

CONTEO DE LARVAS DE PECES UTILIZANDO PROCESAMIENTO DE IMÁGENES

Martínez Sandoval Ernesto, Martínez Rosas Miguel Enrique, Miranda Velasco Manuel Moisés,
Conal True David, Cervantes De Ávila Humberto y Martínez Reyes Horacio Luis

Universidad Autónoma de Baja California.

Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño

Carretera Transpeninsular Ensenada-Tijuana Numero 3917, Colonia Playitas.

Tel., Fax: +52 646 174 43 33

e-mail: martineze@uabc.edu.mx , emartine@uabc.edu.mx

RESUMEN.

En el presente trabajo se describe la implementación de un sistema de conteo de larvas de peces basado en procesamiento de imágenes, se indican las condiciones y la metodología general para realizar la detección de larvas, también se describen los algoritmos implementados para el procesamiento de las imágenes, así como los retos involucrados en la contabilización de especímenes en movimiento y que además tienen dimensiones reducidas. A partir de los resultados obtenidos se proponen condiciones para mejorar la captura de imágenes, por lo que su aplicación para el conteo de larvas en sistemas acuícolas es prometedora.

Palabras Clave: procesamiento de **imágenes**, contador de peces, **detección** de larvas, acuicultura.

ABSTRACT.

A description of a fish fry counting system based on image processing is presented in this work. The methodology and conditions required in order to perform proper fry detection are listed. There are described the algorithms used to process the images as well as the challenges involved in counting small and quick moving samples. From the obtained results there are proposed conditions in order to improve the acquisition of images, so that, the usage of this methodology to count fish fry in aquaculture systems is very promising.

Keywords: image processing, fish counter, fry detection, aquaculture

1. INTRODUCCIÓN

El procesamiento de imágenes y sus técnicas asociadas de análisis son temas interesantes para el estudio de una gran diversidad de aplicaciones [1]. En particular, se puede describir como una tecnología de análisis sofisticada no-invasiva y sin contacto, que es de uso común en diversas industrias y que sin embargo, hasta hace relativamente poco tiempo había tenido una utilización muy limitada en la acuicultura [2][3]. Actualmente, esta recibiendo un gran impulso y se perfila como una área de interés en las líneas de investigación de la acuicultura [3].

La clasificación de objetos es muy importante tanto para áreas de producción como para estudios científicos, aún cuando los humanos superan ampliamente a las máquinas en este rubro, esta es una tarea repetitiva y de alto consumo de tiempo, por lo que la aplicación del procesamiento de imágenes para conteo y clasificación de muestras ha tenido un gran impulso [4] y como se muestra en este trabajo, su aplicación en la acuicultura es muy prometedora.

Respecto a la acuicultura, ésta se encarga del cultivo de organismos acuáticos, lo cual implica de alguna manera la intervención en el proceso de crianza de dichos organismos con el fin de aumentar la producción. Dentro de esta disciplina se encuentra la ingeniería acuícola, la cual utiliza conocimientos tecnológicos y principios de crianza de peces para incrementar la productividad de un sistema de cultivo y de tal manera practicar lo que se conoce como una acuicultura eficiente y sustentable [5].

Uno de los parámetros de evaluación para esta disciplina es la densidad de especímenes obtenidos en el cultivo. Para contabilizarlos, se emplean métodos de estimación como: Biomasa o conteo manual. Ambas técnicas ofrecen un porcentaje de exactitud aceptable, sin embargo comparten una desventaja: la manipulación directa de los especímenes, lo cual les provoca un cierto grado de estrés. El conteo de larvas es uno de los problemas principales que enfrentan los productores en el cultivo de organismos acuáticos pequeños (o frágiles) [6]. Para realizar dicha actividad se deben tomar muestras significativas de larvas para contabilizarlas después de un desove, esto se lleva a cabo con ayuda de probetas en cada estanque y se realiza un conteo manual con ayuda de un microscopio, para posteriormente estimar la densidad de larvas (cantidad de larvas por litro de agua) que hay en cada estanque.

