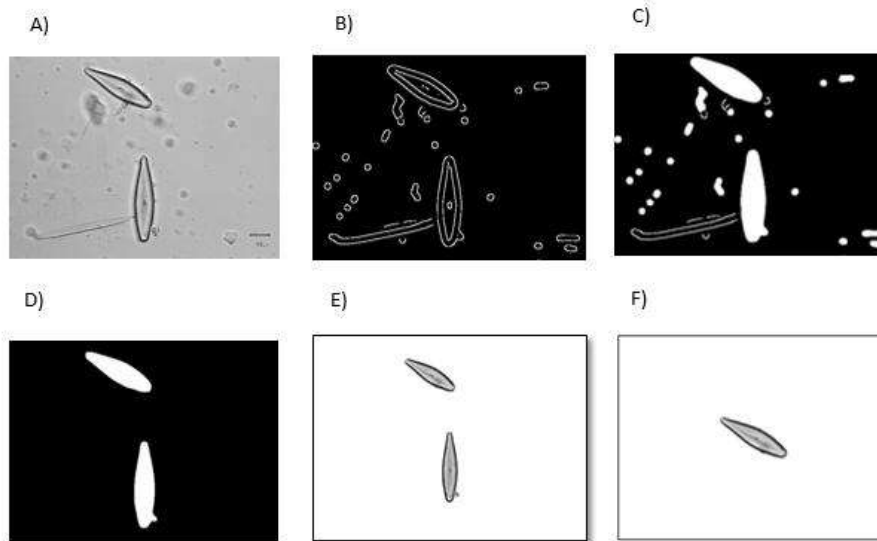


Figura 12. A) imagen original. B) Imagen segmentada mediante canny o umbralización. C) Imagen rellenada. D) Imagen a la que se le extrajeron las áreas con menores pixeles. E) Producto punto con la imagen original. F) Valva individual

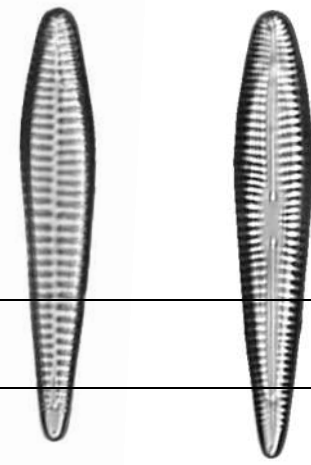
3.4 Selección de valvas

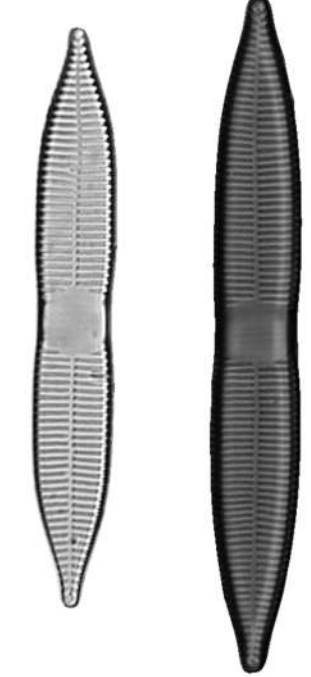
Para probar métodos de clasificación, una vez obtenidas las imágenes del microscopio, se seleccionaron las especies de diatomeas que se encontraban con mayor frecuencia y también las que presentaba sus frústulas completas y contornos mejor definidos. También se tomó en cuenta en la selección de las imágenes aquellas que se encontraban mejor enfocadas y que contenían menor cantidad de ruido.

Las especies y géneros seleccionados fueron: *Gomphonema mexicanum*, *Ulnaria goulardii*, *Fragilaria capucina var vaucheriae*, *Rhoicosphenia abbreviata* y *navicula sp.*


A continuación se describen las valvas tomadas como referencia (Almanza, 2014).

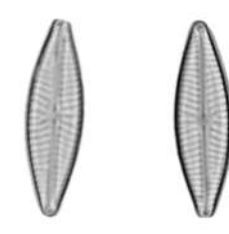
<p><i>Gomphonema mexicanum</i></p> <p>Valvas elíptico-clavadas, ensanchadas en la parte media, el extremo superior ampliamente redondeado, la parte basal es más angosta que la superior, el área axial es recta y se ensancha ligeramente hacia el área central. Un único estigma presente en el</p>	
--	--

<p><i>Rhoicosphenia abbreviata</i> área central. Las estrías en el área central son punteadas y ligeramente radiadas. Valvas linear-lanceoladas a clavadas con extremos redondeados. Rafe reducido, el brazo superior del rafe más largo que el inferior. Longitud: 27.95-60.59 micrómetros Ancho: 8.72-11.84 micrómetros Relación longitud/ancho: 2.92-5.22 micrómetros Estrías: 9.27-12.07 en 10 micrómetros Longitud: 19.37-55.29 micrómetros Distribución local: Chupícuaro, Ichupio, Janintzio, Las Orandenás Ancho: 4.96-9.23 micrómetros Relación longitud/ancho: 2.95-6.95 micrómetros Afinidades ambientales en México: Perifítica</p>	
<p>(Anexo A. Lámina I)</p>	

<p><i>Ulnaria goulardii</i> Valvas lineares con extremos rostrados-capitados. El área central es rectangular, el área axial se observa mas angosta, sus estrías son muy finas. Longitud: 71-91-106.65 micrómetros Ancho: 8.56-16.42 micrómetros Estrías: 7.86-12.07 en 10 micrómetros Distribución local: Chupícuaro, Ichupio Distribución en Mexico: San Luis Potosí, Quintana Roo, Estado de Mexico Michoacan, Guanajuato Afinidades ambientales en Mexico: Perifítica, epilítica</p>	
<p>(Anexo A. Lámina II)</p>	

<p>Estrías: 8.25-14.39 en 10 micrómetros Distribución local: Chupicuaro, Ichupio, Janitzio, Las Urandenas Distribución en Mexico: Estado de Mexico, Michoacán Afinidades Ambientales en Mexico: Epilíptica (Anexo A. Lámina II)</p>	
---	--

<p><i>Fragilaria capucina var. vaucheriae</i> Valvas lanceoladas amplias, ápices capitados a subcapitados, sin rafe. El área central descansa hacia un costado y la axial es lanceolada. Las estrías de la parte central y del ápice son ligeramente paralelas. Longitud: 26.83-54.96 micrómetros Ancho: 4.21-5.80 micrómetros Relación longitud/ancho: 4.71-12.07 Estrías: 9.58-11.39 en 10 micrómetros Distribución local: Chupicuaro, Ichupio, Janitzio Distribución en Mexico: Quintana Roo; Valle de Mexico, Estado de Mexico, Guanajuato Afinidades Ambientales en Mexico: Perifítica, epilíptica, metafítica (Anexo A. Lámina II)</p>	
--	---

<p><i>Navicula sp.</i> Esternón central, engrosado. Las válvulas de <i>Navicula</i> tienden a ser elíptica a ampliamente lanceoladas en su contorno. Extremos de la válvula pueden ser capitado, aguda o redondeado. El esternón central está engrosada, puede ser algo asimétrico. Pseudosepta puede estar presente o ausente. El rafe es recto o lateral en algunas especies. Los extremos proximales del rafe están ligeramente desviados hacia un lado. (Anexo A. Lámina II)</p>	
---	---

Capítulo 4. Identificación de diatomeas con filtros compuestos no lineales

En este capítulo se describe la metodología utilizada para la identificación de diatomeas usando filtros compuestos no lineales. Primeramente se define la transformada de Fourier y sus propiedades y posteriormente se aplica en la construcción de filtros de correlación no lineales.

4.1 La transformada de Fourier

La transformada de Fourier $F(u, v)$ de una función $f(x, y)$ está definida por

$$F(u, v) = \mathcal{F}[f(x, y)] = \iint_{-\infty}^{\infty} f(x, y) e^{-2\pi j(ux+vy)} dx dy. \quad (1)$$

De manera análoga, la transformada inversa de Fourier $f(x, y)$ de $F(u, v)$ es

$$f(x, y) = \mathcal{F}^{-1}[F(u, v)] = \iint_{-\infty}^{\infty} F(u, v) e^{2\pi j(ux+vy)} du dv. \quad (2)$$

Se puede ver la expresión anterior como una expansión de la función $f(x, y)$ en suma generalizada de exponenciales complejas. Para cada par de valores de las frecuencias espaciales u, v se tiene una exponencial en la suma generalizada, dicha exponencial está multiplicada por el coeficiente de peso $F(u, v)$, estos pesos son obtenidos a través de la ecuación (1). Por lo tanto, la transformada de Fourier de $f(x, y)$ puede verse como los coeficientes de peso de la función de intensidad f en una suma de exponenciales.

Para el caso discreto, la transformada de Fourier para una función $f(x, y)$ con M y N valores en los ejes x y y es:

$$F(u, v) = \mathcal{F}[f(x, y)] = \frac{1}{MN} \sum_{x=0}^{M-1} \sum_{y=0}^{N-1} f(x, y) e^{-2\pi j\left(\frac{ux}{M} + \frac{vy}{N}\right)}. \quad (3)$$

Y su transformada inversa es

$$f(x, y) = \mathcal{F}^{-1}[F(u, v)] = \sum_{x=0}^{M-1} \sum_{y=0}^{N-1} F(u, v) e^{2\pi j \left(\frac{ux}{M} + \frac{vy}{N} \right)}. \quad (4)$$

$F(u, v)$ es una función con valores complejos, con las partes reales correspondientes a los términos del coseno de la exponencial y las partes imaginarias a los términos del seno.

Se puede representar una componente espectral compleja por su correspondiente parte real e imaginario como sigue, $F(u, v) = Re(u, v) + Im(u, v)$, entonces la magnitud del módulo complejo y la fase es:

$$|F(u, v)| = \sqrt{|Re(u, v)|^2 + |Im(u, v)|^2}. \quad (5)$$

$$\phi(u, v) = \tan^{-1} \left[\frac{Im(u, v)}{Re(u, v)} \right]. \quad (6)$$

El espectro de Fourier en coordenadas polares es

$$F(u, v) = |F(u, v)| e^{i\phi(u, v)}. \quad (7)$$

4.2 Propiedades de la Transformada de Fourier

Teorema de Linealidad

La transformada de Fourier de dos funciones es la suma de sus transformadas individuales, es decir:

$$\mathcal{F}[af(x, y) + bg(x, y)] = aF(x, y) + bG(x, y), \quad (8)$$

donde a y b son constantes complejas.

Teorema de Escalamiento

Una expansión en el dominio espacial implica una contracción en el dominio de frecuencias, es decir:

$$\mathcal{F}[g(ax, by)] = \frac{1}{|ab|} G\left(\frac{u}{a}, \frac{v}{b}\right). \quad (9)$$

Teorema de Traslación

El resultado de una traslación en el dominio espacial, implica un corrimiento en fase en el dominio de frecuencias, es decir:

$$\mathcal{F}[g(x - a, y - b)] = G(u, v)e^{-j2\pi(ua+vb)}. \quad (10)$$

Teorema de Parseval

Nos indica que la energía o información contenida en una señal, puede ser representada equivalentemente en el dominio de frecuencias como en el espacial, sin ganancia o pérdida de energía.

$$\iint_{-\infty}^{\infty} |g(x, y)|^2 dx dy = \iint_{-\infty}^{\infty} |G(u, v)|^2 du dv. \quad (11)$$

El área bajo la curva es la varianza total de la función.

Teorema de Convulación

La convolución de dos funciones en el dominio espacial equivale a la multiplicación de sus transformadas individuales, es decir:

$$\mathcal{F} \left[\iint_{-\infty}^{\infty} g(\xi, \eta) h(x - \xi, y - \eta) d\xi d\eta \right] = G(u, v)H(u, v). \quad (12)$$

Se puede expresar el teorema de convolución como

$$\mathcal{F}[g(x, y) * h(x, y)] = G(u, v)H(u, v). \quad (13)$$

$$\mathcal{F}[g(x, y)h(x, y)] = G(u, v) * H(u, v), \quad (14)$$

donde * indica la convolución.

Para funciones discretas la convolución estaría dada por:

$$h(x, y) = f(x, y) * g(x, y) = \sum_{x'}^{M-1} \sum_{y'}^{N-1} f(x', y')g(x - x', y - y'), \quad (15)$$

donde M y N son los números totales de valores en los ejes x y y respectivamente.

Teorema de autocorrelación

Este teorema puede considerarse un caso especial del teorema de convolución.

