Congr. Int. en Ing. Electrónica. Mem. ELECTRO, Vol. 39, pp. 182-187, Oct 2017, Chihuahua, Chih. México
http://electro.itchihuahua.edu.mx/memorias_electro/MemoriaElectro2017.zip
ISSN 1405-2172

ALGORITMOS DE DETECCIÓN Y SEGUIMIENTO DEL ORGANISMO DAPHNIA PARA ENSAYOS DE TOXICIDAD EN AGUA

Abimael Guzmán-Pando[1], Mario I. Chacón-Murguía[1], Jorge Peñaloza Enríquez[1], Roberto Hernández-Cerón[2], Gerardo Hernández-Flores[2]
[1]Laboratorio de Percepción Visual, Instituto Tecnológico de Chihuahua
Ave. Tecnológico No. 2909, 31310, Chihuahua, Chih., México
[2]Centro de Investigación en Homeopatía Aplicada y Experimental
abimael.guzpa@gmail.com, mchacon@ieee.org, jorgealb93@gmail.com, robertohdezceron@gmail.com, gerardo.hernandez.flores@gmail.com

RESUMEN.

En este trabajo se describen los algoritmos necesarios para realizar la detección y seguimiento del microorganismo Daphnia con el fin de ser utilizados, en un futuro, en ensayos de toxicidad en agua. Los algoritmos contemplan un ambiente controlado de iluminación con grupos de alrededor de 30 Daphnias por contenedor, la idea principal es seguir el microrganismo durante un periodo de tiempo y analizar el cambio en su comportamiento al introducir una sustancia toxica. Para la detección de movimiento se emplea modelado de fondo mediante el método de substracción de fondo por medio de mediana aproximada. En la parte de seguimiento se evalúan dos métodos: búsqueda por ventana y filtro de Kalman. El filtro Kalman mostró un comportamiento robusto logrando predecir y mantener correctamente el seguimiento de múltiples objetos. Por otro lado, el método de búsqueda por ventana se presenta como una opción de fácil implementación con resultados prometedores.

Palabras Clave: Sistema de visión, Daphnia, filtro de Kalman, detección de movimiento, aproximación por filtro de mediana, ensayo toxicológico, sustracción de fondo.

ABSTRACT.

This work describes the algorithms needed to perform the detection and tracking of the microorganism called Daphnia in order to be used in the future for water toxicity tests. The algorithms supposed a controlled lighting environment with groups of about 30 Daphnia per container. The main idea is to follow the microorganism for a period and analyze the change in its behavior when a toxic substance is introduced. Motion detection is achieved by background modeling obtained with the approximated median filtering method (AMF). In the tracking part, two methods are evaluated: Window search and Kalman filter. The Kalman filter showed a robust behavior for motion prediction and it maintains multiple object tracking. On the other hand, the window search method represents a simpler implementation option with promising results.

Key words: vision system, Daphnia, Kalman filter, motion detection, approximated median filtering, toxicological test, background subtraction.

1. INTRODUCCIÓN

Durante un largo periodo de tiempo la contaminación del agua ha sido evaluada con el fin de identificar la presencia de agentes tóxicos que puedan repercutir en la salud o crear alteraciones en la flora y fauna. Existen diversas alterativas para el análisis de estos agentes tóxicos [1]. Una de ellas es a través del uso de ensayos biológicos, realizados mediante el uso de bio-sensores como invertebrados, peces y algas [2]. Sin embargo, uno de los principales problemas de estos tipos de análisis es que se basan en la observación por parte del investigador, lo cual puede generar perdida de información y resultados subjetivos.

Los ensayos de toxicidad consisten en la exposición de grupos de organismos a determinadas concentraciones de toxico en un ambiente de laboratorio controlado, a manera que se pueda obtener información para analizar su comportamiento a través de un tiempo específico. La Daphnia es uno de los bio-sensores más comúnmente utilizado en este tipo de ensayos debido a su fácil establecimiento en un laboratorio, su tipo de reproducción partenogenética y corto ciclo de vida. Pertenecen al grupo de plancton del orden Cladocera, son llamadas también pulgas de agua por su habilidad de realizar brincos en el agua y asemejar su comportamiento a una pulga, aunque biológicamente están muy lejos de ser parecidas. El tamaño de la Daphnias puede variar entre longitudes de 0.5 a 6mm de longitud dependiendo la especie. Estos organismos habitan normalmente en medios acuáticos como charcos, ríos o lagos y se alimentan esencialmente de fitoplancton [3]–[5].

Los sistemas de visión por computadora enfocados a la detección y análisis de movimiento han sido empleados últimamente en una gran cantidad de aplicaciones[6]–[8]. La idea principal de estos sistemas es separar los objetos en movimiento del fondo y dar una interpretación automática de las escenas. En los últimos años se han desarrollado algunos trabajos que contemplan sistemas de visión enfocados al estudio del organismo Daphnia. Marc Baillieul et al. [9] realizan un sistema que permite analizar las trayectorias individuales de la Daphnia magna en tiempo real. En [10] se propone un método para medir el ritmo cardiaco en una Daphnia pulex con el fin de obtener una herramienta útil, para realizar pruebas a fármacos nuevos. Junho Jeon et al. [11] usan un conteo digital mediante cuadriculas cuya función principal es detectar los cambios en la actividad de la Daphnia magna. En [12] se realiza un método de medición de la calidad de agua

mediante el escaneo continuo de los organismos Daphnia magna y Lemna minor. Jan Kunze et al. [13] trabajan en un sistema de visión para detectar los cambios de comportamiento de la Daphnia magna bajo la influencia de nanopartículas de plata (Ag-NPs) en agua.