Cuando los ejemplares alcanzan la talla de juvenil su silueta adopta una forma mas definida y es de color oscuro, el cuerpo es más robusto y su longitud puede alcanzar varios centímetros, lo que permite realizar una mejor manipulación de los especímenes sin provocarles una gran mortandad. Para realizar el conteo de juveniles se adquieren imágenes de las muestras contenidas en un nivel de agua somero dentro de un recipiente, cuyo fondo tiene una cuadrícula de referencia (Figura 1). Normalmente las imágenes son adquiridas de tal manera que se cubran todos los ejemplares contenidos en el recipiente. Como resultado se obtiene un conjunto de imágenes que posteriormente son transferidas a una computadora para tener una mejor visualización de los especímenes. Una vez que se cuenta con las imágenes, se procede a realizar el conteo de cada ejemplar visible de forma manual [6].

Durante las primeras tres semanas de su desarrollo larvario, la especie empleada para este experimento alcanza una talla menor a 1 cm [7], además de que presenta una silueta traslúcida, la cual complica el

establecimiento de los parámetros de detección óptima de las larvas.

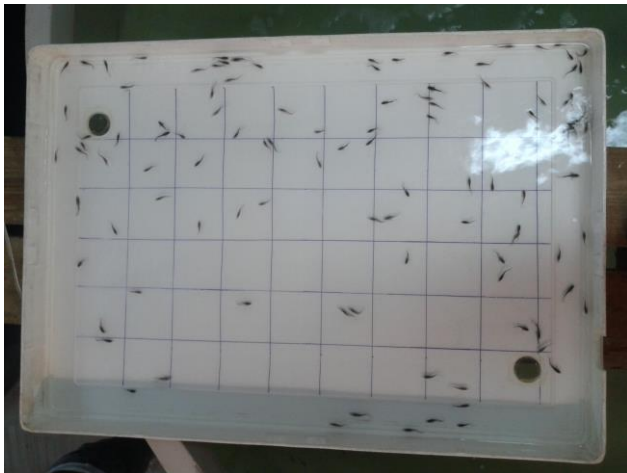


Figura 1.- Imagen típica para contabilización manual de especímenes juveniles utilizando una cuadrícula de referencia.

En la Figura 2 se muestra un ejemplo de la apariencia típica que presentan las larvas en esta etapa.

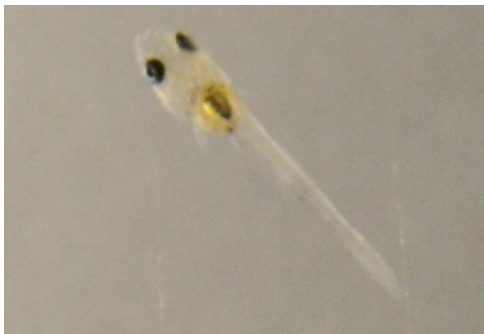


Figura 2.- Larva de longitud cercana a 1 cm.

Las larvas utilizadas para este experimento fueron proporcionadas por la Unidad de Biotecnología en Piscicultura de la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC).

2. METODOLOGÍA

2.1. Condiciones para la **adquisición** de imágenes

Las condiciones evaluadas en este trabajo para la adquisición de imágenes que permiten una buena segmentación y conteo de especímenes son:

- Utilizar un muestreo de larvas con talla relativamente homogénea.
- Evitar traslapes de ejemplares, limitando el número máximo de ejemplares en el área de captura de la imagen
- Emplear una fuente de iluminación indirecta y difusa para tener mejor contraste y evitar la saturación del sensor de captura.
- Evitar elementos externos (monturas o soportes) que generen reflexiones y sombras en las imágenes.
- Utilizar un nivel somero (menor a 2 cm.) de agua limpia para distinguir de manera adecuada las larvas.