Si $\mathcal{F}[g(x, y)] = G(x, y)$ entonces:

$$\mathcal{F} \left[\iint_{-\infty}^{\infty} g(\xi, \eta) g^*(x - \xi, y - \eta) d\xi d\eta \right] = |G(u, v)|^2. \quad (16)$$

Similarmente:

$$\mathcal{F}[|g(\xi, \eta)|^2] = \iint_{-\infty}^{\infty} G(\xi, \eta)G^*(\xi + u, \eta + v) d\xi d\eta. \quad (17)$$

Correlación

Para comparar dos funciones u objetos se define la función de correlación como:

$$h(x, y) = f(x, y) \otimes g(x, y) = \iint_{-\infty}^{\infty} f(x', y') g(x + x', y + y') dx' dy', \quad (18)$$

donde \otimes indica la correlación.

Cuando las funciones son complejas se debe utilizar el complejo conjugado de alguna de las dos funciones:

$$h(x, y) = f(x, y) \otimes g(x, y) = \iint_{-\infty}^{\infty} f(x', y') g^*(x + x', y + y') dx' dy'. \quad (19)$$

La correlación de dos funciones por lo tanto puede ser escrita de la siguiente manera:

$$\mathcal{F}[f(x, y) \otimes g(x, y)] = F(u, v) G^*(u, v). \quad (20)$$

$$\mathcal{F}[f(x, y) g^*(x, y)] = F(u, v) \otimes G(u, v). \quad (21)$$

Lo anterior implica que es posible calcular la correlación de dos señales mediante la transformada de Fourier como:

$$f(x, y) \otimes g(x, y) = \mathcal{F}^{-1}[F(x, y) G^*(x, y)]. \quad (22)$$

Para el caso de funciones discretas la ecuación anterior sería igual a:

$$h(x, y) = f(x, y) \otimes g(x, y) = \sum_{x'}^{M-1} \sum_{y'}^{N-1} f(x', y') g(x + x', y + y'), \quad (23)$$

donde M y N son los números totales de valores en los ejes x y y respectivamente.

4.3 Filtros de correlación clásicos

4.3.1 Filtro de acoplamiento clásico (CMF)

Diseñado por Vander Lugt en 1964 tiene la ventaja de optimizar la relación señal a ruido (SNR), cuando la señal de entrada (imagen problema) se encuentra degradada por ruido blanco aditivo. Las desventajas de este filtro son que produce picos de correlación anchos, tiene lóbulos laterales grandes y presenta baja discriminación. La respuesta en frecuencia del filtro de acoplamiento clásico está dada por:

$$H(u, v) = \beta \frac{T^*(u, v)}{P_n(u, v)} = H_{CMF}(u, v). \quad (24)$$

Donde $T^*(u, v)$ es el complejo conjugado de la transformada de Fourier de la imagen problema, β es una constante arbitraria y $P_n(u, v)$ es la función de densidad espectral de potencia del ruido.

4.3.2 Filtro solo de Fase (POF)

En la salida de este filtro se obtiene un pico de correlación más estrecho y tiene la propiedad de distinguir patrones similares en una imagen que en CMF. El filtro solo de fase está dado por:

$$H(u, v) = \frac{T^*(u, v)}{|T(u, v)|} = e^{i\phi(u, v)}, \quad (25)$$

donde $\phi(u, v)$ es la fase de la transformada de Fourier de la imagen problema.

4.3.3 Filtro inverso (IF)

Produce picos más estrechos que los filtros anteriores Si la imagen problema y la imagen objetivo son iguales, produce un pico tipo función delta. Entre sus desventajas se encuentra el producir ruido de fondo en el plano de salida. Este filtro está dado por:

$$H(u, v) = \frac{T^*(u, v)}{|T(u, v)|^2} = H_{IF}(u, v), \quad (26)$$

donde $T(u, v)$ y $T^*(u, v)$ son las transformadas de Fourier de la imagen de referencia y su complejo conjugado, β es una constante arbitraria

4.3.4 Filtro de correlación no lineal (ley k)

La salida de este filtro es una función no lineal de la entrada. Este filtro puede ser expresado de la siguiente manera:

$$NF = |F(u, v)|^k e^{-i\phi(u, v)}, \quad 0 < k < 1, \quad (27)$$

donde $F(u, v)$ es la transformada de Fourier del objeto que se desea reconocer, $|F(u, v)|$ es su magnitud, y k es el factor de no linealidad que se estimará a partir de imágenes de entrenamiento de los objetos a ser reconocidos.

Si k es igual a 1 se obtiene el filtro de acoplamiento clásico, para k igual a 0 se obtiene el filtro solo de fase y por ultimo para k igual a -1 se obtiene el filtro inverso. Valores intermedios de k varían la capacidad de discriminación o su variación a la iluminación.

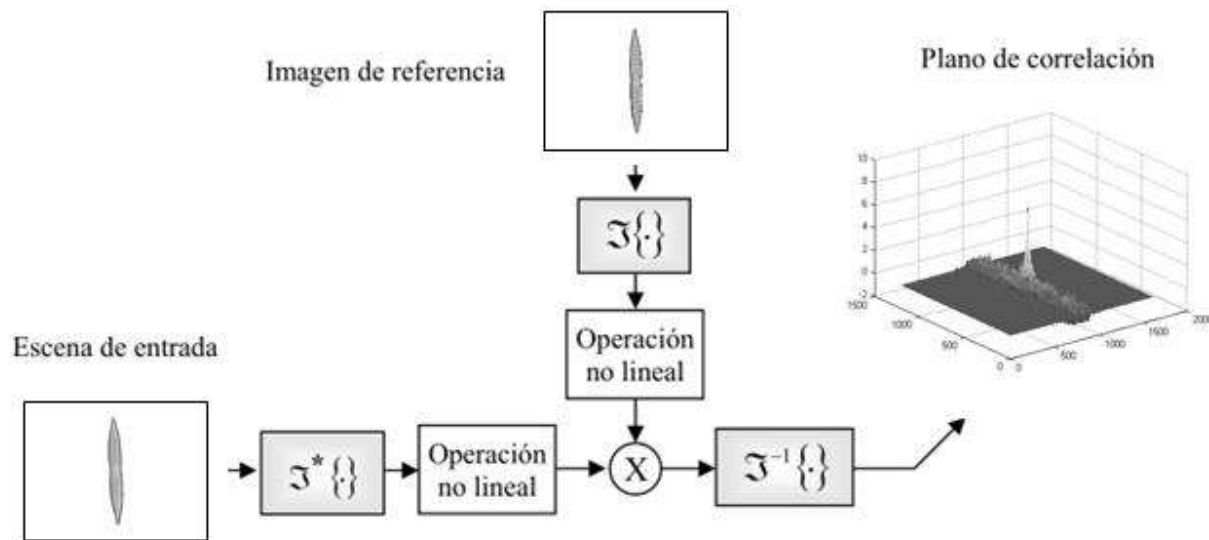


Figura 13. Procedimiento para llevar a cabo la identificación a partir de filtros no lineal.

Las operaciones para llevar a cabo la correlación no lineal entre una imagen de referencia y una imagen de entrada son las siguientes:

Se calcula la transformada de Fourier de la imagen de referencia y el conjugado de la transformada de Fourier de la imagen de entrada. Se aplica el filtro ley k y se calcula el inverso de la transformada de Fourier de los resultados anteriores. Se obtiene el plano de correlación. (Figura 13).

4.4 Filtros no lineales compuestos

Debido a que los objetos a reconocer se pueden presentar en distintas escalas, rotaciones o incluso distorsiones como son cambios de iluminación y ruido, se utilizan lo que se denominan filtros compuestos, formados a partir de imágenes representativas de los objetos a ser reconocidos a las que se les llama imágenes de entrenamiento. Una adecuada selección de estas imágenes influirá en el desempeño del filtro.

Un filtro compuesto no lineal se puede expresar de la siguiente manera (Casasent, 1984):

$$H_{cp} = \sum_{i=1}^N |F_i(u, v)|^k e^{-i\phi(u, v)}, 0 < k < 1, \quad (28)$$

donde N es el número de imágenes de entrenamiento.

Los pasos para correlacionar un filtro compuesto con una imagen de referencia son los siguientes:

- Se seleccionan imágenes de entrenamiento representativas del objeto a ser reconocido.
- Se calcula la transformada de Fourier de estas imágenes, se aplica el filtro ley k a cada una de estas transformadas y se realiza la síntesis del filtro.
- Se calcula el conjugado de la transformada de Fourier de la imagen de referencia y se le aplica el filtro ley k .
- Se calcula la transformada inversa de Fourier de la multiplicación del resultado anterior con el filtro compuesto.
- Se obtiene el plano de correlación.

4.4.1 Creación de los filtros compuestos no lineales

Con el fin de obtener un sistema de identificación de diatomeas invariante a rotación y escala, se requiere el tener distintas imágenes de referencia.

Debido a que la morfología de las valvas es muy variable, es necesario tomar del microscopio un gran número de imágenes de entrenamiento en distintos tamaños y distintas rotaciones.

La solución para este problema fue el escalar $\pm 40\%$ las imágenes obtenidas del microscopio. Sin embargo si se consideraban estas 41 escalas y por cada una de estas 360 rotaciones el número de imágenes obtenidas para una sola imagen hubiera sido 14360.

Para disminuir el número de imágenes utilizadas para la construcción de filtros se consideró el segmentar la escena de entrada y rotar las diatomeas para que quedarán en su orientación principal, de tal manera que solo se considerarán distintas escalas en las imágenes de referencia y una sola orientación.

(Figura 14)

4.4.2 Relación pico a energía de correlación (PCE)

Existen distintas métricas para cuantificar qué tan bien se define el pico de correlación. La métrica utilizada en esta tesis es PCE la magnitud del pico de correlación y la energía del plano de correlación (Kumar y Hassebrook, 1990):

$$PCE = \frac{|c(x_0, y_0)|^2}{E_c}, \quad (29)$$

donde $|c(x_0, y_0)|^2$ es la magnitud del pico de correlación y E_c es la energía del plano de correlación. Entre más pequeño sea PCE la eficiencia del filtro será peor.

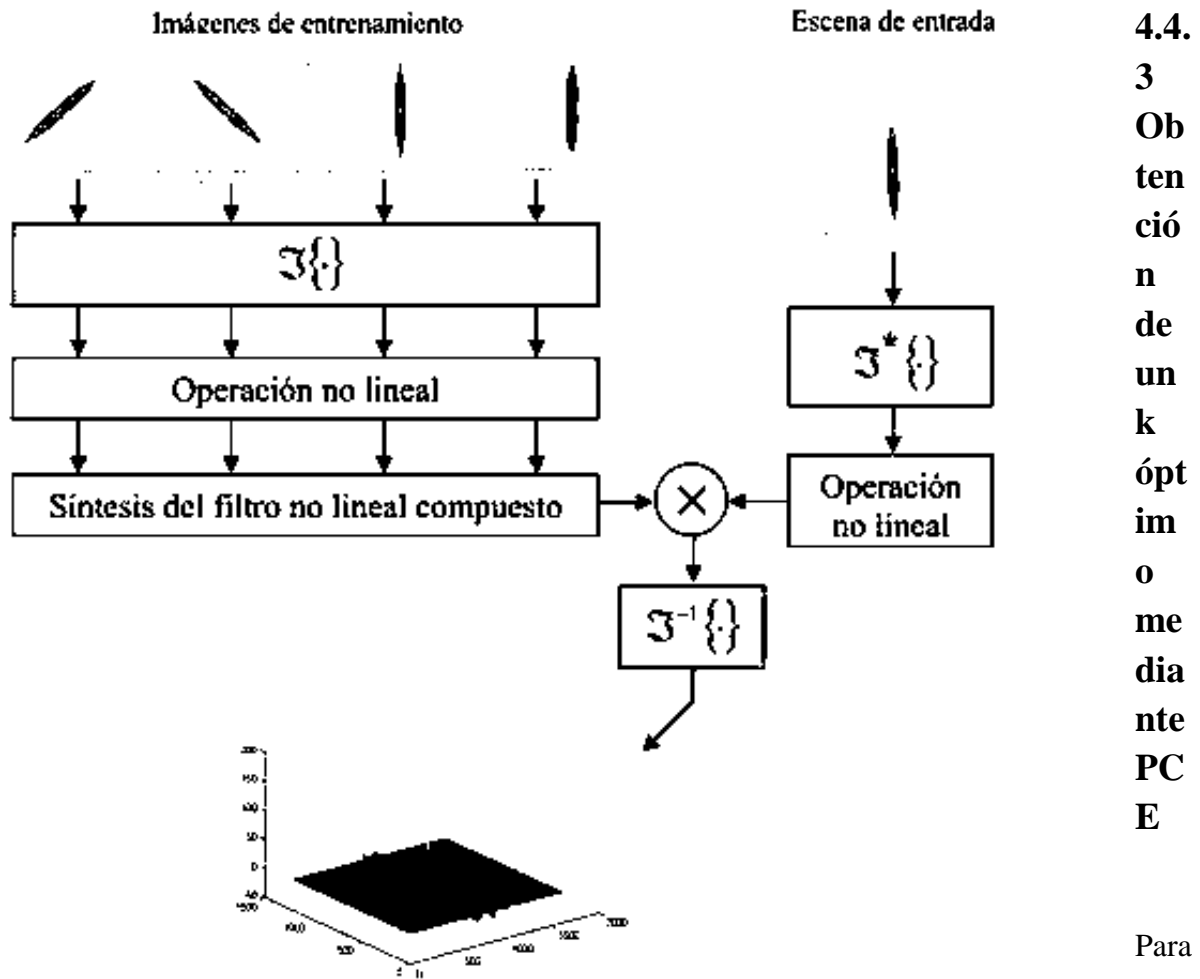


Figura 14. Identificación por medio de filtros de correlación no lineal compuestos.

