

Parte II

**MATERIALES Y MÉTODOS**



# 3

## MATERIALES Y DATOS DE PARTIDA

Este capítulo se enfoca con el objetivo de exponer los datos con los que arranca la investigación y todas las herramientas empleadas a lo largo de la misma.

### 3.1 Obtención de imágenes

La captura de fotografías de los insectos se realizó mediante un microscopio *Trinocular Motic B3 Professional Series* con una cámara acoplada *Motic Moticam2* y un objetivo de aumento 4x. Las imágenes se obtienen con los canales RGB y píxeles de 1 byte por canal de color, en formato *bmp* y a una resolución final de 1596x1196.

Por otro lado, se eligió la especie de *Frankliniella occidentalis* para el estudio de sus longitudes principales (sección 1.2) fundamentalmente por tratarse de una de las plagas más comunes y relevantes en el cultivo en invernaderos. Los individuos fueron anestesiados con cloroformo y colocados en vista ventral para la captura de las imágenes (figura 3.1).



**Figura 3.1:** Ejemplo de fotografías estudiadas de *Frankliniella occidentalis*.

## 3.2 Software empleado

Este proyecto de investigación fin de máster parte con la idea de desarrollar una aplicación informática ágil y práctica para la generación de resultados representativos sobre grandes bases de imágenes de insectos y que sirva para ahorrar tiempo a las medidas manuales que se requieren actualmente para la caracterización de las poblaciones (sección 1.1). El lenguaje de programación elegido fue C++ que sirvió al autor como aprendizaje e introducción a los lenguajes de programación de bajo nivel sin perder ciertas ventajas de la programación de alto nivel y de la orientada a objetos.

Se utilizó *Microsoft Visual Studio Community 2017* con su modificación de *Visual C++* como entorno de desarrollo integrado o Integrated Development Environment (IDE) para la generación del programa. También se gestionaron y se almacenaron los hitos del desarrollo del código del proyecto a través de la plataforma *GitHub* implementada dentro del propio *Visual C++*.

Por último, para el procesamiento de imágenes y la implementación de ciertas funcionalidades básicas, se hizo uso de una librería externa instalada en el IDE como *OpenCV*. Permite operaciones como el reconocimiento automático de los datos de cabecera (*headers*) de imágenes *bmp* o la manipulación de éstas en forma matricial o vectorial, entre otras.



# 4

## METODOLOGÍA

Este capítulo se centra en la descripción del método seguido, paso a paso, hasta la obtención de los resultados finales justificando cada una de las etapas de la metodología. Se mostrarán los productos intermedios del procesamiento de la imagen, se relacionará cada operación con procedimientos propios del capítulo 2 y se describirá la lógica seguida para la construcción de los algoritmos en el lenguaje C++.

### 4.1 OpenCV y su interpretación de las imágenes

Antes de introducirse propiamente en la metodología, se considera conveniente aclarar algunas nociones básicas de cómo utiliza e interpreta *OpenCV* las imágenes *bmp* importadas al código.

Una imagen, con una resolución  $M \cdot N$  y con  $C$  de canales de color, es considerada como una sucesión de píxeles que se almacenan, según *OpenCV*, como  $C$  vectores con elementos  $i \in \{0, 1, \dots, (M \cdot N) - 1\}$ . También permite el acceso y modificación de cada uno de estos puntos mediante su localización según los valores de fila y columna siendo  $\{(i, j) \mid i \in [0, M - 1], j \in [0, N - 1]\}$  dentro de  $C$  matrices cuyo origen de coordenadas se sitúa en el centro del píxel superior izquierdo con eje fila en sentido descendente y eje columna dirigido hacia la derecha (ver la figura 4.1). Además, se aclara que la librería toma los canales de color de la imagen en el orden *BGR*.

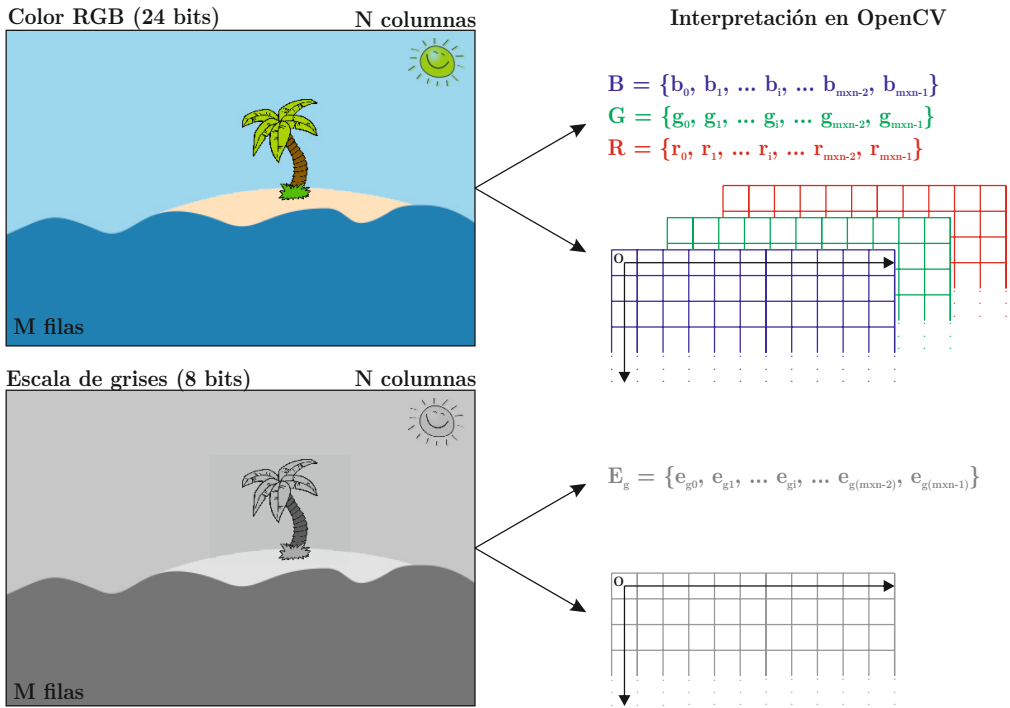


Figura 4.1: Interpretación de las imágenes *bmp* en *OpenCV*.

## 4.2 Segmentación de las imágenes

El primer paso dado para el tratamiento de las imágenes consistió en separar el insecto del fondo mediante una segmentación de las imágenes.

Al analizar las imágenes, según sus distintas bandas, se comprueban las diferentes saturaciones y contrastes entre el fondo y el insecto en primer plano (figura 4.2). Por una parte, esta especie se comporta de forma distinta para cada frecuencia de color. Se aprecia en la figura cómo las banda rojas y verde guarda una mayor similitud en *ND* que la frecuencia azul en la que los píxeles del insecto desploman su saturación. En otras palabras, esta especie absorbe mayor cantidad de longitud de onda en el tramo azul que en los otros dos tramos detectados. Por otro lado, el fondo se encuentra notablemente más saturado para la banda azul produciendo, en este canal de la imagen concreto, un fuerte contraste. Esto será una característica propia de las imágenes debido a las condiciones en la toma de fotografías y será aprovechada para la mejora de la segmentación.



**Figura 4.2:** Diferentes visualizaciones de las bandas de una imagen analizada. **Arriba izquierda:** imagen original en *RGB*. **Arriba derecha:** Banda azul en escala de grises. **Abajo izquierda:** Banda verde en escala de grises. **Abajo derecha:** Banda roja en escala de grises.

Este condicionamiento de partida del fondo de las imágenes y del propio insecto sobre cómo responden a las distintas bandas es clave para justificar el método de segmentación empleado. Recordando los conceptos del *Método de Otsu* (apartado 2.1.1), éste busca el umbral óptimo que separa en dos segmentos el histograma y los cuales responden con una varianza mínima entre sí y máxima respecto del otro segmento. Se hace palpable que escoger una banda donde se encuentre un contraste muy importante entre el insecto y el fondo producirá una segmentación más ajustada al objeto de interés. Debido a ello, se eligió finalmente el canal azul de la imagen para aplicar la segmentación. El resultado para la banda del azul se muestra en la figura 4.3.



**Figura 4.3:** Segmentación de la banda azul de la imagen por el *Método de Otsu*.

También se quiere añadir que, en un primer momento, se utilizó una conversión de la imagen en escala de grises para esta segmentación mediante los típicos pesos utilizados para la codificación del color en televisión:

$$E_{\text{gris}} = k_R \cdot R + k_G \cdot G + k_B \cdot B \quad (4.1)$$

siendo  $E_{\text{gris}}$  el ND en 8 bits de la imagen en escala de grises y  $k_R = 0.299$ ,  $k_G = 0.587$  y  $k_B = 0.114$  los pesos para los canales del rojo, verde y azul, respectivamente.

Evidentemente, esta conversión y otras similares que dan mayor contribución al rojo y al verde, debido a que el ojo humano interpreta estas bandas como más luminosas que el azul (Burger y Burge, 2009a), son un inconveniente puesto que, como se ha explicado, es realmente la banda azul la que consta de una información más útil para el método de segmentación elegido. En otras palabras, la conversión a escala de grises utilizada en este proyecto ha sido:

$$E_{\text{gris}} = k_R \cdot R + k_G \cdot G + k_B \cdot B \quad (4.2)$$

con  $k_R = 0$ ,  $k_G = 0$  y  $k_B = 1$ .



**Figura 4.4:** Diferencias de segmentación mediante el *Método de Otsu* según la imagen de utilizada. Superposición del resultado de la segmentación para la banda del azul (figura 4.3) y una escala de grises de los tres canales. Zonas en blanco mantienen la misma segmentación en ambos casos, zonas rojas aparecen únicamente en la segmentación de la figura 4.3 y partes en cian sólo aparecen en el nuevo resultado.

A vista del ejemplo de la figura 4.4, se constata que las partes añadidas por la combinación de las tres bandas no aportan información de interés para la región a medir y que, por el contrario, sí termina eliminando ciertos píxeles del interior del insecto que condicionarán parámetros geométricos de la región.

## 4.3 Formación de regiones y localización del área de estudio

A pesar de la segmentación realizada, el resultado de la figura 4.3 continua recogiendo grupos de píxeles sin interés para el estudio.

Con el objetivo de seleccionar exclusivamente la región de la imagen que forma el objeto principal (el insecto), se hace un análisis píxel a píxel o barrido de la imagen. Esta operación se programó con un doble bucle en el que se analizaba, en cada fila, cada elemento columna. En vista global, se inspeccionan las imágenes de izquierda a derecha y de arriba a abajo. Estos bucles anidados son más cómodos para el programador, pero a la par, menos recomendables en cuestión eficiencia (la manipulación de la imagen como vector, en lugar de como matriz, genera códigos más ágiles), más allá de que las propias imágenes analizadas tienen cerca de dos millones de píxeles. Debido a esto, se pretende aprovechar la operación para recabar información adicional sobre las regiones y así evitar nuevos barridos completos de la imagen.

Una vez que se alcanza una región marcada como primer plano en la imagen binaria segmentada, se aplican algoritmos *breadth-first* mediante una estructura *queue* (apartado 2.3.3). Dicha estructura será la encargada de almacenar las coordenadas de los píxeles en el entorno del elemento analizado (vecindad  $\mathcal{V}_8$ ) en cada iteración realizada mientras *queue* no se encuentre vacío. Cada una de las iteraciones del procedimiento suscita:

1. Almacenamiento de las coordenadas del píxel analizado en un vector temporal de posiciones de la región.
2. Suma de una unidad a una variable temporal del área de la región.
3. Análisis de la vecindad  $\mathcal{V}_8$  del píxel de estudio. Busca en su entorno otros puntos que sean parte de la zona segmentada de la imagen, que no hayan sido previamente añadidos a la estructura *queue* y los incluye en ésta. Estos nuevos píxeles son marcados como *añadido* para evitar su uso en repetidas ocasiones lo que acabaría produciendo un bucle infinito.
4. Terminadas las operaciones en la posición, se extrae el píxel analizado de *queue*. Éste se encuentra en el primer elemento de la estructura ya que el algoritmo *breadth-first* actúa con un comportamiento [FIFO](#).

El proceso iterativo termina en el momento en el que *queue* se queda vacío y, por tanto, todos los píxeles conectados que conforman el objeto han sido

analizados. Se realiza, entonces, una comparación entre el área temporal de la región con una variable de área máxima definida para la imagen y que parte en un inicio con valor cero. Dicha variable tiene como objetivo seleccionar el objeto más grande de la imagen segmentada y desechar el resto de pequeños puntos ajenos al insecto. Se hace una comparación del tamaño del área temporal respecto del área máxima de la imagen (adquiere valores conforme los bucles alcanzan regiones segmentadas). Si la nueva región conectada tiene mayor cantidad de píxeles, sustituye a aquella que hubiera sido almacenada. En caso contrario, se eliminan los objetos temporales y se continúa el barrido por el resto de la imagen. El proceso iterativo y esta comparación (con posible sustitución) se repetirán tantas veces como regiones aisladas se hallen.

## 4.4 Contorno de la región y etiquetado

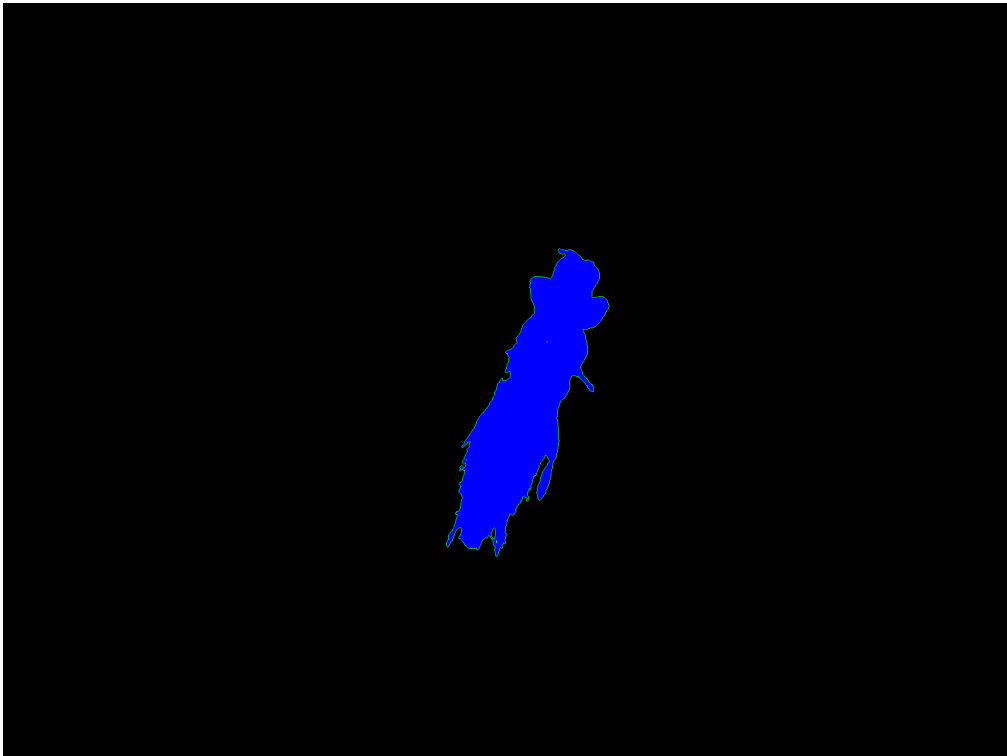
Se consideran píxeles del contorno a todos aquellos que se encuentran a la vez en contacto con la región de estudio y con el fondo. También se debe hacer la distinción de contorno externo e interno ya que, como se ve en las figuras mostradas, hay ciertas zonas internas del insecto que son segmentadas como fondo debido a brillos producidos por la iluminación durante la captura de fotografías.

### 4.4.1 Delimitación inicial

En un primer paso, se marca el contorno con independencia de su tipología. Mediante una comprobación en cada punto de la región dentro del vector de posiciones, se adjudica valor de *contorno* a aquellos píxeles que se encuentren en posiciones de vecindad  $\mathcal{V}_4$  y que pertenezcan al fondo de la imagen. Las posiciones se buscan en un entorno  $\mathcal{V}_4$  conscientemente ya que el contorno tiene conexión (como se lleva diciendo hasta ahora) en  $\mathcal{V}_8$ . También se adjudica el valor *insecto* a aquellos píxeles dentro del vector de posiciones de la región (véase la figura 4.5).