- Mantener un nivel de oxigenación del agua por medio de intercambios periódicos de aproximadamente un tercio del volumen total para evitar daños a las larvas.
- Alimentar a las larvas antes de realizar el experimento para permitir que su sistema digestivo sea más visible y presente un mayor contraste.
- Capturar las imágenes con resoluciones altas, de manera que se pueda obtener un mayor detalle de los contornos para la clasificación de los objetos de interés.

2.2. Montaje de Captura de Imágenes

El montaje de captura se implementó en el Laboratorio del Cuerpo Académico "Comunicaciones e Instrumentación Electrónica" (CACIE) de la Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño (FIAD) de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) utilizando como contenedor de muestras una pecera con capacidad máxima de 10 galones de agua. La iluminación se realizó con un par de lámparas tipo LED colocadas en los laterales inferiores de la pecera, de tal manera que se obtuviera una distribución uniforme de la luz sobre el área de captura de imágenes.

La cámara se instaló en un trípode para manipular su posición sobre la pecera y permitir la mejor cobertura para la captura de imágenes. Los ajustes y control de la cámara se realizaron de forma remota y automática a través de una conexión a una computadora en la cual previamente se programó una rutina para realizar capturas a intervalos de tiempo predeterminados. El montaje implementado se muestra en la Figura 3.

Una vez capturadas las imágenes, los archivos digitales se descargaron a la computadora y se almacenaron incluyendo la información de fecha y hora de captura para su posterior procesamiento.

2.3. Experimentos realizados

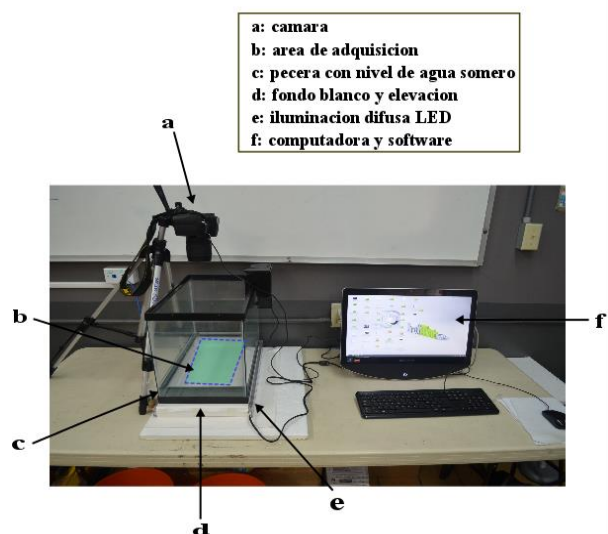


Figura 3.- Vista del montaje del sistema de adquisición.

Dado que una parte fundamental de este trabajo corresponde a la adquisición de imágenes, a continuación se describe el montaje implementado. Como instrumento de captura se utilizó una cámara NIKON D7100, la cual permite capturar imágenes de hasta 24 Mega Píxeles (MP). La cámara utilizada puede ser configurada y operada de forma remota por medio de una computadora, de manera que en el montaje del experimento se redujeron al máximo los errores de captura debidos a la operación manual.

Para realizar el procesamiento de las imágenes se utilizó una computadora Mac Pro con un Procesador 2 x 2.8 GHz Quad-core Intel Xeon, Memoria RAM de 8 GB @800 MHz y un Disco duro de 1 TB. Considerando que los tiempos de procesamiento deben de mantenerse dentro de intervalos aceptables para el usuario final, para este caso el tiempo requerido para procesar una imagen con dimensiones de 2400x1600 píxeles, se mantuvo entre 10 y 12 segundos, mientras que para imágenes más grandes (de 5000x3000 píxeles) el intervalo de procesamiento fue de 60 a 64 segundos. Tomando en cuenta que el proceso de conteo para estas dimensiones de larvas se realiza al microscopio de forma manual, los tiempos de procesado son aceptables.

