Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada



SISTEMA AUTOMATIZADO PARA RECONOCER Y CONTAR ORGANISMOS ZOOPLANCTONICOS MEDIANTE FILTROS ARMONICOS CIRCULARES

TESIS

DOCTORADO EN CIENCIAS

VICTOR ANTONIO ZAVALA HAMZ

Ensenada, Baja California, Mexico, Octubre de 1998.

TESIS DEFENDIDA POR VÍCTOR ANTONIO ZAVALA HAMZ Y APROBADA POR EL SIGUIENTE COMITE

Dr. Josué Alvarez Borrego

Director del Comité

Jail ala

Dr. Saúl Alvarez Borrego

Miembro del Comité

Dr. Eduardo Martín Santamaría del Angel

Miembro del Comité

Dra. Diana Tentori Santacruz

Miembro del Comité

José Rubén Lara Lara Dv.

Miembro del Comité

umi

Dr. Jaime Färber Lorda

Jefe del Departamento de Ecología

Dr. Federico Graef Ziehl Director de Estudios de Posgrado

9 de octubre de 1998

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

Y DE EDUCACIÓN SUPERIOR DE ENSENADA



DIVISIÓN DE OCEANOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA

SISTEMA AUTOMATIZADO PARA RECONOCER Y CONTAR ORGANISMOS ZOOPLANCTÓNICOS MEDIANTE FILTROS ARMÓNICOS CIRCULARES

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de DOCTOR EN CIENCIAS presenta:

VÍCTOR ANTONIO ZAVALA HAMZ

Ensenada, Baja California, México, Octubre de 1998.

RESUMEN de la Tesis de **VÍCTOR ANTONIO ZAVALA HAMZ**, presentada como requisito parcial, para la obtención del grado de **DOCTOR EN CIENCIAS en ECOLOGÍA MARINA.** Ensenada, Baja California, México, Septiembre de 1998.

SISTEMA AUTOMATIZADO PARA RECONOCER Y CONTAR ORGANISMOS ZOOPLANCTÓNICOS MEDIANTE FILTROS ARMÓNICOS CIRCULARES

Resumen aprobado por:

Dr. Josué Alvarez Borrego Director de Tesis

La enumeración e identificación directa bajo el microscopio estereoscópico o compuesto es un método arduo y consumidor de tiempo. Muy pocos técnicos pueden trabajar continuamente separando, contando, identificando y midiendo microorganismos. Aún para el taxónomo más competente, la correcta identificación puede llevar largo tiempo. Actualmente se requiere aumentar el número de taxónomos expertos a la par de desarrollar sistemas automatizados de identificación que permitan apoyar a la investigación básica en ecología marina.

Presentamos un sistema automatizado basado en la transformada de Fourier o patrón de difracción y Filtros Armónicos Circulares (FAC) que permite reconocer y contar copépodos calanoides, abundantes en la Corriente de California y la Bahía de Todos Santos, sin importar su rotación y/o ubicación.

Se realizó un análisis por dendrogramas. Los patrones de difracción permiten reconocer a los copépodos a nivel género, especie e inclusive sexo y tienen 50% menos variabilidad que las imágenes de los copépodos. El potencial de los patrones de difracción como herramienta de taxonomía es prometedor.

La correlación puede ser un método eficaz para reconocer organismos, pero un simple cambio en la rotación de uno de ellos puede hacer que el valor de la correlación disminuya tanto que no se les pueda reconocer a pesar de ser iguales.

Los FAC dan una invarianza total a rotación, por lo que el valor de la correlación no se verá afectado por un cambio en la orientación de un objeto. El filtro es generado a partir del centro propio o geométrico de una imagen, a un orden dado. Al estudiar las matemáticas de los FAC se ha logrado generar nuevos filtros con un mejor poder de discriminación y en un menor tiempo de cómputo.

En este trabajo estudiamos tres clases de FAC: clásicos, únicamente de fase y promediados. El tiempo de cómputo para generar un filtro fue mucho menor al reportado

por otros autores. Los filtros clásicos, únicamente de fase y promediados generados por nuestro sistema digital, reconocen al organismo deseado dentro de una imagen problema. Los FAC únicamente de fase tienen en general una media superior a la de los FAC clásicos; es decir, su poder de discriminación es mayor. Los FAC clásicos de los contornos binarios de A. californiensis, hembra tienen un valor de 0.61±0.05 y sus FAC únicamente de fase 0.72±0.09. Los FAC únicamente de fase de los contornos binarios de A. californiensis, macho tienen un valor de 0.69±0.06. Los FAC clásicos de los contornos binarios de A. tonsa, hembra tienen un valor de 0.70±0.04 y sus FAC únicamente de fase 0.75±0.13. Los FAC clásicos de los contornos binarios de A. tonsa, macho tienen un valor de 0.70±0.11 y sus FAC únicamente de fase 0.73±0.07. Los FAC clásicos de los contornos binarios de C. pacificus, hembra tienen un valor de 0.71±0.08 y sus FAC únicamente de fase 0.70±0.07. Los FAC clásicos de C. pacificus en tonos de grises tienen un valor de 0.69±0.09 y los FAC únicamente de fase 0.70±0.07. Para M. pacifica en tonos de grises el valor promedio de sus FAC clásicos fue de 0.70±0.08 y el de sus FAC únicamente de fase 0.69±0.07. Los FAC clásicos permiten discriminar el género y especie de los copépodos seleccionados y en algunas ocasiones el sexo, dependiendo de la complejidad de la imagen. Los FAC únicamente de fase mejoraron el poder de discriminación de nuestro sistema al diferenciar el sexo de los copépodos seleccionados en todos los casos estudiados. Los FAC promediados se generan a partir de imágenes con varios centros propios adecuados, su poder de discriminación es muy similar al de un filtro generado a partir de un solo orden.

El procesamiento digital de imágenes de copépodos calanoides mediante Filtros Armónicos Circulares que contempla este trabajo puede ser utilizado por cualquier persona con nulo o poco conocimiento de taxonomía.

Palabras clave: zooplancton, sistema automatizado, contar, reconocer, Filtros Armónicos Circulares.

ABSTRACT of the Thesis of VÍCTOR ANTONIO ZAVALA HAMZ, presented as partial requirement to obtain the DOCTOR IN SCIENCES grade in MARINE ECOLOGY. Ensenada, Baja California, México, September 1998.

AUTOMATED SYSTEM TO RECOGNIZE AND COUNT ZOOPLANKTONIC ORGANISMS USING CIRCULAR HARMONIC FILTERS

ABSTRACT

Direct enumeration and identification under a microscope is a hard and time consuming method. Few technicians can work continuously at sorting, counting, identifying and measuring microorganisms. Even for the most competent taxonomist, the correct identification can take a long time. Clearly, we require to increase the number of competent taxonomists along with the development of automated identification systems to support basic research in marine ecology.

We present an automated system based on the Fourier transform or diffraction pattern and Circular Harmonic Filters (CHF) that allows the recognition and enumeration of calanoid copepods, abundant in the California Current and Todos Santos Bay, without taking into account their rotation or position.

A dendrogram analysis was carried out. The diffraction patterns recognize genus, species and even the sex of the copepods and have 50% less variability than the images of the copepods. The potential of the diffraction patterns as a tool for taxonomy is promising.

Correlation could be a very efficient method to recognize organisms, but a simple change in the rotation of one of them can diminish so much the correlation value that one is not able to recognize them, even if they belong to the same species.

CHF give full rotation invariance, so the correlation value won't be affected by a change in the orientation of an object. The filter is generated from the proper or geometric center of an image, at a given order. The study of the mathematics surrounding the has enabled the generation of new filters with an increased power of discrimination and less computation time.

In the present work we study three types of CHF: Classic, phase only CHF and averaged. The computation time to generate a single filter was much less than the reported by other authors. The classic, phase only and averaged filters generated by our digital system are able to recognize and count the target organism among other organisms. In general, the phase only CHF have a greater mean value than the classic CHF, which is, a greater power of discrimination. The classic CHF of the binarized contours of the female of *A. californiensis* have a value of 0.61 ± 0.05 and their phase only CHF 0.72 ± 0.09 . *A. californiensis* have a value of 0.69 ± 0.06 . The classic CHF of the binarized contours of the female of the female of *A. tonsa* have a value of 0.70 ± 0.04 and their phase only CHF 0.75 ± 0.13 . The classic CHF of the binarized contours of the female of one of the binarized contours of the male *A. tonsa* have a value of 0.70 ± 0.07 . The classic CHF of the binarized contours of the female of the binarized contours of the female of 0.70\pm0.07. The classic CHF of the binarized contours of the female of 0.70±0.07. The classic CHF of the binarized contours of the female of 0.70±0.11 and their phase only CHF 0.73 ± 0.07 . The classic CHF of the binarized contours of the female of 0.70±0.07.

C. pacificus have a value of 0.71 ± 0.08 and their phase only CHF 0.70 ± 0.07 . The classic CHF for the images in gray levels of C. pacificus have a value of 0.69 ± 0.09 and their phase only CHF 0.70 ± 0.07 . For the images in gray levels of M. pacifica the mean value of the classic CHF was 0.70 ± 0.08 09 and their phase only CHF 0.69 ± 0.07 . The classic CHF allow discrimination of genus and species of the selected copepods and sometimes even sex, depending on the complexity of the image. The phase only CHF enhanced the power of discrimination of our system when they differentiated the sex of the selected copepods in all the cases studied. The averaged CHF are generated from images with more than one proper center, their power of discrimination is very similar to that of a filter generated from a single order.

The digital image processing of calanoid copepods using Circular Harmonic Filters contemplated in this work can be used by any person with few or no taxonomic knowledge.

Keywords: zooplankton, automated system, count, recognize, Circular Harmonic Filters.

DEDICATORIA

A mis padres, Victor y Ana, por su amor, confianza, enseñanzas y apoyo.

A mi hermana Alejandra y su familia, Jose Luis, Luis Alberto y quien viene en camino por su cariño y apoyo.

A mis abuelos, tíos y primos, por el apoyo e interés en mis actividades. Especialmente mi abuelito Nacho y mis tías Marce y Toy. Sigan luchando. !ANIMO!

A Mónica por ser parte de mi vida presente y futura.

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis Dr. Josué Alvarez Borrego, por aceptarme en su grupo de investigación desde hace 11 años y su apoyo incondicional desde entonces.

A la Dra. Diana Tentori Santa Cruz y el Dr. Eduardo Santa María del Angel por sus enseñanzas durante mi formación y los comentarios que enriquecieron el presente trabajo.

Al Dr. Saúl Alvarez Borrego y el Dr. Rubén Lara Lara por aceptar ser miembros de mi comité, su valioso tiempo y acertados comentarios que enriquecieron el presente trabajo.

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada por otorgarme una beca de ayudante de investigador.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por otorgarme la beca para realizar los estudios de doctorado.

A todos mis profesores y compañeros que de una u otra forma me fueron formando y ayudando a llegar a cumplir esta meta.

A mi madre que me inculcó el gusto por el estudio, me enseñó a dejar los nervios en la cama y de quien aprendí que no hay imposibles.

A mi padre por iniciarme en la practica del deporte como modo de vida.

A las familia Avila y Ponce por su apoyo en las buenas y en las malas.

A Rosa Mouriño por su cariño, consejos y buen humor.

A los salvavidas, pasados y presentes, por compartir conmigo ese bello sentimiento de brindar ayuda desinteresada a quien la necesita.

A Mónica por aguantar mi genio, pero sobre todo por su amor. TA TT

CONTENIDO

I	INTRODUCCIÓN	1			
I.1	Antecedentes				
I.2	Objetivos Generales				
I.2.1	Objetivos particulares				
II	MATERIALES Y MÉTODOS				
II.1	Obtención y tratamiento de los organismos				
II.2	Definición de difracción	13			
II.3	Toma de las imágenes binarias y su pre-procesamiento	15			
II.4	Toma de las imágenes en tonos de grises	17			
II.5	Teoría de los dendrogramas	17			
II.5.1	Análisis estadístico de los patrones de difracción digitales	19			
II.6	Teoría de los Filtros Armónicos Circulares (FAC) Clásicos	21			
II.6.1	El centro propio	27			
II.6.2	Mapa de energía 3				
II.6.3	Correlación 3				
II.7	Teoría de los Filtros Armónicos Circulares únicamente de fase 3				
II.7.1	Correlación de salida				
II.8	Teoría de los Filtros Armónicos Circulares promediados 3				
II.9	Programa para generar FAC clásicos, únicamente de fase y				
	promediados	37			
III	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40			
III.1	Patrones de difracción como herramienta para identificar copépodos				
	calanoides	40			
III.2	Correlaciones invariantes de FAC normales y de fase contra				
	imágenes binarias	54			
III.3	Correlaciones invariantes de FAC normales y de fase contra				
	imágenes en tonos de grises	65			
IV	CONCLUSIONES	73			
	LITERATURA CITADA	78			
Anexo A	Catálogo de Filtros y Banco de Imágenes	86			

LISTA DE FIGURAS

Figura	l de la constante de	Página
1	Diagrama de flujo que ilustra cada uno de los pasos para realizar los 7 experimentos.	11
2	Organismos seleccionados.	14
3	Diagrama de flujo del programa para generar filtros armónicos circulares.	39
4	Patrón de segmentación para A. californiensis, hembra.	41
5	Patrón de segmentación para A. californiensis, macho.	42
6	Patrón de segmentación para A. tonsa, hembra.	43
7	Patrón de segmentación para A. tonsa, macho.	44
8	Patrón de segmentación para C. pacificus, hembra.	45
9	Patrón de segmentación para C. pacificus, macho.	46
10	Dendrogramas de unión completa con todas las variables de segmentación para los patrones de difracción (a) y los organismos (b).	51
11	Dendrogramas de unión completa sin las variables 4 y 5 para los patrones de difracción (a) y los organismos (b).	52
12	Dendrogramas de unión completa para los patrones de difracción (a) y los organismos (b) con un mayor grado de segmentación.	53
13	Prueba de discriminación del FAC clásico, orden 3, de la hembra de C. pacificus.	59
14	Prueba de discriminación del FAC clásico, orden 3, de la hembra de C. pacificus.	60
15	Prueba de discriminación del FAC clásico, orden 4, del macho de A. tonsa.	61
16	Prueba de discriminación del FAC clásico, orden 4, del macho de A. tonsa.	62
17	Prueba de discriminación del FAC únicamente de fase, orden 13, de la hembra de <i>A. tonsa</i>	63
18	Prueba de discriminación del FAC únicamente de fase promediando los órdenes 4, 5, 9 y 10 del macho de <i>C. pacificus</i> .	64
19	Prueba de discriminación del FAC clásico, orden 2 y 4 de <i>C. pacificus</i> .	70