### 4.4.2 Diferenciación de contorno externo e interno

Utilizando nuevamente la idea de los algoritmos *breadth-first*, se realizará una operación de expansión a través del contorno exterior. Dado el enfoque y

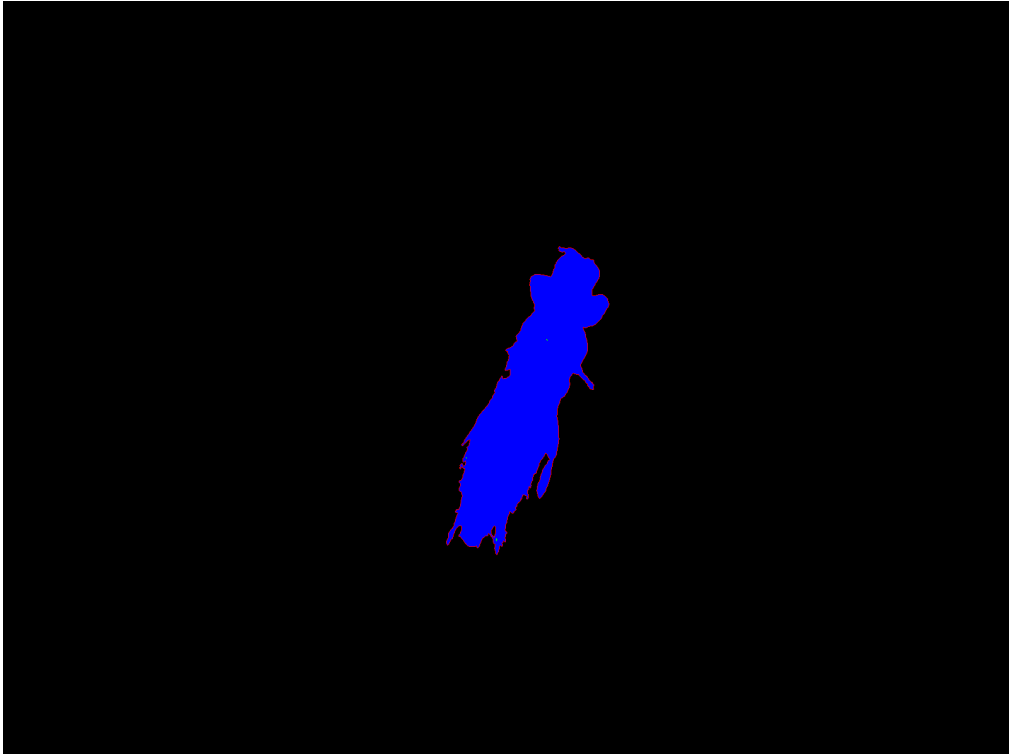


**Figura 4.5:** Delimitación inicial de la región de estudio. En azul se muestran los píxeles de la región de estudio (la zona conexas más grande de la imagen tras la segmentación), en verde se encuentran los píxeles del contorno externo y del contorno interno (algunos pequeños huecos verdes dentro del insecto)

las operaciones ejecutadas hasta ahora, el primer punto del contorno externo detectado en la imagen ha de encontrarse visualmente una fila por encima (numéricamente sería la fila  $i - 1$ ) y en la misma columna del primer elemento del vector de posiciones.

Este punto se añade a un nuevo vector que almacene las posiciones de fila y columna del contorno exterior y en un nuevo vector *queue* que sirva para extenderse por todos los puntos marcados como contorno. Al exigir como condición para extenderse que el píxel tenga la marca de *contorno* y puesto que el contorno externo y el contorno interno por definición han de estar separados por píxeles con la etiqueta de *insecto*, las iteraciones no afectarán a puntos que sean propios del contorno interno. Los píxeles afectados serán añadidos al vector de posiciones del contorno externo y etiquetados como *contorno externo*.





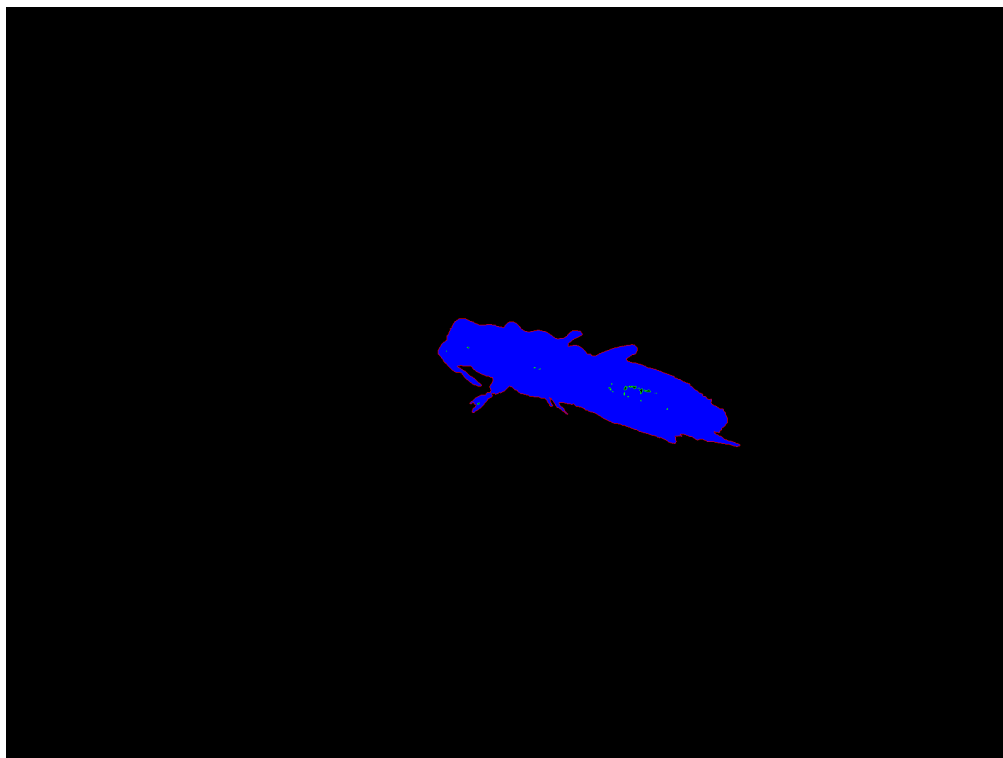
**Figura 4.6:** Distinción entre contorno externo (rojo) y contorno interno (verde).

En la figura 4.6 se muestra ya la variación resultante de esta diferenciación respecto de la figura 4.5. El contorno externo es ahora una entidad distinta y marcado en color rojo. La imagen de referencia utilizada para mostrar la evolución del proceso no exhibe una variación importante en este apartado debido a sus pocos vacíos existentes. Se expone la figura 4.7 para visibilizar esta problemática concreta.

#### 4.4.3 Cierre de huecos en la región

Los píxeles fondo dentro del insecto en esta vista ventral son, en su amplia mayoría, defectos propios de la segmentación. Producen resultados indeseados en ciertas operaciones posteriores del procedimiento (en el caso de aplicar alguna operación morfológica a la forma) y variaciones en características geométricas como: el área, el centroide, los momentos de inercia, etc.

Se plantea conveniente cerrar esos huecos en el interior de la figura a través de un nuevo barrido de la imagen con algoritmos *breadth-first*. Al encontrar un



**Figura 4.7:** Distinción entre contorno externo (rojo) y contorno interno (verde) II.

píxel marcado como *contorno* (se recuerda que el contorno exterior ya no tiene esta etiqueta), el procedimiento tratará de expandirse por puntos conectados del contorno interno y del fondo. Cada píxel detectado con estas características será marcado como *insecto*, sumará una unidad al área del objeto y será añadido al vector de posiciones de la región.

El resultado, hasta ahora, conformada como región de interés la zona conectada más grande de la imagen segmentada (figura 4.3), delimitado y etiquetado el *contorno externo*, cerrados los huecos del interior del insecto y etiquetado el objeto como *insecto* se puede ver en la figura 4.8.

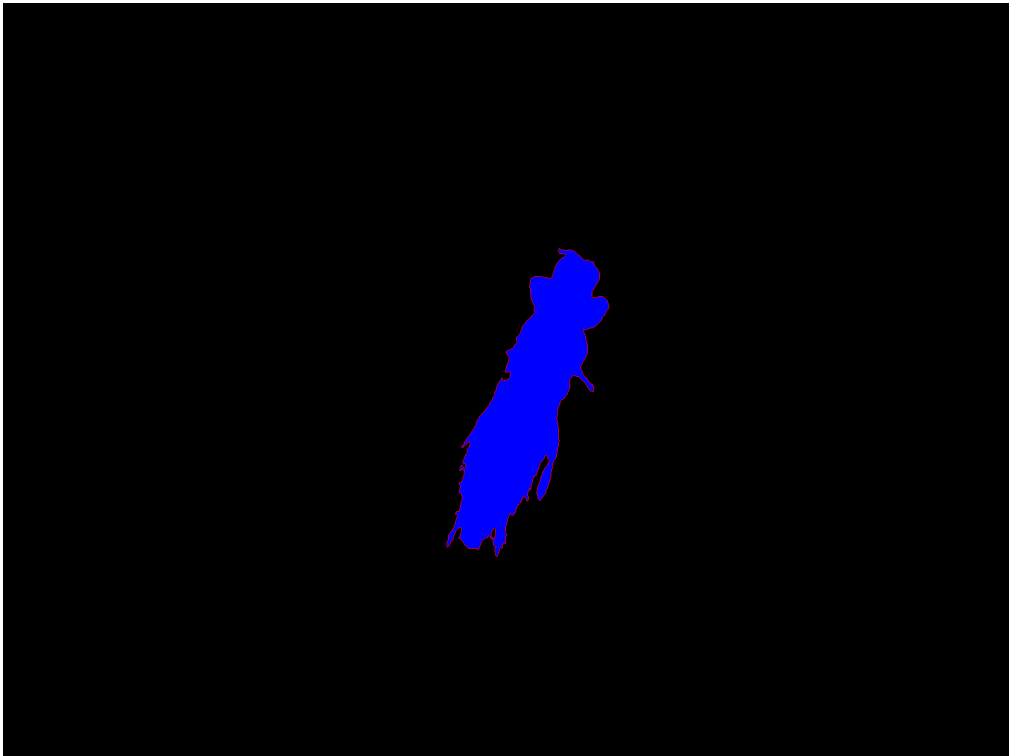


Figura 4.8: Región de estudio conformada y delimitada.

## 4.5 Cálculo de la geometría del objeto

La parte final de la caracterización de la región extraída de la imagen consiste en obtener ciertos parámetros geométricos útiles para procedimientos posteriores. Aparte del área (ya calculada en la conformación del objeto), se buscan perímetro, centroide, momentos y producto de inercia centrales y ángulo de giro para la obtención de ejes principales.

### 4.5.1 Perímetro

Como ya se indicó en el apartado 2.4.2, cada punto marcado como *contorno externo* comprueba cuántos puntos *insecto* tiene en su entorno  $\mathcal{V}_4$  y suma dicho valor a una variable de la región que almacena el perímetro.

### 4.5.2 Centroide

Considerando la formulación de la ecuación 2.20 y la figura 2.8, el centroide se obtiene a partir del vector de posiciones almacenado de la región. Mediante la suma de las coordenadas  $(x_i, y_i)$  de cada píxel del objeto y el área de éste se obtiene el centroide  $(x_c, y_c)$  del siguiente modo:

$$\begin{aligned} x_c &= \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \\ y_c &= \frac{\sum_{i=1}^n y_i}{n} \end{aligned} \quad (4.3)$$

siendo  $n$  el número de píxeles de la región  $y$ , por tanto, el área de la misma.

### 4.5.3 Momentos y producto de inercia centrales

A través de la formulación de la ecuación 2.23, el vector de posiciones del objeto y el centroide  $(x_c, y_c)$  previamente calculado, se pueden obtener el momento de inercia central respecto del eje  $X$ ,  $I_x$ ; respecto del eje  $Y$ ,  $I_y$ , y el producto de inercia  $I_{xy}$ .

### 4.5.4 Ángulo de giro

El ángulo de giro,  $\theta$ , es la rotación que deben experimentar los ejes iniciales  $(X, Y)$  de la imagen para ajustarse a la orientación de los píxeles del objeto. La ecuación 2.24 utilizaba para su cálculo  $I_x$ ,  $I_y$  e  $I_{xy}$ , todas magnitudes calculadas previamente. Se ajusta, además, la formulación para que sea el eje  $X$  el que termine alineado con la orientación de la región y con signo positivo para giros antihorarios.

## 4.6 Transformación morfológica de la imagen

En esta sección se va a justificar el razonamiento seguido para la transformación de la imagen mediante operaciones morfológicas.

Vistos los resultados provisionales (figura 4.8), se hace patente que la segmentación por el *método de Otsu*, si bien aproxima la imagen a una forma interesante para la realización de las mediciones, no es completamente satisfactoria. El cuerpo del espécimen se conserva en su totalidad, sin embargo, se siguen encontrando ciertas partes indeseadas (patas, antenas, alas y vellosidades) que dificultan la medida longitudinal y las medidas del tórax y del abdomen. Todas estas partes prescindibles, en el caso de poder ser distinguidas y eliminadas de la imagen, mejorarían notablemente los resultados esperados y evitarían el sobredimensionamiento de los insectos.

### 4.6.1 Factor de forma elíptico: adaptación de la circularidad

Según el apartado 2.4.3 del empleo de la circularidad para la caracterización de formas y el apartado 2.5.5 sobre las elipses equivalentes de las regiones a través de los momentos y del producto de inercia, se plantea una combinación y adaptación de estos conceptos para el caso de estudio.

Al analizar pormenorizadamente las formas de los especímenes (figura 4.9), una vez desechadas aquellas partes sin interés ya mencionadas y gracias a la simetría que se puede percibir en ellas, se plantea ajustar dicha forma a una elipse equivalente y estudiar un factor de forma elíptico,  $FF_{\text{elip}}$ , y la constante  $k_{\text{elip}}$  que devuelvan los momentos propios de cada región.

A partir de los ejes mayor,  $r_a$ , y menor,  $r_b$ , de una elipse cualquiera se puede definir su perímetro y área como:

$$\begin{aligned} A(\mathcal{R}_{\text{elip}}) &= \pi \cdot r_a \cdot r_b \\ P(\mathcal{R}_{\text{elip}}) &\approx \pi \cdot \left[ 3(r_a + r_b) - \sqrt{(3r_a + r_b)(r_a + 3r_b)} \right] \end{aligned} \quad (4.4)$$

Se puede proponer, a través de los parámetros de la elipse expuestos en la ecuación 4.4, un nuevo factor de forma que cumpla:

$$FF_{\text{elip}} = k_{\text{elip}} \cdot \frac{A(\mathcal{R}_{\text{elip}})}{P(\mathcal{R}_{\text{elip}})^2} \rightarrow FF_{\text{elip}} = 1 \rightarrow k_{\text{elip}} = \frac{P(\mathcal{R}_{\text{elip}})^2}{A(\mathcal{R}_{\text{elip}})} \quad (4.5)$$

Conocidos los ejes mayores y menores de una elipse, se puede obtener una constante  $k_{\text{elip}}$  que haga que la ecuación del factor de forma elíptico sea igual

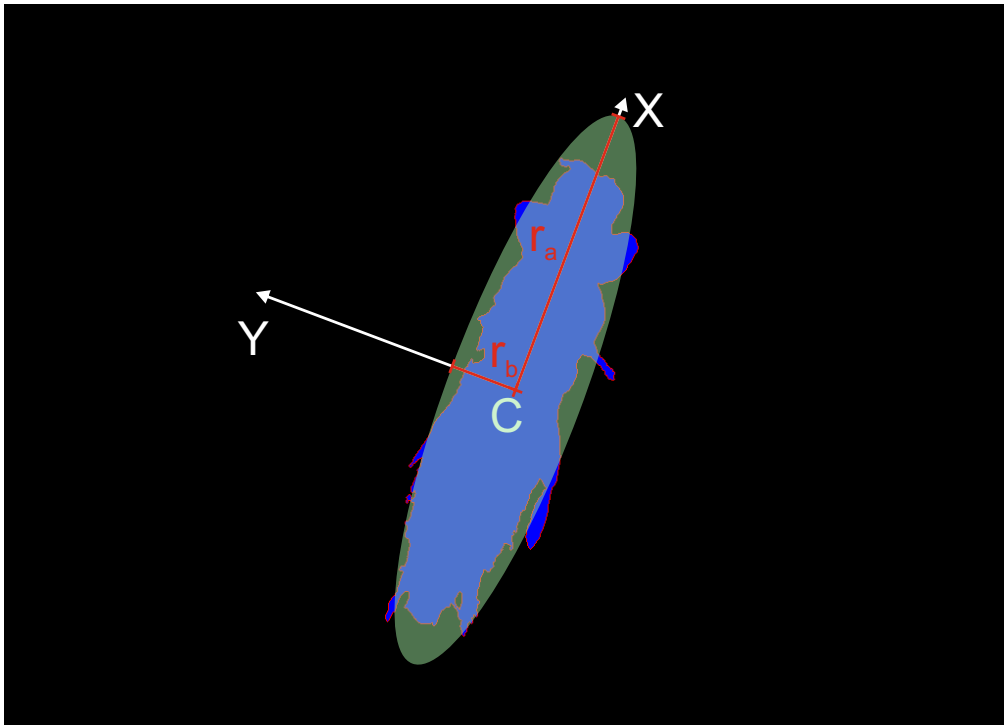


Figura 4.9: Adaptación de la elipse equivalente a la región de estudio.

a uno. Una forma que se aleje de la forma elíptica ideal definida por  $r_a$  y  $r_b$  hará que  $FF_{elip}$  tienda a cero.