Este sistema fue probado exitosamente en la captura de imágenes de forma automatizada así como en el control de iluminación ya que se realizaron experimentos de 12, 24, 36 y 48 horas de forma continua para verificar su funcionamiento. Esto se comprobó al contabilizar la cantidad de capturas obtenidas en dichos intervalos de tiempo, además de la calidad de las imágenes resultantes.

Para este experimento se utilizaron muestras de 10 a 20 larvas de los estanques de cultivo. Se recolectó agua del mismo sistema acuícola cerrado de donde se extrajeron las larvas para poder hacer cambios de niveles de agua en la pecera, dicho procedimiento presenta la ventaja adicional de oxigenar el agua. Posteriormente, se capturaron imágenes de las larvas en el recipiente de transporte (sin tener empotrada la cámara) para contar con una imagen de referencia. Para el montaje inicial se seleccionó un nivel de agua que permitiera capturar las imágenes con pocos traslapes de especímenes (<2 cm), y se introdujo la muestra de larvas. Posteriormente se mantuvo el sistema en reposo unos pocos minutos para reducir el movimiento del agua.

Como sistema de iluminación se utilizó un arreglo de lámparas LED de 60 Watts, cuyo encendido fue controlado por el sistema de adquisición de imágenes. Dicha iluminación además de ofrecer un espectro de emisión amplio (mostrado en la Figura 4) permite reducir el estrés provocado a las larvas, ya que estas son sensibles tanto a la luz como a la temperatura generada por las fuentes luminosas. Una vez preparado el sistema de captura y manteniendo la cámara empotrada, se calibraron los parámetros de adquisición, tales como: acercamiento (zoom), nivel de sensibilidad (ISO), apertura del diafragma, velocidad de obturación y enfoque entre otros, para obtener imágenes con máxima nitidez.

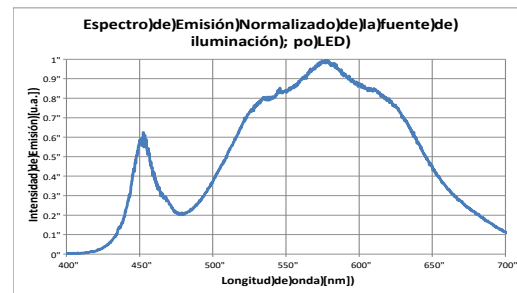


Figura 4.- Espectro de lámparas LED utilizadas.

Para efectuar la operación automática del sistema de captura se conectó la cámara al equipo de cómputo y se ejecutó la rutina que permitió correr el experimento por 6 horas ininterrumpidas, capturando imágenes cada 5 min. El resultado de este experimento fue la obtención de un banco de 72 fotografías. La inspección individual de las imágenes se realizó de forma detallada y se logró observar variaciones en la cantidad de luz, originadas por las interferencias externas ocasionadas por las lámparas del laboratorio. Este procedimiento se repitió en 2 ocasiones, con el propósito de evaluar la robustez del sistema de adquisición así como para obtener la mayor información posible de cada muestra.