LISTA DE FIGURAS (CONTINUACIÓN)

Figura		Página
20	Prueba de discriminación del FAC únicamente de fase, orden 15, de	
	la hembra de C. pacificus.	71
21	Prueba de discriminación del FAC clásico, orden 10, de la hembra de	
	M. pacifica 5.	72

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
Ι	Variables de segmentación para los organismos seleccionados.	16
II	Código de color para los dendrogramas de los organismos y los patrones de difracción.	20
III	Matrices de distancia de unión para los seis copépodos completos y sus patrones de difracción.	47
IV	Matrices de distancia de unión para las tres hembras y sus patrones de difracción.	48
V	Matrices de distancia de unión para los tres machos y sus patrones de difracción.	48
VI	Ordenes apropiados para cada organismo. Se incluyen las coordenadas de los centros propios verdaderos, máximo de energía y su diferencia, tanto para FAC clásicos (C) como únicamente de fase (F).	55-56
VII	Estadísticas básicas de las correlaciones entre FAC clásico (C) o únicamente de fase (F) con imágenes binarias. El número entre paréntesis indica el orden del filtro.	56-57
VIII	Ordenes apropiados para cada organismo. Se incluyen las coordenadas de los centros propios verdaderos, máximo de energía y su diferencia, tanto para filtros clásicos (C) como únicamente de fase (F).	65-66
IX	Estadísticas básicas de los valores de correlación para FAC clásico (C) y únicamente de fase (F) de imágenes binarias. El número entre paréntesis indica el orden del filtro.	67-68

SISTEMA AUTOMATIZADO PARA RECONOCER Y CONTAR ORGANISMOS ZOOPLANCTÓNICOS MEDIANTE FILTROS ARMÓNICOS CIRCULARES

I INTRODUCCIÓN

El plancton está formado por organismos que viven suspendidos en la columna de agua y por ser lo suficientemente pequeños y/o lentos son controlados por las corrientes de agua y la mezcla turbulenta. Los organismos que permanecen en el plancton durante todo su ciclo de vida se denominan holoplanctónicos y aquellos que forman parte del plancton sólo en ciertos estadios se denominan meroplanctónicos. A su vez, el plancton se divide en fitoplancton y zooplancton; el primero depende de la luz, los nutrientes y la clorofila para fijar el bióxido de carbono y convertirlo en moléculas orgánicas, mientras que el segundo obtiene su alimento disuelto o particulado a partir del fitoplancton y otros organismos (Raymont, 1983).

Otra clasificación relevante del zooplancton es la que distingue tres intervalos de talla, los cuales son designados como: microozooplancton (<0.2 mm), mesozooplancton (0.2-10 mm) y macrozooplancton (2-10 cm) (Bougis, 1976). El tamaño de los organismos es importante en la cadena trófica, pero además es posible seleccionar la fracción que se desea muestrear y así efectuar ciertas interpretaciones ecológicas (Gasca *et al.*, 1996).

El zooplancton se distribuye aleatoriamente sen escalas espaciales (centímetros a kilómetros) y temporales. Son los consumidores primarios del fitoplancton y muy importantes en la economía energética del mar, porque forman una conección vital entre el fitoplancton en la base de la red alimenticia y los altos niveles de consumidores; como

peces, aves y mamíferos (Parsons *et al.*, 1977; Omori e Ikeda, 1984). En éste sentido, el papel de los hervíboros del zooplancton, que son principalmente crustáceos, adquiere una capital relevancia. Los copépodos son crustáceos artrópodos que constituyen el 66% del total de las especies zooplanctónicas. Los copépodos del orden Calanoida dominan la mayor parte de los mares del mundo y su principal representante es el género *Calanus*, que habita todos los mares y es muy abundante (Raymont, 1983).

La distribución y abundancia del zooplancton están fuertemente influenciadas por factores abióticos como la luz, las corrientes, la turbulencia, la profundidad, la temperatura, la salinidad, las mareas y la época del año. Debido a que el zooplancton es consumido por animales de mayor talla, algunos de los cuales son de importancia comercial, los cambios detectables en la abundancia o composición de especies del mesozooplancton pueden proveer indicaciones tempranas de cambios inminentes en las condiciones de alimento para peces, aves y mamíferos (Clark, 1992) o del incremento en la temperatura del océano como respuesta al calentamiento global de la atmósfera (Roemmich y McGowan, 1995).

El análisis cualitativo de una muestra de zooplancton permite conocer cuales son las especies que constituyen la estructura de una determinada comunidad o región. La separación de la muestra es una labor ardua y tediosa que generalmente requiere de varias horas. Se puede realizar a simple vista (macroscopicamente), o bien bajo el microscopio estereoscópico, dependiendo de la destreza del observador y de los organismos a estudiar. Para facilitar éste procedimiento se han desarrollado diversas técnicas, ya sea para separar selectivamente ciertos organismos de la muestra total o para separar una parte de la muestra total. Uno de los métodos mas sencillos es fraccionar la muestra con base en el tamaño de los organismos, para lo cual se requiere de una serie de tamices de luz de malla decreciente.

Actualmente, uno de los dispositivos más utilizados para fraccionar equitativamente una muestra es el fraccionador Folsom (Gasca *et al.*, 1996).

La parte más importante en los estudios cualitativos, es sin duda, la identificación de los organismos, donde el tratamiento de la muestra debe ser adecuado para minimizar el deterioro de los ejemplares (Gasca *et al.*, 1996). La correcta identificación es esencial para realizar cualquier interpretación ecológica; desafortunadamente es un método arduo que requiere de cierto tiempo y no puede ser llevado acabo rutinariamente en el mar, además sólo es viable despues de fijar y preservar la muestra (Ortner *et al.*, 1979). Normalmente se requiere de un microscopio estereoscópico, bibliografía básica (con dibujos) de cada grupo, tener conocimiento de la morfología y caracteres de importancia taxonómica, además de la asesoría de taxónomos expertos, que generalmente están abocados tan sólo a uno o varios taxa en particular (Gasca *et al.*, 1996).

El taxónomo más competente puede invertir de unas cuantas horas hasta un par de días (Ortner *et al.*, 1979; Omori e Ikeda, 1984; Valdecasas *et al.*, 1997) en la identificación total de los organismos en una muestra de plancton dependiendo del nivel taxonómico al que desee llegar (Gasca *et al.*, 1996). Por este motivo, son pocos los técnicos que pueden trabajar continuamente separando, contando, identificando y midiendo microorganismos. Esta situación ha ocasionado que continuamente varias personas tengan que ser entrenadas para el procesamiento de las muestras, además el tiempo que se emplea en el entrenamiento retrasa aún más el avance en el análisis de las muestras (Jeffries *et al.*, 1980). Por si esto fuera poco, constantemente se reportan aclaraciones o sinonimias (Björnberg, 1981; Trujillo-Ortíz, 1990).

Debido al tedio y tiempo empleado en llevar a cabo la separación, cuantifificación e identificación de las muestras de plancton, se realizaron muchos intentos por lograr el análisis automático del plancton (Sheldon y Parsons, 1967; Beers, 1976; Fawell, 1976; Ortner, 1979; Herman y Dauphinee, 1980; Herman y Mitchell, 1981; Lough y Laurence, 1981; Liacapoulos, 1983; Lough y Potter, 1983; Latrous, 1984; Rolke y Lenz, 1984). La mayoría de estos sistemas no encontró uso general, debido a que no discriminaban entre grupos taxonómicos (Jeffries *et al.*, 1984). Algunas excepciones son las técnicas que utilizan fotografía de silueta (Lough y Laurence, 1981; Lough y Potter, 1983) que, en algunos casos, logran identificar hasta el 90% de los organismos a nivel de especie y contar la muestra en 20 minutos, pero sólo en aquellas zonas donde existe poca diversidad del zooplancton y se han identificado las especies representativas.

Una metodología diferente sugiere el uso del reconocimiento óptico de patrones basado en la transformada de Fourier o patrón de difracción (Cairns *et al.*, 1972; Almeida *et al.*, 1976; Jeffries *et al.*, 1980, 1984; Coronel-Beltrán, 1988; Zavala-Hamz *et al.*, 1996) o redes neurales (Simpson *et al.*, 1992; Culverhouse *et al.*, 1994; Williams *et al.*, 1994; Newbury *et al.*, 1995).

El reconocimiento de patrones ha sido ampliamente utilizado por la industria militar para reconocer caracteres alfabéticos y aviones o tanques (Caufield y Maloney, 1969; Casasent y Psaltis, 1976; Leclerc *et al.*, 1991). En los años ochenta, debido a la necesidad de utilizar imágenes más complejas y por la necesidad de procesar imágenes más grandes en tiempo real, hubo un creciente interés en la utilización de las invariancias. Los objetos movidos, rotados, escalados, degradados por ruido, etc, pueden ser reconocidos como idénticos. Las técnicas híbridas u opto-digitales prometen conseguir un procesamiento más

rápido de las imágenes (Jeffries et al., 1980, 1894; Arsenault, 1989; Zavala-Hamz et al., 1996).

Si tomamos en cuenta que cualquier programa de monitoreo regional o mundial, como la red CalCOFI, tiene la capacidad de colectar aproximadamente unas 4, 500 muestras por año (Jeffries *et al.*, 1980) y que existe una disminución en el número de taxónomos competentes, nos podremos dar cuenta que muchas muestras se quedan almacenadas por años antes de ser analizadas, inclusive pueden llegar a deteriorarse que ya no sean útiles, o simplemente están ocupando demasiado espacio físico (Simpson *et al.*, 1992).

Es evidente que se requiere aumentar el número de taxónomos expertos a la par de lograr desarrollar una implementación tecnológica que permita apoyar la investigación de la ecología del zooplancton (Jeffries *et al.*, 1980; Trujillo-Ortiz, 1995). El procesamiento digital de imágenes ha dado realce significativo a los métodos de extracción y obtención de información taxonómica importante. Con las redes mundiales de telecomunicación y de computación, el almacenamiento y recuperación digital de grandes colecciones puede tener fuerte impacto sobre los métodos de investigación taxonómica (Valdecasas *et al.*, 1997)

I.1 Antecedentes

Los primeros experimentos de filtraje de imágenes fueron realizados a fines del siglo pasado por Abbe (1893) y fueron retomados por Porter (1906). Ellos establecieron las bases del tratamiento óptico de imágenes al modificar ópticamente los espectros de Fourier.

Maréchal (1952) logró el mejoramiento de la calidad de fotografías mediante filtraje con luz coherente. Esta fue la introducción del correlacionador óptico que funciona con ayuda de la transformada de Fourier.

El uso de técnicas ópticas coherentes en el reconocimiento de patrones fue introducido por VanderLugt (1964) y es comúnmente llamada correlación óptica de filtro emparejado (match filter). Este filtro es invariante a traslación y la operación matemática efectuada que efectúa es la correlación de la imagen de entrada y de la imagen grabada en el filtro. Este sistema reconocerá los objetos sin importar su posición en el plano de entrada, tal y como lo describen las propiedades de la correlación.

Los sistemas de procesado óptico de datos son capaces de analizar, en tiempo real, grandes cantidades deinformación (Trimble *et al.*, 1980). Estos sistemas requieren de materiales de registro de alta resolución (película fotográfica o CCD = Charged Coupled Device) y con buena sensibilidad para otros parámetros invariantes como: rotación, escala, proyección, etc. Este inconveniente se incrementa cuando se tratan de discriminar objetos diferentes, pero similares (Hester y Casasent, 1980; Arsenault *et al.*, 1987; Tsatsanis y Giannakis, 1990). Los filtros emparejados pueden ser utilizados para identificar, mediante correlaciones, el objeto deseado dentro de un grupo de otros objetos o para diferenciarlo del ruido o información falsa. La decisión depende de que la correlación del objeto con el filtro se encuentre por arriba de cierto umbral (Arsenault *et al.*, 1987; Mendlovic *et al.*, 1990). Sin embargo, si el objeto es rotado en cualquier grado, el pico de correlación será suficientemente alterado para que ya no exista una detección.

El problema de reconocer imágenes mediante el procesamiento invariante es muy complejo y difícil. Por ello, no es sorprendente que se hayan desarrollado una gran variedad

de técnicas para atacar instancias específicas o generales de éste problema (Wood, 1996). La mayor parte de estas técnicas han sido desarrolladas gracias al apoyo de la industria militar, por ello se trabaja con imágenes de tanques o aviones.

Algunos investigadores que tienen a su cargo proyectos relacionados con las ciencias del mar y la taxonomía han invitado a colegas del área de electrónica, óptica y computación para aprovechar su experiencia y tratar de resolver sus problemas desde otra aproximación. Otro problema radica en que el investigador lee y publica únicamente en revistas relacionadas con su área y en muchas ocasiones la respuesta al problema que ha investigado por años se puede encontrar en otra área del conocimiento.

El uso de las computadoras para realizar procesado de imágenes se remonta a principios de los años sesenta, pero no fue hasta principios de los años setenta que se tuvo un crecimiento acelerado y comenzó el avance tecnológico del procesado digital de imágenes. Las investigaciones en ese tiempo se enfocaban a la restauración, mejoramiento y compresión de imágenes radiográficas (Hunt, 1976). El procesamiento digital de imágenes y el establecimiento de las redes mundiales de telecomunicación está comenzando a permitir extraer y almacenar valiosa información taxonómica directamente del microscopio y, por lo tanto, va teniendo una mayor implicación en los mecanismos y métodos de investigación taxonómica (Valdecasas *et al.*, 1997).

La ventaja de los sistemas ópticos sobre las computadoras estriba en la habilidad de los sistemas ópticos para procesar datos en una manera paralela. El correlacionador óptico que utiliza un filtro emparejado, permite un filtraje espacial completo sobre el plano del objeto, donde están varios objetos a reconocer. La inherente invarianza espacial de este arreglo, cuando se combina con filtros invariantes a rotación como los Filtros Armónicos

Circulares (FAC), permite reconocer objetos con invarianza a ubicación y rotación. El progreso que ha habido en el desarrollo de moduladores ópticos como las pantallas de cristal líquido (PCL) ha inyectado nueva vida al correlacionador óptico, debido a que las PCL pueden utilizarse óptica y electrónicamente, lo cual permite un cambio rápido del objeto o el filtro para aplicaciones en tiempo real.