4.4.
3
Ob
ten
ció
n
de
un
k
ópt
im
o
me
dia
nte
PC
E

Para
obte
ner

un factor k de linealidad óptimo para el filtro que se ajustará a las imágenes utilizadas para cada tipo de diatomea, se realizó el siguiente procedimiento:

- 1.- Se consideraron imágenes de entrenamiento del mismo tipo de diatomea.
- 2.- Para distintos valores de k , variando de 0 a 1 con incrementos de 0.1, se realizaron filtros compuestos con las imágenes del paso anterior.
- 3.- Se correlacionaron los filtros formados con imágenes del mismo tipo que las utilizadas de entrenamiento, y para medir la efectividad del filtro se calculó PCE para cada correlación, sumando los resultados obtenidos.

En este caso debido a que las imágenes que se deseaban identificar eran las mismas que las imágenes de entrenamiento se esperaba que esta suma fuera lo más alta posible.

4.- Se repetían los pasos 1-3 con excepción de que se consideraban imágenes de distintos tipos de diatomeas a las de entrenamiento. En este caso la suma de los PCE obtenido se esperaba que fuera mínima.

5.- Finalmente se realizó el cociente de las sumas obtenidas en el paso 3 y el en paso 4 seleccionando el k que haya tenido como resultado el valor más alto.

(Figura 16, Figura 15)

Como paso adicional debido a que alrededor del pico de correlación hay picos secundarios altos, al momento de realizar los cálculos de PCE en la energía del plano de correlación se omitió una vecindad alrededor del pico principal.

Especie	Valor de k óptimo
<i>Gomphonema mexicanum</i>	0.2
<i>Ulnaria goulardii</i>	0.3
<i>Fragilaria capucina var. vaucheriae</i>	0.2
<i>Navicula sp.</i>	0

Figura 15. Valores de k óptimos para distintas especies

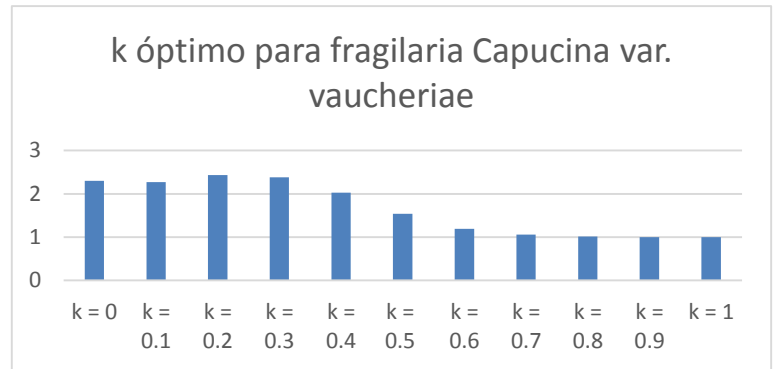
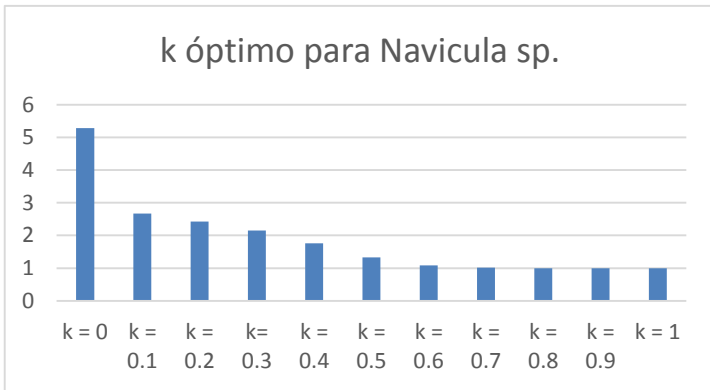
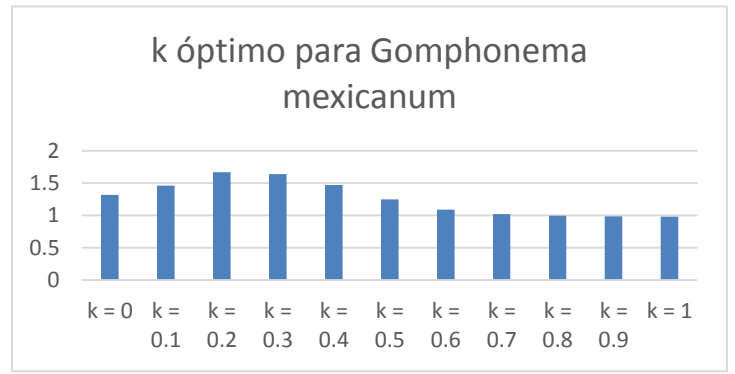
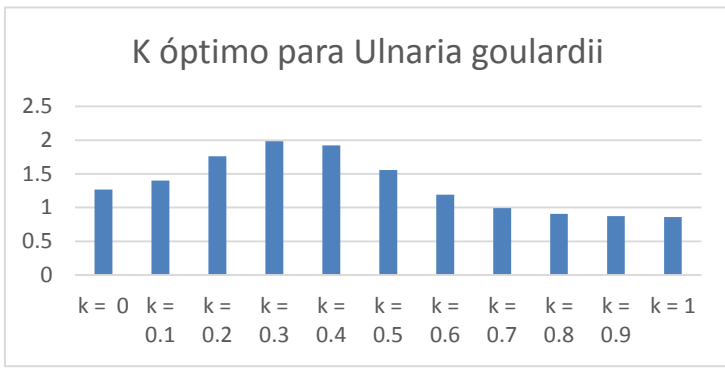


Figura 16. Búsqueda de los valores óptimos del factor de no linealidad a partir de la optimización de PCE

Capítulo 5. Clasificación de la valva mediante propiedades geométricas

Un clasificador consiste en un método que asigna una clase, c , de un conjunto de clases C_i , a un nuevo patrón, representada por un vector de características o atributos, X_1, X_2, \dots, X_p .

Hay dos tipos básicos de clasificadores:

No supervisado o agrupamiento: en este caso las clases son desconocidas, y el problema consiste en dividir un conjunto de n objetos en k clases, de forma que a objetos similares se les asigna la misma clase.

Supervisado: las clases se conocen a priori, y el problema consiste en encontrar una función que asigne a cada objeto su clase correspondiente.

Debido a que la clasificación depende de los descriptores utilizados, algunas consideraciones que se deben tener en cuenta son las siguientes:

Poder de discriminación.- Se busca resaltar los rasgos del objeto que permita la división entre clases.

Fiabilidad.- Los valores de los rasgos seleccionados presentan la menor dispersión posible entre clases.

In-correlación.- Hacer que los rasgos seleccionados no dependan unos de otros para obtener la máxima información con el menor número de características.

Invariancia.- Las características seleccionadas deben ser invariantes ante transformaciones como son rotaciones, traslaciones y escalamiento.

A continuación se definen algunas características para describir la forma de la valva de diatomeas.

5.1 Características

5.1.1 Área (A)

El área de una forma se define como el número de píxeles de la región.

5.1.2 Perímetro (P)

Existen diferentes maneras de definir el perímetro de una forma. La más simple es contar el número de píxeles que tiene el contorno. Una definición más exacta es asignando una distancia de 1 entre píxeles que colindan vertical y horizontalmente y una distancia de $\sqrt{2}$ a píxeles que colindan diagonalmente, siendo el perímetro la suma de las distancias entre los píxeles que se encuentran en el contorno (Figura 17).



Figura 17. Se observa el área y el perímetro de una figura.

5.1.3 Compacidad y redondez (C, R)

Debido a que el perímetro de una figura varía linealmente y el área cuadráticamente, una buena manera de caracterizar una región es mediante el cociente del área y el perímetro al cuadrado. Esta relación es conocida como compacidad y es invariante ante desplazamientos, rotaciones y cambios de escala.

$$C(O) = \frac{\text{Área}(O)}{U^2(O)}. \quad (30)$$

Cuando la forma de una figura es redonda su compacidad tiende a ser $1/4\pi$. Mediante una normalización de la compacidad utilizando el factor anterior se obtiene lo que se denomina como redondez.

$$R(O) = 4\pi \frac{\text{Área}(O)}{U^2(O)}. \quad (31)$$

El valor de redondez varía entre 0 y 1, siendo 1 para objetos redondos (Figura 18).

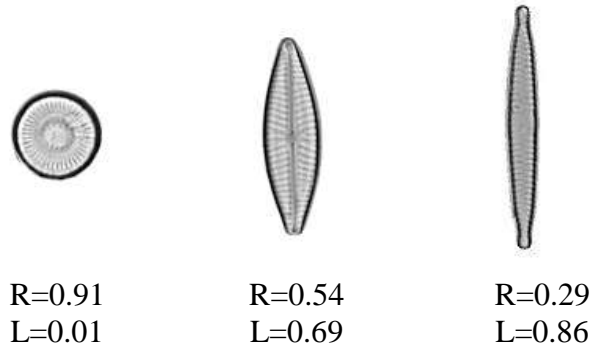


Figura 18. Redondez y excentricidad de distintas valvas de diatomeas.

5.1.4 Distancias al borde

Algunos descriptores relacionados con las distancias al borde de una forma son las siguientes:

D_{max}: distancia máxima del centro de masa al borde.

D_{min}: distancia mínima del centro de masa al borde.

D_{mean}: distancia promedio del centro de masa al borde.

Utilizando estas características se pueden definir las siguientes métricas que son invariantes a escala:

$$\frac{D_{max}}{D_{min}}, \frac{D_{max}}{D_{mean}}, \frac{D_{min}}{D_{mean}}. \quad (32)$$

(Figura 19).

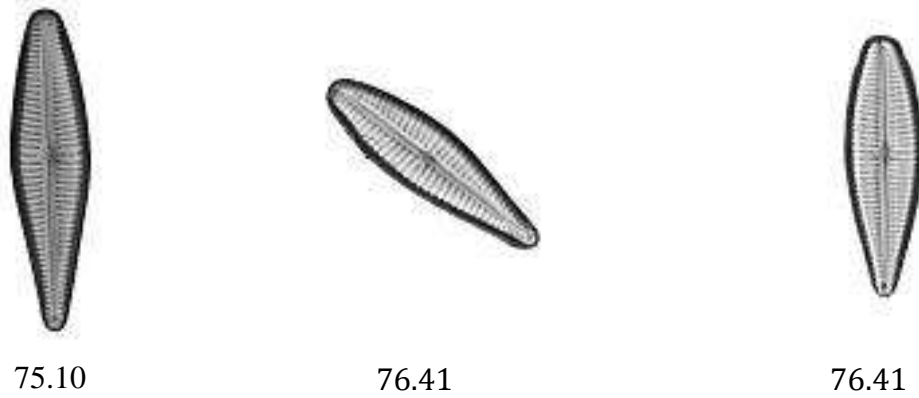


Figura 19. Cociente entre la distancias máxima y distancia promedio en distintas imágenes de *Gomphonema mexicanum*.

5.1.5 Radio medio (R_m)

El radio medio relaciona la media de las distancias de los puntos del contorno al centro de masa y se calcula mediante la siguiente expresión:

$$R_m = \frac{1}{N} \sum_i^N \sqrt{(x_i - x_{cm})^2 + (y_i - y_{cm})^2}, \quad (33)$$

donde N es el número de píxeles en el contorno, (x_{cm}, y_{cm}) son las coordenadas del centro de masa y (x_i, y_i) son las coordenadas de los puntos en la frontera.