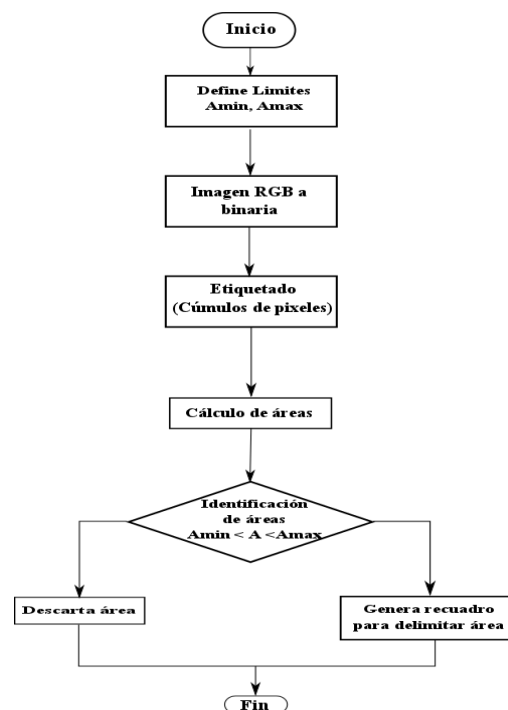


Figura 5.- Algoritmo para identificación de áreas correspondientes a objetos de interés.

2.4. Procesamiento de las imágenes

En la Figura 5 se muestra el diagrama de flujo del algoritmo empleado en este trabajo para realizar el procesamiento de imágenes. Inicialmente se implementó un algoritmo de validación para obtener las condiciones adecuadas para la detección de larvas de peces en la

plataforma Matlab. A continuación se describe la secuencia de tareas realizadas por el algoritmo:

1. Se definen los límites más apropiados para los puntos de interés según la talla de los especímenes (intervalo).
2. Se carga la imagen, se convierte a escala de grises para realizar de forma rápida la conversión a formato binario utilizando un umbral de decisión entre [0,1]. Para nuestro caso se encontró que el umbral varía de 0.3 a 0.6 en función de la talla de la muestra.
3. Se etiquetan todos los puntos válidos encontrados en la imagen, para mantener su identificación durante el proceso.
4. Se calculan las áreas en pixeles de todos los puntos válidos encontrados en la imagen.
5. Se identifican las áreas dentro de intervalo y se genera un recuadro para cada cúmulo de puntos dentro de dicho intervalo. Todos los puntos fuera del intervalo son desechados.

2.4.1. Áreas válidas

En la Figura 6 se indican las dimensiones de una sección de la imagen utilizada para realizar el cálculo de área a nivel de pixeles.

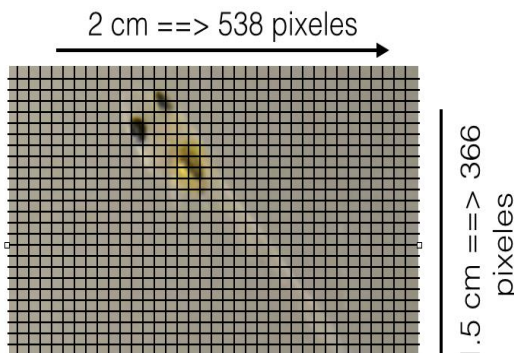


Figura 6.- Resolución de imagen correspondiente a una larva.

Para el cálculo de las áreas válidas se utilizaron las ecuaciones siguientes:

$$\Delta x = \frac{x}{X_{\text{pixeles}}} = \frac{2 \text{ cm}}{538 \text{ pixeles}} = 0.0037 \frac{\text{mm}}{\text{pixel}}$$

$$\Delta y = \frac{y}{y_{\text{pixeles}}} = \frac{1.5 \text{ cm}}{366 \text{ pixeles}} = 0.0040 \frac{\text{mm}}{\text{pixel}}$$

$$A = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m P x_{ij}$$

$$A_{\min} < A < A_{\max}$$

El algoritmo para detección y reconocimiento de objetos desarrollado se puede describir en base a los pasos de un sistema general de análisis de imágenes como el representado por el diagrama de flujo mostrado en la Figura 7 [8][9].