La posibilidad de implementar FAC como filtros únicamente de fase, que pueden discriminar mucho mejor objetos similares (Horner y Gianino, 1984), con la ayuda de las PCL promete desplegar un filtro de manera muy rápida, por lo que sería capaz de clasificar cientos de imágenes por segundo.

Por otro lado, usualmente es más sencillo implementar una técnica de procesamiento en la computadora debido a que es más flexible aunque lenta (dos segundos). Actualmente, el desarrollo de la computación ha permitido que gran parte de la teoría óptica utilizada en el procesamiento de imágenes se pueda realizar digitalmente con resultados satisfactorios. (Arsenault *et al.*, 1993). Es muy recomendable simular nuestra metodología en una computadora para evaluar su desempeño. Para aplicaciones en tiempo real, se puede utilizar un sistema óptico que realice el procesamiento lento de la correlación y las operaciones de post-procesamiento, como el corte e identificación, en la computadora.

I.2 Objetivos Generales

- Utilizar patrones de difracción digitales como base para desarrollar un procesamiento digital automatizado de identificación de copépodos calanoides.
- Utilizar Filtros Armónicos Circulares (FAC) clásicos, únicamente de fase y promediados para el reconocimiento invariante a ubicación y rotación de copépodos calanoides.
- Determinar el grado de discriminación en el procesamiento digital.

I.2.1 Objetivos particulares

- Crear un banco digital de imágenes de especies de copépodos calanoides abundantes en la Corriente de California y la Bahía de Todos Santos.
- Elaborar un catálogo digital de los filtros de las especies seleccionadas.

II MATERIALES Y MÉTODOS

En esta sección se presenta la descripción de la forma en que se obtuvieron las muestras de copépodos, así como el tratamiento que se le dió a las imágenes obtenidas (Fig.

1).

Se realizaron 7 experimentos:

- Obtención de patrones de difracción digitales de imágenes binarias de los copépodos seleccionados completos y segmentados.
- Obtención de FAC clásicos de imágenes binarias de copépodos completos y su correlación digital con imágenes problema binarias.
- Obtención de FAC únicamente de fase de imágenes binarias de copépodos completos y su correlación digital con imágenes problema binarias.
- Obtención de FAC promediados de imágenes binarias de copépodos completos y su correlación digital con imágenes problema binarias.
- Obtención de FAC clásicos de imágenes en tonos de grises de copépodos completos y su correlación digital con imágenes problema en tonos de grises.
- Obtención de FAC únicamente de fase de imágenes en tonos de grises de copépodos completos y su correlación digital con imágenes problema en tonos de grises.
- Obtención de FAC promediados de imágenes en tonos de grises de copépodos completos y su correlación digital con imágenes problema en tonos de grises.



Figura 1. Diagrama de flujo que ilustra cada uno de los pasos para realizar los 7 experimentos.

II.1 Obtención y tratamiento de los organismos.

Se trabajó con cuatro especies de copépodos calanoides: *Calanus pacificus, Acartia tonsa, Acartia californiensis* y *Metridia pacifica* (Fig. 2). Las muestras de *Calanus pacificus* fueron facilitadas por el M.en C. Antonio Trujillo-Ortíz (F.C.M., U.A.B.C.) de muestras de la colección de Zooplancton de la Institución de Oceanogrfía Scripps provenientes de la Corriente de California. Trujillo-Ortíz colectó a *Acartia tonsa* y a *Acartia californiensis* en el Estero de Punta Banta, B.C. Las muestras de *Metridia pacifica* fueron facilitadas por la Dra. Bertha Lavaniegos (CICESE) y provienen de muestras de la colección CalCOFI. En todos los casos se utilizaron hembras adultas para ser consistentes con la taxonomía tradicional (Björnberg, 1981), pero también se utilizaron machos adultos para saber si en nuestro procesamiento digital se puede detectar la diferencia morfológica que existe entre los sexos.

Calanus pacificus es el copépodo más abundante en las muestras de zooplancton de la Corriente de California (Fleminger, 1964). Su cefalosoma tiene forma de torpedo, posee cinco segmentos torácicos, su urosoma es muy corto y sus antenas son extremadamente largas, generalmente exceden la longitud total del cuerpo (Todd y Laverack, 1991). Las hembras son más grandes que los machos, la presencia de una pequeña protuberancia en el segmento genital de las hembras, llamado gonóporo, es una forma para diferenciarlas de los machos (Brodsky, 1972). Cuando estan preservados, los organismos del género *Calanus* presentan sus primeras antenas plegadas, por lo que el organismo tiende a adpotar un aposición lateral (Frost, 1972). El género *Acartia* habita todos los océanos, pueden ser neríticos, aunque son abundantes en aguas costeras (Yoo *et al.*,1991). *Acartia tonsa* domina la estructura zooplanctónica de la Bahía de Todos Santos en primavera y verano (Jiménez-Pérez, 1987). *Acartia californiensis*, sólo se encuentra en lagunas costeras del Pacífico nororiental (Trinast, 1976), como el Estero de Punta Banda, B.C., donde domina la estructura zooplanctónica (Jiménez-Pérez, 1987; Jiménez-Pérez y Lara-Lara, 1990).

Metridia pacifica habita en el Océano Pacífico (Bucklin *et al.*, 1995), su cuerpo es moderadamente grande y a simple vista puede ser confundida con *Calanus pacificus* (Todd y Laverack, 1991). El cuerpo de *M. pacifica* sólo posee cuatro segmentos torácicos, sus antenas son cortas y su urosoma es peculiarmente largo (Todd y Laverack, 1991). Morfológicamente las hembras y machos de *M. pacifica* se pueden diferenciar porque las hembras tienen una diferente forma del rostrum y por la longitud de las setas del quinto par de patas; mientras que los machos se caracterizan por la longitud de la rama caudal y el número de espinas del quinto par de patas (Brodsky, 1948).

II.2 Definición de difracción.

La teoría de difracción permite comprobar la propiedad de un sistema óptico de efectuar la transformada de Fourier y juega un papel importante en la teoría de formación de imágenes. La difracción puede ser definida como cualquier desviación, que sufre la luz, de su trayectoria rectilínea y que no puede ser interpretada como reflexión o



Figura 2. Organismos seleccionados. A Contorno binario de C. pacificus, hembra. B
Contorno binario de C. pacificus, macho.C C. pacificus, hembra. D
Contorno binario de A. californiensis, hembra. E Contorno binario de A. californiensis, macho. F Contorno binario de A. tonsa, hembra. G
Contorno binario de A.tonsa, macho. H M. pacifica, hembra.

refracción (Goodman, 1968). Sears (1967) la define simplemente como la flexión de la luz alrededor de un obstáculo.

El proceso por el cual se producen los efectos de difracción aparece continuamente en la propagación de cada frente de onda. Si se suprime una parte del frente de onda mediante un obstáculo se podrá observar el fenómeno de difracción. El frente de onda puede seguir más adelante de la región del obstáculo sin ser afectado.

Las lentes son una parte muy importante en el procesado ópico de imágenes por su poder de efectuar la transformada de Fourier. Una lente está elaborada de vidrio. La luz se propaga a través del vidrio más lentamente que en el aire. Si una onda plana incide paralelamente al eje óptico de la lente, al salir tendrá un desfase debido al retraso en la velocidad de la luz. Esto permite a una lente "realizar" la transformada de Fourier (Shulman, 1970).

II.3 Toma de las imágenes binarias y su pre-procesamiento.

Se utilizó un microscopio estereoscópico Wild Heerbrougs modelo MSA, con fuente de luz propia y una cámara fotográfica con película blanco y negro (Kodak Technical-Pan). Una vez tomadas las fotografias se reveló la película para obtener los negativos e impresiones. El siguiente paso fue digitalizar las impresiones en un digitalizador Hewlett Packard Scan Jet Plus. Todas las imágenes se digitalizaron en 256 x 256 pixeles y se dibujaron sus contornos binarios (negro adentro y blanco afuera). La

ventaja de utilizar contornos es que la información que se obtiene de ellos carece de agentes de ruido externo como basura que pueda contener el agua de la muestra.

Tradicionalmente los organismos con apéndices rotos o sin ellos no son considerados para la identificación (Omori e Ikeda, 1984; Jeffries *et al.*, 1980, 1984). Trujillo-Ortíz (1986, 1990, 1995) ha trabajado varios años con copépodos calanoides, especialmente *Calanus pacificus* y *Acartia californiensis*. El nos comunicó que es muy difícil predecir la posición (antenas plegadas o extendidas) que el copépodo adoptará después de ser fijado en formoaldehido. En todo el tiempo que ha trabajado con estos copépodos estima que el 96% de las hembras y machos de *C. pacificus* son encontradas con las antenas plegadas y que el 75% de las hembras y machos de *A. californiensis* son encontradas con sus antenas extendidas.

Para comenzar a probar el poder de discriminación de la técnica consideramos la variabilidad natural de los organismos, como apéndices faltantes o las antenas extendidas. Mediante un paquete comercial de dibujo se generaron las imágenes de los organismos simulando diferentes grados de segmentación (Tabla I) fueron tranferidas a un sistema SUN para obtener su patrón de difracción digital.

Género	Variable	Estado del Organismo
Acartia	1	Completo
Acartia	2	Sin la primer antena
Acartia	3	Sin ambas primeras antenas
Acartia	4	Sin el urosoma
Acartia	5	Sin antenas y urosoma
Calanus	1	Completo
Calanus	2	Sin apéndices
Calanus	3	Sin apéndices y primer antena
Calanus	4	Sin apéndices y urosoma

Tabla I. Variables de segmentación para los organismos seleccionados.

II.4 Toma de las imágenes en tonos de grises.

Se utilizó un microscopio estereoscópico Wild Heerbrougs modelo MSA, con fuente de luz propia y una cámara de video Hitachi conectada a una computadora personal.

II.5 Teoría de los dendrogramas (Zupan, 1982).

Los dendrogramas son grupos de datos unidos de acuerdo a ciertas reglas. El objetivo de un dendrograma es formar grupos de datos con características más homogéneas dentro de sí mismos y, al mismo tiempo, siendo más heterogéneos entre ellos mismos. Los términos heterogéneos y homogéneos se refieren a las propiedades comúnes de los datos, de acuerdo a las cuales estamos tratando de unirlos.

Una vez que los grupos son formados, es fácil conocer la distancia o similitud entre ellos. En la mayoría de los casos la similitud entre los objetos es difícil de definir, mientras que la distancia es más fácil de visualizar y manejar. La distancia es inversamente proporcional a la similitud.

Existen varios métodos para unir grupos en un dendrograma.

- Método de Unión Simple o del Vecino más Cercano. Probablemente es uno de las formas más simples de lograr la unión. La distancia entre dos grupos es la menor distancia entre dos puntos en ambos grupos. Generalmente es de uso limitado debido a su pobre selectividad y la tendencia a producir cadenas muy largas.
- 2. Método de Unión Completa o del Vecino más Lejano. Se evalúa la distancia entre dos grupos como la mayor distancia que puede ser encontrada entre cualquier par de puntos a partir de los dos grupos correspondientes. Es de mayor utilidad por ser más selectivo y las cadenas que forma no son tan largas.
- 3. Métodos de Promedios. La distancia entre los dos grupos es calculada como la distancia promedio entre todos los pares de datos en los dos grupos. Un problema con estos métodos se presenta al tratar de unir dos grupos de tamaños considerablemente diferentes.
- Método de Centroides. Las uniones de los puntos son representadas por los centroides (puntos cerca de la mitad de los grupos, como el centro de gravedad). Las distancias entre los grupos son las distancias entre sus correspondientes centroides.

5. Método de Ward. Se basa en la minimización estadística de la expansión de unión. En cada paso se calcula un punto central para cada posible combinación de dos grupos y posteriormente se evalúa la suma total de distancias cuadradas de ese punto hacia todos los datos. Es un método muy efectivo, pero favorece la formación de grupos pequeños.

II.5.1 Análisis por dendrogramas de las imágenes y sus patrones de difracción digitales.

Una vez obtenidos los contornos binarios de las imágenes de los organismos y sus correspondientes patrones de difracción se realizó una correlación cruzada de cada matriz de datos. Mediante dendrogramas se determinó la posibilidad de que la matríz de las imágenes de los organismos o la de los patrones de difracción pudieran discriminar hasta nivel género, especie y sexo, dependiendo de las variables de segmentación consideradas (Tabla I). Se utilizó un código de color para observar mucho mejor las diferentes asociaciones en los dendrogramas (Tabla II).

Para formar los dendrogramas se utilizó el programa STATISTICA para WINDOWS. De todos los métodos que ofrece dicho programa y de acuerdo a las características de nuestros datos, el método de unión completa con distancias Euclidianas generó las mejores asociaciones. Tabla II. Código de color para los dendrogramas de los organismos y los patrones de difracción.



II.6 Teoría de los Filtros Armónicos Circulares (FAC) clásicos.

Los FAC son filtros complejos que contienen una sola componente armónica circular del objeto de referencia (en coordenadas polares) y que dan una invarianza total a rotación y posición.

Las ventajas de este método son numerosas, en primer lugar, el plano de correlación también es invariante a rotación y ubicación. Otra ventaja es que la metodología está sustentada en un gran número de estudios teóricos que han probado su sensibilidad al ruido, sus transformaciones ópticas (Hsu y Arsenault, 1982, 1983; Arsenault y Sheng, 1986) y servirán como base para implementar filtros más complejos (Hsu y Arsenault, 1984; Arsenault, 1986; Sheng y Arsenault, 1989; García-Martínez *et al.*, 1995, Zavala-Hamz y Alvarez-Borrego, 1997).

Una de las desventajas de este método es que los filtros pierden su poder de discriminación si previamente no se localiza el centro propio de la imagen. Debido a que tan sólo contienen un componente armónico del objeto, su centro de correlación no será necesariamente un pico máximo. En la práctica, sin embargo, el centro de expansión o centro propio se determina cuando éste es un pico máximo en el plano de salida de la imagen. Si el filtro se desarrolla a partir de un punto que no es un centro propio, el máximo del plano de correlación va a estar situado en un punto diferente del centro de desarrollo. La invarianza bajo rotación no será respetada, pues un ligero cambio en la rotación del objeto con respecto a la referencia ocasionará una rotación del plano de correlación alrededor del centro de desarrollo del filtro, el cual a su vez desplazará al pico de correlación.