La elipse equivalente a la forma del insecto en estudio, que guarda los mismos momentos y producto de inercia centrales, se utiliza como elipse de referencia con la que obtener  $k_{elip}$  y comparar la forma segmentada. Sus ejes se pueden calcular fácilmente combinando las ecuaciones 2.25 y 2.27 ya expuestas:

$$\begin{aligned}
 r_a &= \sqrt{\frac{2a_1}{A(\mathcal{R})}} = \sqrt{\frac{2 \cdot \left[ I_x + I_y + \sqrt{(I_x - I_y)^2 + 4 \cdot I_{xy}^2} \right]}{A(\mathcal{R})}} \\
 r_b &= \sqrt{\frac{2a_2}{A(\mathcal{R})}} = \sqrt{\frac{2 \cdot \left[ I_x + I_y - \sqrt{(I_x - I_y)^2 + 4 \cdot I_{xy}^2} \right]}{A(\mathcal{R})}}
 \end{aligned} \tag{4.6}$$

Al sustituir los resultados de la ecuación 4.6 en la ecuación 4.4 y, seguidamente, en la ecuación 4.5, se obtiene  $k_{elip}$  para la imagen concreta de estudio. Por último, para comprobar cómo se ajusta la forma real del insecto a esta pro-

porción ideal de la elipse equivalente, sólo restaría calcular el factor de forma elíptico con el área,  $A(\mathcal{R})$ , y el perímetro,  $P(\mathcal{R})$ , del objeto:

$$FF_{\text{elip}}(\mathcal{R}) = k_{\text{elip}} \cdot \frac{A(\mathcal{R})}{P(\mathcal{R})^2} \quad (4.7)$$

#### 4.6.2 Procedimiento morfológico iterativo para la corrección de $FF_{\text{elip}}$

Las imágenes segmentadas se desvían más de la forma elíptica ideal cuanto mayor cantidad de elementos indeseados se incluyan en la segmentación (restos de patas, antenas, alas y vellosidades). Conviene reducir dichos elementos ya que suponen un problema para la medición, en especial en el caso del tórax y del abdomen. Estos problemas de la segmentación introducen medidas desvirtuadas y localizaciones incorrectas de la zona de análisis.

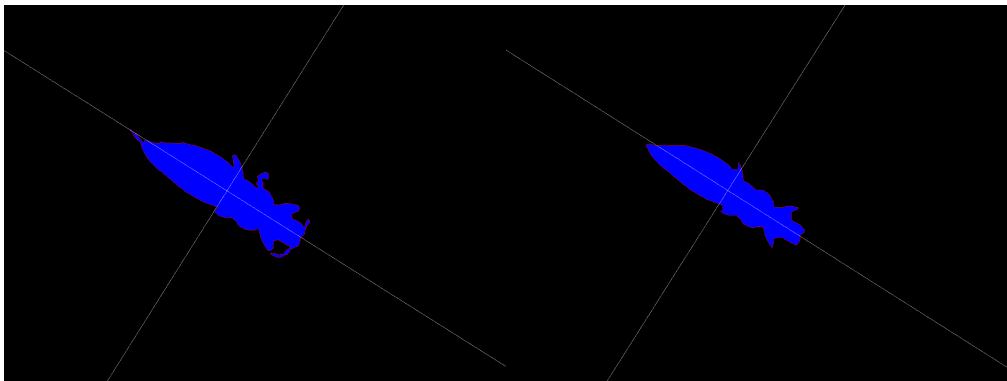
Se propone, por tanto, aplicar una operación morfológica de erosión en la imagen (apartado 2.6.3) siempre y cuando el valor de  $FF_{\text{elip}}(\mathcal{R}) < 0.4$ . La eliminación de estas entidades indeseadas se puede evaluar según su contribución a  $FF_{\text{elip}}(\mathcal{R})$  ya que añaden mayor cantidad de perímetro que de área (compruébese la figura 4.9) en comparación con la proporción de una elipse ideal. Conforme se erosione la parte más externa de la región, se recalcula y dichas partes indeseadas queden desconectadas, el valor de  $FF_{\text{elip}}(\mathcal{R})$  aumentará. Por otro lado, este valor de 0.4 es obtenido empíricamente a través del comportamiento de las formas en la erosión. Aumentar este valor supone terminar con regiones demasiado reducidas y que no responden fielmente a la forma original del insecto. Por el contrario, disminuir este límite produce que las regiones segmentadas no eliminen suficientes elementos problemáticos para las medidas según los ejes transversales.

Este proceso iterativo se descompone en las siguientes fases:

1. Se delimita la región segmentada y se comprueba si  $FF_{\text{elip}}(\mathcal{R}) < 0.4$ . En el caso de que  $FF_{\text{elip}}(\mathcal{R})$  sea mayor o igual, se considera que el objeto tiene la forma adecuada para ser medido y no se modifica. Si el factor de forma elíptico de la región queda por debajo de este umbral, se aplica una erosión a la imagen segmentada que elimina la línea de píxeles más externa de la región. La erosión se efectúa con un *kernel* o **SE** de matriz cuadrada 3x3 y con el su punto de origen o *anchor point* en el centro del mismo.

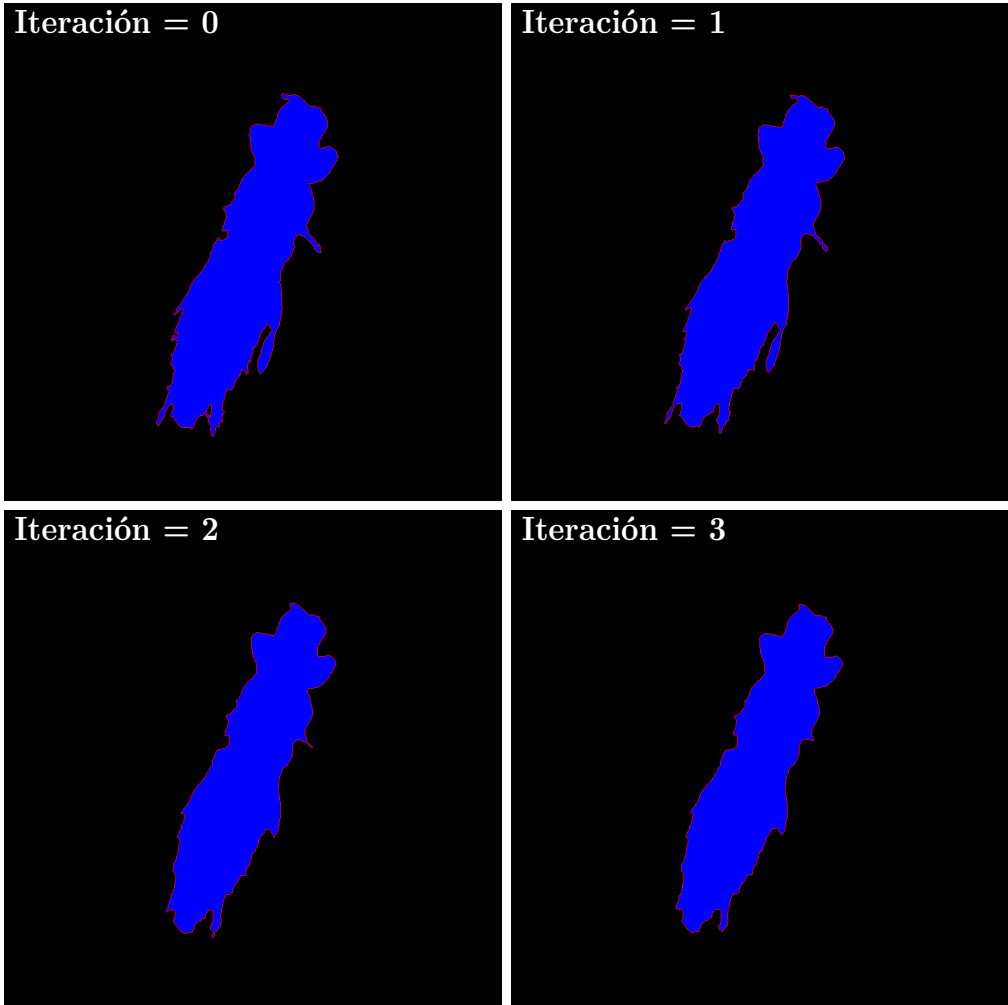
2. Sobre la imagen erosionada se vuelve a seleccionar la región más grande (pueden aparecer subregiones tras la erosión ya que estos elementos indeseados pueden quedar desconectados del cuerpo del insecto) y a obtener los vectores de posición de la región y del contorno externo.
3. Nuevamente se calculan todos los parámetros geométricos de esta nueva región, incluidos la nueva elipse equivalente y el  $FF_{elip}(\mathcal{R})$  con el que se caracteriza el nuevo objeto formado.
4. Se vuelve a comprobar si  $FF_{elip}(\mathcal{R}) < 0.4$  y se continua o se termina el procedimiento en función del resultado.

Los imágenes que se muestran en la figura 4.11 reflejan el proceso de erosión para la imagen de muestra hasta alcanzar el umbral considerado. Otro ejemplo que se ha querido destacar se encuentra en la figura 4.10.



**Figura 4.10:** Región antes y después de la erosión con ejes principales de inercia. El eje longitudinal, tras el procedimiento, pierde intersecciones con el contorno en las vellosidades terminales del insecto. Según las intersecciones transversales, se puede ver la reducción drástica de restos de extremidades no segmentadas.





**Figura 4.11:** Proceso morfológico de erosión iterativo aplicado a la forma. La región sufre un proceso erosivo que contribuye a un desgaste y estrangulamiento de elementos indeseados. Cuando éstos quedan aislados del resto del cuerpo y se conforma nuevamente el objeto más grande, son eliminados de la imagen procesada.

## 4.7 Intersección de ejes con el contorno

Se plantea la obtención de medidas a través de la intersección de los ejes principales de inercia con el contorno externo que delimita la región final.

Los ejes son definidos como rectas con la ecuación punto-pendiente mediante el centroide de la forma final,  $(x_c, y_c)$ , y del ángulo de giro para la obtención de ejes principales,  $\theta$ . Al igual que con el contorno y el objeto, se almacenan en un vector todas sus posiciones en la imagen y, dentro de una clase específica para ejes, se definen funciones para dibujarlos. Los ejes calculados y dibujados sobre la forma final analizada se pueden ver en la figura 4.12.

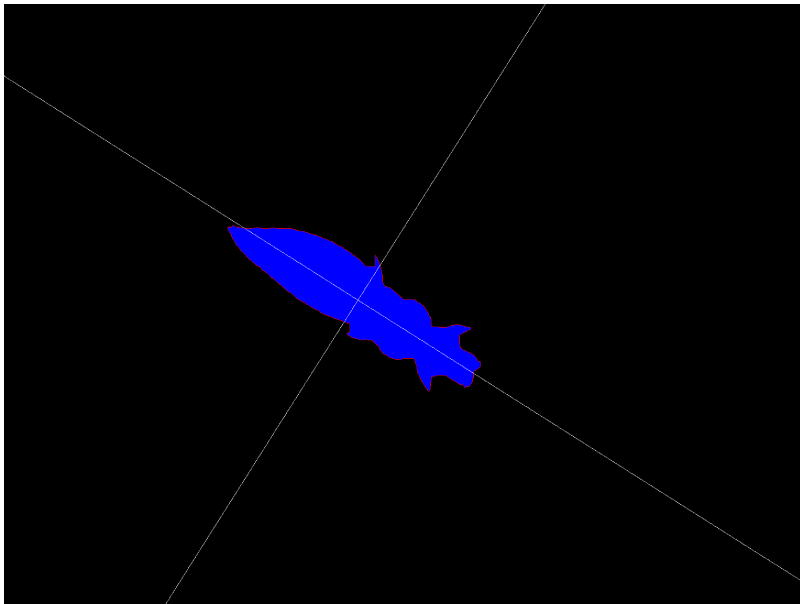


Figura 4.12: Ejes principales de inercia sobre la región de estudio.

### 4.7.1 Medida longitudinal

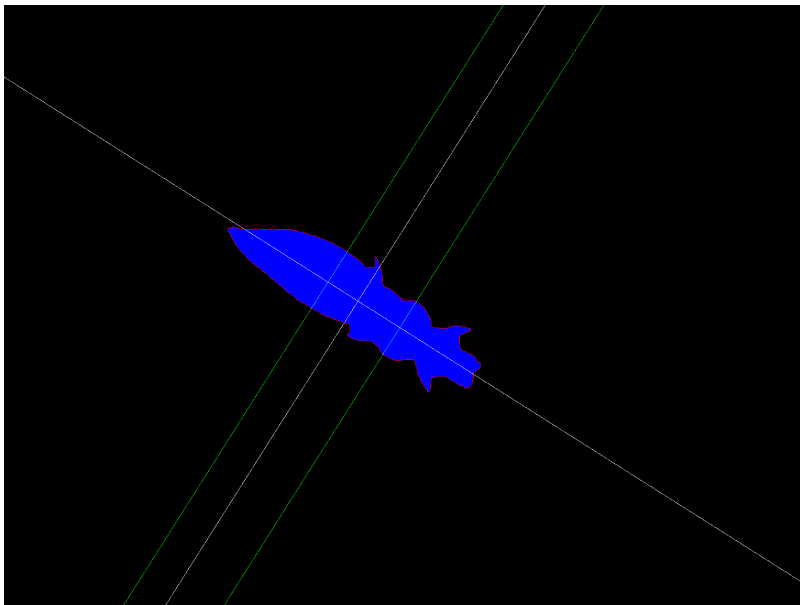
La medida de la longitud del insecto se estima con una intersección de los puntos del eje principal de inercia mínima (siempre el eje  $X'$  ya que así se programó el giro de los ejes iniciales) con el borde de la región. Localizando igualdades entre las coordenadas del contorno externo en su vector de posiciones y las coordenadas del eje, se encuentran los puntos de intersección. En el caso de hallarse más de dos puntos de intersección, la longitud se interpreta

como la distancia más grande entre intersecciones consecutivas.

Además, se pueden dar casos en los que las rectas se crucen sin intersectarse por la naturaleza discreta de los píxeles. Como solución se tuvo en cuenta, no sólo la posición columna del píxel evaluado, sino también sus posiciones anterior y posterior.

#### 4.7.2 Medidas transversales

Las medidas transversales (el ancho del tórax y del abdomen) requieren el uso de otros ejes distintos al eje principal de inercia máxima. Se plantea, con la misma orientación que éste, el dibujo de rectas secundarias de apoyo por encima y por debajo del centroide de la región. Realizando desplazamientos sobre el eje principal de inercia mínima y seleccionando puntos de este eje, se van trazando dichas rectas secundarias e intersectando con el contorno externo en un rango de posiciones aceptable para encontrar el tórax y el abdomen. Las mayores medidas obtenidas en las intersecciones son, finalmente, devueltas por la función (véase la figura 4.13).



**Figura 4.13:** Rectas secundarias obtenidas para la medición de tórax y abdomen. En verde se reflejan las rectas auxiliares obtenidas para la medición de tórax y abdomen del insecto.



Parte III

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**



# 5

## ENCAPSULAMIENTO DEL CÓDIGO

Este primer capítulo de la parte [iii](#) del proyecto enfoca el programa final como un resultado en sí mismo. Se desgranarán las distintas clases, estructuras, funciones, archivos fuente utilizados y relaciones entre todos ellos para el desarrollo del software en C++ y con la librería externa *OpenCV*.

Una vista global del código se puede ver en la figura [5.1](#). Además, se explicará en las siguientes secciones.

### 5.1 Archivo principal

El archivo fuente del código principal se compone de un bucle que analiza, por orden alfabético, todas las imágenes de *Frankliniella occidentalis* a estudiar con las siguientes operaciones:

- Lectura de la imagen. Se abre la imagen *bmp* y se guarda en una variable de tipo *Img* para imágenes, propia de *OpenCV*.
- Extracción del canal azul. De los tres canales de color de la imagen, se almacena el azul como variable *Img*.
- Segmentación por el *método de Otsu*. A esta matriz del color se le busca un umbral óptimo que divida el histograma de la imagen en dos segmentos con variabilidad mínima entre sí y máxima entre ellos (sección [4.2](#)).
- Creación del objeto datos de la clase *imgDatos*. Detección, delimitación y selección del objeto más grande y cálculo de los parámetros geométricos (secciones [4.3](#), [4.4](#) y [4.5](#)).
- Bucle de corrección de la forma de la región más grande. Se ejecuta la erosión, conformación y caracterización del nuevo objeto resultante hasta que la iteración alcance un valor mínimo de 0.4 para el factor de forma elíptico (sección [4.6](#)).

- Creación de la variable *ejePrin* de la clase *eje*. El eje principal de inercia mínima es creado e intersectado con la región (sección 4.7).
- Creación de la variable *ejeSec* de la clase *eje*. El eje principal de inercia máxima es creado e intersectado con la región (sección 4.7).

## 5.2 Clase *imgDatos*

Esta clase es elaborada expresamente para que el programa almacene y elabore los datos y características propias de la imagen de estudio y su región principal. Cada objeto albergará las siguientes variables de clase:

- **int tamObj**: una variable de valores enteros que almacena el número de píxeles (área) de la región más grande de la imagen segmentada.
- **int perObj**: una variable de valores enteros que almacena el perímetro de la región más grande de la imagen segmentada.
- **vector<Veczi>posPix**: se trata de un vector de dos números enteros por elemento que almacena las coordenadas matriciales de los píxeles de la región principal.
- **vector<Veczi>posPix**: se trata de un vector de dos números enteros por elemento que almacena las coordenadas matriciales de los píxeles del contorno externo de la región principal.
- **Img región**: esta variable permite el dibujo de la región y la distinción por canales del insecto (canal azul) y del contorno externo (canal rojo).
- **GeometríaObj geometría**: la variable geometría utiliza la estructura de datos *GeometríaObj* y en ella se almacenan las características de la región en relación al centroide, los momentos de inercia y el factor de forma elíptico.