5.1.6 Complejidad de forma (f)

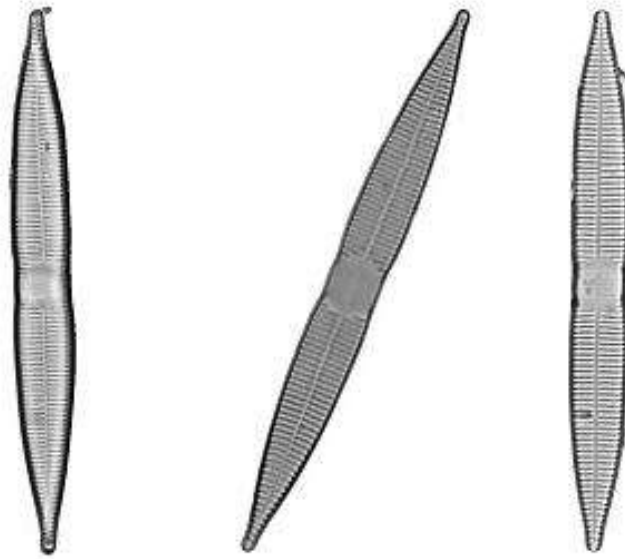
La complejidad de forma es una característica invariante a escala determinada por la siguiente ecuación:

$$f = \frac{A}{B^2}, \quad (34)$$

donde A es el área y B promedio de los pixeles de la forma al centro de masa y está dada por:

$$B = \frac{1}{A} \sum_i^A \sqrt{(x_i - x_{cm})^2 + (y_i - y_{cm})^2}. \quad (35)$$

(Figura 20).



$R_m = 259.24$
 $f = 164.27$

$R_m = 274.27$
 $f = 174.92$

$R_m = 255.26$
 $f = 164.77$

Figura 20. Radio medio y complejidad de *Ulnarias goulardii*.

5.1.7 Elongación o excentricidad (L)

La elongación de una figura está determinada por el ancho y el alto de la forma, mediante la siguiente expresión:

$$L = \frac{H - W}{H}, \quad (36)$$

donde H es la altura y W es el ancho.

De esta ecuación se observa que la elongación para regiones circulares y cuadradas es 0, mientras que para formas alargadas es 1.

Para determinar la circularidad se suele utilizar tanto la elongación como la redondez de manera conjunta. (Figura 18).

5.1.7 Aproximación a una elipse

Debido a que una gran cantidad de especies de diatomeas tienen formas elípticas, una buena descripción de su contorno se obtiene aproximando una elipse y posteriormente obteniendo características como son su excentricidad, la longitud de sus ejes mayor y menor así como su orientación. Un método para realizar esta aproximación es el siguiente (Mery, 20060):

La ecuación de la elipse está dada por:

$$ax^2 + bxy + cy^2 + dx + ey + f = 0, \quad (37)$$

que también podría ser escrita como $\bar{a}^T X = 0$, donde $\bar{a} = [a \ b \ c \ d \ e \ f]^T$ es un vector con los coeficientes de la elipse y $\bar{x} = [x^2 \ xy \ y^2 \ x \ y \ 1]^T$ es un vector que incluye un punto (x, y) de la elipse.

Como las diatomeas no son completamente elípticas se busca un vector tal que $\bar{a}^T \bar{x}_i$ sea cercano a cero para cada \bar{x}_i perteneciente al contorno de la valva.

Esto se logra minimizando:

$$\|X\bar{a}\| \rightarrow \text{mín}, \quad (38)$$

donde X es una matriz donde la fila i es \bar{x}_i . Una solución se consigue restringiendo $\|\bar{a}\| = 1$. Un vector \bar{a} que cumple esto se consigue tomando la descomposición en valores singulares de X .

$$X = USV^T, \quad (39)$$

y considerando \bar{a} como la última columna de V .

Reescribiendo parámetros anteriores, la elipse buscada tendrá la siguiente forma:\

$$\left(\frac{x - x_0}{a_e}\right)^2 + \left(\frac{y - y_0}{b_e}\right)^2 = 1, \quad (40)$$

donde

$$a_e = \frac{1}{\sqrt{sa_p}}, b_e = \frac{1}{\sqrt{sb_p}}, \quad (41)$$

con

$$s = \frac{1}{v - f}, \quad (42)$$

$$v = t^T T t, \quad (43)$$

$$T = \begin{bmatrix} a & \frac{b}{2} \\ \frac{b}{2} & c \end{bmatrix}, \quad (44)$$

$$t = \frac{1}{2} T^{-1} \begin{bmatrix} d \\ e \end{bmatrix}, \quad (45)$$

$$a_p = a \cos^2(\alpha) + b \cos(\alpha) \sin(\alpha) + c \sin^2(\alpha), \quad (46)$$

$$b_p = a \sin^2(\alpha) - b \cos(\alpha) \sin(\alpha) + c \cos^2(\alpha), \quad (47)$$

y

$$\alpha = \frac{1}{2} \arctan\left(\frac{b}{a - c}\right), \quad (48)$$

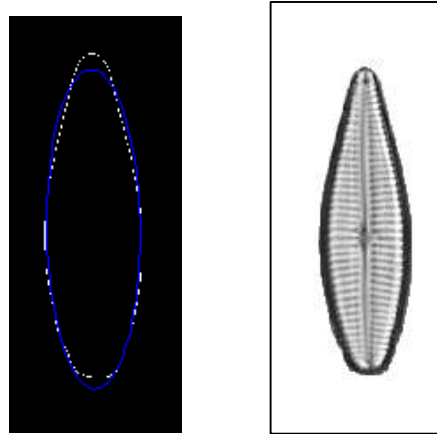
$$x_0 = t_1, y_0 = t_2, \quad (49)$$

Los ejes de la elipse quedan definidos como a_e y b_e con centro en (x_0, y_0) y la orientación de la elipse es α .

La excentricidad se puede definir como:

$$e_x = \frac{\min(a_e, b_e)}{\max(a_e, b_e)}. \quad (50)$$

Cuando la región es circular la excentricidad de esta elipse es uno y para regiones ovaladas la excentricidad va disminuyendo: $0 \leq e_x \leq 1$ (Figura 21).



Excentricidad 0.29

Figura 21. A la izquierda la mejor elipse que se aproxima a la valva de la derecha.

5.1.8 Simetría en las diatomeas

Muchas especies de diatomeas son simétricas bajo 1, 2 o más ejes de simetría.

Una manera computacional de verificar si una valva es simétrica bajo un eje es utilizando la distancia de Hausdorff $h(A, B)$.

Usando como métrica la distancia euclidiana

$$d = \sqrt{(x_1 - x_2)^2 + (y_1 - y_2)^2}. \quad (51)$$

La distancia de Hausdorff se calcula de la siguiente manera:

$$h(A, B) = \max_{b \in B} (\min_{a \in A} d(A, B)). \quad (52)$$

Lo que nos está indicando la ecuación anterior es que si se tienen dos regiones A y B formadas por K y P píxeles respectivamente, para cada elemento de A se calculan las P distancias hacia todos los elementos de B y se obtiene el mínimo de estas distancias. De las K distancias obtenidas se selecciona la mayor de ellas y esta será la distancia de Hausdorff entre A y B.

El algoritmo para verificar simetría se describe a continuación:

- Dada la imagen A, se refleja bajo el eje que se quiere verificar si presenta simetría, formando la imagen B.
- Se calculan las distancias de Hausdorff $h_1(A, B)$ y $h_2(B, A)$
- Se determina $\max(h_1, h_2)$ y mediante un umbral se decide si la valva es simétrica o no. (Figura 22).



Simetría V. = 2
Simetría H. = 3



Simetría V. = 43.42
Simetría H. = 7



Simetría V. = 3
Simetría H. = 2

Figura 22. Simetría bajo un eje vertical y uno horizontal. La segunda diatomea no presenta simetría vertical.

5.1.9 Momentos Invariantes

Una forma de describir una región mediante sus puntos interiores, es mediante momentos.

Para una imagen $f(x, y)$, el momento de orden $(p + q)$ se define como:

$$m_{pq} = \sum_x \sum_y x^p y^q f(x, y), \quad (53)$$

donde las sumas toman todos los valores de las coordenadas (x, y) espaciales de la imagen.

A partir de momentos es posible determinar los centros geométricos de la región y se muestran en las siguientes ecuaciones:

$$\bar{x} = \frac{m_{10}}{m_{00}}. \quad (54)$$

$$\bar{y} = \frac{m_{01}}{m_{00}}. \quad (55)$$

De la ecuación 53 se puede observar que m_{00} es el área de la región. Adicionalmente mediante momentos es posible obtener una aproximación a la dirección principal de la región por medio de la siguiente ecuación:

$$\theta = -\frac{1}{2} \tan^{-1} \left(\frac{2m_{11}}{m_{20} - m_{02}} \right). \quad (56)$$

Los momentos centrales de orden $p + q$ se definen como:

$$\mu_{pq} = \sum_x \sum_y (x - \bar{x})^p (y - \bar{y})^q f(x, y). \quad (57)$$

Finalmente los momentos centrales normalizados de orden $(p + q)$ se definen como:

$$\eta_{pq} = \frac{\mu_{pq}}{\mu_{00}^\gamma}, \quad (58)$$

donde

$$\gamma = \frac{p + q}{2} + 1 \text{ para } (p + q) = 2, 3, \dots \quad (59)$$

A partir de las definiciones anteriores es posible definir una serie de momentos propuestos por Hu (Hu, 1962), que tienen la particularidad de ser invariantes a traslaciones, rotaciones y cambios de escala.

$$\phi_1 = \eta_{20} + \eta_{02}, \quad (60)$$

$$\phi_2 = (\eta_{20} - \eta_{02})^2 + 4\eta_{11}^2, \quad (61)$$

$$\phi_3 = (\eta_{30} - 3\eta_{12})^2 + (3\eta_{21} - \eta_{03})^2, \quad (62)$$

$$\phi_4 = (\eta_{30} + \eta_{12})^2 + (\eta_{21} + \eta_{03})^2, \quad (63)$$

$$\phi_5 = (\eta_{30} - 3\eta_{12})(\eta_{30} + \eta_{12})[(\eta_{30} + \eta_{12})^2 - 3(3\eta_{21} + \eta_{03})^2] \\ + (3\eta_{21} - \eta_{03})(\eta_{21} + \eta_{03})[3(\eta_{30} + \eta_{12})^2 \\ - (\eta_{21} + \eta_{03})^2], \quad (64)$$

$$\phi_6 = (\eta_{20} - \eta_{02})[(\eta_{30} + \eta_{12})^2 - (\eta_{21} + \eta_{03})^2] + \\ 4\eta_{11}(\eta_{03} + \eta_{12})(\eta_{21} + \eta_{03}), \quad (65)$$

$$(66)$$

$$\phi_7 = (3\eta_{21} - \eta_{03})(\eta_{30} + \eta_{12})[(\eta_{30} + \eta_{12})^2 - 3(3\eta_{21} + \eta_{03})^2] + (3\eta_{12} - \eta_{03})(\eta_{21} + \eta_{03})[3(\eta_{30} + \eta_{12})^2 - (\eta_{21} + \eta_{03})^2],$$

Esto quiere decir que dos regiones que tengan la misma forma pero que sean de distinto tamaño y que están ubicados en posiciones y orientaciones distintas en la imagen tendrán momentos de Hu iguales (Figura 23).

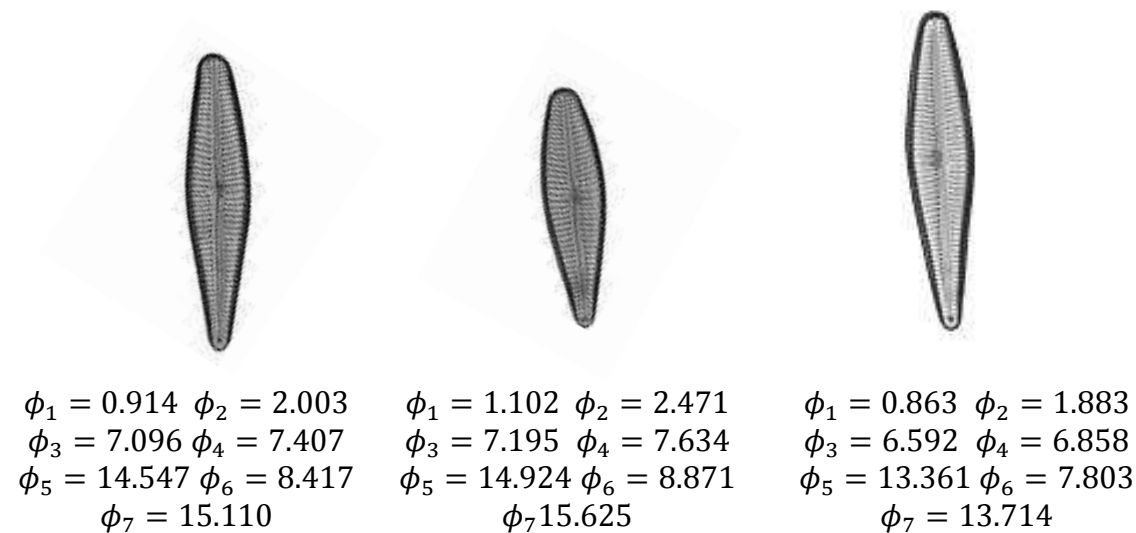


Figura 23. Momentos invariantes de Hu para *Gomphonemas mexicanum*, las valvas fueron escaladas al 25% de su tamaño original

En algunas ocasiones es conveniente además tener descriptores que sean invariantes a transformaciones afines.