La selección del centro propio puede ser la diferencia entre un resultado excelente y un desastre consumado. Es muy importante seleccionar un centro de expansión apropiado para garantizar una buena identificación. Hsu *et al.* (1982) y Sheng y Arsenault (1987) desarrollaron dos metodologías para determinar el centro propio, pero sus resultados no fueron completamente satisfactorios. Prémont (1992) y Prémont y Sheng (1993) propusieron un método que utiliza una expresión analítica para elaborar un mapa de energía a partir de imágenes de 64 x 64 pixeles y mediante anillamiento simulado poder encontrar el pico de máxima correlación. Su método resultó ser dos órdenes de magnitud más rápido que los anteriores. Zavala-Hamz y Alvarez Borrego (1997) optimizaron los algoritmos propuestos por Prémont (1992). Lograron disminuir aún más el tiempo de computo a pesar de utilizar imágenes de 256 x 256 pixeles. García-Martínez *et al.* (1995) utilizan la información del mapa de energía y el pico de correlación para localizar el centro de expansión y así aumentar el poder de discriminación del filtro.

Un objeto bidimensional f(x,y), en coordenadas cartesianas, es $f(r,\theta)$ en coordenadas polares. Su expansión armónica circular es:

$$f(r,\theta) = \sum_{m=-\infty}^{\infty} f_m(r)e^{jm\theta},$$
(1)

donde *m* es un entero. Se utiliza la periodicidad de 2π sobre la coordenada polar θ de la función del objeto para descomponer esta imagen en series radiales de Fourier. Estos son los componentes armónicos circulares del objeto y cada uno representa una fracción de la información invariante a rotación. No importa que coordenadas dentro de la imagen puedan

servir de centro de rotación, siempre y cuando den origen al sistema de coordenadas polares. En forma más general y si (ξ,η) es el origen del sistema de coordenadas,

$$f(r,\theta;\xi,\eta) = \sum_{m=-\infty}^{\infty} f_m(r;\xi,\eta) e^{jm\theta}.$$
 (2)

En un correlacionador óptico o digital, el filtro será uno de los componentes armónicos:

$$f_r(r,\theta;\xi,\eta) = f_m(r;\xi,\eta)e^{jm\theta}.$$
(3)

Este filtro es una función compleja, debe ser grabado como un holograma generado por computadora y posteriormente colocado en el plano de Fourier de un correlacionador óptico. La correlación entre el FAC, f_r , de la ecuación (3) y un objeto g(x',y') puede expresarse como:

$$C_{gf}(x,y) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} g(x'+x,y'+y) f_r^*(x',y') dx' dy',$$
(4)

donde (x',y') son coordenadas cartesianas en el plano de correlación y el asterisco indica el complejo conjugado del filtro. Cuando el objeto es rotado es posible expresarlo como una suma de las funciones armónicas circulares desarrolladas en el mismo centro de expansión que el filtro:

$$g(x'+x, y'+y) = \sum_{m=-\infty}^{\infty} g_k^{(x,y)}(r;\xi,\eta) e^{jm\theta},$$
(5)

donde las funciones armónicas circulares varían dependiendo de el desplazamiento del objeto.

Con la imagen del filtro en coordenadas polares e integrando en θ , podemos obtener una expresión completa para el plano de correlación:
$$C_{gf}(x,y) = 2\pi \int_0^{2\pi} g_m(r;x,y) f_m^*(r;\xi,\eta) r dr,$$
(6)

donde (x,y) representa las coordenadas cartesianas del plano de la imagen y $g_m(r;x,y)$ indica el ángulo de la función armónica circular de orden *m* desarrollada en el punto (x,y) como el origen del sistema de coordenadas polares. La correlación entre el objeto y el filtro es:

$$C(x,y) = g(x,y) * f_{r}^{*}(x,y).$$
⁽⁷⁾

donde el asterisco del operador denota la correlación.

Es fácil demostrar la invarianza a ubicación y rotación de los FAC. Las propiedades intrínsecas de la convolución introducen naturalmente la invarianza a ubicación. La correlación entre el objeto de entrada y el filtro es:

$$C(x, y) = g(x, y) * f_r^*(x, y).$$
(8)

Un desplazamiento del objeto ocasiona una modificación de la correlación:

$$C'(x,y) = g(x-a,y-b) * f_r^*(x,y).$$
(9)

Empleando las propiedades elementales de las funciones δ y del producto de convolución, la propiedad de invarianza a ubicación se demuestra fácilmente:

$$C'(x,y) = \delta(x-a, y-b) * g(x,y) * f_r^*(x,y),$$
(10)

$$=\delta(x-a,y-b)*C(x,y),$$
(11)

$$=C(x-a, y-b).$$
 (12)

Entonces, el desplazamiento del objeto a la entrada del correlacionador expresa un desplazamiento equivalente a la figura de correlación que produjo.

24

En cuanto a la invarianza a rotación, es necesario encontrar la relación entre la función de correlación original (6) y la correlación con un objeto que ha sido rotado. Para simplificar el procedimiento matemático todas las expresiones serán demostradas en coordenadas polares. La correlación en el origen es:

$$C(r,\theta) = g(r,\theta) * f_r^*(r,\theta), \tag{13}$$

y si el objeto es rotado sobre sí mismo en un ángulo α :

$$C'(r,\theta) = g(r,\theta+\alpha) * f_r^*(r,\theta), \tag{14}$$

y utilizando la transformación $\omega = \theta + \alpha$ para obtener:

$$C'(r,\omega-\alpha) = g(r,\omega) * f_r^*(r,\omega-\alpha).$$
(15)

A partir de la ecuación (4), que representa al filtro, se encuentra la siguiente relación:

$$f_r(r,\omega-\alpha) = e^{-j\theta} f_r^*(r,\omega).$$
(16)

Entonces, inmediatamente se deduce:

$$C'(r,\omega-\alpha) = g(r,\omega) * e^{-j\theta} f_r(r,\omega), \tag{17}$$

$$=e^{-j\theta}C(r,\omega);$$
(18)

para conservar la notación anterior:

$$C'(r,\theta) = e^{-j\theta}C(r,\theta+\alpha).$$
⁽¹⁹⁾

Esto prueba que después de que el objeto, en la entrada del correlacionador es girado, la función de correlación es girada en el mismo ángulo. Esta es luego cambiada por

un factor de fase constante. La intensidad del centro de rotación (r= θ) será entonces completamente independiente de una rotación del objeto.

Todos los desplazamientos del objeto podrán ser alterados en una serie de traslaciones y rotaciones alrededor del original, el FAC detectará la presencia de un objeto cuya rotación y posición estén dentro de la escena a examinar.

El valor que caracteriza a la detección invariante a rotación es la intensidad en el centro de rotación del filtro, es decir:

$$C_{gf}(\xi,\eta) = 2\pi \int_{0}^{\infty} g_m(r;\xi,\eta) f_m^*(r;\xi,\eta) r dr.$$
⁽²⁰⁾

El valor que queda después de una detección del objeto blanco $f(\mathbf{r}, \theta)$ es:

$$C_{ff}(\xi,\eta) = 2\pi \int_{0}^{\infty} |f_m(r;\xi,\eta)|^2 r dr.$$
 (21)

El objeto actúa por la energía contenida dentro de las funciones armónicas circulares (fac) de orden *m*. Por el contrario, nada dentro de la ecuación (21) nos indica que este valor será un pico en el plano de correlación. Como la detección depende esencialmente de la presencia de un pico en este punto, será necesaria una fuerza suplementaria para que la posición del centro de rotación corresponda a aquella del máximo del plano de correlación.

II.6.1 El centro propio.

Los FAC presentan propiedades interesantes que estimulan su uso. Mas, para que su empleo implique una invarianza real a rotación, el centro de desarrollo del filtro debe ser seleccionado con cuidado. Para lograrlo, el máximo valor de correlación entre el objeto a detectar y el filtro rotado deben coincidir con el centro de desarrollo o rotación del filtro. El pico de correlación debe ser invariante a rotación, por lo tanto, estar situado en el centro de rotación del filtro. A la posición dentro de la imagen que tiene tal propiedad, se le llama el centro propio.

En caso contrario, si el filtro es desarrollado a partir de un punto que no es un centro propio, el máximo del plano de correlación deberá estar situado en un punto diferente del centro de desarrollo. Entonces, la invarianza bajo rotación no se respeta pues un leve cambio en la rotación del objeto, con respecto a la referencia en el plano de entrada, ocasiona una rotación del plano de correlación alrededor del centro de desarrollo del filtro, el cual desplaza al pico de correlación.

El encontrar el centro propio es parte esencial del FAC. El filtro desarrollado posee al mismo tiempo invarianza a rotación y posición. La posición del pico de correlación da en forma precisa la posición del objeto a reconocer, dentro de la escena a examinar. La selección del centro propio puede ser la diferencia entre un resultado excelente y un desastre consumado.

Matemáticamente desearíamos que el punto (ξ,η) donde estará situado el centro propio posea la intensidad más elevada dentro del plano de correlación,

$$|C_{ff}(\xi,\eta)|^{2} \ge |C_{ff}(x,y)|^{2}.$$
(22)

La expresión completa del plano de correlación es:

$$C_{ff}(x,y) = 2\pi \int_{0}^{2\pi} f_m(r;x,y) f_m^*(r;\xi,\eta) r dr,$$
(23)

y se le puede aplicar la desigualdad de Schwartz de las integrales complejas:

$$|C_{ff}(x,y)|^{2} \leq 4\pi^{2} \int_{0}^{2\pi} |f_{m}(r;x,y)|^{2} r dr \int_{0}^{\infty} |f_{m}(r;\xi,\eta)|^{2} r dr.$$
(24)

El valor del plano de correlación en la posición del centro propio está dado por la ecuación (22). Su intensidad es

$$|C_{ff}(x,y)|^{2} = 4\pi^{2} \left[\int_{0}^{\infty} |f_{m}(r;\xi,\eta)|^{2} r dr \right]^{2}.$$
(25)

Si usamos la siguiente condición para el centro propio,

$$\int_{0}^{\infty} |f_{m}(r;\xi,\eta)|^{2} r dr \leq \int_{0}^{\infty} |f_{m}(r;x,y)|^{2} r dr.$$
(26)

la condición (22) se respeta automáticamente y el punto (ξ,η) designa el centro propio de la imagen para el orden armónico circular considerado.

Así, solo la condición (26) nos puede ayudar a encontrar el centro propio que trata de determinar el punto, a partir del cual, puede ser extraída la fac de mayor energía.

Con respecto a la posición del centro propio, la intensidad del pico de correlación es la diferencia principal entre el verdadero centro propio y los centros propios secundarios, mas no es el único criterio de selección. La consideración sobre la sensibilidad al ruido de los FAC ha permitido establecer que un filtro espacialmente pequeño permite obtener una mejor expresión señal-ruido dentro del plano de correlación. Nuestro filtro es un círculo donde el centro es el punto de desarrollo del filtro.

Por otra parte, a una cierta distancia del objeto, la energía armónica circular (para $m \neq 0$) es siempre muy elevada. Esto proviene del fenómeno de lóbulos laterales. Las fac desarrolladas a partir de esta zona hacen que los filtros sean sensibles a la amplitud del objeto y por lo tanto, no son útiles en el reconocimiento y deben ser evitadas. Por consecuencia, los centros propios utilizables estarán situados cerca del centro del objeto.

Prémont (1992) desarrolló una serie de cálculos para encontrar, con mayor rapidez y precisión, los centros propios y efectuar correlaciones invariantes a rotación. El primer paso es encontrar la posición del centro propio calculando el mapa de energía de la imagen, a un orden *m* dado. Para construir una nueva imagen, se debe descomponer la imagen original en sus componentes armónicos circulares $f_m(r; x, y)$. El siguiente paso es combinar sucesivamente los componentes armónicos circulares para obtener imágenes que tiendan progresivamente hacia la imagen original.

Las imágenes reales adicionales se crean adicionando a la vez los órdenes $\pm m$. El resultado es también una imagen real ya que la definición misma de las fac implica que:

$$f_{-m}(r) = f_m^*(r)$$
 . (27)

Esto indica el siguiente resultado después de que los órdenes opuestos son agregados:

$$g(r,\theta) = f_m(r)e^{jm\theta} + f^{-m}(r)e^{-jm\theta} \quad , \tag{28}$$

$$g(r,\theta) = 2 \operatorname{Re} \{ f_m(r) \} \cos(m\theta) \quad . \tag{29}$$

Así, la imagen resultante es completamente real.

II.6.2 Mapa de energía.

Cada vez que se ajusta una fac, es necesario repetir el cálculo del mapa de energía a un orden dado con el fin de encontrar la variación del centro propio. Una diferencia de uno o dos pixeles no se considera un error porque es debida a errores aritméticos ocasionados por el tratamiento numérico de la imagen. La energía en el punto de desarrollo de una imagen ajustada a órdenes diferentes es constante, mientras que aquella en el centro propio de la imagen original aumenta rápidamente a medida que se van ajustando las fac. Si ajustáramos aún mas la imagen, la forma del mapa de energía no sufrirá mas cambios, pero la energía del pico correspondiente al centro propio de la imagen aumentará (Prémont, 1992).

Esto evidentemente no es una prueba experimental, se tiene que demostrar que la posición del centro propio de un orden dado no sólo depende de la fac de ese orden, sino de todos los órdenes desarrollados en la imagen, sin importar donde. Entonces se puede afirmar que la posición del centro propio es una propiedad de una pequeña partida de su descomposición en armónicos circulares.

Para ilustrar la teoría de correlación se puede simular numéricamente la correlación entre las imágenes de los copépodos y el FAC de cualquiera de ellas. Si la imagen y el filtro provienen del mismo organismo, entonces tendremos el caso de una autocorrelación. Por el contrario, si se tratara del filtro de otro organismo, el resultado deberá ser un pico de correlación muy bajo o bien la ausencia del mismo.

II.7 Teoría de los Filtros Armónicos Circulares únicamente de fase.