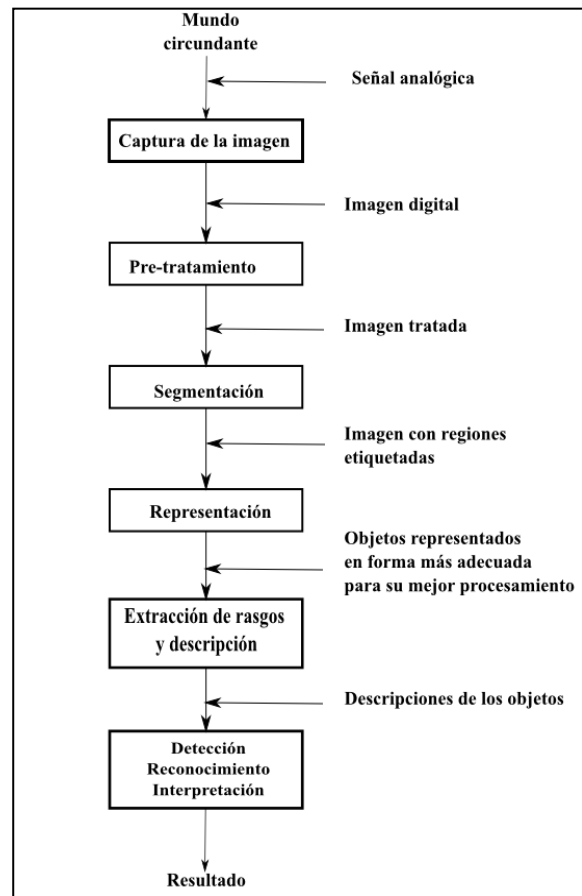


Figura 7.- Diagrama de flujo genérico para la detección y reconocimiento de objetos por procesamiento de imágenes.

La última sección del diagrama engloba tres importantes rasgos dentro del procesamiento, se debe destacar que este trabajo se enfoca en determinar las condiciones más favorables para la detección de objetos de interés, sin embargo, realizar un reconocimiento e interpretación de los mismos requeriría ahondar en la búsqueda de posibles patrones con el apoyo de acuicultores quienes finalmente interpretarían la información más relevante en base a su experiencia.

3. RESULTADOS

Las imágenes obtenidas durante los ensayos realizados fueron editadas para resaltar los objetos y características de interés. La imagen mostrada en la Figura 8 presenta un fondo con letras, marcas y símbolos, es decir, contiene elementos que dificultan la detección de los objetos deseados. Bajo las condiciones adversas que genera el fondo (no homogéneo), se puede evaluar el desempeño del algoritmo implementado.

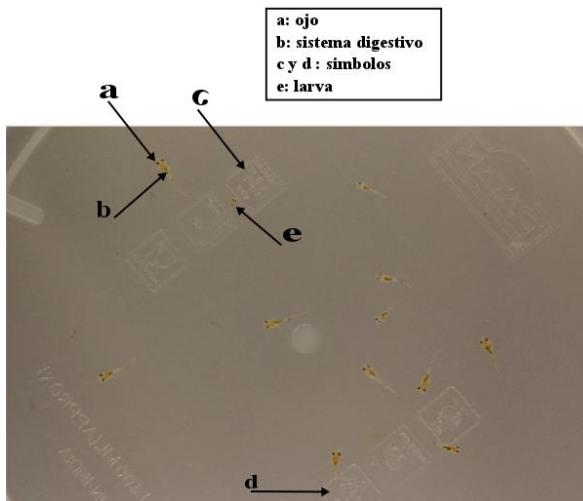


Figura 8.- Imagen de larvas en formato RGB (2400x1600 pixeles), contenidas en una charola de transporte.

La Figura 9 muestra los objetos detectados en color negro, así como recuadros (en color azul) de dimensiones mínimas necesarias para delimitar superficies calculadas por el algoritmo en base a las dimensiones promedio de las larvas. Debido a que por cada larva se observan por lo menos tres objetos que deben ser validados dentro de las áreas establecidas, es necesario verificar las relaciones de distancias entre objetos detectados para reducir los errores producidos por traslapes de especímenes. Por ejemplo, en la Figura 9 se detectaron 40 objetos que cumplieron con las condiciones de área establecidas durante el procesamiento. Para esta imagen se contabilizaron 13.33 larvas de forma automática y 12 larvas en forma manual.