Los siguiente cuatro momentos son invariantes a transformaciones afines y son (Chim,1999):

$$I_1 = \frac{1}{\mu_{00}^2} (\mu_{20}\mu_{02} - \mu_{11}^2), \quad (67)$$

Otro grupo de momentos invariantes a transformaciones afines y cambios de iluminación son los siguientes (Reiss 1991):

$$I_2 = \frac{1}{\mu_{00}^2} (\mu_{30}^2 \mu_{03}^2 - 6\mu_{30} \mu_{21} \mu_{12} \mu_{03} + 4\mu_{30} \mu_{12}^3 + 4\mu_{03} \mu_{21}^3 - 3\mu_{21}^2 \mu_{12}^2), \quad (68)$$

$$I_3 = \frac{1}{\mu_{00}^3} (\mu_{20}(\mu_{21} \mu_{03} - \mu_{12}^2) - \mu_{11}(\mu_{30} \mu_{03} - \mu_{21} \mu_{12}) + \mu_{02}(\mu_{30} \mu_{12} - \mu_{21}^2)), \quad (69)$$

$$I_4 = \frac{1}{\mu_{00}^4} (\mu_{20}^3 \mu_{03}^2 - 6\mu_{20}^2 \mu_{11} \mu_{12} \mu_{03} - 6\mu_{20}^2 \mu_{02} \mu_{21} \mu_{03} + 9\mu_{20}^2 \mu_{02} \mu_{12}^2 + 12\mu_{20} \mu_{11}^2 \mu_{21} \mu_{03} + 6\mu_{20} \mu_{11} \mu_{02} \mu_{30} \mu_{03} - 18\mu_{20} \mu_{11} \mu_{02} \mu_{21} \mu_{12} - 8\mu_{11}^3 \mu_{30} \mu_{03} - 6\mu_{20} \mu_{02}^2 \mu_{30} \mu_{12} + 9\mu_{20} \mu_{02}^2 \mu_{21}^2 + 12\mu_{11}^3 \mu_{02} \mu_{30} \mu_{12} - 6\mu_{11} \mu_{02}^2 \mu_{30} \mu_{21} + \mu_{02}^2 \mu_{30}^2), \quad (70)$$

$$\Gamma_1 = \frac{I_4}{\mu_{00} I_2}, \quad (71)$$

$$\Gamma_2 = \frac{I_1^2}{\mu_{00} I_3}, \quad (72)$$

$$\Gamma_3 = \frac{I_1 I_3}{I_4}, \quad (73)$$

donde

$$I_1 = \mu_{20} \mu_{02} - \mu_{11}^2, \quad (74)$$

$$I_2 = (\mu_{30} \mu_{03} - \mu_{21} \mu_{12})^2 - 4(\mu_{30} \mu_{12} - \mu_{21}^2)(\mu_{21} \mu_{03} - \mu_{12}^2), \quad (75)$$

$$I_3 = \mu_{20}(\mu_{21}\mu_{03} - \mu_{12}^2) - \mu_{11}(\mu_{30}\mu_{03} - \mu_{21}\mu_{12}) + \mu_{02}(\mu_{30}\mu_{12} - \mu_{21}^2), \quad (76)$$

$$I_4 = \mu_{20}^3\mu_{03}^2 - 6\mu_{30}\mu_{21}\mu_{11}\mu_{02}^2 + 6\mu_{30}\mu_{12}(2\mu_{11}^2 - \mu_{20}\mu_{02}) + \mu_{30}\mu_{03}(6\mu_{20}\mu_{11}\mu_{02} - 8\mu_{11}^3) + 9\mu_{21}^2\mu_{20}\mu_{02}^2 - 18\mu_{21}\mu_{12}\mu_{20}\mu_{11}\mu_{02} + 6\mu_{21}\mu_{03}\mu_{20}(2\mu_{11}^2 - \mu_{20}\mu_{02}) + 9\mu_{12}^2\mu_{02}\mu_{20}^2 - 6\mu_{12}\mu_{03}\mu_{11}\mu_{20}^2 + \mu_{02}^2\mu_{20}^3, \quad (77)$$

5.2 Resumen de descriptores

A continuación se presenta una tabla donde se resumen todos los descriptores definidos en este capítulo y ante que transformaciones presentan invariancia.

Descriptor	Invariancia
Área	Rotaciones y traslaciones
Perímetro	
Redondez	Rotaciones, traslaciones y cambios de escala
Compacidad normalizada	
Distancias al borde	
Radio medio	
Complejidad de forma	
Elongación o excentricidad	
Aproximación a una elipse (excentricidad de elipse)	
Simetría	
Momentos invariantes de HU	
Momentos invariantes de Chin y col.	
Momentos invariantes de Reiss	

5.3 Clasificación de las valvas

Para las imágenes de entrenamiento se calcularon los descriptores anteriores obteniendo su media y su varianza y se verificó la normalidad a partir de la prueba Jarque-Bera (Jarque y Bera, 1987).

Para realizar la clasificación de una nueva valva se utilizó un clasificador supervisado conocido como naive bayes.

Este clasificador está basado en el teorema de bayes que se define como:

$$p(A|B) = \frac{p(B|A)p(A)}{p(B)}. \quad (78)$$

Si se tiene un conjunto de géneros o especies C_1, C_2, \dots, C_n y se desea conocer a cual pertenece una nueva diatomea caracterizada por sus descriptores $[x_1, x_2, \dots, x_p]$, se puede utilizar el teorema anterior para obtener la probabilidad de pertenencia como:

$$p(C_i|x_1, x_2, \dots, x_p) = \frac{p(x_1, x_2, \dots, x_p|C_i)p(C_i)}{p(x_1, x_2, \dots, x_p)}. \quad (79)$$

Algunas consideraciones para asignar el género son los siguientes:

El término $p(C_i)$ se puede obtener a partir de la frecuencia relativa de las imágenes de entrenamiento para cada género.

Suponiendo que los descriptores son independientes entre sí:

$$p(x_1, x_2, \dots, x_p|C_i) = \prod_{k=1}^p p(x_k|C_i). \quad (80)$$

Los términos $p(x_j|C_i)$ se pueden obtener considerando que los descriptores de las imágenes de entrenamiento presentan distribuciones normales.

Dado que el término $p(x_1, x_2, \dots, x_p)$ se repite para cada género se puede omitir y el género al cual pertenece la nueva diatomea X se puede determinar como:

$$X \rightarrow C_i \text{ si y solo si } \prod_{k=1}^p p(x_k|C_i) p(C_i) > \prod_{k=1}^p p(x_k|C_j) p(C_j) \forall i \neq j. \quad (81)$$

Capítulo 6. Resultados

En este capítulo se exponen los resultados de la clasificación de diatomeas utilizando filtros compuestos no líneas y descriptores geométricos de las valvas.

6.1 Aplicación de los filtros compuestos no lineales

A continuación se muestran las gráficas de caja y bigotes de los resultados de PCE de las correlaciones con los filtros compuestos no lineales. Como se puede observar es posible la discriminación entre especies.

Debido a que la calidad de las imágenes de *Rhicosphenia abbreviata* no era buena en comparación a las otras especies, no se consideró la metodología de filtros compuestos no lineales para esta especie.

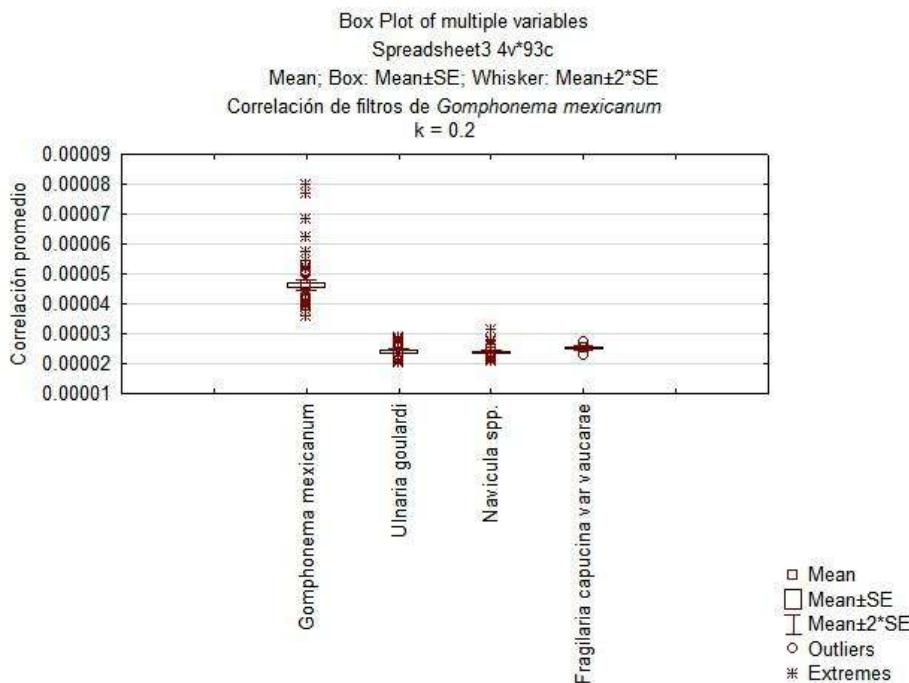


Figura 24. Gráfica de caja y bigotes para los resultados de PCE utilizando los filtros compuestos no lineales de *Gomphonema mexicanum*

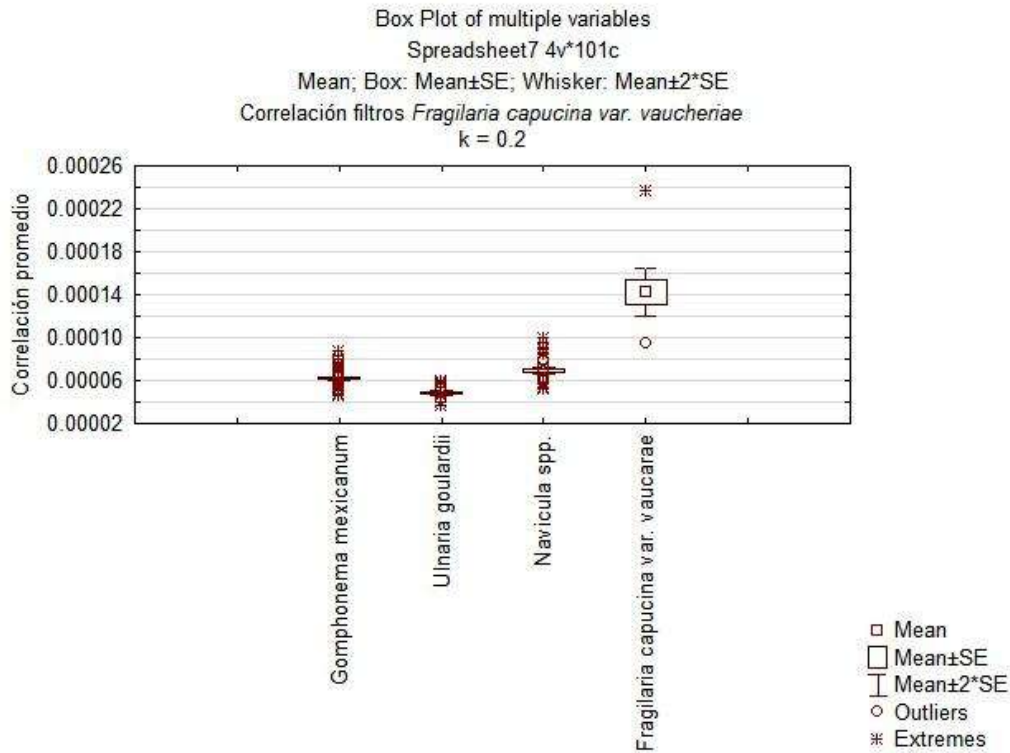


Figura 25. Gráfica de caja y bigotes para los resultados de PCE utilizando los filtros compuestos no lineales de *fragilaria capucina* va. *Vaucheriae*

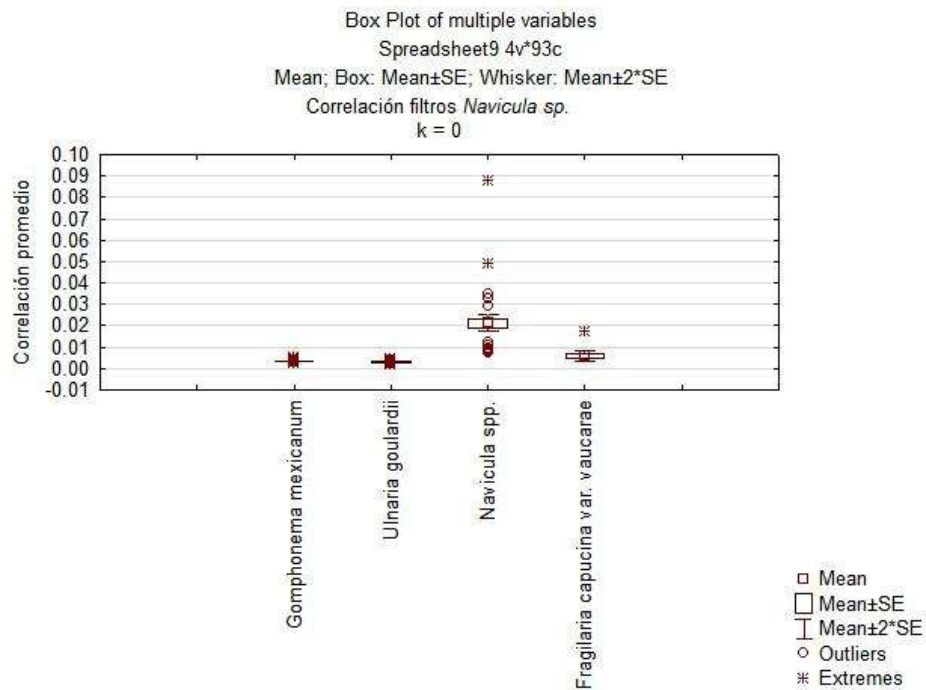


Figura 26. Gráfica de caja y bigotes para los resultados de PCE utilizando los filtros compuestos no lineales de *Navicula* sp.