Un FAC invariante a rotación usa una componente $f_m(r)e^{jm\theta}$ de la expansión de Fourier circular del objeto $f(r,\theta)$, donde los coeficientes de la expansión de Fourier circular son llamados funciones armónicas circulares (fac) (Leclerc, *et al.*, 1989):

$$f_m(r) = \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} f(r,\theta) e^{-jm\theta} d\theta$$
(30)

Un FAC únicamente de fase se obtiene al escribir su módulo en el plano de Fourier igual a uno. En el plano de Fourier, un FAC se escribe en coordenadas polares (ρ, ϕ) por medio de $F_m(\rho)e^{jm\phi}$,

$$F_{m}(\rho) = 2\pi (-j)^{m} \int_{0}^{\infty} f_{m}(r) J_{m}(2\pi r \rho) r dr , \qquad (31)$$

donde $J_m(x)$ es la función de Bessel de orden m. La ecuación (31) es la transformada de Hankel de orden m-ésimo de la fac $f_m(r)$. $F_m(\rho)$ es también la FAC de la transformada de Fourier del objeto. $|F_m(\rho)|$ corresponde a la amplitud de transmitancia de un FAC óptico y por lo tanto en un FAC clásico $|F_m(\rho)| \le 1$. En los FAC únicamente de fase $|F_m(\rho)| = 1$ así que no hay absorción de luz debida al filtro. El FAC únicamente de fase puede escribirse como

$$H_{\rho}(\rho,\phi) = e^{\alpha_m(\rho)} e^{jm\phi}, \qquad (32)$$

donde $\alpha_m(\rho)$ es la fase de $F_m(\rho)$. En un FAC clásico la función $F_m(\rho)$ contiene la información del objeto. En un FAC únicamente de fase es la función de fase $\alpha_m(\rho)$ de $F_m(\rho)$ la que contiene la información del objeto. La modificación $|F_m(\rho)| = 1$ debería de cambiar el comportamiento del filtro. La fac elemental únicamente de fase, $e^{jm\phi}$, asegura la invarianza a rotación del filtro.

II.7.1 Correlación de salida.

El centro de la correlación de salida de un FAC únicamente de fase para una función de entrada g(x, y) deberá ser

$$C_m = \int_0^\infty \int_0^{2\pi} \left[\sum_m G_m(\rho) e^{jm\phi} \right] e^{-jm(\rho)} e^{-jm\phi} \rho d\rho d\phi$$

1 1 Kg +3 m

33

$$=2\pi\int_{0}^{\infty} |G_m(\rho)| e^{j(\beta_m(\rho)-\alpha_m(\rho))} \rho d\rho , \qquad (33)$$

donde $G_m(\rho)$ es la fac de la transformada de Fourier de la entrada y $\beta_m(\rho)$ es la fase de la $G_m(\rho)$. Cuando la entrada rota un ángulo θ_0 , su espectro de Fourier rota el mismo ángulo. Las componentes armónicas circulares (cac) de la transformada de Fourier serán multiplicadas por un factor de fase $e^{jm\theta_0}$. La intensidad del centro de correlación $|C_m|^2$ de los FAC únicamente de fase es invariante bajo una rotación del objeto o del filtro.

Considérese la ecuación (33) como una suma de vectores complejos con fases $\beta_m(\rho) - \alpha_m(\rho)$ y módulo $|G_m(\rho)|\rho$. Cuando la entrada g(x, y) = f(x, y), todos los vectores se suman en fase y

$$C_m = 2\pi \int_0^\infty \left| F_m(\rho) \right|^2 \rho d\rho \,. \tag{34}$$

Para asegurar que el centro de la correlación será un máximo en el plano de correlación, el origen de las coordenadas polares para la expansión de los FAC del objeto debe ser escogido adecuadamente. De manera similar a la metodología para determinar los centros propios de los FAC clásicos, cuando se diseña un FAC únicamente de fase, debe calcularse un mapa de energía de la forma

$$E_m(\xi,\eta) = 2\pi \int_0^\infty |F_m(\rho;\xi,\eta)| \rho d\rho$$
(35)

para cada centro de expansión (ξ, η) en el plano objeto. El punto (ξ, η) para el máximo $E_m(\xi, \eta)$ se toma entonces como el centro propio del FAC únicamente de fase.

Notemos al comparar que el centro de correlación de un FAC clásico es la suma de los vectores complejos de fase $\beta_m(\rho) - \alpha_m(\rho)$ y el módulo $|G_m(\rho)| |F_m(\rho)| \rho$. Cuando la entrada g(x, y) = f(x, y), el centro de correlación es igual a $C_m = 2\pi \int_0^\infty |F_m(\rho)|^2 \rho d\rho$. Tanto los FAC clásicos como los únicamente de fase "emparejan" la fase de la fac de la transformada de Fourier de la entrada $G_m(\rho)$ con la de la imagen problema $|F_m(\rho)|$. Pero ya que $|F_m(\rho)| \le 1$ en un FAC clásico, los FAC únicamente de fase producirán un centro de correlación con una intensidad mucho más alta.

II.8 Teoría de los Filtros Armónicos Circulares promediados.

Los FAC promediados necesitan de un banco de filtros de 2-10 FAC de diferentes órdenes de la misma imagen. Las coordenadas de los picos de correlación de cada FAC y las distancias entre los picos son tomadas como las características invariantes a rotación para el reconocimiento. Estas distancias son parámetros nolineales de la imagen, por lo que aunque la intensidad del pico de correlación de un FAC depende de una sola componente armónica, la localización del pico depende de todos los órdenes de la imagen.

El pico de correlación de un FAC representa el reconocimiento de un solo orden armónico circular de la imagen. Su intensidad $|C_m(0,0)|^2$ depende tan sólo del m-ésimo orden armónico circular y no se ve afectada por cambios de otros órdenes debido a la ortogonalidad de la expansión armónica circular. En principio hay una infinidad de

34

imágenes que pueden tener las mismas intensidades de correlación en el centro con un conjunto dado de FAC de orden $m_1, m_2, ..., m_N$. Esas imágenes pueden ser construídas a partir de los mismos componentes armónicos circulares de orden $m_1, m_2, ..., m_N$ como aquél del banco de FAC, pero de diferentes componentes armónicos circulares de orden $m \neq m_1, m_2, ..., m_N$. Mas aún, cualquier rotación de cualquiera de las componentes armónicas circulares por ángulos arbitrarios puede dar lugar a nuevas imágenes que todavía dan las mismas intensidades en el centro de la correlación. Danielsson (1989) observó que los FAC no discriminan bien contra esas imágenes. Arsenault (1989b) indicó que la mayor parte de las imágenes generadas mediante la rotación y cambio de los componentes armónicos circulares son imágenes artificiales. Por lo que es poco probable que esas imágenes estuvieran en la imagen de entrada y fueran confundidas con el objeto a reconocer.

El comentario de Danielsson es cierto cuando uno considera sólo las intensidades de la correlación en el centro. Sin embargo, los FAC tienen la interesante propiedad de que el filtro realiza la expansión circular armónica de la imagen de entrada en cada punto del plano de entrada mediante la correlación con el término $e^{jm\theta}$ en el FAC. Otro término $f_m(r)$ que contiene la información del objeto se va a comparar con los resultados de las expansiones circulares armónicas. Por lo tanto, las correlación bidimensional $C_m(x', y')$ de un solo FAC contiene información de toda la imagen y puede cambiar cuando cambian otros órdenes.

Para determinar las localizaciones relativas de los picos de correlación se deben utilizar FAC promediados de diferentes órdenes de la imagen. El banco de filtros generalmente consiste de 2-10 órdenes. Es necesario tomar en cuenta las coordenadas de los picos de correlación de cada orden. Las distancias entre los picos de correlación son utilizadas como las características invariantes a rotación y ubicación.

Supongamos que el banco de filtros consiste de FAC de orden $m_1, m_2, ..., m_N$ y que se utiliza un clasificador determinístico con el criterio de mínima distancia. La probabilidad de que la correlación de la imagen de entrada con el FAC genere una falsa detección es muy pequeña. La probabilidad de generar dos picos de correlación con el FAC de orden m_i y m_j a una distancia igual a $d_{i,j}$ del vector prototipo es aún menor. Sea $p_{i,j}$ esa probabilidad y supongamos también que todos los eventos son independientes, entonces la probabilidad de una falsa detección al utilizar FAC promediados es la probabilidad de los eventos conjuntos:

$$p_{12}p_{13}p_{23}...P_{(N-1)N} \quad . \tag{35}$$

Esta probabilidad es muy pequeña. Si se incrementa el número N de los FAC promediados, puede incrementar la certeza de la detección y reducirse la probabilidad de una falsa detección.

36

1. 1 16 +3

II.9 Programa para generar Filtros Armónicos Circulares clásicos, únicamente de fase y promediados.

El programa funciona de la siguiente manera (Fig. 3): Primero genera una imagen (matriz) ponderada o normalizada de la imagen seleccionada. Para ello calcula el radio de las funciones armónicas circulares (fac) de la imagen donde cada pixel tiene el valor inverso del cuadrado del radio de la fac desarrollada en ese mismo punto. Posteriormente, la matriz ponderada es guardada en un archivo, ya que será utilizada más adelante para inferir las coordenadas iniciales del centro propio o geométrico de la imagen.

A continuación encuentra las coordenadas finales del centro propio o centro de expansión de la imagen. Por ello es importante contar con la matriz ponderada y seleccionar un orden o frecuencia para comenzar a trabajar. A partir del orden seleccionado se desarrollarán las fac que servirán para encontrar el centro propio adecuado.

Para encontrar el centro propio, Prémont (1992) utilizó un método de anillamiento que reduce los cálculos. Menciona que, utilizando una terminal SUN Sparc Station, su programa llegó a ser dos órdenes de magnitud más rápido que el de sus antecesores.

Finalmente, el programa desarrolla el FAC a partir del centro propio encontrado y lo verifica mediante la función de autocorrelación. El pico máximo de correlación no debe estar distribuido a más de ocho pixeles de las coordenadas del centro propio encontrado. Cuando el programa encuentra el centro propio adecuado, entonces almacena (en archivos separados) el módulo, la parte real, imaginaria y compleja del FAC para su posterior graficado. Si el programa no encuentra el centro propio adecuado de la imagen, entonces es necesario correr de nuevo todo el programa, pero seleccionando un orden diferente. Prémont sugiere que el rango de órdenes dentro del cual se debe buscar el centro propio va de 1 a 15, debido a que en su experiencia, los órdenes fuera de este rango no contienen información relevante de la imagen.

El aspecto mas importante consiste en probar el poder de detección del filtro generado mediante correlaciones cruzadas. Para ello se generaron diferentes imágenes problema. Estas imágenes contienen a las especies seleccionadas en diferente posición o bien rotadas $(30^{0}-315^{0})$. Si un organismo dentro de la imagen problema es el mismo que el del filtro utilizado, entonces veremos un pico de correlación en la posición donde se encuentra el organismo. Si se tuviera más de un mismo organismo dentro de la imagen, que corresponda al del filtro, entonces obtendremos igual número de picos de correlación en la salida.

PASO 1



Figura 3. Diagrama de flujo del programa para generar filtros armónicos circulares.

39

III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.1 Patrones de difracción como herramienta para identificar copépodos calanoides.

Se generaron 56 imágenes, 28 corresponden a organismos y las 28 restantes a sus respectivos patrones de difracción (Figs. 4-9). En todo momento se conservó la misma orientación en los organismos para que las diferencias en las correlaciones se debieran exclusivamente a los organismos y no a su ángulo de orientación.

Se generó una matríz de correlación de 28x28 para cada juego de datos. En general, los valores de correlación para cada una de las imágenes de los organismos fueron más altos que los de los patrones de difracción. Se realizó una comparación entre ambos juegos de datos para probar la hipótesis de que no existía diferencia significativa entre los juegos de datos. El resultado fue 0.66 (P < 0.05), por lo que no existe diferencia significativa entre las imágenes de los organismos y las de los patrones de difracción.

Se generaron un total de 12 dendrogramas, seis para cada juego de datos. En ellos se muestran las diferentes asociaciones que existen entre los juegos de datos y se colorearon (Tabla II) para poder discriminar el sexo, especie y género de los organismos. Los ejes de las x representan a las diferentes variables de segmentación involucradas y los ejes de las yrepresentan las distancias Euclidianas de unión.

En primer lugar utilizamos las imágenes y patrones de difracción de todos los organismos completos (Tabla III). Tanto las imágenes de los organismos como los patrones



Figura 4. Patrón de segmentación para *A. californiensis*, hembra. A1 = completa; A2 = sin primera antena; A3 = sin ambas primeras antenas; A4 sin urosoma; A5 = sin las primeras antenas y sin urosoma (sólo el cuerpo).



Figura 5. Patrón de segmentación para *A. californiensis*, macho. B1 = completo; B2 = sin primera antena; B3 = sin ambas primeras antenas; B4 sin urosoma; B5 = sin las primeras antenas y sin urosoma (sólo el cuerpo).



Figura 6. Patrón de segmentación para *A. tonsa*, hembra. C1 = completa; C2 = sin primera antena; C3 = sin ambas primeras antenas; C4 sin urosoma; C5 = sin las primeras antenas y sin urosoma (sólo el cuerpo).



Figura 7. Patrón de segmentación *para A. tonsa*, macho. D1 = completo; D2 = sin primera antena; D3 = sin ambas primeras antenas; D4 sin urosoma; D5 = sin las primeras antenas y sin urosoma (sólo el cuerpo).

** **



Figura 8. Patrón de segmentación para C. pacificus, hembra. E1 = completa; E2 = sin apéndices; E3 = sin apéndices y la primer antena; E4 = sin apéndices y urosoma.



Figura 9. Patrón de segmentación para C. pacificus, macho. F1 = completo; F2 = sin apéndices; F3 = sin apéndices y la primer antena; F4 = sin apéndices y urosoma.

de difración discriminaron a los géneros *Acartia* (A1, B1, C1 y D1) y *Calanus* (E1 y F1). Las distancias de unión para las imágenes de los patrones de difracción fueron menores que las distancias de las imágenes de los organismos, esto indica que hay una menor similitud o mayor discriminación en los patrones de difracción. Lo anterior se corrobora (Tablas IV y V) al discriminar a la hembra y macho de *A. californiensis* (A1, B1; distancia 0.76) de la hembra y macho de *A. tonsa* (C1, D1, distancia 0.83), así como al macho de *C. pacificus* (F1, distancia 0.87) y la hembra de *C. pacificus* (E1; distancia 0.94).