Al definirse un objeto propio de ella, el constructor de la clase toma las dimensiones y otras características propias de la imagen de entrada (la imagen segmentada) y realiza las operaciones de: delimitación de la región principal, formación del contorno, diferenciación de contorno externo e interno, relleno de los huecos internos de la forma y cálculo de la propiedades geométricas del objeto.



Por último, la función de la clase de *NuevaRegión* abarca la operación morfológica de erosión sobre la forma y una redefinición de la región estudiada con los procedimientos propios del constructor de la clase.

### 5.3 Clase eje

Esta clase está encargada de la definición de los ejes, de su dibujo, de las operaciones de intersección con la región y de almacenar las variables más importantes de dicha intersección. Los miembros de la clase son los siguientes:

- **Img matriz:** se trata de una variable de imagen utilizada para dibujar el eje.
- **vector<Veczi>posEje:** este vector de elementos con dos valores enteros se encarga de almacenar las posiciones del eje por la imagen.
- **CorteEjeInfo intEje:** esta variable, propia de la estructura *CorteEjeInfo*, alberga los datos de interés de la intersección entre el eje y la región.

Cuando se define una variable de esta clase, el constructor toma información del objeto de la clase *imgDatos* en referencia a la dirección de los ejes principales de inercia y del centroide, así como las dimensiones de la propia imagen. De este modo se puede proceder al trazado del eje y al almacenamiento de sus posiciones.

Finalmente, el miembro de la clase *intEje* se define una vez se llama a la función de intersección conveniente con la región según el eje considerado (*Intersc* o *InterscSec*).

### 5.4 Estructura GeometríaObj

Esta estructura es definida con el objetivo de facilitar la labor de la clase *imgDatos* en su manipulación y almacenamiento de ciertas características geométricas de la región. Las variables definidas con este tipo de estructura constan de la siguiente información:

- **Veczd centroide:** el centroide se recoge como dos valores decimales *double* (decimal con quince dígitos de precisión) que describen su posición (fila, columna). Evidentemente en el caso de tener que plasmar este

centroide en una imagen y sus píxeles discretos, se hace una conversión del tipo de variable a entera. La tipología de este centroide tiene su utilidad especialmente para las operaciones matemáticas de cálculo de momentos centrales.

- **double InerciaX, InerciaY, InerciaXY:** se trata de tres variables que guardan los momentos de inercia respecto de los ejes (X,Y) de la imagen establecidos por defecto por *OpenCV* (sección 4.1).
- **double AngGiro:** esta variable decimal guarda el ángulo girado para obtener el eje X con la orientación de la región.
- **double fforma:** en el análisis de la imagen se guarda el factor de forma elíptico propio de la región de estudio.
- **double kelip:** la constante  $k_{elip}$  para la elipse equivalente a la región.

## 5.5 Estructura CorteEjeInfo

Esta estructura nace de la necesidad de recoger los valores obtenidos tras la intersección de un eje con la forma estudiada. Las variables que utiliza son:

- **vector<Veczi>puntosInt:** cuando se ejecuta la intersección de un eje con el contorno se almacenan todos los puntos de intersección en este vector de coordenadas enteras.
- **Vec2d medida:** esta variable doble de números decimales utiliza su primer valor para almacenar la distancia entre puntos de intersección del eje longitudinal y el segundo, lo deja vacío. Sin embargo, en el caso de tratarse de un eje transversal, almacena valor del ancho medido de tórax y de abdomen en dichas posiciones, respectivamente.
- **Img recta1, recta2:** bajo la necesidad de dibujar un eje de intersección, se guardan las matrices en estas variables. En el caso de un eje longitudinal, la recta2 se queda sin inicializar. En la intersección de tórax y abdomen, ambas rectas son requeridas.

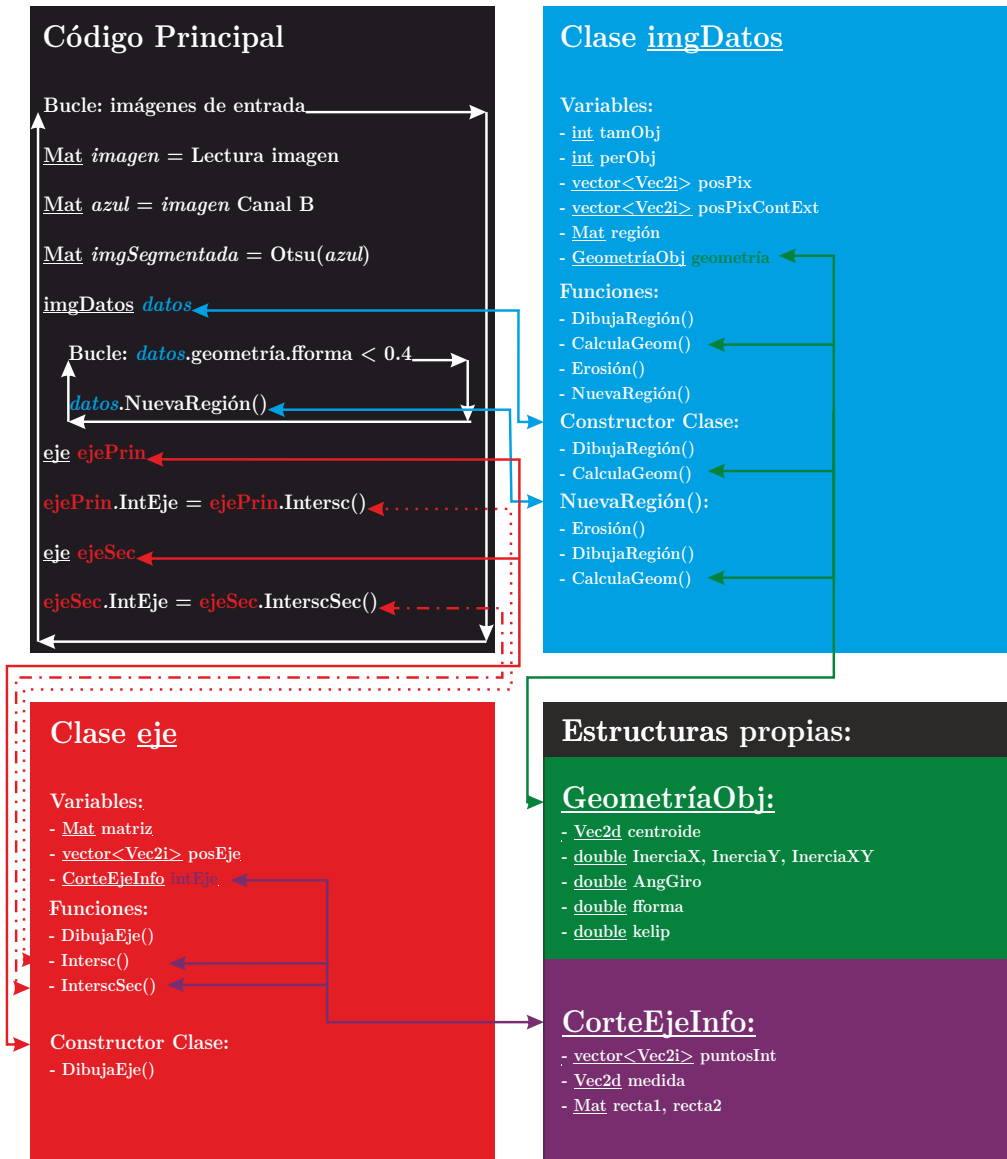


Figura 5.1: Diagrama de las partes y relaciones principales del software de medida.



# 6

## RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA

Este segundo capítulo de la parte [iii](#) expondrá los datos obtenidos por el programa para una muestra de 35 imágenes de vista ventral de *Frankliniella occidentalis*. Se mostrarán las medidas reales extraídas de forma manual, la medición automatizada del software, algunos ejemplos de las imágenes orinales y procesadas, un análisis estadístico de los resultados y una reflexión sobre éstos.

### 6.1 Medición manual

La aproximación a una medida *real* (o *ground truth*) en este experimento se consiguió a través de la medición manual de la muestra de imágenes de microscopio. Mediante un software de dibujo se pueden trazar con precisión las tres medidas principales buscadas para el espécimen de cada imagen obteniendo un total de 105 valores que caracterizan la morfología de los insectos.

Los resultados de esta obtención de medidas se muestran en la figura [6.1](#) y en la tabla [6.1](#).

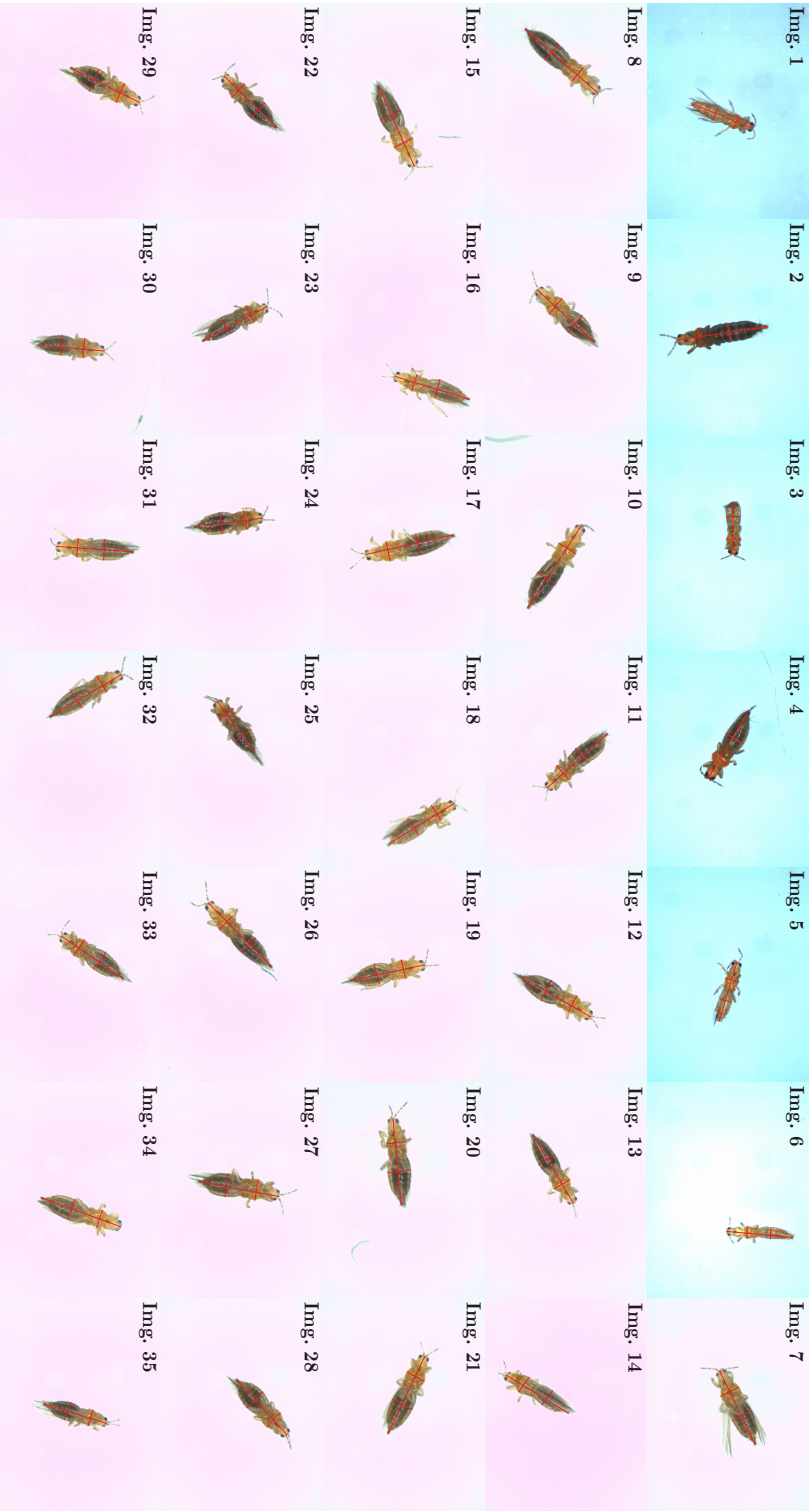


Figura 6.1: Longitudes principales de medición manual para la muestra de 35 imágenes de *Frankliniella occidentalis*.

N° imagen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Longitud (píx.)	487.573	683.451	386.057	583.400	462.121	498.441	613.392	717.590	580.371	727.389
Tórax (píx.)	110.649	147.690	113.302	143.389	102.161	92.089	152.114	133.758	153.257	150.129
Abdomen (píx.)	103.009	146.117	107.158	152.145	88.424	86.488	161.827	154.916	165.996	161.313
N° imagen	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Longitud (píx.)	602.975	596.492	590.567	542.261	658.018	580.075	670.977	566.813	563.398	645.250
Tórax (píx.)	141.027	138.736	139.171	137.731	156.079	128.780	147.910	130.974	145.797	146.629
Abdomen (píx.)	143.754	171.118	145.053	134.092	171.608	143.131	162.379	146.911	161.742	173.151
N° imagen	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Longitud (píx.)	636.825	551.764	548.964	503.369	476.550	673.146	606.279	556.858	579.085	489.865
Tórax (píx.)	147.948	140.740	137.786	140.241	135.575	137.328	159.325	146.442	157.909	148.327
Abdomen (píx.)	163.765	157.907	139.123	160.526	157.377	149.872	175.052	167.658	181.013	150.734
N° imagen	31	32	33	34	35					
Longitud (píx.)	572.725	618.971	557.526	630.645	489.895					
Tórax (píx.)	141.645	141.618	144.990	139.895	125.372					
Abdomen (píx.)	158.046	152.635	157.809	161.500	141.085					

**Tabla 6.1:** Resultados de la medición manual de las longitudes principales.

## 6.2 Medición automatizada

Se exponen ahora los resultados de la medición automatizada para la muestra junto con el número de iteraciones del procedimiento de transformación morfológica aplicado sobre la imagen (figuras 6.2 y 6.3 y tabla 6.2).

<b>N° imagen</b>	1	2	3	4	5	6
<b>Longitud (píx.)</b>	484.665	671.101	388.000	538.488	456.064	468.615
<b>Tórax (píx.)</b>	109.932	157.334	110.005	124.020	97.719	86.1452
<b>Abdomen (píx.)</b>	130.545	137.117	107.005	133.989	94.255	82.1523
<b>N° iteraciones</b>	3	4	1	7	3	3
<b>N° imagen</b>	7	8	9	10	11	12
<b>Longitud (píx.)</b>	571.106	716.304	572.469	691.783	567.070	614.244
<b>Tórax (píx.)</b>	159.211	202.830	142.215	158.114	131.894	164.730
<b>Abdomen (píx.)</b>	147.139	155.322	152.161	145.908	126.905	159.389
<b>N° iteraciones</b>	8	2	4	7	7	4
<b>N° imagen</b>	13	14	15	16	17	18
<b>Longitud (píx.)</b>	581.421	525.411	659.188	541.081	671.609	516.614
<b>Tórax (píx.)</b>	130.698	124.531	151.700	158.433	155.232	152.315
<b>Abdomen (píx.)</b>	130.698	120.934	166.018	133.135	162.505	130.863
<b>N° iteraciones</b>	5	5	2	6	1	11
<b>N° imagen</b>	19	20	21	22	23	24
<b>Longitud (píx.)</b>	555.781	631.957	630.201	542.373	500.49	531.32
<b>Tórax (píx.)</b>	141.439	186.55	164.149	129.402	137.321	148.354
<b>Abdomen (píx.)</b>	155.756	155.168	161.012	137.186	131.947	151.463
<b>N° iteraciones</b>	8	9	4	7	5	5
<b>N° imagen</b>	25	26	27	28	29	30
<b>Longitud (píx.)</b>	476.203	627.925	568.821	549.754	539.340	480.394
<b>Tórax (píx.)</b>	110.000	173.954	162.099	139.388	136.850	138.051
<b>Abdomen (píx.)</b>	135.602	126.574	198.759	157.762	157.867	141.028
<b>N° iteraciones</b>	9	9	5	4	9	5
<b>N° imagen</b>	31	32	33	34	35	
<b>Longitud (píx.)</b>	566.961	579.677	573.010	601.851	483.373	
<b>Tórax (píx.)</b>	153.264	147.492	132.019	147.384	114.285	
<b>Abdomen (píx.)</b>	147.275	147.492	145.055	165.412	127.883	
<b>N° iteraciones</b>	5	6	5	5	5	

Tabla 6.2: Resultados de la medición automatizada de las longitudes principales.