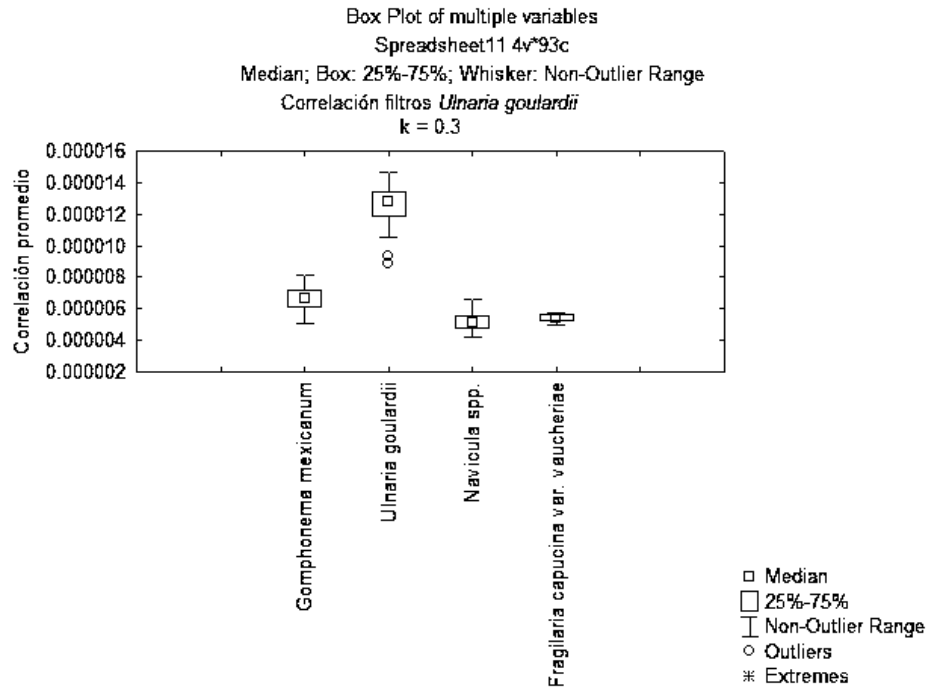


Figura 27. Gráfica de caja y bigotes para los resultados de PCE utilizando los filtros compuestos no lineales de *Ulnaria gouldarii*

6.2 Aplicación de los descriptores geométricos para clasificar valvas

La eficiencia del clasificador naive bayes utilizando el área, la redondez, la complejidad, los momentos invariantes de Hu, el radio medio y el cociente de la distancia máxima al borde entre la distancia mínima se pueden observar en la tabla.

Especie	Porcentaje
<i>Gomphonema mexicanum</i>	96.04%
<i>Ulnaria gouldarii</i>	100%
<i>Navicula sp.</i>	97.73%
<i>Fragilaria capucina var. Vaucarae</i>	90.91%
<i>Rhoicosphenia abbreviata</i>	97.67%

Figura 28. Porcentaje de diatomeas clasificadas correctamente a partir de un clasificador bayesiano

6.3 Conteo de diatomeas mediante los métodos propuestos

Utilizando los filtros de correlación compuestos no lineales y las propiedades geométricas de la valva se realizó un conteo de diatomeas. En la Figura 29 se observa los resultados del conteo real, mientras que en las Figura 30 y Figura 31 se encuentran los resultados utilizando la metodología descrita en esta tesis.

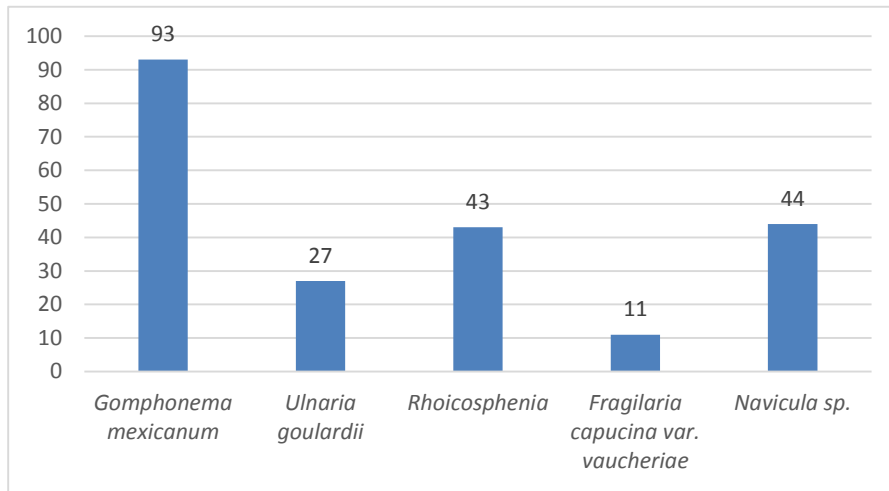


Figura 29. Conteo real de diatomeas

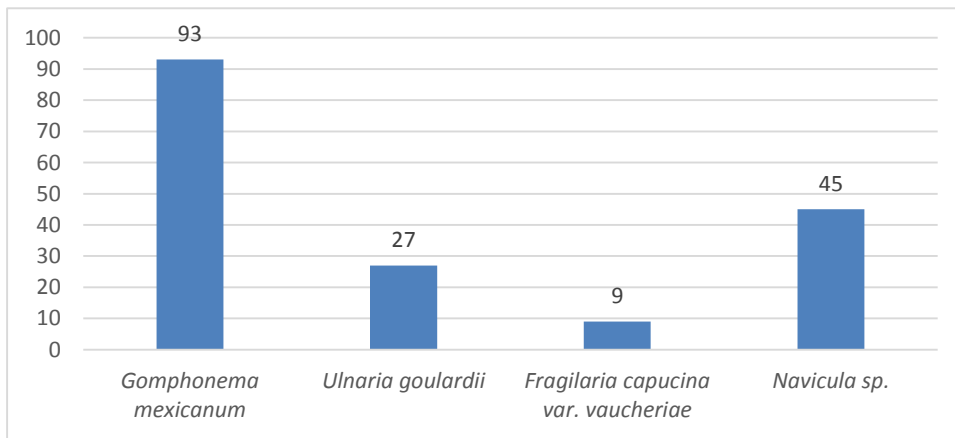


Figura 30. Conteo de diatomeas utilizando filtros compuestos no lineales

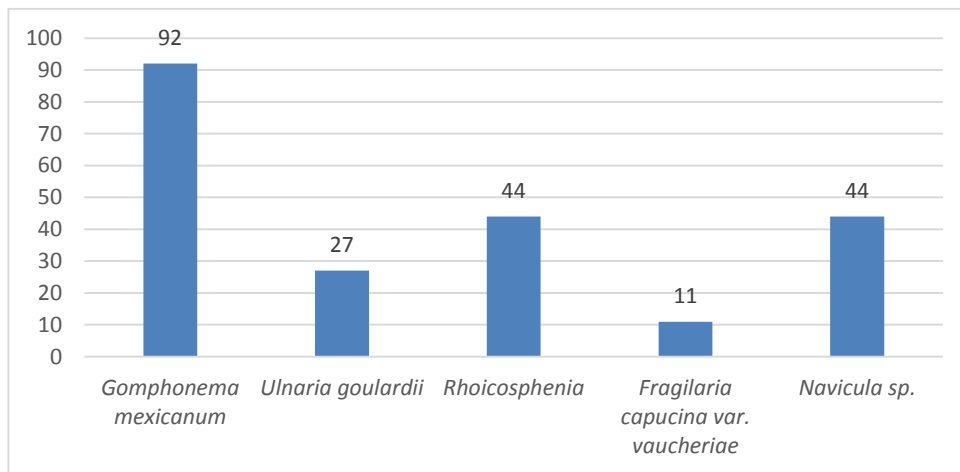


Figura 31. Conteo utilizando clasificador bayesiano

6.4 Interfaz gráfica desarrollada

Para visualizar la extracción de características de diatomeas y también realizar la identificación por medio de filtros compuestos no lineales o descriptores geométricos se desarrolló una interfaz gráfica (Figura 32).

A continuación se describen cada una de las partes del programa desarrollado:

- A) En este botón se selecciona la imagen de la diatomea a caracterizar e identificar.
- B) Este botón permite identificar la diatomea seleccionada de manera automática mediante las características de la forma de su valva.
- C) Este botón permite hacer la identificación mediante filtros compuestos no lineales.
- D) Este visualiza la mejor elipse que se aproxima al contorno de la valva y extrae su excentricidad.
- E) Este botón permite visualizar exclusivamente la forma de la valva.
- F) Este botón permite visualizar exclusivamente el contorno de la valva.
- G) Este botón permite visualizar la valva tal como se cargó en el botón seleccionar.
- H) En esta sección se visualizan parámetros geométricos de la forma de la valva.

- I) En sección se visualizan los momentos invariantes de Hu calculados a partir de la forma de la valva.
- J) En esta sección se visualizan parámetros relacionados con distancias el centro de masa y el borde de la valva.
- K) Este botón permite calcular los parámetros geométricos, los momentos invariantes de Hu y las distancias relacionadas con el centro de masa y el borde de la valva.
- L) En esta sección se visualiza la imagen de la valva cargada, y las distintas secciones

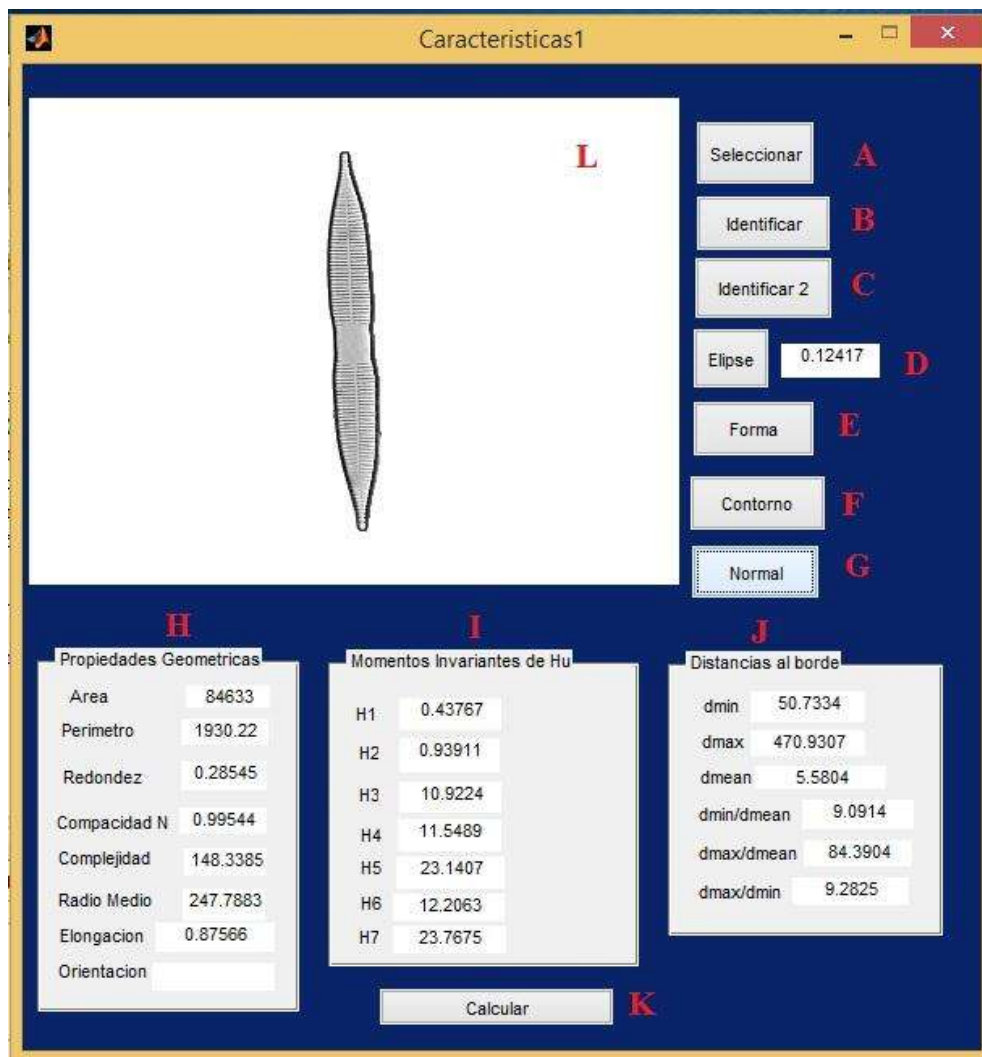


Figura 32. Programa desarrollado para identificar diatomeas obtenidas a partir de la forma de la valva.