Tabla III.	Matrices	de	distancia	de	unión	para	los	seis	copépodos	completos	y :	sus	patrones
	de difrace	ciór	1.										

Variable	A1	B1	C1	D1	E1	F1
A1	0.00			-		
B1	0.76	0.00				
C1	0.83	0.75	0.00			
D1	0.83	0.78	0.80	0.00		
E1	0.94	1.05	1.04	1.12	0.00	
F1	0.87	0.97	0.97	1.04	0.73	0.00

Patrones de Difracción

Organismos

A1	0.00					
B1	1.27	0.00				
C1	1.02	0.78	0.00			
D1	1.13	1.09	0.80	0.00		
E1	1.43	1.24	1.29	1.06	0.00	

Tabla IV. Matrices de distancia de unión para las tres hembras y sus patrones de difracción.

Variable	A1	B1	C1
A1	0.00		
C1	0.83	0.00	
E1	0.94	1.04	0.00

Patrones de Difracción

Organismos

A1	0.00		
C1	1.02	0.00	
E1	1.43	1.29	0.00

Tabla V. Matrices de distancia de unión para los tres machos y sus patrones de difracción.

Patrones de Difracción

Variable	B1	D1	F1
B1	0.00		
D1	0.78	0.00	
F1	0.97	1.04	0.00

Organismos

B1	0.00		
D1	1.09	0.00	
F1	2.44	2.51	0.00

Al tomar en cuenta todas las variables de segmentación en las 28 imágenes de los organismos y sus respectivos patrones de difracción (Fig. 10 a y b) se obtuvieron mayores asociaciones que equivalen al género, especie y sexo de los organismos. Una vez más, las

distancias de unión para las imágenes de los patrones de difracción fueron menores (50%) que las distancias de las imágenes de los organismos, esto indica que hay una menor similitud o mayor discriminación en los patrones de difracción. La hembra segmentada de A. californiensis (A1, A2 y A4; color rojo) forma un grupo separado del macho (B1, B2 y B4, color naranja) y los sexos se unen a una distancia de 0.8 en la especie *californiensis* (color café). La hembra segmentada de A. tonsa (C1, C2 y C4, color azul claro) está separada del macho (D1, D2 y D4, color gris claro) y a una distancia de 0.8 forman la especie tonsa (color lila). Todos estos grupos conforman el género Acartia (color negro) muy separado del género Calanus (morado). Se observan dos grupos conformados por C. pacificus, uno de ellos contiene imágenes con las variables de segmentación 1 y 2, mientras que el otro contiene a las variables 3 y 4, sin embargo en ambos grupos se separan las hembras de los machos. Una posible razón para este arreglo es que comunmente C. pacificus, es preservado de costado y sin las antenas extendidas, por lo tanto no tiene simetría, haciendo más complicada su discriminación

Al extraer del análisis a las imágenes con el mayor grado de segmentación (variables 4 y 5), los dendrogramas para los patrones de difracción (Fig. 11a) volvieron a discriminan género, especie y sexo de los géneros *Acartia* y *Calanus*.

Finalmente probamos el poder de discriminación utilizando sólo las imágenes con el mayor grado de segmentación. En este caso ni los patrones de difracción ni las imágenes de los organismos discriminan correctamente, aunque si notamos que la variabilidad de las distancias de unión (eje y) es casi 50% menor en los dendrogramas de los patrones de

difracción. No se deben utilizar sólo imágenes con un mayor grado de segmentación si se quiere discriminar a nivel especie o sexo.



(a)



Figura 10. Dendrogramas de unión completa con todas las variables de segmentación para los patrones de difracción (a) y los organismos (b).



(a)



Figura 11. Dendrogramas de unión completa sin las variables 4 y 5 para los patrones de difracción (a) y los organismos (b).



(a)



Figura 12. Dendrogramas de unión completa para los patrones de difracción (a) y los organismos (b) con un mayor grado de segmentación.

III.2 Correlaciones invariantes de FAC clásicos y únicamente de fase contra imágenes binarias.

Utilizando imágenes binarias de *A. californiensis*, *A. tonsa* y *C. pacificus*, se generaron sus FAC clásicos y únicamente de fase para posteriormente correlacionarlos digitalmente contra varias imágenes problema (256 x 256 pixeles) en las que se encontraban diferentes combinaciones de los organismos seleccionados con diferentes orientaciones y ubicaciones. Se utilizó una computadora 686, 32MB de RAM y disco duro de 1.2 Gbytes con sistema de multitareas WINDOWS 95.

Debemos recordar que el punto clave del reconocimiento invariante a rotación y ubicación mediante FAC es encontrar el centro propio (centro geométrico) a un orden de expansión dado. Al reescribir las subrutinas logramos disminuir el tiempo de cómputo. Los órdenes apropiados (aquéllos con una diferencia entre el centro propio y el máximo pico de energía menor a 8 pixeles) fueron utilizados para generar los FAC clásicos y únicamente de fase de cada organismo (Tabla VI).

Para validar el desempeño de todos los FAC clásicos y únicamente de fase se realizaron correlaciones digitales de cada uno de los filtros contra 30 imágenes binarias de organismos del mismo sexo, género y especie. De esta manera se seleccionó el filtro con mejor desempeño para ser utilizado en las pruebas de discriminación. La Tabla VII presenta las estadísticas básicas obtenidas y se puede apreciar que los FAC únicamente de fase tienen en general una media superior a la de los FAC clásicos, es decir, su poder de discriminación es mayor. El Anexo A contiene el catálogo de filtros y banco de imágenes de las especies seleccionadas.

54

Tabla	VI.	Ordenes apropiados para cada organismo. Se incluyen las coordenadas de los
		centros propios verdaderos, máximo de energía y su diferencia, tanto para FAC
		clásicos (C) como únicamente de fase (F).

Organismo	Filtro	Orden	Centro Propio	Máximo de Energía	Diferencia	Tiempo de Cómputo (minutos)
C. pacificus,	C	3	133,99	136,95	3,4	3
hembra		13	119,128	122,126	3,2	24
C. pacificus,	F	12	128,180	133,74	5,6	22
macho		15	139,80	137,85	2,5	29
<i>A</i> .	С	4	134,128	136,128	2,0	4
californiensis,		15	131,128	133,129	2,1	29
hembra						
<i>A</i> .		10	134,128	138,133	4,5	21
californiensis,	F	12	134,128	126,122	8,6	22
hembra		14	133,128	139,128	6,0	28
		15	131,128	131,128	2,7	29
А.		4	121,128	128,135	7,7	3
californiensis,	C	11	124,128	130,129	6,1	21
macho		12	123,128	131,129	8,1	23
		3	131,101	128,95	3,6	3
		4	130,128	129,131	1,3	3
		6	130,128	129,130	1,2	9
		7	131,128	125,129	6,1	12
A. tonsa,		8	129,128	129,128	0,0	15
hembra	C	9	130,128	126,130	4,2	18
		10	131,128	129,129	2,1	21
		12	129,128	129,129	0,1	23
		13	129,128	130,129	1,1	23
		14	130,128	129,129	1,1	27
		15	131,128	128,129	3,1	29
A. tonsa,	F	13	129,128	128,129	1,1	23
hembra						

T 11	X TT	a	• /
Labla	VI.	Continu	lacion.

Organismo	Filtro	Orden	Centro Propio	Máximo de Energía	Diferencia	Tiempo de Cómputo (minutos)
		4	126,128	128,127	2,1	3
		6	125,128	128,130	3,2	8
		7	125,128	133,126	8,2	11
A. tonsa,		10	127,128	129,130	2,2	21
macho	C	11	129,128	127,128	2,0	23
		12	131,128	125,130	6,2	23
		13	130,128	127,128	3,0	23
		15	130,128	127,129	3,1	28
A. tonsa, macho	F	13	130,128	127,128	3,0	23

TablaVII. Estadísticas básicas de las correlaciones entre FAC clásico (C) o únicamente de fase (F) y una imagen con dos organismos. El número entre paréntesis indica el orden del filtro.

Filtro	Imagen	n	Media	Error (±)	Min-Max
A. californiensis, hembra (F15)	A. californiensis, hembra	5	0.61	0.05	60-82
A. californiensis, hembra (C15)	A. californiensis, hembra	5	0.72	0.09	55-92
A. californiensis, macho (C4)	A. californiensis, macho	5	0.69	0.06	51-90
A.tonsa, hembra (C13)	A. tonsa, hembra	5	0.70	0.04	61-85
A.tonsa, hembra (F13)	A. tonsas, hembra	5	0.75	0.13	60-89
A.tonsa, macho (C4)	A. tonsa, hembra	5	0.70	0.11	58-78

Tabla VII. Continuación.

Filtro	Imagen	n	Media	Error (±)	Min-Max
A. tonsa, macho (F13)	A. tonsa, macho	5	0.73	0.07	61-81
C. pacificus, hembra (C3)	C. pacificus, hembra	30	0.71	0.08	61-80
C. pacificus, macho (F4)	C. pacificus, macho	30	0.70	0.07	49-76
C. pacificus, macho (F5)	C. pacificus, macho	30	0.70	0.07	57-79
C. pacificus, macho (F9)	C. pacificus, macho	30	0.70	0.07	62-80
<i>C. pacificus</i> , macho (F10)	C. pacificus, macho	30	0.70	0.07	61-80

Comenzamos estos experimentos considerando el caso más sencillo, dos organismos del género *Acartia* y dos del género *Calanus* con la misma orientación (Fig. 13). Se utilizó el FAC clásico, orden 3, de la hembra de *C. pacificus* para contar los cuatro organismos presentes y discriminar los géneros *Acartia* y *Calanus*.

Para comprobar que el FAC clásico, orden 3, de la hembra de *C. pacificus* es realmente invariante a cambios de rotación, se generó otra imagen, ahora con tres organismos del género *Calanus* (dos hembras y un macho) y uno del género *Acartia* (Fig. 14). A pesar de que las hembras de *C. pacificus* tienen diferente orientación fue posible contar a los cuatro organismos y discriminar los géneros *Acartia* y *Calanus*.

Morfológicamente *A. tonsa* y *A. californiensis* son muy similares, por ello se generaron una imágenes con dos organismos a reconocer con diferente orientación (Fig. 15) y con la misma orientación (Fig. 16). En ambos casos, el FAC clásico, orden 4, del macho

de *A. tonsa* nos permitió contar los cuatro organismos, diferenciar las especies involucradas, además del sexo de *A. tonsa*.

En un campo real de microscopio podríamos tener hasta cinco copépodos de los géneros *Acartia* y *Calanus* (Fig. 16). El FAC únicamente de fase, orden 13, de la hembra de *A. tonsa.* reconoce al organismo, pero no podemos asegurar que se estén contando a todos los organismos puesto que se observan más de 5 picos.

Debido a que una imágen puede llegar a tener varios centros propios, utilizamos diferentes promedios de los órdenes que resultaron ser centros propios adecuados (4, 5, 9 y 10) para el FAC únicamente de fase de un macho de *C. pacificus* que nos permitieron contar los cuatro copépodos, discriminar los géneros *Acartia* y *Calanus* y el sexo de *C. pacificus*.



Figura 13. Prueba de discriminación del FAC clásico, orden 3, de la hembra de C. pacificus. (a) imagen problema, (b) organismo a reconocer y (c) salida de correlación.


Figura 14. Prueba de discriminación del FAC clásico, orden 3, de la hembra de C.
 pacificus. (a) imagen problema, (b) organismo a reconocer y (c) salida de correlación.



Figura 15. Prueba de discriminación del FAC clásico, orden 4, del macho de A. tonsa. (a) imagen problema, (b) organismo a reconocer y (c) salida de correlación.



Figura 16. Prueba de discriminación del FAC clásico, orden 4, del macho de A. tonsa. (a) imagen problema, (b) organismo a reconocer y (c) salida de correlación.



Figura 17. Prueba de discriminación del FAC únicamente de fase, orden 13, de la hembra de *A. tonsa*. (a) imagen problema, (b) organismo a reconocer y (c) salida de correlación.



Figura 18. Prueba de discriminación del FAC únicamente de fase promediando los órdenes 4, 5, 9 y 10 del macho de *C. pacificus*. (a) imagen problema, (b) organismo a reconocer y (c) salida de correlación.

III.3 Correlaciones invariantes de FAC clásicos y únicamente de fase contra imágenes en tonos de grises.

Utilizar imágenes en tonos de grises nos hacerca más a la realidad al hacer observaciones con el microscopio. Para este experimento se utilizaron imágenes en tonos de grises de *A. californiensis*, *M. pacifica* y *C. pacificus*. Los FAC clásicos y únicamente de fase generaron con el mismo programa y en la misma computadora (Tabla VIII).

Tabla	VIII.	Ordenes	apropia	dos para cac	la organis	smo	. Se incl	uye	n l	las coorden:	adas d	e los
		centros	propios	verdaderos,	máximo	de	energía	у	su	diferencia,	tanto	para
		filtros c	lásicos ((C) como únic	camente d	e fa	se (F).					

Organismo	Filtro	Orden	Centro Propio	Máximo de Energía	Diferencia	Tiempo de Cómputo (minutos)
		2	129,125	130,125	1,0	2
		3	127,124	129,126	2,2	3
C. pacificus 1	С	4	129,122	130,122	1,0	3
		6	130,128	133,136	3,8	13
		11	127,124	127,124	0,0	15
C. pacificus 1	F	4	129,122	133,130	4,8	3
		15	129,126	126,118	3,8	28
C. pacificus 2	F	6	127,128	129,129	2,1	10
		15	132,128	146,123	8,5	29
C. pacificus 3	C	14	139,128	139,130	0,2	25
		15	141,128	141,133	0,5	29
C. pacificus 3	F	2	124,134	124,130	0,4	2
CON END		15	141,128	141,127	0,1	29
C. pacificus 4	С	7	120,121	120,121	0,0	15
		5	125,128	126,128	1,0	8
C. pacificus 4	F	6	129,128	129,128	0,0	11
11 UZ2		14	126,128	123,126	3,2	27
		15	127,128	125,127	2,1	29

Tabla VIII. Continuación.