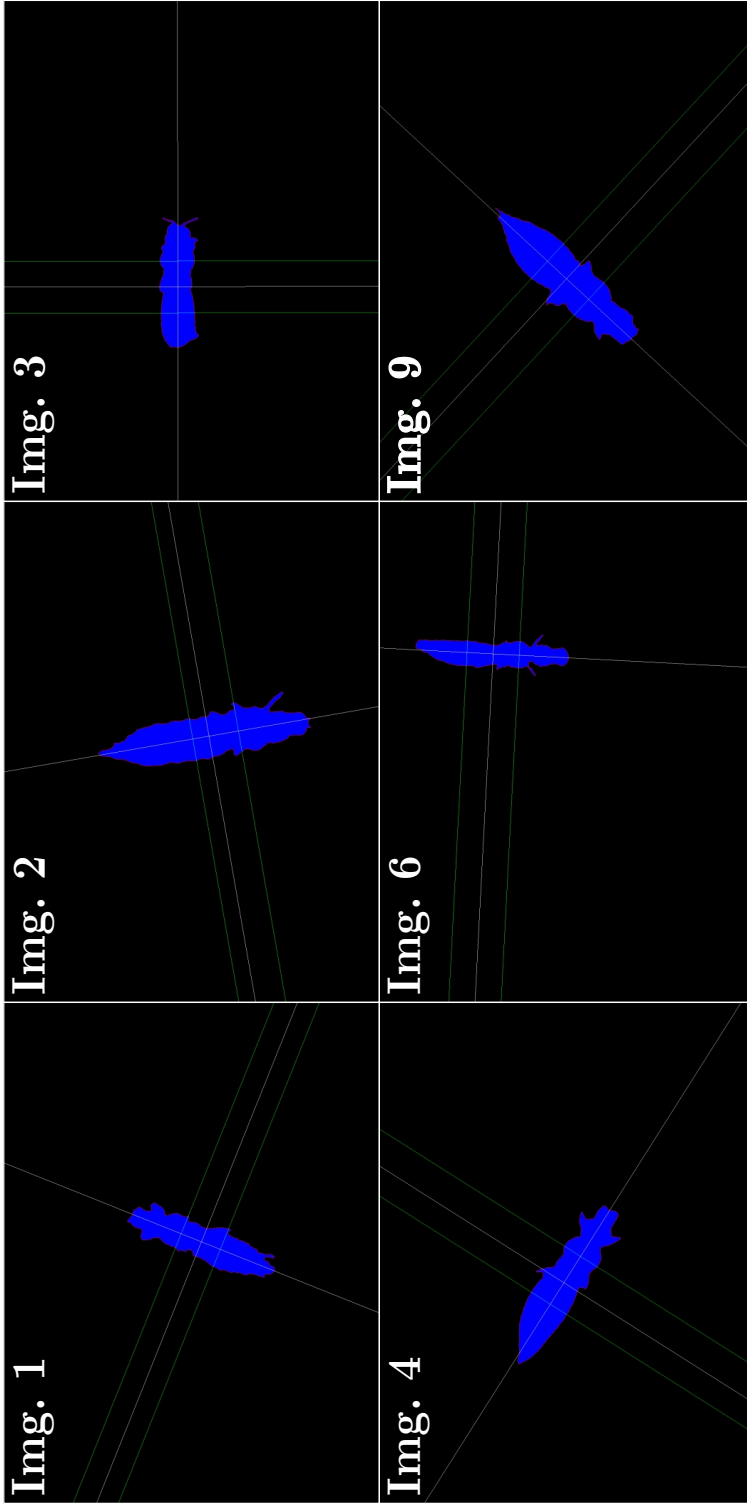


Figura 6.2: Longitudes principales de medición automatizada para imágenes de *Frankliniella occidentalis* I.

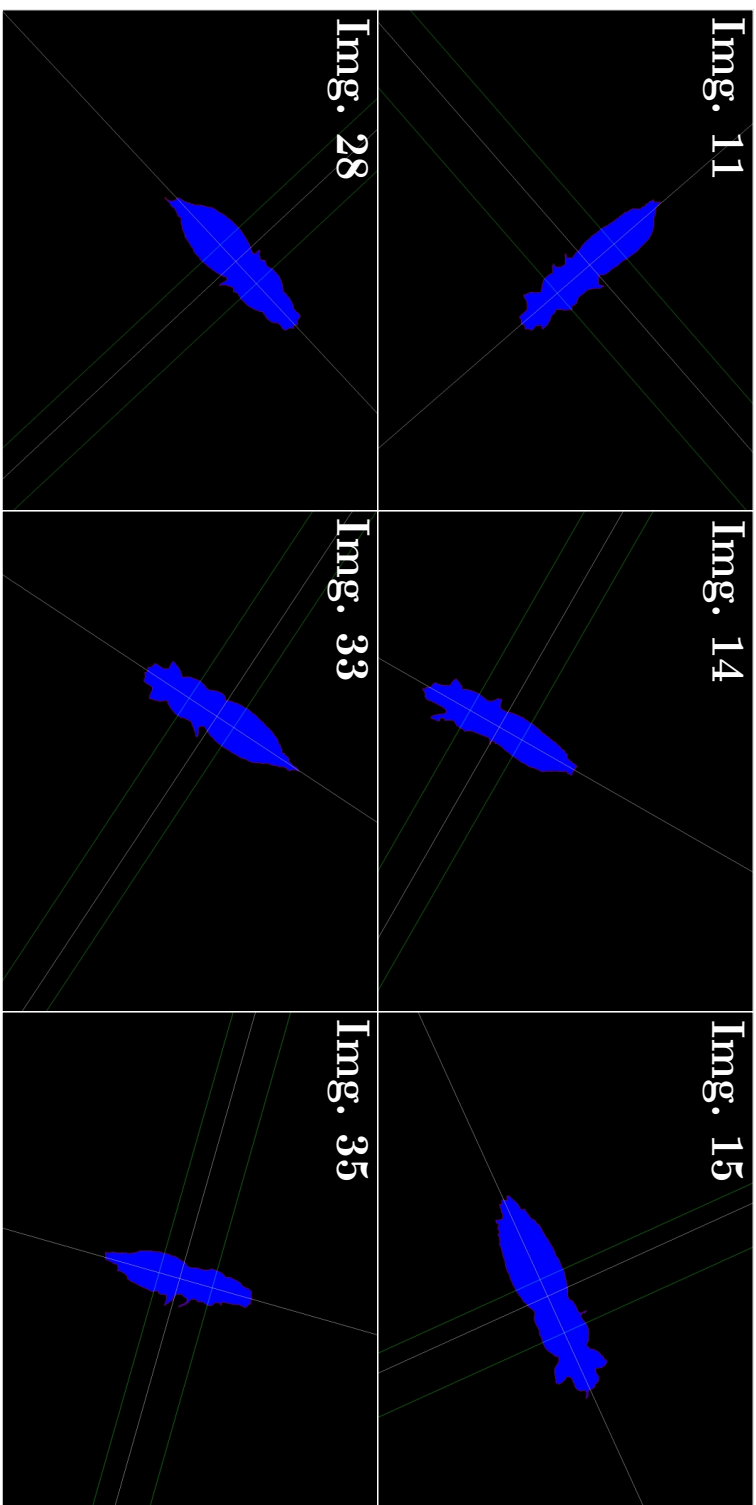


Figura 6.3: Longitudes principales de medición automática para imágenes de *Frankliniella occidentalis* II.

Si bien la erosión se idea y se aplica fundamentalmente para la corrección de la medición transversal ante elementos indeseados remanentes tras la segmentación, operaciones erosivas con un número alto de iteraciones terminan produciendo una reducción drástica de las dimensiones del insecto. La longitud y el ancho del abdomen terminan encontrando la pérdida de píxeles por erosión como la mayor fuente de error de la medición respecto de la medida real. Aplicando el concepto de dilatación (apartado 2.6.2), se decide recuperar los píxeles perdidos para ambas medidas mediante una estimación con el número de iteraciones realizadas en la imagen. La longitud corregida,  $L_{\text{corr}}$ , y el ancho del abdomen corregido,  $\text{Abd}_{\text{corr}}$ , se muestran en la tabla 6.3.

<b>Nº imagen</b>	1	2	3	4	5	6
<b><math>L_{\text{corr}}</math> (píx.)</b>	490.665	679.101	390.000	552.488	462.064	474.615
<b><math>\text{Abd}_{\text{corr}}</math> (píx.)</b>	136.545	145.117	109.005	147.989	100.255	88.152
<b>Nº imagen</b>	7	8	9	10	11	12
<b><math>L_{\text{corr}}</math> (píx.)</b>	587.106	720.304	580.469	705.783	581.070	622.244
<b><math>\text{Abd}_{\text{corr}}</math> (píx.)</b>	163.139	159.322	160.161	159.908	140.905	167.389
<b>Nº imagen</b>	13	14	15	16	17	18
<b><math>L_{\text{corr}}</math> (píx.)</b>	591.421	535.411	663.188	553.081	673.609	538.614
<b><math>\text{Abd}_{\text{corr}}</math> (píx.)</b>	140.698	130.934	170.018	145.135	164.505	152.863
<b>Nº imagen</b>	19	20	21	22	23	24
<b><math>L_{\text{corr}}</math> (píx.)</b>	571.781	649.957	638.201	556.373	510.490	541.320
<b><math>\text{Abd}_{\text{corr}}</math> (píx.)</b>	171.756	173.168	169.012	151.186	141.947	161.463
<b>Nº imagen</b>	25	26	27	28	29	30
<b><math>L_{\text{corr}}</math> (píx.)</b>	494.203	645.925	578.821	557.754	557.340	490.394
<b><math>\text{Abd}_{\text{corr}}</math> (píx.)</b>	153.602	144.574	208.759	165.762	175.867	151.028
<b>Nº imagen</b>	31	32	33	34	35	
<b><math>L_{\text{corr}}</math> (píx.)</b>	576.961	591.677	583.010	611.851	493.373	
<b><math>\text{Abd}_{\text{corr}}</math> (píx.)</b>	157.275	159.492	155.055	175.412	137.883	

**Tabla 6.3:** Resultados de la longitud corregida,  $L_{\text{corr}}$ , y del ancho del abdomen corregido,  $\text{Abd}_{\text{corr}}$ , mediante las iteraciones del proceso erosivo.

## 6.3 Análisis estadístico de las muestras

Expuestos los datos, se busca ahora un análisis y comparación entre las muestras que evidencie bondades y problemas en los resultados obtenidos y en el método empleado.

### 6.3.1 Gráficos de caja y bigotes

El primer camino empleado para el tratamiento de resultados son tres diagramas de caja y bigotes (figuras 6.4, 6.5 y 6.6). Éstos pueden reflejar adecuadamente las diferencias más importantes y extraer información de todas estas variables:

- **Figura 6.4.** Los resultados de la longitud del insecto reflejan, en apariencia, una fuerte semejanza por ambos procedimientos. Se pueden estimar una media muestral (cruz roja dentro de la caja), una mediana (línea azul que divide verticalmente la caja) y un rango intercuartílico (anchura de la caja que representa al 50% central de la muestra). Incluso, se encuentra un valor atípico (cuadrado azul) localizado en ambos diagramas en una posición similar. Como detalle, este punto fuera del diagrama se corresponde con la imagen 3 (representada, por ejemplo, en la figura 6.2) que se trata de la longitud de un espécimen en fase temprana de desarrollo que, evidentemente, tiene un tamaño menor que el resto de individuos fotografiados. Viendo una dispersión tan similar de los valores medidos en ambos casos, se puede prever una buena caracterización de la longitud de los insectos a través del procedimiento desarrollado.
- **Figura 6.5.** La semejanza entre los diagramas de esta figura es, en este caso, bastante más remota. La medición real parece concentrar la muestra de manera importante en vista del ancho de la caja y, sin embargo, el software dispersa los valores. La medición real produce tres valores atípicos y un valor extremo (cuadrado azul con una cruz interior verde) en el rango inferior de la muestra. Trasladados estos puntos a la medición automática y debido a la mayor dispersión de la variable, el valor extremo termina como valor atípico y los tres restantes son recogidos dentro del bigote izquierda de la caja. Además, aparece un valor atípico superior en la medición automática sin correspondencia en la medición real. Este valor aparece con la medida realizada para la imagen 8 y es fiel reflejo de uno de los problemas de medición más importantes del software (véase la figura 6.7).

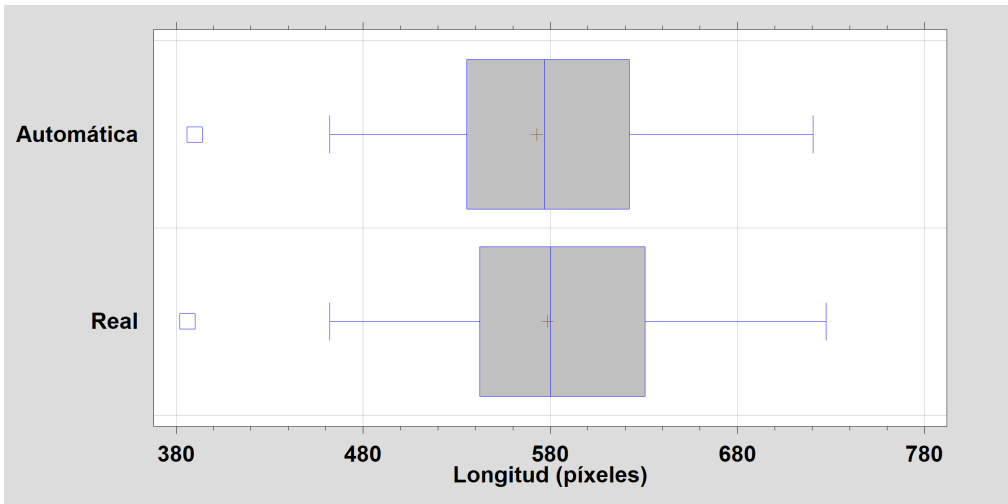


Figura 6.4: Diagrama de caja y bigotes de la longitud mediante medición manual (real) y medición automática.

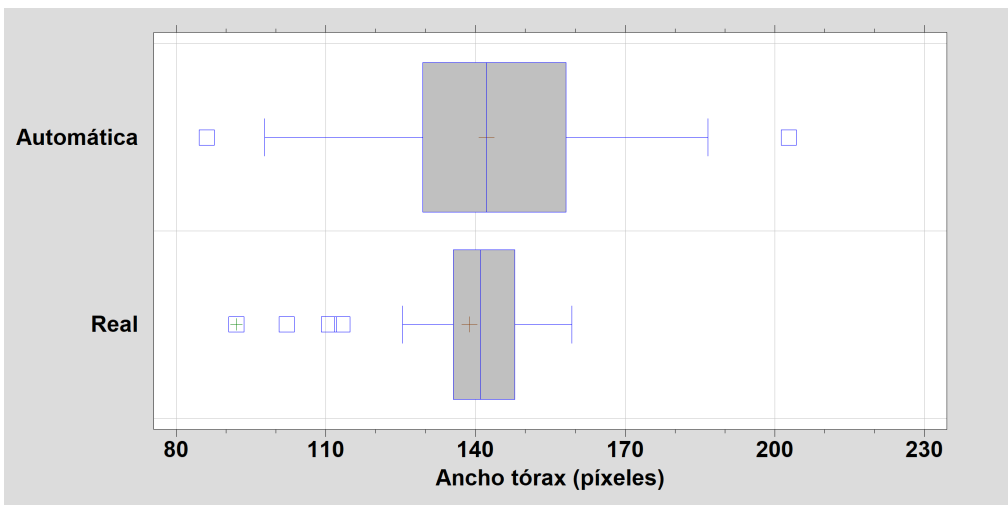


Figura 6.5: Diagrama de caja y bigotes del ancho del tórax mediante medición manual (real) y medición automática.

- **Figura 6.6.** Este diagrama responde con un comportamiento similar al anterior. En el caso de la medida real, los valores atípicos y el valor extremo corresponden a los mismos puntos ya encontrados en la figura 6.5 (imágenes 1, 3, 5 y 6 de la muestra). Como ya se dijo anteriormente, estos puntos distanciados del resto de la muestra se deben a especímenes más jóvenes y de menor tamaño. Nuevamente el ancho del abdomen parece

concentrarse en un rango limitado mientras que la medición automática tiende a aumentar la dispersión de los valores. Por otro lado, el valor atípico que sobresale por encima del rango superior en la medición automática refleja la medida realizada a la imagen 27 de la muestra. Esto supone otro de los fallos destacables en la cuantificación automática del software en el abdomen y de condición similar a la medición de restos de elementos indeseados en el tórax (véase la figura 6.8).