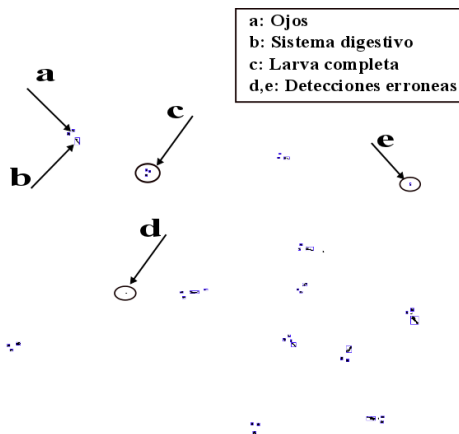


Figura 9.- Imagen resultante del proceso de binarización que muestra los elementos válidos encontrados.

Puesto que solo existen 12 larvas en la imagen, se esperaría encontrar 36 elementos válidos, sin embargo el resultado obtenido por medio del algoritmo es de 40 elementos. El error generado por el algoritmo se debe básicamente a la detección de una mayor cantidad de puntos válidos en la imagen. El origen de la aparición de esos puntos adicionales se debe básicamente a 2 causas, la primera corresponde a las fluctuaciones de posición de las

larvas (inherentes a pruebas con seres vivos acuáticos) en conjunto con el proceso de binarización y la segunda causa es la presencia de desechos en el agua, tales como restos de comida y heces fecales. Para este caso se observó que los contornos de los restos de comida y heces cumplían con las condiciones válidas de área por tener dimensiones similares a las de los elementos de interés. Por otro lado, se observó un enmascaramiento en la silueta de las larvas al momento de establecer un mismo umbral de binarización para toda la imagen.



Figura 10.- Silueta de una larva (a) imagen original y (b) imagen procesada.

Para el caso ideal se detectarían dos ojos y un sistema digestivo por cada larva, así que si se utiliza el cociente: *objetos detectados / objetos de interés*, se tendría como resultado un número entero de especímenes.

En la Figura 10a se muestra una imagen bien definida de una larva, en dicha imagen se pueden identificar fácilmente los elementos de interés (ojos y sistema digestivo). Por otro lado, en la imagen procesada que se muestra en la Figura 10b no es tan evidente la separación entre los elementos de interés, ya que, aún cuando se observa una binarización con bastante detalle, de manera simultánea se genera un enmascaramiento del contorno. El enmascaramiento provoca que el sistema digestivo aparezca unido a uno de los ojos por lo que se detecta un solo elemento en lugar de los dos requeridos. El efecto contrario (generado también por el enmascaramiento) se observa en la parte correspondiente a la cola de la larva, en donde se detectan múltiples puntos. Por lo tanto, para mejorar el desempeño del contador se deben agregar rutinas de validación en el algoritmo de identificación.



Figura 11.- Imagen con baja densidad de especímenes y fondo más homogéneo.

Un caso diferente se muestra en la Figura 11, la imagen contiene en esta ocasión 6 especímenes y el fondo es más homogéneo.

El resultado del procesamiento de la imagen de Figura 11 se muestra en la Figura 12. El resultado en esta ocasión es

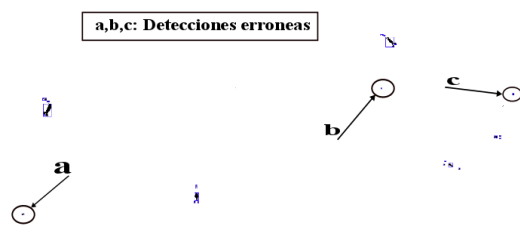


Figura 12.- Imagen resultante del proceso de binarización que muestra los puntos encontrados.

la detección de 28 elementos validos en toda la imagen, de nueva cuenta se incluyen los objetos de interés (ojos y sistema digestivo) y detecciones erróneas. Las 3 detecciones erróneas que se presentan en esta imagen se deben a que el tamaño de los elementos detectados es similar al de los elementos de interés en las larvas, es decir cumplen con las condiciones del algoritmo, lo cual da como resultado la identificación de 9.33 larvas por medio del procesamiento de la imagen, mientras que la detección manual arroja 6 larvas.

4. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en este trabajo, se puede concluir que el método de conteo de larvas basado en procesamiento digital de imágenes es prometedor para realizar la detección de larvas de peces menores a 1 cm. de largo. Este método es viable para poder detectar elementos de interés, tales como los ojos y el sistema digestivo, lo que permite hacer una estimación muy cercana de la cantidad de larvas.

Para todas las imágenes obtenidas, se utilizaron las condiciones descritas para mejorar el desempeño del algoritmo de validación y conteo. De manera complementaria se ajustó el umbral para la binarización y como resultado se contabilizó el 100% de larvas. El sobre-conteo observado, se debe en parte a la diferencia de tallas que se presenta incluso en una muestra con las mismas semanas de vida. Sumando el efecto de enmascaramiento que se acentúa en larvas con mayor desarrollo, se dificulta establecer un parámetro de áreas para determinar los puntos de interés adecuadamente.

Es importante realizar una binarización con umbral adaptado para reducir el enmascaramiento de contornos y con ello reducir la identificación de elementos erróneos.

Adicionalmente al conteo de larvas se implementó un sistema de adquisición de imágenes automatizado con control encendido/apagado de iluminación. Este fue un trabajo complementario a los experimentos debido a que se contemplo la necesidad de realizar esta tarea de manera homogénea y automatizada.

Una gran ventaja ofrecida por este método es que el procedimiento no requiere una manipulación directa ni prolongada de los ejemplares a factores que incrementan

la mortandad por estrés derivado del manejo de los especímenes.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo brindado por la FIAD-UABC, CONACYT y la Unidad de Biotecnología en Piscicultura de la Facultad de Ciencias Marinas de la UABC para la realización de este trabajo.

5. REFERENCIAS

- [1] A. Bovik, *The Essential Guide to Image Processing*. Academic Press, 2009.
- [2] B. Zion, "The use of computer vision technologies in aquaculture – A review," *Comput. Electron. Agric.*, vol. 88, pp. 125–132, Oct. 2012.
- [3] J. R. Mathiassen, E. Misimi, M. Bondø, E. Veliyulin, and S. O. Østvik, "Trends in application of imaging technologies to inspection of fish and fish products," *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 22, no. 6, pp. 257–275, 2011.
- [4] F. Storbeck and B. Daan, "Fish species recognition using computer vision and a neural network," *Fish. Res.*, vol. 51, no. 1, pp. 11–15, Apr. 2001.
- [5] O.-I. Lekang, *Aquaculture Engineering*, 1st ed. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd, 2007.
- [6] B. Chatain, L. Debas, and a. Bourdillon, "A photographic larval fish counting technique: comparison with other methods, statistical appraisal of the procedure and practical use," *Aquaculture*, vol. 141, no. 1–2, pp. 83–96, May 1996.
- [7] M. A. Galaviz, L. M. Lopez, C. D. True, G. Sandoval, A. García-Gasca, E. Gisbert, and A. C. Álvarez, "Expression and activity of three digestive proteases in larvae of the Totoaba (*Totoaba macdonaldi*)," in *LARVT'13 Fish & Shellfish Larviculture Symposium*, 2013, no. 20, p. 5.
- [8] J. H. S. Azuela and R. R. Morales, *Procesamiento y Análisis Digital de Imágenes*. RA-MA S.A. Editorial y Publicaciones, 2011.
- [9] R. Gonzalez and R. Woods, *Digital image processing*, Third Edit. Prentice- Hall Inc, Upper Saddle River, New Jersey, 2008.