Organismo	Filtro	Orden	Centro Propio	Máximo de Energía	Diferencia	Tiempo de Cómputo (minutos)
		2	149,128	153,127	4,1	2
M. pacifica 1	С	7	120,120	125,117	5,3	15
		8	127,119	126,121	1,2	20
		10	110,128	109,125	1,3	23
M. pacifica 1		8	127,119	125,124	2,5	19
	F	11	126,118	131,115	5,3	23
		14	115,124	123,116	8,8	26
M. pacifica 2	С	2	130,124	131,124	1,0	3
		2	101,128	101,128	0,0	3
M. pacifica 3	С	3	104,128	104,128	0,0	3
949 108		4	103,128	102,128	1,7	9
M. pacifica 3	F	4	103,128	107,128	4,7	9
anan Tras.		9	130,128	130,134	0,6	21
		3	125,128	130,134	5,6	3
		6	141,128	144,129	3,1	9
M. pacifica 4	C	11	130,123	131,124	1,1	19
		14	126,128	127,129	1,1	28
		15	127,128	125,125	2,3	29
M. pacifica 4	F	9	130,124	124,130	6,6	16
KO KU		12	143,128	145,128	2,0	19
		3	155,128	159,130	4,2	3
M. pacifica 5	C	4	161,128	157,125	4,3	6
		10	152,128	153,128	1,0	20
M. pacifica 6	F	7	131,128	139,133	8,5	14
*** 5 <u>6</u>		9	130,128	122,126	8,2	18
M. pacifica 7	C	5	90,128	96,128	6,4	9
		14	146,128	150,135	4,7	28
		4	128,113	128,113	0,0	3
M. pacifica 8	C	6	146,128	151,132	5,4	8
		8	126,128	127,128	1,0	15
M. pacifica 8	F	4	128,113	121,109	7,4	3
M. pacifica 9	С	7	129,128	129,128	0,0	9
M. pacifica 9	F	7	129,128	129,128	0,0	9

Una vez más, para validar el desempeño de todos los FAC clásicos y únicamente de fase se realizaron correlaciones digitales de cada uno de los filtros contra 30 imágenes en tonos de grises de organismos del mismo sexo, género y especie. De esta manera se seleccionó el filtro con mejor desempeño para ser utilizado en las pruebas de discriminación. La Tabla IX presenta las estadísticas básicas obtenidas y se puede ver que los FAC únicamente de fase tienen, en general, una media superior a la de los FAC clásicos de *C. pacificus* tienen un valor de 0.69 ± 0.09 y los FAC únicamente de fase un valor de 0.7 ± 0.07 . Para *M. pacifica* el valor promedio de sus FAC clásicos fue de 0.7 ± 0.08 y el de sus FAC únicamente de fase 0.69 ± 0.07 . El Anexo A contiene el catálogo de filtros y banco de imágenes de las especies seleccionadas.

Tabla IX. Estadísticas básicas de los valores de correlación para FAC clásico (C) y únicamente de fase (F) de imágenes en tonos de grises. El número entre paréntesis indica el orden del filtro.

Filtro	Imagen	n	Media	Error (±)	Min-Max
C. pacificus 1 (C2)	C. pacificus	30	0.68	0.07	60-72
C. pacificus 1 (C4)	C. pacificus	30	0.68	0.07	55-87
C. pacificus 1 (F15)	C. pacificus	30	0.71	0.06	57-79
C. pacificus 3 (F15)	C. pacificus	30	0.69	0.06	63-85

Tabla IX. Continuación.

Filtro	Imagen	n	Media	Error (±)	Máximo-Mínimo
C. pacificus 4 (C7)	C. pacificus	30	0.70	0.11	62-78
C. pacificus 4 (F6)	C. pacificus	30	0.69	0.09	61-77
M. pacifica 1 (C2)	M. pacifica	30	0.70	0.10	60-78
M. pacifica 1 (F8)	M. pacifica	30	0.67	0.06	63-80
M. pacifica 2 (C2)	M. pacifica	30	0.68	0.07	65-81
M. pacifica 3 (C2)	M. pacifica	30	0.71	0.06	60-78
M. pacifica 3 (F9)	M. pacifica	30	0.69	0.07	61-77
M. pacifica 4 (C15)	M. pacifica	30	0.70	0.10	64-76
M. pacifica 4 (F12)	M. pacifica	30	0.71	0.07	68-76
M. pacifica 5 (C10)	M. pacifica	30	0.68	0.11	60-70
M. pacifica 6 (F9)	M. pacifica	30	0.70	0.07	61-77
M. pacifica 7 (C5)	M. pacifica	30	0.70	0.10	49-76
M. pacifica 8 (C4)	M. pacifica	30	0.66	0.06	60-71
M. pacifica 8 (F4)	M. pacifica	30	0.69	0.09	64-73
M. pacifica 9 (C7)	M. pacifica	30	0.71	0.06	60-79
M. pacifica 9 (F7)	M. pacifica	30	0.68	0.08	65-78

Para probar el poder de discriminación de los FAC clásicos y de fase generamos una imagen problema que contiene dos organismos de *C. pacificus* con diferente orientación y otros dos *M. pacifica*. Se utilizó la imagen la hembra de *C. pacificus* 1 porque de ella se obtuvieron FAC clásicos, orden 2, 4 y FAC de fase, orden 15 (Tabla VIII).

El FAC clásico (Fig. 19) sólo cuenta a los dos organismos de *C. pacificus* y diferencia los dos géneros, sin importar si se utiliza un sólo orden o un promedio de órdenes.

Utilizando cuatro hembras de *M. pacifica* en diferentes posiciones y orientaciones y el FAC clásico, orden 10, de la hembra *M. pacifica* no fue posible contar los cuatro organismos de *M. pacifica* (Fig. 21).



Figura 19. Prueba de discriminación del FAC clásico, orden 2 y 4 de *C. pacificus*.
(a) Imagen problema, (b) organismo a reconocer, (c) salida de correlación para el orden 2, (d) salida de correlación para el orden 4 y (e) salida de correlación para el promedio de los órdenes 2 y 4.



Figura 20. Prueba de discriminación del FAC únicamente de fase, orden 15, de la hembra de *C. pacificus.* (a) imagen problema, (b) organismo a reconocer y (c) salida de correlación.



Figura 21. Prueba de discriminación del FAC clásico, orden 10, de la hembra de *M. pacifica* 5. (a) imagen problema, (b) organismo a reconocer y (c) salida de correlación.

IV CONCLUSIONES

En el presente trabajo presentamos un procesamiento digital que puede ser muy útil para que cualquier persona, sin necesidad de ser un experto, pueda contar e identificar organismos planctónicos. Ya que muy pocos técnicos pueden trabajar continuamente separando, contando, identificando y midiendo microorganismos, el sistema propuesto puede ayudar a hacer más eficiente todo este importante proceso. Además, la creación del banco digital de imágenes y filtros de las especies seleccionadas, puede hacer más factible que los investigadores interesados tengan un acceso más rápido y sencillo a nuestra metodología. Es claro que actualmente se requiere aumentar el número de taxónomos expertos a la par de desarrollar sistemas automatizados de identificación que permitan apoyar la investigación básica en ecología del plancton marino (Jeffries *et al.*, 1980).

Se han realizado muchos intentos para lograr el análisis automático del plancton (Sheldon y Parsons, 1967; Beers, 1976; Fawell, 1976; Ortner, 1979; Herman y Dauphinee, 1980; Herman y Mitchell, 1981; Liacapoulos, 1983; Latrous, 1984; Rolke y Lenz, 1984). Sin embargo, ninguno de estos sistemas encontró uso general debido a su inhabilidad para discriminar entre grupos taxonómicos (Jeffries, *et al.*, 1984).

Debido a que la gran parte de las técnicas de procesado óptico coherente son financiadas por la industria militar de países desarrollados, los objetos a reconocer son tanques, aviones o letras (Caulfield y Maloney, 1969; Casasent y Psaltis, 1976 y Leclerc *et al.*, 1991). Afortunadamente el reconocimiento óptico de patrones basado en la

73

transformada de Fourier o patrón de difracción (Cairns *et al.*, 1972; Almeida *et al.*, 1976; Jeffries *et al.*, 1980, 1984; Coronel-Beltrán, 1988; Zavala-Hamz *et al.*, 1996; Zavala-Hamz y Alvarez-Borrego, 1997) ha logrado aceptación por parte de los planctólogos quienes ahora trabajan en colaboración con ópticos y electrónicos para lograr mejores resultados (Valdecasas, *et al.*, 1997).

Quisimos comenzar el trabajo explorando la posibilidad de utilizar a los patrones de difracción como herramienta para reconocer copépodos calanoides porque ellos son la base de la mayor parte de las técnicas de procesado de imágenes. Al trabajar con patrones de difracción estamos trabajando en el campo de las frecuencias por lo que se puede analizar mucho mejor la información de la imagen. Al utilizar imágenes de copépodos con diferente grado de segmentación pudimos explorar el poder de discriminación del método. Las imágenes de los patrones de difracción discriminaron género, especie y aún el sexo de las especies seleccionadas, esto se puede ver en la escala de los dendrogramas de patrones de difracción que tienen 50% menor variabilidad que los dendrogramas de las imágenes de los organismos.

Los primeros autores que trabajaron con FAC hace 12 años no poseían computadoras veloces, por lo tanto tenían que utilizar imágenes más pequeñas (64x64 o 128x128 pixeles) y sus programas tardaban varias horas en generar un sólo filtro (Prémont y Sheng, 1993; Arsenault, 1988). En nuestro caso utilizamos imágenes de 256x256 pixeles, gracias a la computadora utilizada y a la manera en que se reescribieron las subrutinas el

74

tiempo de computo para generar 15 filtros de una sola imagen fue de 3 horas, mientras que a Prémont le tomaba el doble de tiempo con imágenes 16 veces más pequeñas.

Las imágenes problema generadas a partir de contornos binarizados de los organismos seleccionados nos permitieron disminuir el margen de error debido a que sólo el organismo representa información. Todos los filtros nos permitieron contar y discriminar a los organismos seleccionados. Al utilizar imágenes problema de organismos en tonos de grises los filtros (clásicos, únicamente de fase y promediados) se desempeñaron bastante bien aunque en ocasiones no contaban a todos los organismos o la salida de correlación tenía un poco más de ruido.

En muchos casos encontramos que una sola imagen puede tener varios centros propios, uno principal y otros secundarios. Si esto ocurría, la elección del orden a partir del cual se genera el filtro era complicada ya que depende de cual es la salida de correlación que contiene el menor ruido posible. Lo anterior fue validado estadísticamente tanto para las imágenes binarias (Tabla VII) como en tonos de gris (Tabla XIX). De este análisis podemos mencionar que tanto los FAC clásicos, únicamente de fase como los promediados, generados en nuestro sistema digital, reconocen al organismo deseado dentro de una imagen problema. Los FAC únicamente de fase tienen en general una media superior a la de los FAC clásicos, es decir, su poder de discriminación es mayor. Los FAC clásicos de los contornos binarios de *A. californiensis*, hembra tienen un valor de 0.61 ± 0.05 y sus FAC únicamente de fase 0.72 ± 0.09 . Los FAC únicamente de fase de los contornos binarios de *A. californiensis*, macho tienen un valor de 0.69 ± 0.06 . Los FAC clásicos de los contornos binarios de los contornos binarios de *A. californiensis*, macho tienen un valor de 0.69 ± 0.06 . Los FAC clásicos de los contornos binarios de *A. californiensis*, macho tienen un valor de 0.69 ± 0.06 . Los FAC clásicos de los contornos binarios de *A. californiensis*, macho tienen un valor de 0.69 ± 0.06 . Los FAC clásicos de los contornos binarios de *A. californiensis*, hemos de secondo de los contornos binarios de *A. californiensis*, macho tienen un valor de 0.69 ± 0.06 . Los FAC clásicos de los contornos binarios de secondo de secondo de secondo de secondo de secondo de los contornos binarios de secondo de secondo

binarios de *A. tonsa*, hembra tienen un valor de 0.70 ± 0.04 y sus FAC únicamente de fase 0.75 ± 0.13 . Los FAC clásicos de los contornos binarios de *A. tonsa*, macho tienen un valor de 0.70 ± 0.11 y sus FAC únicamente de fase 0.73 ± 0.07 . Los FAC clásicos de los contornos binarios de *C.* pacificus, hembra tienen un valor de 0.71 ± 0.08 y sus FAC únicamente de fase 0.70 ± 0.07 . Los FAC clásicos de *C. pacificus* en tonos de grises tienen un valor de 0.69 ± 0.09 y los FAC únicamente de fase 0.70 ± 0.07 . Para *M. pacifica* en tonos de grises el valor promedio de sus FAC clásicos fue de 0.70 ± 0.08 y el de sus FAC únicamente de fase 0.69 ± 0.07 . Todo valor inferior a este umbral será una falsa detección. Por ello también coincidimos con Casasent *et al.* (1991) quienes mencionan que los órdenes entre 2 y 6 generan filtros cuya salida de correlación se caracteriza por presentar picos sin ruido y que los filtros generados del orden 7 al 15 presentan mayor dificultad para discriminar los objetos.

Hasta donde tenemos entendido, éste es el primer trabajo que aplica técnicas invariantes en el reconocimiento de objetos no bélicos. Además, cabe mencionar que los copépodos son imágenes más complicadas que las letras o los aviones. Dentro de las especies de copépodos seleccionadas se puede decir que las pertenecientes al género *Acartia* son imágenes más sencillas puesto que al ser preservados, estos organismos conservan sus antenas extendidas y es difícil observar sus apéndices natatorios, mientras que a los copépodos del género *Calanus* y *Metridia* es más común encontrarlos de costado, con las antenas plegadas y se observan todos sus apéndices natatorios, por ello se consideran imágenes más complicadas.

Otras de las aportaciones de este trabajo son la mejor discriminación de los FAC únicamente de fase y una mayor eliminación del ruido en la salida de correlación. Los FAC promediados son una buena opción para mejorar el poder de discriminación cuando la imagen posee más de un sólo orden con centros propios adecuados.

El procesamiento digital de imágenes y el establecimiento de las redes mundiales de telecomunicación está comenzando a permitir extraer y almacenar valiosa información taxonómica directamente del microscopio y, por lo tanto, va teniendo una mayor implicación en los mecanismos y métodos de investigación taxonómica. Se requiere destinar recursos para continuar el desarrollo de sistemas automatizados de identificación que ayuden a agilizar la investigación básica en ecología del plancton marino.