Figura 33. Ventana que se abre cuando se identifica una diatomea.

Adicionalmente cuando se realiza la identificación se abre una nueva ventana, la cual tiene el siguiente contenido (Figura 33):

- M) Se visualiza la imagen de la especie que el programa considera es del mismo tipo al de la imagen cargada.
- N) Visualiza información taxonómica de la especie que se identificó.

Capítulo 7. Conclusiones

En la presente tesis se desarrolló un sistema de identificación automático utilizando filtros compuestos no lineales de algunas especies de diatomeas que pueden ser encontradas en manantiales de Pátzcuaro y se puede extrapolar inicialmente a otros sitios dentro de la cuenca del Lerma donde se conoce la taxonomía detallada de las algas.

Las especies seleccionadas fueron *Gomphonema mexicanum*, *Ulnaria goulardii*, *Fragilaria capucina var vaucheriae*, *Navicula sp.* y *Rhoicosphenia abbreviata*.

Adicionalmente se extrajeron características representativas de la forma de la valva como son el área, el perímetro, la redondez, excentricidad, distancias al borde y momentos invariantes de Hu, entre otras. Posteriormente se realizó un clasificador bayesiano con estas características.

Utilizando tanto filtros compuestos no lineales como el clasificador bayesiano se pudo identificar diatomeas con más del 90% de efectividad.

Un experimento que tuvo buenos resultados fue el conteo de diatomeas mediante los dos métodos descritos. Este experimento se llevó a cabo con la finalidad de ver el potencial de usar la identificación automática de diatomeas para posteriormente en trabajos futuros calcular índices de calidad de agua a partir de ésta.

Finalmente se desarrolló una interfaz gráfica que permitiera facilitar la visualización de las características extraídas de una valva así como realizar de manera más accesible la identificación.

El desarrollar sistemas de identificación automático de diatomeas similares al propuesto en este trabajo permitirá facilitar los monitoreos ecológicos además de la detección de los cambios ambientales en escalas de tiempo de días, cientos, miles a millones de años.

7.1 Propuesta de mejora

Entre los objetivos futuros se encuentra el obtener imágenes de otras especies para probar los métodos de identificación utilizados en el presente trabajo de investigación.

Debido a que es una etapa fundamental en la identificación es la segmentación, se buscarán métodos alternativos de segmentación de imágenes, por ejemplo utilizando morfología matemática o bien reconstrucción de curvas.

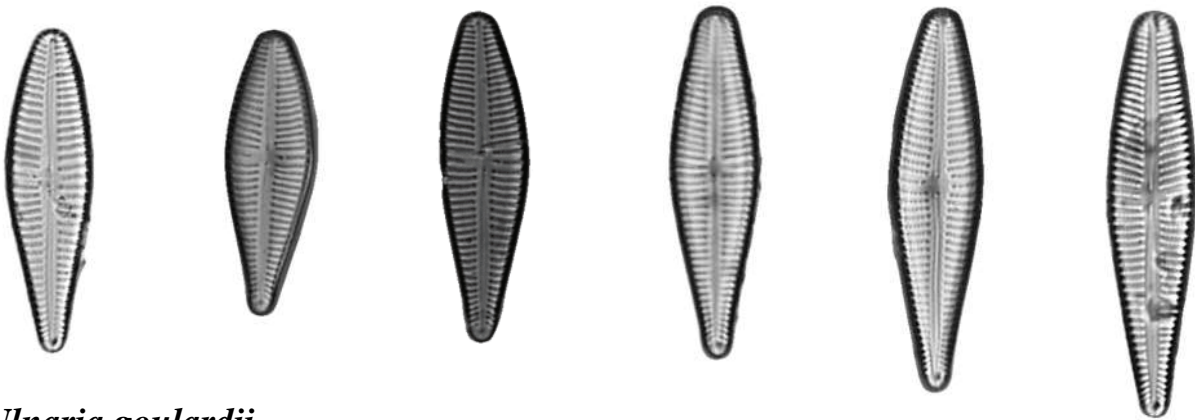
La identificación a partir de filtros compuestos no lineales puede ser mejorada si se utilizan exclusivamente imágenes extraídas del microscopio, sin realizar escalamientos ni rotaciones, debido a que se deforma la imagen original.

Se investigará como describir las partes internas de la valva utilizando análisis de texturas, debido a que se pueden encontrar especies distintas de diatomeas con la misma forma (por ejemplo especies de diatomeas céntricas).

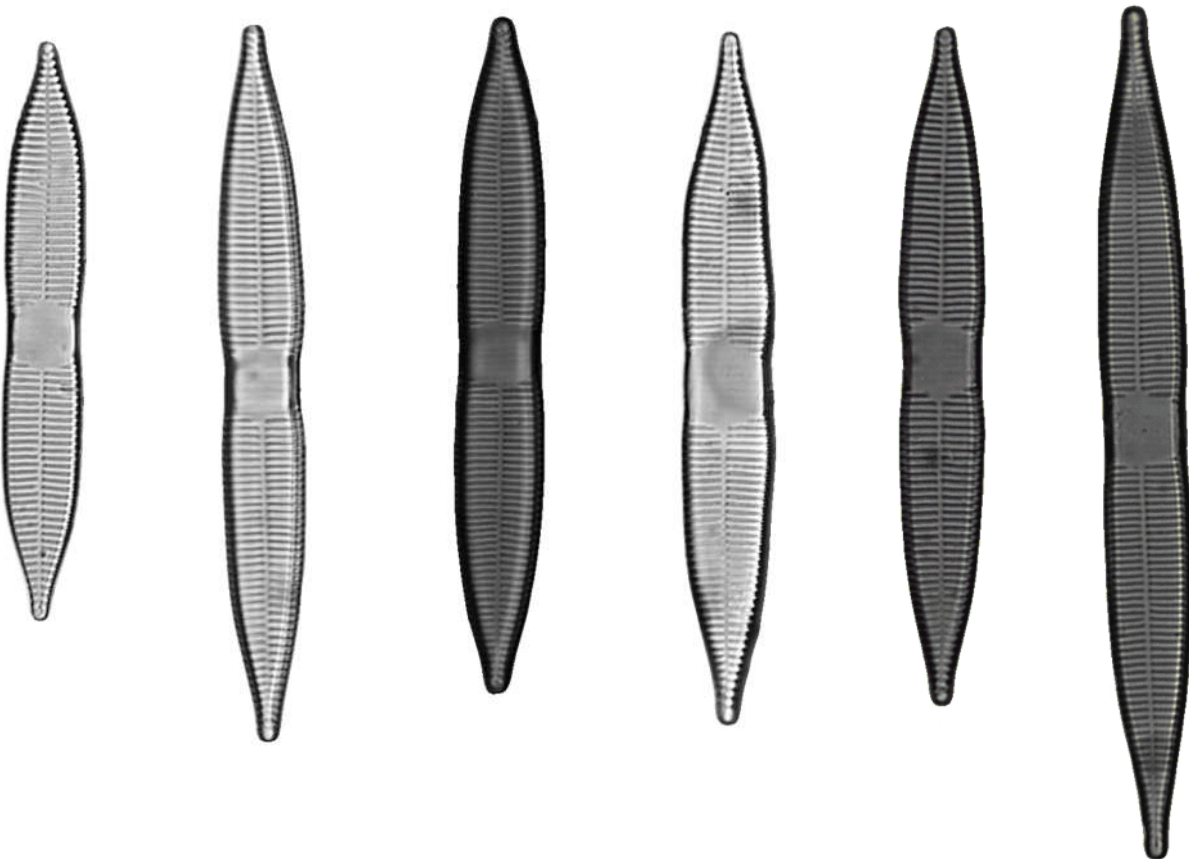
Anexo A Láminas

Lámina I

Gomphonema mexicanum

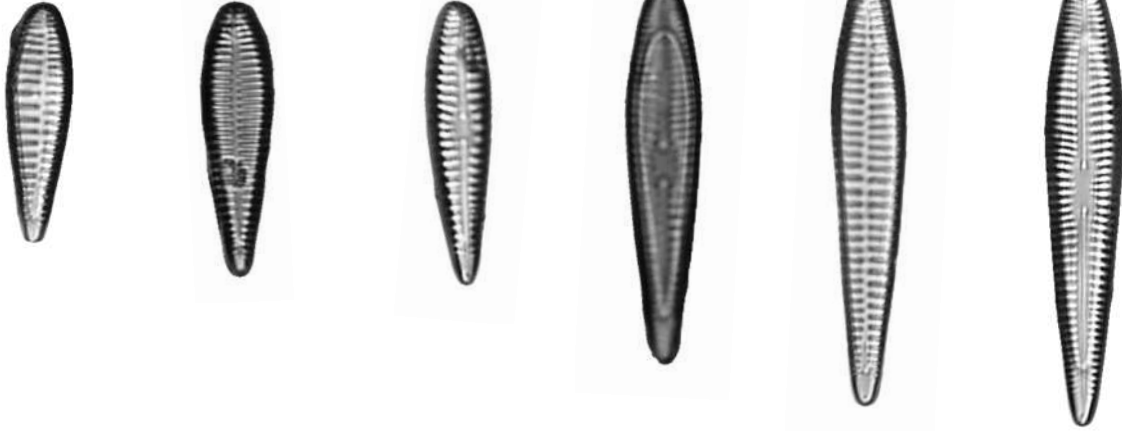


Ulnaria goulardii



Lamina II

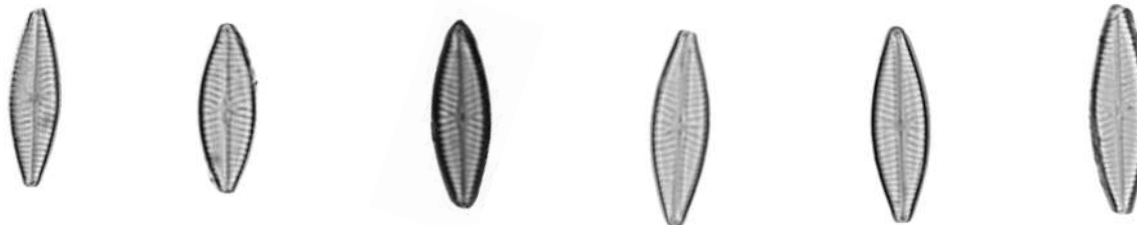
Rhoicosphenia abbreviata



Fragilarica capucina var. *vaucheriae*



Navicula sp.



Anexo B. Segmentación

Una imagen es una función bidimensional $f(x, y)$, donde x, y son las coordenadas espaciales de la imagen y el valor de f es la intensidad o nivel de gris en ese punto.

Una forma de representar esta función es como una matriz $N \times M$ de números enteros o reales de la siguiente forma:

$$f(x, y) = \begin{bmatrix} f(0,0) & \cdots & f(0, M) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ f(N, 0) & \cdots & f(N, M) \end{bmatrix}, \quad (82)$$

donde cada valor de esta matriz se denomina pixel.