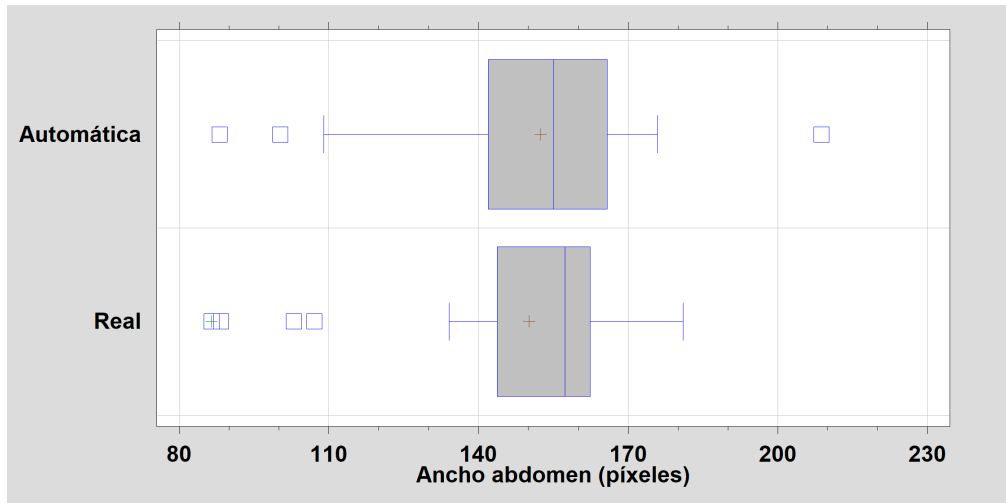
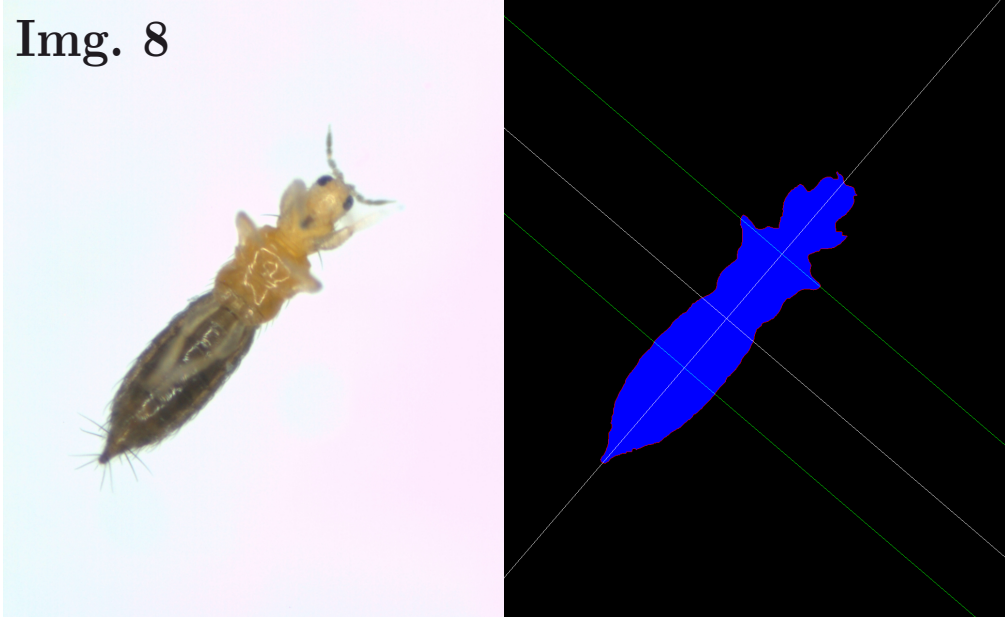


Figura 6.6: Diagrama de caja y bigotes del ancho del abdomen mediante medición manual (real) y medición automática.

### 6.3.2 Parámetros estadísticos

Otra forma de comparar las muestras es a través de parámetros estadísticos representativos de las mismas. Se utilizarán los siguientes en el análisis:

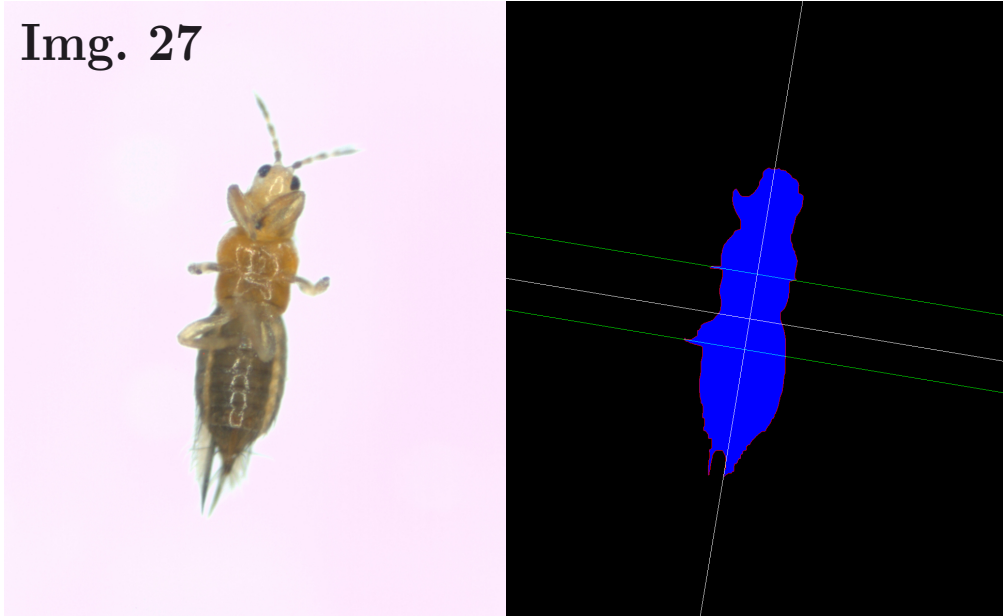
- **Media muestral:**  $\bar{x} = \sum_{i=1}^n x_i$ , con  $x_i$  la variable de estudio y  $n = 35$  el número de medidas de cada variable independiente. Medida global de las muestras que representa el valor promedio de los datos o punto de equilibrio de la variable.
- **Desviación estándar de la muestra:**  $s_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$ . Cuantifica la dispersión de los datos respecto de la media muestral.
- **Coefficiente de variación:**  $C_v = \frac{s_x}{|\bar{x}|} \cdot 100$ . Sirve para comparar la dispersión de distintas muestras al ser éste un coeficiente adimensional.



**Figura 6.7:** Errores de sobreestimación del ancho del tórax por extremidades remanentes. **Izquierda:** imagen original. **Derecha:** imagen procesada. El software identifica correctamente la posición del tórax, pero los restos de las extremidades del insecto desvirtúan la medida a pesar de las operaciones de erosión aplicadas. La imagen 8 realiza sólo 2 iteraciones (tabla 6.2) ya que cuenta con un  $F_{\text{elip}}(\mathcal{R}) \approx 0.4$  en el inicio de la transformación.

- **Esperanza del error absoluto:**  $\mathbb{E}(e_{\text{abs}}) = \frac{\sum_{i=1}^n (x_{\text{real}-i} - x_{\text{auto}-i})}{n}$ , siendo  $x_{\text{real}-i}$ , una variable de medición real, y  $x_{\text{auto}-i}$ , una variable de medición automática. Se utilizará este parámetro para evaluar el promedio de las desviaciones producidas por el software en cada tipo de medida.
- **Esperanza del error absoluto normalizado:**  $\mathbb{E}(e_{\text{abs}-n}) = \frac{\mathbb{E}(e_{\text{abs}})}{\bar{x}_{\text{real}}}$ . Permite comparar las desviaciones esperadas entre medidas distintas.
- **Root-Mean-Square Error (RMSE):**  $\text{RMSE} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_{\text{real}-i} - x_{\text{auto}-i})^2}{n}}$ . También conocida como la raíz del error cuadrático medio, funciona como un identificador del error promedio de la estimación.
- **Normalized Root-Mean-Square Error (NRMSE):**  $\text{NRMSE} = \frac{\text{RMSE}}{\bar{x}_{\text{real}}}$ . Obtenido a partir del **RMSE**, permite realizar comparaciones del error medio cometido entre distintas variables por su carácter adimensional.

En la tabla 6.4 se muestran estos parámetros calculados a partir de los valores de las tablas 6.1, 6.2 y 6.3.



**Figura 6.8:** Errores de sobreestimación del ancho del abdomen por extremidades remanentes. **Izquierda:** imagen original. **Derecha:** imagen procesada. La imagen 27 sufre 5 iteraciones del proceso erosivo antes de alcanzar  $F_{elip}(\mathcal{R}) \geq 0.4$ . A pesar de localizar adecuadamente la zona de medida del abdomen, los restos no erosionados de la extremidad inferior del insecto añaden un error notable.

	Longitud		Tórax		Abdomen	
	Real	Auto.	Real	Auto.	Real	Auto.
$\bar{x}$ (píx.)	578.545	572.876	138.758	142.259	150.127	152.437
$s_x$ (píx.)	75.317	72.788	14.893	24.187	22.577	22.271
$C_v$ (%)	13.018	12.706	10.733	17.002	15.039	14.610
$\mathbb{E}(e_{abs})$ (píx.)	5.669		-3.501		-2.310	
$\mathbb{E}(e_{abs-n})$	$9.799 \cdot 10^{-3}$		$-2.523 \cdot 10^{-2}$		$-1.539 \cdot 10^{-2}$	
<b>RMSE</b> (píx.)	18.955		19.378		9.401	
<b>NRMSE</b>	$3.276 \cdot 10^{-2}$		$1.397 \cdot 10^{-1}$		$6.262 \cdot 10^{-2}$	

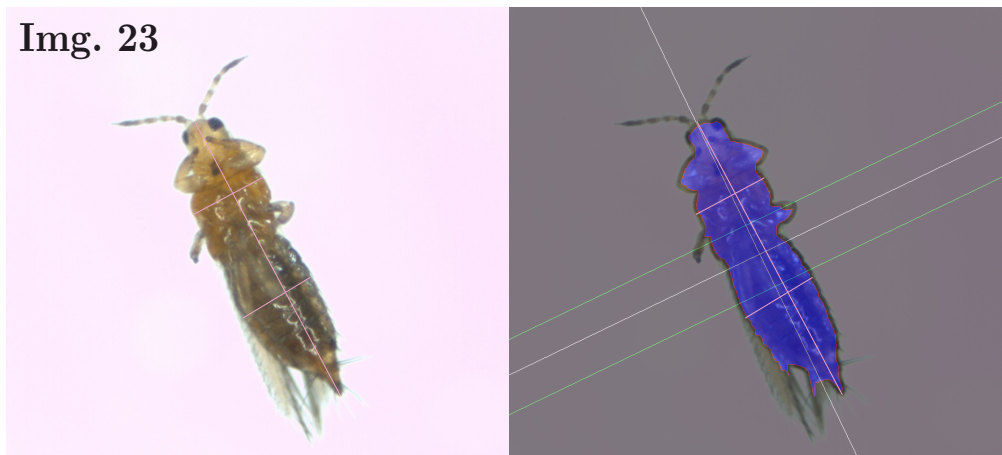
**Tabla 6.4:** Estadísticos de las medidas reales y automáticas.



Como análisis de la tabla 6.4 se pueden derivar las siguientes reflexiones:

- **Estimación de la longitud.** Del diagrama de caja y bigotes de estas muestras (figura 6.4) se preveía una similitud importante en estadísticos como la media muestral o la desviación estándar de la muestra y, derivado de ellos, se aporta el coeficiente de variación que no hace más que redundar en la idea de una dispersión similar. La esperanza del error absoluto devuelve una desviación media positiva ( $\mathbb{E}(e_{abs}) = 5.669$ ) de los valores reales respecto de los medidos automáticamente, a pesar de la corrección de la erosión en esta longitud. Este resultado es motivo de imágenes con asimetrías importantes en la región analizada (véanse las figuras 6.9 y 6.10).
- **Estimación del ancho del tórax.** Cabe destacar en esta zona de la tabla el aumento notable de la dispersión de la muestra para la medición automática incrementando  $C_v$  en 7 puntos porcentuales. Esta diferencia en el comportamiento muestral sugiere alteraciones importantes por parte del software en la medida del tórax respecto de la real. Además, la esperanza del error absoluto, en este caso, se desvía en favor de medidas sobredimensionadas del tórax. Este hecho reaparece en el análisis de estos estadísticos y tenía su explicación en la figura 6.7. En la imagen 8, mostrada en dicha figura, aparecía el ejemplo de una región que, por cuestión de forma, era erosionada dos veces y que dejaba un remanente importante de extremidades dificultando la medida. Esta imagen 8 se destacaba al ser el valor atípico por exceso del diagrama de caja y bigotes de la medición automática (figura 6.5). Sin embargo, esta desviación se produce en más ocasiones en la muestra añadiendo un error considerable, aun sin llegar a producir valores atípicos para el diagrama (figura 6.11).
- **Estimación del ancho del abdomen.** Se observa en los estadísticos descriptivos del ancho del abdomen una respuesta bastante similar entre ambas variables: coeficiente de variación, desviación estándar de la muestra y media muestral. La esperanza del valor absoluto refleja, como en el caso anterior, un sobredimensionamiento medio de la medida automatizada respecto de la real que también responde a las mismas causas: remanentes no segmentados de elementos indeseados para la medición. Eso sí, la desviación introducida, que a su vez incrementa el **RMSE**, es más reducida que para la medida del tórax.
- **Comparación de variables según estadísticos adimensionales.** El análisis de estadísticos adimensionales como  $\mathbb{E}(e_{abs-n})$  o **NRMSE** proveen

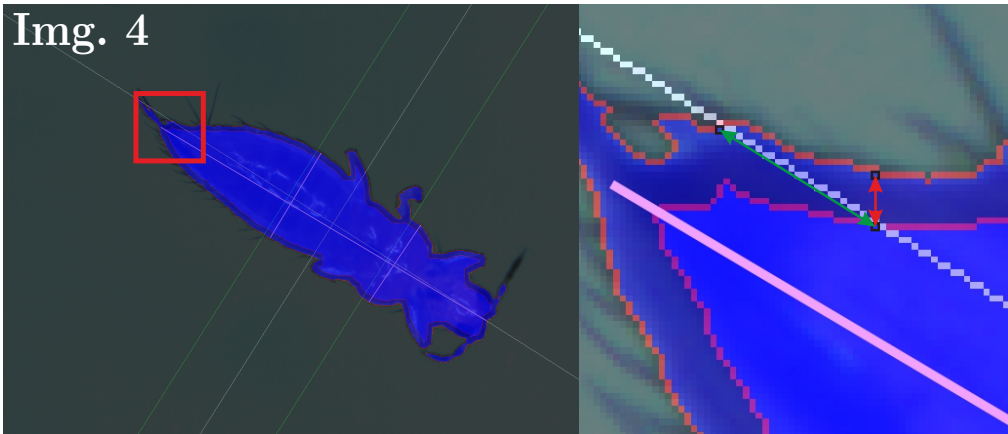
Img. 23



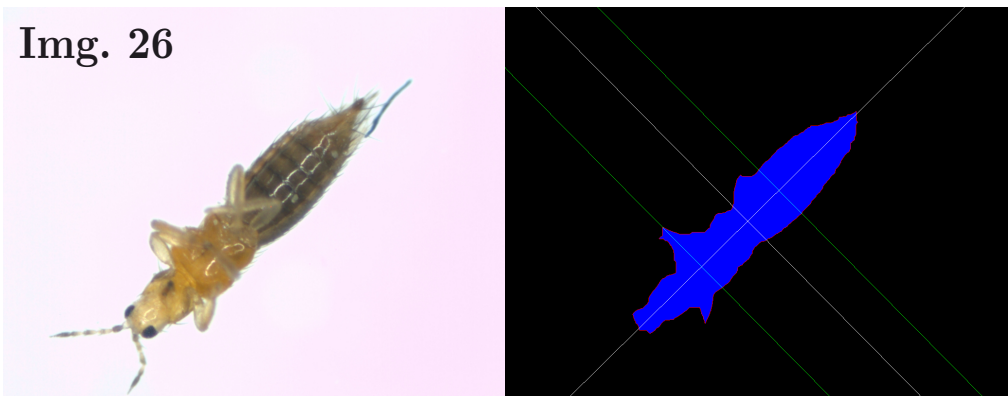
**Figura 6.9:** Errores de medición en el eje longitudinal por asimetría de la forma. **Izquierda:** imagen original con medidas reales (rectas rosas). **Derecha:** imagen procesada con las medidas automatizadas y superpuesta a la imagen original. La resolución de la imagen 23 desvela el origen de la componente más importante del **RMSE** para la medida longitudinal del insecto. El corte del eje de inercia (eje blanco) con el contorno se produce en una intersección notablemente alejada del punto de interés definido en la medición manual. Para la corrección de este error se puede proponer como método alternativo la búsqueda del algoritmo de puntos del contorno en un entorno limitado que maximicen la longitud. Conllevaría rectas que se alejan de la orientación definida por el eje principal de inercia mínima y otros errores asociados por selección de puntos incorrectos

un buen modo para identificar las flaquezas más importantes del software entre las distintas medidas. De los valores de la tabla 6.4 se extraen conclusiones como:

- La esperanza del error absoluto normalizado,  $\mathbb{E}(e_{abs-n})$ , indica que, comparativamente, la medida con menor desviación media es la longitud del insecto, seguida del abdomen y, por último, el tórax.
- Si bien la estimación del abdomen devuelve valores de **RMSE** menores que la longitud, al comparar las magnitudes de forma adimensional con el **NRMSE** se obtiene que, entre todas las estimaciones, la que menor error promedio introduce es la longitud. Como en el resto de medidas, el ancho del tórax ofrece los resultados más negativos por los problemas ya mencionados de formas indeseadas no erosionadas.