LITERATURA CITADA

Abbe, E., 1873. Archiv. Mikroskopische Anat., 9, 413pp.

- Almeida, S.P., J. K. T. Lu, P.F. Lai, J. Cairns Jr. y K.L. Dickson, 1976. Aplications of holography and optical data processing. En: E. Maronm, A.A. Friesem y E. Wiener-Aunear Eds. Pergamon Press 573 pp.
- Arsenault, H. H., 1986. Rotation invariant composite filters. En: Nonlineal Optics and Applications. SPIE Vol. 613.
- Arsenault, H., 1989. Distortion-invariant pattern recognition using circular harmonic matched filters. En: Optical processing and computing. H.H. Arsenault, T. Szoplik y B. Macukow Eds. Academic Press, New York, pp 441-467.
- Arsenault, H. H., 1989b. Distortion-invariant pattern recognition using circular harmonic matched filters: authors reply to comments. Appl. Opt. 28:1614-1615.
- Arsenault, H. H., D. Asselin, S. Chang y O. Gualdron, 1993. Advances in optical invariant pattern recognition. En: Optics as a key to high technology. SPIE 1983:366-373.
- Arsenault, H. H. y Sheng, Y., 1986. Propierties of the circular harmonic expansion for rotation invariant pattern recognition. Appl. Opt. 25:325.
- Beers, J.R., 1976. Particle discriminators in studies for zooplankton biomass. En: H.F. Steedman Ed. Zooplankton fixation and preservation. UNESCO Press, Paris pp 69-73.
- Bougis, P., 1976. Marine plankton ecology. North Holland Publishing Co., Amsterdam. 355 pp.

- Björnberg, T. K. S., 1981. Copepoda. En: D. Boltovskoy Ed. Atlas del zooplancton del Atlántico sudoccidental y métodos de trabajo con el zooplancton marino.
 Publicación especial del INIDEP Mar de la Plata, Argentina pp 587-679.
- Brodsky, K.A., 1948. Free living copepoda of the Sea of Japan. Izvtikhookean n auch noissled Instr ryb Khoz Okeanogr. 26:3-130.
- Brodsky, K.A., 1972. Phylogeny of the family Calanidae (Copepoda) on the basis of comparative-morphological analysis of its characters. Issled Fauny Morei 12:1-110.
- Bucklin, A., B.W. Frost y T.D. Kocher, 1995. Molecular systematics of six *Calanus* and three *Metridia* species (Calanoida: Copepoda). Mar. Biol. 121:655-664.
- Cairns Jr., J.K.L. Dickson, G.R. Lanza, S.P. Almeida y D. del Balzo, 1972. Coherent optical spatial filtering of diatoms in water pollution monitoring. Arch. Mikrobiol. 83: 141-146.
- Casasent, D. y D. Psaltis, 1976. Scale invariant optical correlation using Mellin transforms. Opt. Commun. 17:59-63.
- Caulfield, H.J. y W.T. Maloney, 1969. Improved discrimination in optical character recognition. Appl. Opt. 8, 11:2350-2356.
- Clark, M.J.R., 1992. Enhacement to the Pielou Method for estimating the diversity of aquatic communities. Env. Toxicology and Chem. 11:1559-1565.
- Coronel-Beltrán, A., 1988. Correlacionador óptico invariante aplicado a la identificación de microorganismos fitoplanctónicos. CICESE, Ensenada, B.C. Tesis de Maestría 110 pp.

- Culverhouse, P.F., R. Ellis, R. Simpson, R. Williams, R.W. Pierce, y J.T. Turner, 1994. Automatic categorisation of five species of *Cymatocylis*, Protozoa, Tintinnida by artificial neural network. Mar. Ecol. Prog. Ser., 107:273-280.
- Danielsson, P. E, 1989. A comment on distortion-invariant pattern recognition using circular harmonic matched filters. Appl. Opt. 28:1613-1614.
- Fawell, J.K., 1976. Electronic measuring devices in the sorting of marine zooplankton. En:
 H.F. Steedman Ed. Zooplankton fixation and preservation. UNESCO Press,
 Paris pp 201-206.
- Fleminger, A., 1964. Distributional atlas of calanoid copepods in the California Current region, Part I. Calif. Coop. ocean. Fish. Invest. Atlas 2:1-213.
- Frost, B.W., 1972. Effects of size and concentration of food particles on the feeding behaviuor of the marine planktonic copepod *Calanus pacificus*. Limnol. Oceanog. 17:805-815.
- García-Martínez, P., J. García y C. Farreira, 1995. A new criterion for determining the expansion center for circular-harmonic filters. **Opt. Commun. 117:399-405.**
- Gasca R., L. Segura y E. Suárez, 1996. El zooplancton marino. En: Introducción all estudio del zooplancton marino. Rebeca Gasca y Eduardo Suárez Eds. El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR). Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACyT). México. pp 1-35.

Goodman, J. W., 1968. Introduction to Fourier Optics. McGraw-Hill, New York. 287 pp.

Herman, A.W. y T.M. Dauphinee, 1980. Continuous and rapid profiling of zooplankton with an electronic counter mounted on a "Batfish" vehicle. **Deep Sea Res. 28:79-96**.

- Herman, A.W. y M.R. Mitchell, 1981. Counting and identifying copepod species with an in situ electronic plankton counter. **Deep Sea Res. 28,A:739-755**.
- Hester, C. F. y D. Casasent, 1980. Multivariant technique for multiclass pattern recognition. Appl. Opt. 19,11:1758-1761.

Horner, J.L. y P.D Gianino, 1984 Phase-only matched filtering. Appl. Opt. 23:812-816.

- Hsu, Y. N. y H. H. Arsenault, 1982. Optical pattern recognition using circular harmonic expansion. Appl. Opt. 21:4016-4019.
- Hsu, Y. N. y H. H. Arsenault, 1983. Statistical performance of the circular harmonic filter for rotation-invariant pattern recognition. Appl. Opt. 22:2804.
- Hsu, Y. N. y H. H. Arsenault, 1984. Pattern discrimination by multiple circular harmonic components. Appl. Opt. 23:841-844.
- Hsu, Y. N., H. H. Arsenault y G. April, 1982. Rotation invariant digital pattern recognition using circular harmonic expansion. Appl. Opt. 21:4012-4015.
- Hunt, B. R., 1976. Computers and images. En: Image Processing. J.C. Urbach Ed. Proc. SPIE/OSA 74:3-9.
- Jeffries, H.P., K. Sherman, R. Maurer y C. Katsinis, 1980. Computer processing of zooplankton samples. En: Estuarine Perspectives. V.Kennedy, Ed. Academic Press pp 303-316.
- Jeffries, H.P., M.S. Berman, A.D. Poularikas, C. Katsinis, I. Melas, K. Sherman y L. Bivins, 1984. Automated sizing, counting and identification of zooplankton by pattern recognition. Mar. Biol. 78:329-334.

- Jiménez-Pérez, L.C., 1987. Características del zooplancton de la Bahía de Todos Santos, Baja California. Memorias del VII Congreso Nal. de Oceanografía, 27-31 de agosto, Ensenada, B.C., México: 93-101.
- Jiménez-Pérez, L.C. y J.R. Lara-Lara, 1990. Distribución de biomasa y estructura de la comunidad del zooplancton en el Estero de Punta Banda. **Cien. Mar. 16:35-48.**
- Latrous, S., 1984. Pattern recognition and automatic zooplankton classification by image analysis. Rennes-I Univ., Rennes , France 117 pp.
- Leclerc, L, Y. Sheng y H.H. Arsenault, 1989. Method for determining expansion enters and predicting sidelobe levels for circular harmonic filters. J. Opt. Soc. AM. A 4:1793-1797.
- Leclerc, L., Y. Sheng y H.H. Arsenault, 1991. Circular harmonic covariance filters for rotation invariant object recognition and discrimination. Opt. Commun. 85:299-305.
- Liacopoulos, C., 1983. An automatic on board system for identifying and counting plankton. RAPP.P.-V, Reun. CIESM 28:111-112.
- Lough, G.R. y G.C. Laurence, 1981. Larval haddock and cod survival studies in Georges Bank. ICES Larval Fish Working Group Report. Lowestoft, Suffolk, U.K. 17 pp.
- Lough, G.R. y D.C. Potter, 1983. Rapid shipboard identification and enumeration of zooplankton samples. J. Plankton Res. 5:775-782.
- Maréchal, A., 1952. Traité doptique instrumentale: première section, la formation des images. Revue dóptique théoretique et instrumentale.

- Mendlovic, D., N. Konforti y E. Marom, 1990. Scale and projection invariant pattern recognition. Appl. Opt. 28:4982-4986.
- Newbury, P.F., P.F. Culverhouse y D.A. Pilgrim, Automatic fish population counting by artificial neural network. Aquaculture 133:45-55.
- Omori, M. y T. Ikeda, 1984. Methods in marine zooplankton ecology. John Wiley and Sons. USA. 332 pp.
- Oppenheim, A.V. y J.S. Lim, 1981. The importance of phase in signals. Proc. of the IEEE 69:529-541
- Ortner, P., S. R. Cummings, R. P. Aftring y H. E. Edgerton, 1979. Silhouette photography of oceanic zooplankton. Nature 277:50-51.
- Parsons, T.R., M. Takahashi y B. Harggrave, 1977. Biological Oceanographic Processes, 2nd Ed. Pergamon Press, Oxford. 332 pp.
- Porter, A.B., 1906. On the diffraction theory of microscopic vision, Phil. Mag.11:154-160.
- Prémont, G., 1992. Conception rapide de filtres d'harmonique circulaire à laide du recuit simulé. Mémoire du grade de M. Sc. École des Gradués Université Laval, France. 80 pp.
- Prémont, G. y Y. Sheng, 1993. Fast design of circular-harmonic filters using simulated annealing. Appl. Opt. 32,17:3116-3121.
- Raymont, E.G.J., 1983. Plankton and productivity in the oceans. 2nd Ed. Vol. 12: Zooplankton. Pergamon Press, Oxford. 824 pp.
- Roemmich, D. y J. McGowan, 1995. Science 267:1321-1326.
- Rolke, M. y J. Lenz, 1984. Size structure analysis of zooplankton samples by means of an automated image analyzing system. J. Plankton Res. 6:637-645.

- Sears, F. W., 1967. Fundamentos de física III, Óptica 4^{ta} Ed. Ediciones Aguilar, S.A., Madrid 369 pp.
- Sheldon, R.W. y T.R. Parsons, 1967. A practical manual on the use of the coulter counter. Marine Scienc. Coulter Electronics. 66 pp.
- Sheng, Y. y H. H. Arsenault, 1987. Method for determining expansion centers and predicting sidelobe level for circular-harmonic filters. J. Opt. Soc. Am. A. 4:1793-1797.
- Shulman, A.R., 1970. Optical data processing. John Wiley and Sons, London. 710 pp.
- Simpson, R., R. Williams, R. Ellis y P.F. Culverhouse, 1992. Biological pattern recognition by neural networks. Mar. Ecol. Prog. Ser., 79:303-308.
- Steward, E. G., 1983. Fourier optics: an introduction. C. Grey Morgan ED. John Wiley and Sons. 185pp.
- Todd, C.D. y M.S. Laverack, 1991. Coastal marine zooplankton. Cambridge University Press, New York. 106 pp.
- Trimble, J., D. Casasent, D. Psaltis, F. Caimi, M. Carlotto y D. Neft, 1980. Digital correlation by optical convolution/correlation. En: Real Time Signal Processing III T.F. Tao Ed. Proc.SPIE 241:155-160.
- Trinast, E.M., 1976. Preliminary note on *Acatria californiensis*, a new calanoid copepod from Newport Bay, California. **Crustaceana 31:54-58.**
- Trujillo-Ortiz, A., 1986. Life cycle of the marine calanoid copepod *Acartia californiensis*, Trinast, reared under laboratory conditions. **CalCOFI Rep. XXVII:188-204.**

- Trujillo-Ortíz, A., 1990. Porciento de eclosión, producción de huevos y tiempo de desarrollo de Acartia californiensis, Trinast, (Copepoda, Calanoida) bajo condiciones de laboratorio. Cienc. Mar. 16:1-22.
- Trujillo-Ortíz, A., 1995. Alternative method for the calculation of mean time for the assessment of secondary production by true cohort analysis. J. Plankton Res. 17:2175-2190.
- Tsatsanis, M. K. y G. B. Giannakis, 1990. Traslation, rotation and scaling invariant object and texture classification using polyspectra. En: Advanced Signal Processing Algorithms, Architectures and Implementations. Proc. SPIE 1348:103-115.
- Valdecasas, A.G., J.M. Becerra y D. Marshall, 1997. Extending the availability of microscopic type material for taxonomy and research. **TREE 12:211-212.**
- Vander Lugt, A., 1964 Signal detection by complex spatial filter. IEEE Trans. Inf. Theory IT-10:139-145.
- Williams, R., H. McCall, R.W. Pierce, y J.T. Turner, 1994. Speciation of the tintinnid genus *Cymatocylis* by morphometric analysis of the loricae. Mar. Ecol. Prog. Ser. 107:263-272.
- Wood, J., 1996. Invariant Pattern Recognition: A Review. Pattern Recognition. 29:1-17.
- Yoo, K.I.;H.K. Hue; W.C. Lee, 1991. Taxonomical revision on the genus Acartia (Copepoda: Calanoida) in the korean waters. Bull. Korean Fish. Soc. 24:255-265.
- Zavala-Hamz, V.A., J. Alvarez-Borrego y A. Trujillo-Ortíz, 1996. Diffraction patterns as a tool to recognize copepods. J. Plankton Res. 18:1471-1484.

Zavala-Hamz, V. A. y J. Alvarez-Borrego, 1997. Circular harmonic filters for the recognition of marine microorganism Appl. Opt. 36:484-489.

Zupan, J., 1982. Clustering of large data sets. Research Studies Press, New York. 122pp.

ANEXO A: Catálogo de Filtros y Banco de Imágenes.

ORGANISMO	FILTRO
Calanus pacificus, hembra	FAC clásico orden 3 (módulo)
Calanus pacificus, macho	FAC únicamente de fase
Acartia californiensis, hembra	FAC clásico orden 15 (módulo)
T	0
Acartia californiensis, macho	FAC clásico orden 4 (módulo)
T	
Acartia tonsa, hembra	FAC clásico orden 13 (módulo)