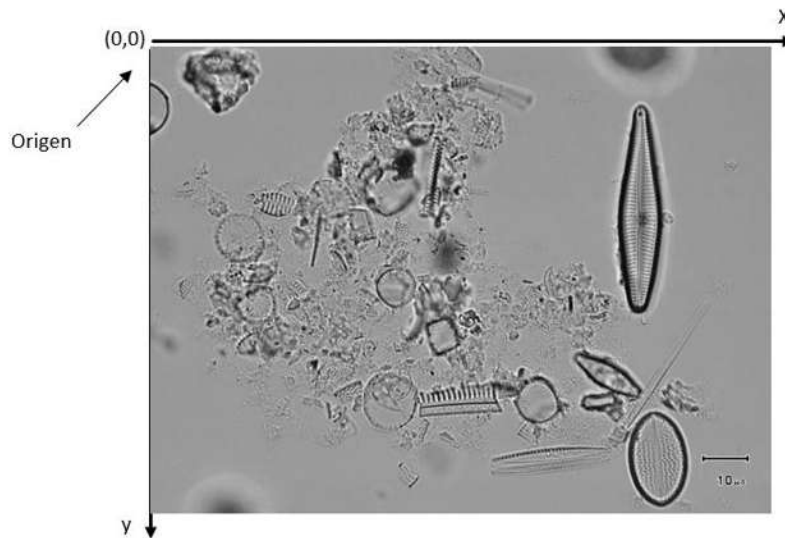


Figura 34. Coordenadas en una imagen

Segmentación

La segmentación es el proceso mediante el cual se separan los objetos de interés del resto considerado como fondo. Esta tarea no es trivial debido tanto a la dificultad como a su importancia. La segmentación está basada en dos principios fundamentales: discontinuidad y similitud o en otras palabras detección de bordes y regiones.

Una región se define como un área de la imagen en la que sus píxeles poseen propiedades similares (intensidad, color). Mientras que los bordes son píxeles alrededor de los cuales la

imagen presenta una brusca variación en sus niveles de intensidad, por lo cual un borde delimita dos regiones.

Umbralización

La detección de umbrales es una técnica utilizada en el procesamiento de imágenes cuando se desea extraer de una imagen $f(x, y)$ objetos oscuros que se encuentran en un fondo claro. Este procedimiento se realiza agrupando las intensidades de los objetos y el entorno en dos tonos dominantes y seleccionando un nivel T que los separe de tal manera que se creó una imagen binaria $g(x, y)$ definida como:

$$g(x, y) = \begin{cases} 1 & \text{si } f(x, y) > T \\ 0 & \text{si } f(x, y) \leq T \end{cases} \quad (83)$$

Cuando T depende solo de $f(x, y)$, el umbral se llama global y cuando depende también de alguna propiedad de vecindad el umbral se llama local. Si T depende de las coordenadas espaciales el umbral se llama dinámico.

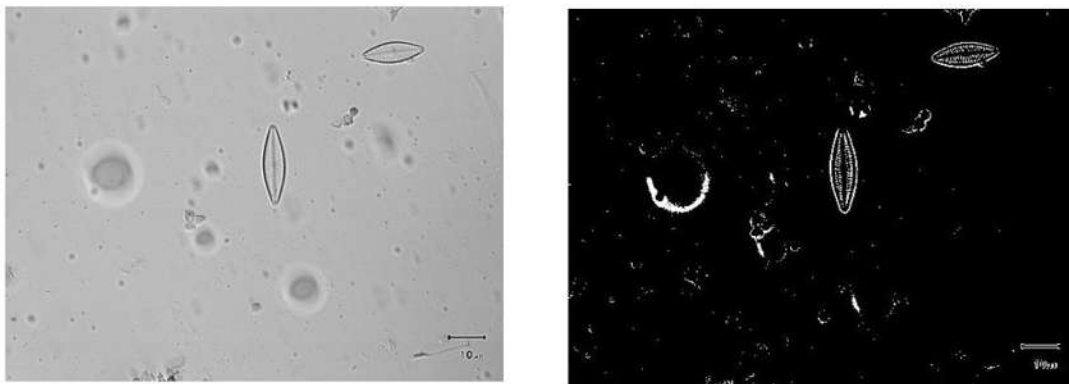


Figura 35. Imagen original y aplicando un umbral

Algoritmo de Canny

El algoritmo de canny es uno de los algoritmos más utilizados para la detección de bordes. Se fundamenta en encontrar el operador de primera derivada a una imagen suavizada por medio de un núcleo gaussiano. Tiene como particularidad el distinguir bordes verdaderos de bordes falsos ocasionados por el ruido en una imagen.

Este algoritmo se divide en las siguientes etapas:

- a) Obtención del gradiente para cada pixel
- b) Supresión no máxima
- c) Histéresis

Obtención del gradiente

La imagen de entrada I es suavizada por medio de un filtro gaussiano $G(x, y)$ con media cero y desviación estándar σ , obteniendo una imagen de salida J .

Para cada pixel (x, y) en J se obtienen los gradientes G_x y G_y en las direcciones x y y respectivamente, estimando la magnitud y la orientación del borde como:

$$G(J(x, y)) = \sqrt{G_x^2 + G_y^2}. \quad (84)$$

$$\theta(x, y) = \arctan \frac{G_y}{G_x}. \quad (85)$$

En este paso se obtienen dos imágenes de salida $G(J(x, y))$ y $\theta(x, y)$ con las magnitudes de los gradientes y sus correspondientes orientaciones.

Supresión no máxima

Con las imágenes $G(J(x, y))$ y $\theta(x, y)$ se obtiene una imagen $N(x, y)$ con bordes que tienen un grosor de un pixel, mediante el siguiente procedimiento.

Se consideran cuatro direcciones $d1, d2, d3, d4$ con las orientaciones $0^\circ, 45^\circ, 90^\circ$ y 135° respectivamente.

Para cada *pixel* (x, y) :

Se encuentra la dirección dk que mejor se aproxima a $\theta(x, y)$ (perpendicular al borde).

Si el valor $G(J(x, y))$ es más pequeño que al menos uno de sus vecinos en la dirección dk , al pixel (x, y) de $N(x, y)$ se le asigna el valor de 0 y de otro modo se le asigna el valor de $G(J(x, y))$.

Histéresis

La imagen $N(x, y)$ obtenida en el paso anterior puede contener bordes falsos debido al ruido en la imagen de entrada. Utilizando un umbral es posible reducir el número de bordes falsos aunque se tienen los siguientes dos problemas:

- a) Si el valor del umbral es muy bajo es posible dejar pasar bordes falsos.
- b) Por el contrario si el valor del umbral es muy alto, se presentan rompimientos a lo largo del borde.

Una solución para estos dos problemas es la histéresis de umbral cuyo algoritmo es el siguiente:

- a) Se consideran dos umbrales t_1 y t_2 con $t_1 < t_2$ y se van explorando los pixeles de $N(x, y)$ en un orden fijo.
- b) Se localiza el siguiente punto de borde no explorado previamente tal que $N(x, y) > t_2$.
- c) A partir del pixel anterior se siguen las cadenas de borde siempre que $N(x, y) > t_1$.
- d) Se marcan los puntos explorados

Este procedimiento reduce la obtención de falsos bordes puesto que se deben situar por encima de t_2 así como la probabilidad de rupturas.

Cierre de contornos abiertos

El algoritmo de canny puede dar como resultado contornos abiertos, lo que implicaría la problemática de obtener el cierre a la hora de determinar si un contorno limita una región o no.

Para cerrar contornos abiertos se puede utilizar el algoritmo de Deriche y Cocquerez o la operación morfológica de dilatación con la desventaja de obtener un engrosamiento de los bordes.

Algoritmo de Deriche y Cocquerez

- a) La imagen de entrada es una imagen de contornos donde a los puntos de borde se les asigna el valor de 1 y al resto se le asigna 0.
- b) Para cada punto de borde que es un extremo de un contorno abierto, se determina a cuál de los ocho patrones pertenece (Figura 36), donde los cuadros en negro indican puntos de borde y los puntos las tres direcciones de búsqueda para el cierre del contorno. A cada patrón se le asigna un valor y para saber a qué patrón pertenece cada extremo de borde se realiza la convolución con la máscara de la Figura 36.

- c) Cuando alguno de los pixeles de búsqueda es ya un pixel de borde, el contorno se ha cerrado.
- d) En caso contrario se elige de los tres pixeles de búsqueda el que tiene el mayor gradiente como punto de borde.
- e) Se repiten los pasos anteriores tras un cierto número de iteraciones o cuando se encuentra

el
cierr
e del
cont
orno

$$\begin{bmatrix} 2^0 & 2^1 & 2^2 \\ 2^7 & 0 & 2^3 \\ 2^6 & 2^5 & 2^4 \end{bmatrix}$$

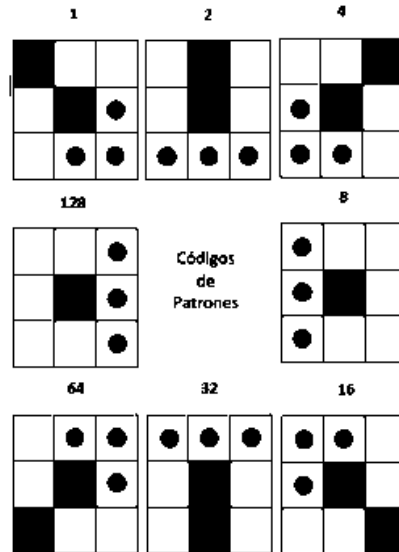


Figura 36. Mascara y patrón de puntos utilizados para completar contornos

Referencias

- Alvarez, J. S. (2014). *Inventario y descripción taxónomica de las diatomeas perifíticas de los senos norte, centro y sur del lago de Pátzcuaro, Michoacán, México*. Morelia, Michoacán.
- Buf, H. d. (2002). *Automatic Diatom Identification*. World Scientific Publishing.
- Chim, Y. C. (1999). Character Recognition using statistical moments. *Image and vision computer* 17(3-4), 299-308.
- Cox. (1996). *Identification of freshwater diatoms from live material*. London: Chapman and Hall.
- Cox, E. (1999). Variation in patterns of valve morphogenesis between representatives of six biraphid diatom genera. *J. of Phycology*, Vol. 35, 1297-1312.
- Droop, M. D. (1996). Biodiversity, biogeography and conservation. *Hydrobiologia*, 19-32.
- Edgar, L. a.-H. (1984). Diatom locomotion. *Progress in Phycological Research*, Vol. 3, 47-88.
- Ehrenberg, C. (1838). *Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen*.
- Flores, E. G. (2014). *Estudio y análisis comparativo de diferentes sistemas*. Ensenada, Baja California.
- Guerrero, R. E. (2008). *Correlación invariante de objetos utilizando filtros compuestos no lineales*. Ensenada, Baja California.
- Hu, M.-K. (1962). Visual pattern recognition by moment invariants. *IRE Trans. Info. Theory* 17(8), 179-187.
- Jarque, Carlos M. y A. K. Bera (1987). "A Test for Normality of Observations and Regression Residuals", *International Statistics Review*, Vol. 55, pp. 163-177.

- Li, C.-W. a. (1985). Studies on the biochemistry and fine structure of silica shell formation in diatoms. VIII. Morphogenesis of the cell wall in a centric diatom, *Ditylum brightwellii*. . *Protoplasma*, Vol. 124, 10-29.
- Lundholm, N. D.-E. (2001). Phylogeny of the Bacillariaceae with emphasis on *Pseudo-nitzschia*. . *Phycologia*, Vol. 40(4), supplement, 7-8.
- Mann. (1988). *Nuclear movements and frustule symmetry in raphid pennate diatoms*. Koenigstein.
- Mann, D. (1984). An ontogenetic approach to diatom systematics. *Proc. 7th Int. Diatom Symp.*, 113-144.
- Mann, D. (1994). The origins of shape and form in diatoms: the interplay between morphogenetic studies and systematics. In: Shape and form in plants and fungi, V. *Academic Press*, 17-38.
- Mann, D. G. (1999). The species concept in diatoms. *Phycologia*, 437-495.
- Medlin, L. G. (1996). Evolution of the diatoms (Bacillariophyta) II. Nuclear-encoded small-subunit rRNA sequence comparisons confirm a paraphyletic origin for the centric diatoms. *Molecular Biology and Evolution*, Vol. 13, 67-75.
- Mery, D. (2006). *Extracción de características*. Santiago de Chile.
- Pritchard, A. (1861). *A history of infusoria, including the Desmidiaceae and Diato-*. London.
- Round, F. C. (1990). *The diatoms. Biology and morphology of the genera*. Cambridge, UK.: Cambridge University Press.
- Stickle, M. a. (1995). Sexual reproduction and systematics of *Placoneis*. *Phycologia*, Vol. 34, 74-86.
- Stoermer, E. F. (1999). *The diatoms: applications for the environmental and earth sciences*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.