**Figura 6.10:** Errores de medición en el eje longitudinal por asimetría de la forma II. **Izquierda:** superposiciones de la imagen original con medidas reales (líneas rosas) y regiones inicial y final. **Derecha:** zona de interés ampliada. Como otra fuente de introducción de errores, la asimetría de la región provoca intersecciones de ejes de inercia que no son perpendiculares al contorno. Esto provoca que los píxeles erosionados en la dirección del eje no se correspondan con el número de iteraciones (7 en esta imagen) del procedimiento de erosión. Efectuar una dilatación real de la región e intersectar el eje resultante o almacenar la intersección de la región inicial con el eje longitudinal evitaría este problema.



**Figura 6.11:** Errores de sobreestimación del ancho del tórax por extremidades remanentes II. **Izquierda:** imagen original. **Derecha:** región final erosionada. A pesar del procedimiento morfológico, no se consigue la eliminación completa de la extremidad del insecto antes de alcanzar  $FF_{elip} \geq 0.4$ .

### 6.3.3 Histogramas y normalidad de la muestra

Por último, la representación de las muestras también se puede realizar a través de histogramas de barras que muestren las frecuencias de sus valores. Además, se ajustarán éstos como variables aleatorias independientes provenientes de una función de distribución normal. Hacer un ajuste de las muestras a una curva gaussiana puede ser de utilidad para la obtención de resultados probabilísticos e inferencias sobre la población o para la aplicación de otros procedimientos que requieran la normalidad de las variables, por ejemplo, un análisis de la varianza o ANOVA.

Los histogramas y los ajustes de los datos a la distribución con intervalos de confianza o Confidence Interval (CI) para  $\alpha = 0.05$  se muestran en las figuras 6.12, 6.13 y 6.14 y en la tabla 6.5.

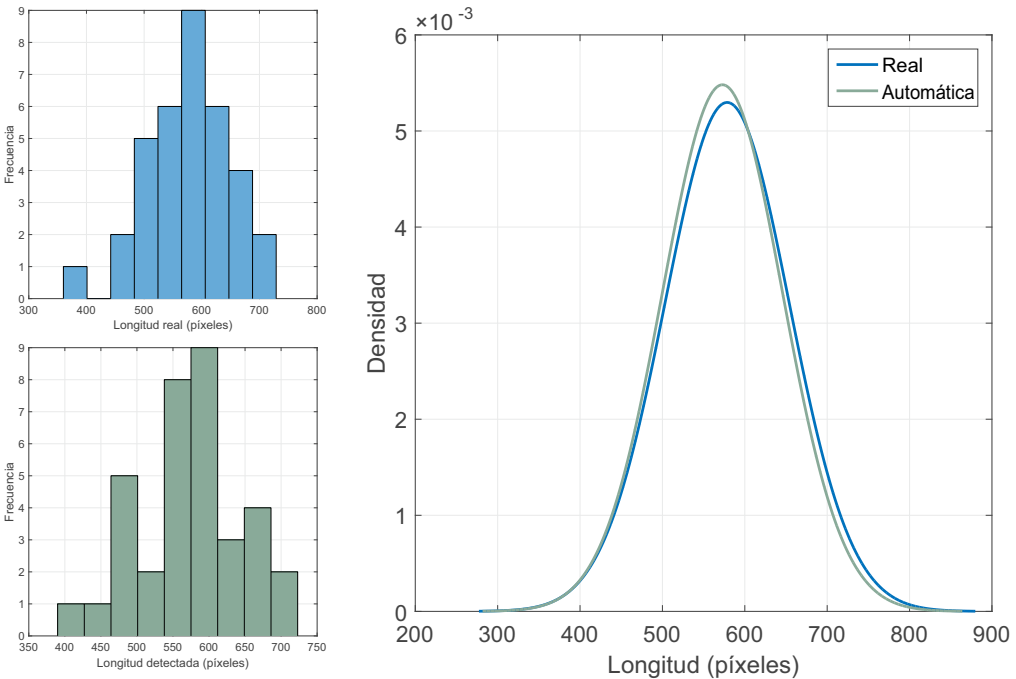
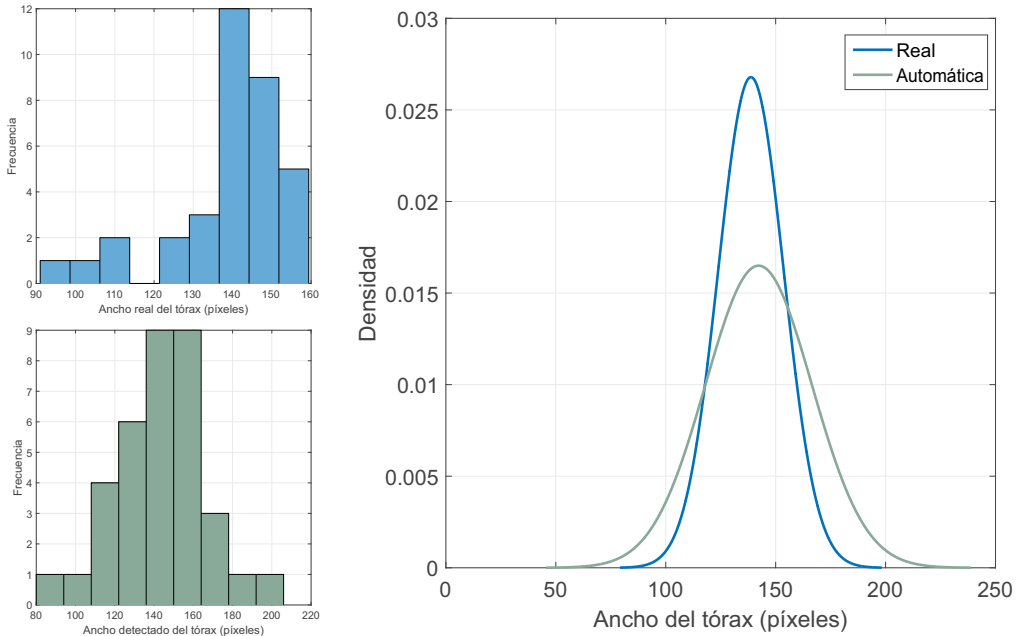
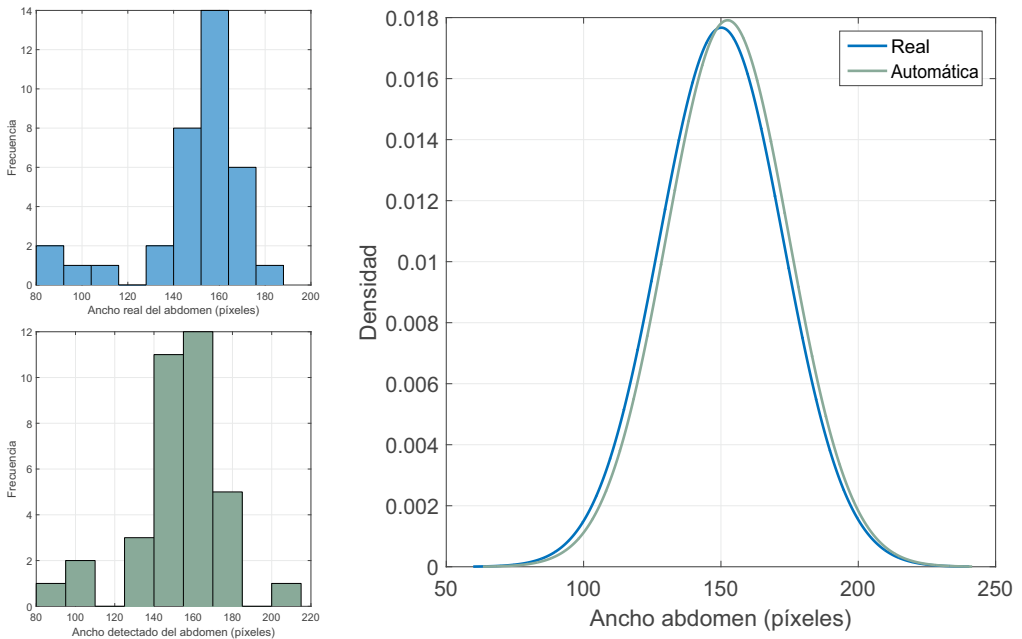


Figura 6.12: Histogramas de la longitud real y detectada y curva de ajuste normal.



**Figura 6.13:** Histogramas del ancho del tórax real y detectado y curva de ajuste normal.



**Figura 6.14:** Histogramas del ancho del abdomen real y detectado y curva de ajuste normal.

		$\mu \pm \text{CI}$ (píx.)	$\sigma \pm \text{CI}$ (píx.)
<b>Longitud</b>	Real	578.545 $\pm$ 25.872	75.317 $\pm$ 23.364
	Automática	572.876 $\pm$ 25.004	72.788 $\pm$ 13.912
<b>Tórax</b>	Real	138.758 $\pm$ 5.116	14.893 $\pm$ 2.846
	Automática	142.259 $\pm$ 8.309	24.187 $\pm$ 4.623
<b>Abdomen</b>	Real	150.127 $\pm$ 7.756	22.577 $\pm$ 4.315
	Automática	152.437 $\pm$ 7.651	22.271 $\pm$ 4.257

**Tabla 6.5:** Parámetros estadísticos del ajuste normal de las muestras.

Como detalle a rescatar de la figura 6.13, los ajustes de las muestras a las curvas normales reflejan el gran aumento de la dispersión de los datos que ya se había manifestado en la tabla 6.4 para esta magnitud. Las figuras 6.12 y 6.14 sí sugieren comportamientos similares entre las variables comparadas.

Antes de aceptar el comportamiento normal de las muestras se deben realizar test de normalidad para cada una de ellas. Las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk (*SW*) y de *KS* son utilizadas y sus resultados se encuentran en la tabla 6.6. Ambos procedimientos como contrastes de hipótesis se basan en establecer una hipótesis nula,  $H_0$ , que postula la procedencia normal de los datos e intentan su refutación.

	<b>Longitud</b>		<b>Tórax</b>		<b>Abdomen</b>	
	Real	Auto.	Real	Auto.	Real	Auto.
<b>SW: P<sub>valor</sub></b>	0.8875	0.8714	0.0003	0.9238	$3.6042 \cdot 10^{-5}$	0.0231
<b>KS: P<sub>valor</sub></b>	0.9388	0.7687	0.1067	0.9356	0.2160	0.6185

**Tabla 6.6:** Pruebas de normalidad de las muestras. Test realizado para un nivel de significación  $\alpha = 0.05$ .

Las pruebas de *KS* son superadas por todas las muestras, sin embargo,  $H_0$  es rechazada por *SW* para la medida real del tórax y para las medidas del abdomen. Esta falta de normalidad detectada en las muestras para *SW* (test más restrictivo que el de *KS*) se debe a las medidas de la muestra para especímenes poco desarrollados y al pequeño tamaño de la muestra en sí. Al contar con 4 de las 35 imágenes con valores muy reducidos debido a los insectos produce una contribución demasiado grande en la cola inferior de la distribución normal. Estos valores atípicos se han podido detectar desde los diagramas de caja y bigotes mostrados. Eliminando estas imágenes de la muestra se garantizaría que  $P_{\text{valor}} \geq 0.05$  para todos los test de *SW* de las muestras. En conclusión: superados los test de *KS* y detectado el motivo principal del fallo de *SW* en algunas muestras, no se puede rechazar bajo un nivel de significación de  $\alpha = 0.05$

que las muestras provengan de una distribución normal  $\mathcal{N}(\mu, \sigma^2)$  (parámetros de las funciones normales en la tabla 6.5).

### 6.3.4 Aplicación de one-way ANOVA

El procedimiento de one-way ANOVA se utiliza en muestras independientes sometidas a un factor concreto para la comprobación de la igualdad de sus medias. Una aplicación correcta del procedimiento exige el cumplimiento de ciertas hipótesis de partida:

- **Variable aleatoria e independiente.** Se aceptan ambas características para las muestras estudiadas.
- **Normalidad de las muestras.** En el apartado 6.3.3 anterior se ha admitido la procedencia de los datos de una distribución normal.
- **Igualdad de varianzas.** Antes de poder aplicar one-way ANOVA con rigor se ha de realizar esta comprobación de las varianzas en las variables.

Se reflejan en la tabla 6.7 los resultados de la verificación de la igualdad de las varianzas entre las muestras de cada medida. En el cálculo de la tabla se utilizan dos de los posibles test validados para ello: una prueba F de Fisher y una prueba de Levene. En ambas se trata de refutar la hipótesis nula  $H_0$  que afirma la igualdad de varianzas bajo un cierto estadístico y con un determinado nivel de confianza  $1 - \alpha$ .

	Longitud		Tórax		Abdomen	
	Real	Auto.	Real	Auto.	Real	Auto.
<b>Test F: <math>P_{\text{valor}}</math></b>	0.8433		0.0059		0.9371	
<b>Levene: <math>P_{\text{valor}}</math></b>	0.8650		0.0101		0.9730	

**Tabla 6.7:** Pruebas de verificación de la varianza de las muestras. Test realizado para un nivel de significación  $\alpha = 0.05$ .

Los resultados de la tabla 6.7 exhiben que ambos test rechazan, bajo un nivel de confianza  $1 - \alpha = 0.95$ , la igualdad de varianzas de las muestras procedentes del tórax. Las variables de la longitud y del ancho del abdomen sí aseguran un  $P_{\text{valor}} \geq 0.05$  en las comprobaciones y, por tanto, no puede rechazarse  $H_0$ . La aplicación del ANOVA y la igualdad de medias sólo podrá ser calculada para estas dos últimas medidas.

El test one-way ANOVA es aplicado a las distintas medidas interpretando cada procedimiento de recogida de datos como un tratamiento distinto de la

variable aleatoria independiente. El estadístico que emplea para el contraste de hipótesis es una F de Fisher que realiza el cociente entre la suma de cuadrados media de los tratamientos y la suma de cuadrados media del error, es decir, parte de la variabilidad que no es explicada por el factor aplicado a la variable. Para un nivel de significación  $\alpha = 0.5$  y con la hipótesis nula  $H_0$  afirmando que dicho cociente es igual a 1, se representan los resultados del procedimiento en la tabla 6.8.

	Longitud		Abdomen	
	Real	Auto.	Real	Auto.
<b>Test F: P<sub>valor</sub></b>	0.7498		0.6679	

**Tabla 6.8:** Resultados de la aplicación del test one-way ANOVA para un nivel de confianza  $1 - \alpha = 0.95$ .

Como conclusión de la tabla 6.8 se afirma que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las muestras y que, por tanto, no se puede rechazar que las medias de ambos tratamientos sean iguales con un nivel de significación  $\alpha = 0.05$ .

### 6.3.5 Comparación de las distribuciones

Como último paso del análisis estadístico se propone la comparación de las distribuciones de ajuste de las muestras. Para ello, se utiliza nuevamente el test de KS, se comprueban las distancias de las frecuencias acumuladas entre la medida automática y la real y se asume como hipótesis nula  $H_0$  que ambas distribuciones son iguales. Los resultados se muestran en la tabla 6.9 y en las figuras 6.15, 6.16 y 6.17.

	Longitud		Tórax		Abdomen	
	Real	Auto.	Real	Auto.	Real	Auto.
<b>D*</b>	0.1143		0.2571		0.0857	
<b>P<sub>valor</sub></b>	0.9763		0.1978		0.9995	

**Tabla 6.9:** Pruebas de KS para la comparación de las distribuciones con un nivel de significación  $\alpha = 0.05$ .

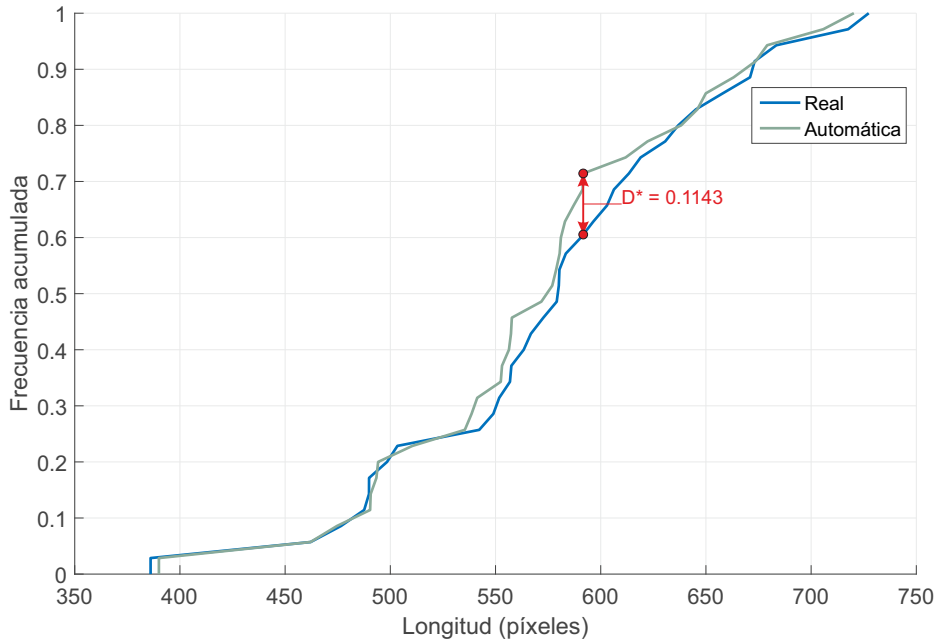
El estadístico  $D^*$  del test de KS (mostrado en la tabla 6.9) es la distancia máxima encontrada entre las frecuencias acumuladas y se define como:

$$D^* = \max_x (\hat{F}(x) - G(x)) \tag{6.1}$$



siendo  $\hat{F}(x)$ , la distribución acumulada para la medición automática, y  $G(x)$ , la distribución acumulada para la medición manual.

Los resultados de la prueba manifiestan que las tres muestras superan el test de *KS* y que por ello no se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre las distribuciones de las mediciones. Como era de esperar, la medida del tórax produce la mayor diferencia para las mediciones y el  $P_{\text{valor}}$  más próximo a  $\alpha = 0.05$ .



**Figura 6.15:** Comparación de frecuencias relativas acumuladas entre las muestras de la longitud para un test de *KS*.

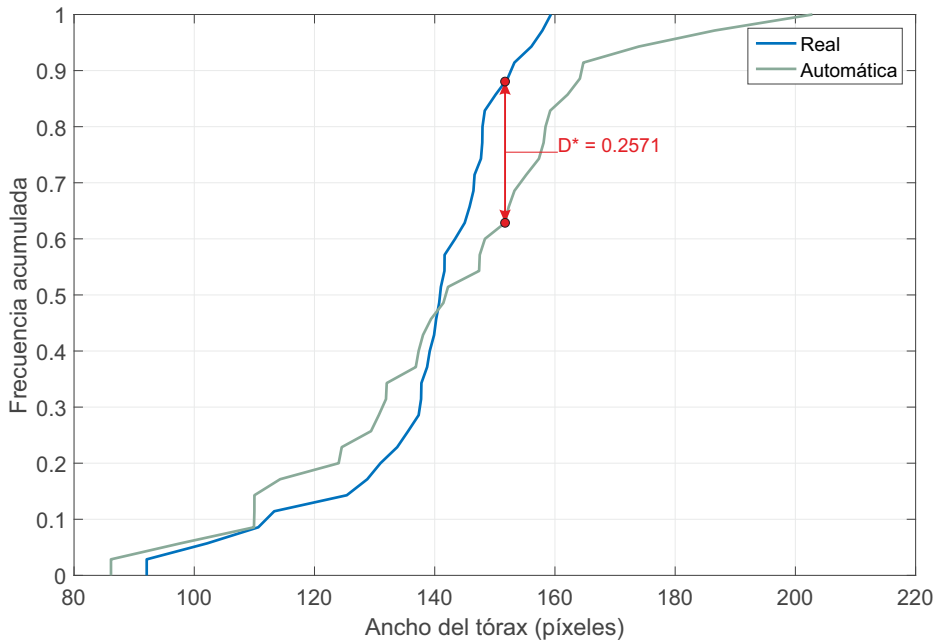


Figura 6.16: Comparación de frecuencias relativas acumuladas entre las muestras del ancho del tórax para un test de *KS*.

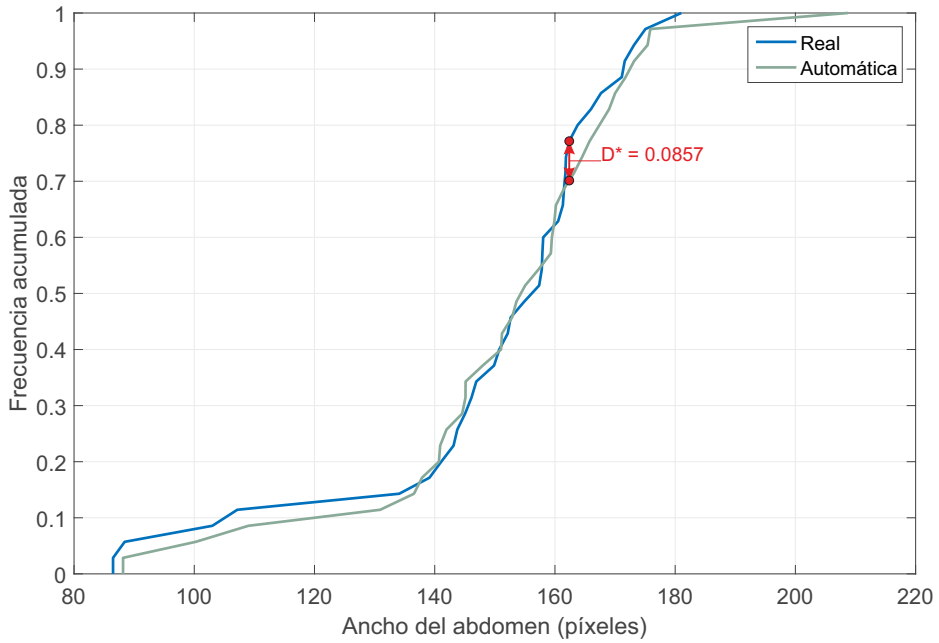


Figura 6.17: Comparación de frecuencias relativas acumuladas entre las muestras del ancho del abdomen para un test de *KS*.

Parte IV

## **CONCLUSIONES**



# 7

## CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN GENERAL

Este proyecto de investigación fin de máster ha supuesto para el autor un primer acercamiento a los fundamentos del tratamiento digital de imagen y a la programación en C++.

En cuanto al cumplimiento del objetivo principal (sección 1.2), se ha conseguido desarrollar una herramienta en el lenguaje de programación propuesto. Ésta aplica técnicas fundamentales de la literatura especializada en el procesamiento digital de imagen para la obtención de las medidas principales en la especie *Frankliniella occidentalis*. Como aspectos y resultados más relevantes de la aplicación de la metodología se pueden destacar los siguientes:

1. La utilización del *Método de Otsu* supone una buena segmentación inicial del fondo de la imagen respecto del insecto en primer plano. Se beneficia del contraste característico del ND en ambas entidades, especialmente para el color azul. A pesar de esto, dicha segmentación limita, en fases posteriores del método, la correcta medición de las longitudes principales debido a elementos indeseados remanentes en la imagen, aun con la aplicación de procedimientos morfológicos de erosión.
2. El software diseñado recoge todos los parámetros geométricos de la forma segmentada y define la orientación principal del insecto satisfactoriamente. Todos estos valores no se han expuesto como resultados, pero pueden considerarse datos de interés para otros estudios que trabajen con esta especie. Se estiman de singular interés, por ejemplo, la posición de los centroides y el área de los insectos.
3. Cabe plantear una discusión previa sobre si realmente la medición manual (real) es más exacta que la medición automática, la cual hace comprobaciones a nivel de píxel. Evidentemente, ante una segmentación perfecta de la imagen y considerando un procedimiento ideal, la medida manual dejaría de ser la referencia de la medida real. Además, establecer una discusión formal acerca de las medidas principales de los insectos para el traspaso de las mallas de los invernaderos sería un punto de partida importante a la hora de establecer las bases de una metodología más rigurosa.

4. En cuanto a los resultados ofrecidos en este proyecto de investigación, se encuentran múltiples aspectos a destacar y concluir:
- El procedimiento para la detección de la longitud funciona adecuadamente. Las desviaciones respecto de la medida real más importantes se detectan para formas con asimetrías pronunciadas en las que se arrastra el eje principal de inercia mínima hacia uno de los lados de la región. Esto producía medidas infradimensionadas en las que la intersección del eje no se correspondía con el extremo inferior del insecto (figura 6.9). Derivado de esta asimetría, también se encontraba un inconveniente en la compensación de píxeles perdidos por la erosión al no intersectar el eje perpendicularmente al contorno (figura 6.10). Como posibles soluciones se proponían: la búsqueda de longitudes mayores utilizando píxeles del contorno en entornos cercanos a la intersección inicial o la utilización conjunta de las regiones iniciales y finales para la obtención de una longitud con menor error cuadrático. Finalmente, hay que destacar la semejanza estadística entre la muestra manual y la muestra automática: igualdad de medias, de varianzas y de distribuciones no refutadas bajo nivel de significación  $\alpha = 0.05$ .
  - La detección del abdomen produce resultados en la misma línea que los de la longitud: igualdad estadística entre las muestras reales y las automáticas y un RMSE adecuado. Analizando al detalle los resultados del software se encontraba, a diferencia de la longitud, una desviación media hacia el sobredimensionamiento del abdomen. Se debía principalmente a la permanencia en la imagen segmentada de ciertos elementos indeseados (patas, vellosidades y alas) que eran medidos como zona más ancha del abdomen (figura 6.8). Una solución posible para la corrección de este inconveniente puede encontrarse en el aumento del umbral de  $FF_{\text{elip}}$  para la medida del abdomen y, quizás, utilizar umbrales distintos según la medición que se esté realizando. Por supuesto, sin descartar otros métodos intermedios de clasificación de la imagen segmentada que se puedan introducir en el procedimiento.
  - El ancho del tórax es, sin duda, la medida más comprometida de la investigación. Ya desde la tabla 6.4 de resultados de las muestras se evidenciaba un incremento inusual del coeficiente de variación,  $C_v$ , en la medida automática que se plasmaba en curvas de ajuste normal notablemente distintas (figura 6.13). Los problemas con esta medida son equivalentes a los mencionados en el abdomen, pero a

causa de la anatomía de la especie *Frankliniella occidentalis*, la cantidad de elementos indeseados en la zona del tórax aumenta (figuras 6.7 y 6.11). Estos problemas producen que el estudio estadístico entre las muestras refute la igualdad de varianzas y que el test one-way ANOVA no pueda ser aplicado. Las soluciones para el tórax son iguales a las propuestas para el abdomen ya que la problemática en estas medidas transversales, como se ha dicho, es común .





# 8

## FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Este proyecto fin de máster se formula como un primer paso dentro de una nueva línea de investigación para la caracterización morfométrica de especies de insectos. Futuros estudios han de ir asociados a ampliar las posibilidades del software en dos líneas principales:

- **Medición sobre distintas vistas.** Este escrito redacta un método para la detección sobre imágenes en vista ventral de una especie. Conseguir un software capaz de interpretar y procesar el insecto con independencia de su posición aportaría una información adicional para una caracterización 3D de los especímenes.
- **Ampliación de las especies analizadas.** Un objetivo final en el desarrollo de esta línea de investigación podría suponer la obtención de una herramienta capaz de discernir entre individuos de las especies más dañinas para el cultivo en invernadero y caracterizarlos convenientemente.

Por otro lado, si bien los procedimientos aplicados han sido útiles y competentes en la resolución de este problema inicial, éstos se quedan obsoletos en busca de resultados más completos. Otras técnicas podrían aplicarse en la resolución del problema; se exponen las siguientes:

- **Aplicación conjunta de procedimientos morfológicos.** En este proyecto de investigación se aplicaron operaciones de erosión sobre la imagen segmentada de manera efectiva. Sin embargo, se observó cómo dicha operación terminaba siendo perjudicial para la representatividad de la muestra automática respecto de la medida real y, por ello, se corrigieron las medidas del abdomen y la longitud con una estimación de los píxeles eliminados por el procedimiento (tabla 6.3). Una primera modificación evidente tras desarrollo de la investigación es la recuperación de dichos píxeles a través de dilataciones o de operaciones combinadas de erosión/dilatación, también conocida como operación morfológica de *opening*.
- **Utilización de técnicas Scale-Invariant Local Features (SIFT).** Aplicar técnicas SIFT serviría para interpretar el insecto y ciertos puntos de referencia sin depender de la posición, la rotación o la escala de los mismos.

Podría suponer una forma de distinguir insectos entre vista ventral o lateral y, quizás, diferenciar entre especies distintas.

- **Técnicas de clasificación de la imagen.** Se ha visto a lo largo de este proyecto, a pesar de las mejoras del resultado producidas por las operaciones morfológicas, la necesidad de una operación que mejorase la segmentación de las zonas de interés en la imagen. Aplicar un clasificador intermedio en la imagen (como estimadores de máxima verosimilitud, redes neuronales artificiales u otros procedimientos de aprendizaje automático) produciría una mejora notable en la calidad de los resultados.

## BIBLIOGRAFÍA

- Agresti, A. and B. Finlay (2009). *Statistical methods for the social sciences*. 4th ed. Pearson Prentice Hall.
- Álvarez, A.J., R.M. Oliva, and D.L. Valera (2012). "Software for the geometric characterisation of insect-proof screens". In: *Computers and Electronics in Agriculture* 82, pp. 134–144. ISSN: 0168-1699.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.compag.2012.01.001>. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168169912000129>.
- Beer, F.P., E. Russell, and E.R. Eisenberg (2007). *Vector mechanics for engineers. Statics*. 8th ed. Mc Graw Hill.
- Burger, W. and M.J. Burge (2009a). *Principles of Digital Image Processing I: Fundamental Techniques*. 1st ed. Springer Publishing Company, Incorporated. ISBN: 9781848001909.
- (2009b). *Principles of Digital Image Processing II: Core Algorithms*. 1st ed. Springer Publishing Company, Incorporated. ISBN: 9781848001947.
- (2013). *Principles of Digital Image Processing III: Advanced Methods*. Springer Publishing Company, Incorporated. ISBN: 9781848829183.
- Ceballos, F.J. (1995). *Curso de programación C/C++*. Editorial ra-ma.
- Chili, Planet (2017). *Beginner and Intermediate C++ game tutorial*. URL: <http://www.planetchili.net>.
- Goetcherian, V. (1980). "From binary to grey tone image processing using fuzzy logic concepts". In: *Pattern Recognition* 12, pp. 7–15.
- González, R.C. and R.E. Woods (2001). *Digital Image Processing*. 2nd. Boston, MA, USA: Addison-Wesley Longman Publishing Co., Inc. ISBN: 0201180758.
- Jain, A.K. (1989). *Fundamentals of Digital Image Processing*. Upper Saddle River, NJ, USA: Prentice-Hall, Inc. ISBN: 0-13-336165-9.
- Kaehler, A. and G. Bradski (2014). *Learning OpenCV, 2Nd Edition*. O'Reilly Media, Inc. ISBN: 9781449331955.
- Kokko, E. G., K. D. Floate, D. D. Colwell, and B. Lee (1996). "Measurement of Fluctuating Asymmetry in Insect Wings Using Image Analysis". In: *Annals of the Entomological Society of America* 89.3, pp. 398–404.  
DOI: [10.1093/aesa/89.3.398](https://doi.org/10.1093/aesa/89.3.398). eprint: [/oup/backfile/content\\_public/journal/aesa/89/3/10.1093\\_aesa\\_89.3.398/1/aesa89-0398.pdf](http://oup/backfile/content_public/journal/aesa/89/3/10.1093_aesa_89.3.398/1/aesa89-0398.pdf). URL: [+%20http://dx.doi.org/10.1093/aesa/89.3.398](http://dx.doi.org/10.1093/aesa/89.3.398).

- Luengo-Oroz, M.A., E. Faure, and J. Angulo (2010). "Robust iris segmentation on uncalibrated noisy images using mathematical morphology". In: *Image and Vision Computing* 28.2. Segmentation of Visible Wavelength Iris Images Captured At-a-distance and On-the-move, pp. 278–284. ISSN: 0262-8856. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.imavis.2009.04.018>. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0262885609000651>.
- Miura, N., A. Taneda, K. Shida, R. Kawashima, Y. Kawazoe, H. Fukuda, and T. Shimizu (2002). "Automatic Brain Tissue Extraction Method Using Erosion–Dilation Treatment (BREED) From Three-Dimensional Magnetic Resonance Imaging T1-Weighted Data". In: *Journal of Computer Assisted Tomography* 26.06, pp. 927–932.
- Otsu, N. (1979). "A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms". In: *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics* 9.1, pp. 62–66. ISSN: 0018-9472. DOI: [10.1109/TSMC.1979.4310076](https://doi.org/10.1109/TSMC.1979.4310076).
- Patten, T., W. Li, G. Bebis, and M. Hussain (2011). "Assessing insect growth using image analysis". In: *International Journal on Artificial Intelligence Tools* 20.03, pp. 511–530. DOI: [10.1142/S0218213011000255](https://doi.org/10.1142/S0218213011000255). eprint: <http://www.worldscientific.com/doi/pdf/10.1142/S0218213011000255>. URL: <http://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/S0218213011000255>.
- Pérez, M. D., D. G. Villanueva, J. J. Medina, F. Camacho-Ferre, and E. J. Rodríguez (2003). "Innovaciones tecnológicas en cultivos de invernadero". In: *Agrotécnicas*. Chap. Utilización de mallas anti-insectos como protección en invernaderos mediterráneos: efectos de la densidad de hilos y de la fotoselectividad sobre la difusión del tylcv (virus de la cuchara) en el cultivo de tomate, pp. 165–175.
- Soille, P. (2003). *Morphological Image Analysis: Principles and Applications*. 2nd ed. Secaucus, NJ, USA: Springer-Verlag New York, Inc. ISBN: 3540429883.
- Souilé, J. (2007). *C++ language tutorial*. cplusplus.
- Su, Tung-Ching, Ming-Der Yang, Tsung-Chiang Wu, and Ji-Yuan Lin (2011). "Morphological segmentation based on edge detection for sewer pipe defects on CCTV images". In: *Expert Systems with Applications* 38.10, pp. 13094–13114. ISSN: 0957-4174. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eswa.2011.04.116>. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0957417411006439>.
- Valera, D.L., L.J. Belmonte, F.D. Molina, and A. López (2014). *Los invernaderos de Almería. Análisis de su tecnología y rentabilidad*. Publicaciones Cajamar.