Este trabajo presenta una alternativa a los métodos existentes, que trata de realizar un sistema robusto y de bajo costo que permita la detección y seguimiento del microorganismo Daphnia con el fin de ser utilizado en ensayos de toxicidad en agua. Los algoritmos se enfocan en poder evaluar el comportamiento de la Daphnia en un determinado lapso de tiempo, se consideran 5 horas de grabación continua en un ambiente controlado, aislado de la iluminación externa.

2. DESCRIPCIÓN DE LOS ALGORITMOS Y DISEÑO DEL SISTEMA PARA TOMA DE VIDEO

En esta sección se detallan algunos aspectos referentes a la elaboración del sistema de visión, iluminación y prototipo de la estación de trabajo. También, se da una descripción de los algoritmos utilizados para realizar la detección y seguimiento del organismo.

2.1. Óptica y resolución

Una de las partes primordiales para asegurar que los algoritmos de detección y seguimiento funcionen correctamente es la de tener un ambiente lo más controlado posible. Por lo tanto, un aspecto importante a considerar, es fijar la distancia adecuada a la cual debe colocarse el contenedor que contiene las muestras (Daphnias) de la cámara y asegurar que se cubre todo el campo de visión referente a las dimensiones del contenedor.

Para el cálculo del campo de visión y la distancia del objeto a la cámara, se usó un lente de dimensión *FL*=8mm. La cámara cuenta con un CCD de 1/3”, con dimensión horizontal *CCDH*=4.8 y para la vertical *CCDV*=3.6 mm. De las medidas del contenedor donde se realizan las pruebas 4x4.2x1cm, se considera el ancho, el cual representa el campo de visión horizontal *FOVH*=4.20cm. Entonces podemos calcular la distancia *D* del objeto a la cámara y la medida real del campo de visión vertical *FOVV* mediante:

$$D = \frac{FOVH \times FL}{CCDH}$$
$$FOVV = \frac{CCDV \times D}{FL} \tag{4}$$

A manera que las distancias de trabajo *FOVV* y *FOVH* quedaron definidas de 3.15 y 4.2cm respectivamente, con una distancia del contenedor a la cámara *D*=7cm. En la Figura 1 se observa el campo de visión descrito.

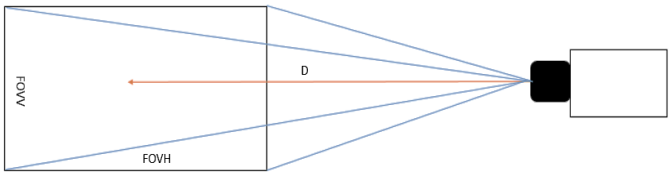

Figura 1. Campo de visión

Para obtener la resolución (cm/pixel) se toma en consideración que la cámara graba con dimensiones de 640x480 pixeles y se realiza una regla de tres con la dimensión del campo de visión horizontal *FOVH*, entonces:

$$640\text{Px} = 4.2\text{cm}$$
$$1\ \text{Px} = x \tag{5}$$

por lo tanto:

$$x = \frac{4.2 \times 1}{640} = 0.0065625 \frac{\text{cm}}{\text{pixel}} \tag{6}$$

Lo cual implica que para una Daphnia de 1mm de longitud se tendrán 15pixeles de resolución para representar el objeto.

A continuación, en la Figura 2 se observa la toma de video usada para el análisis del organismo Daphnia, considerando el campo de visión descrito y una iluminación posterior.

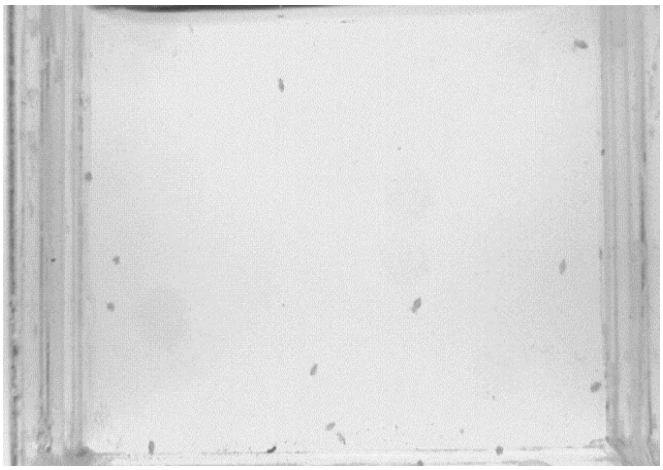
Figura 2. Captura de video

2.2. Diseño de la estación de trabajo

La estación de trabajo se puede ver representada en la Figura 3. Donde en el número 1 se observa el monitor, 2 el CPU, 3 la fuente variable y el numero 4 el encapsulado del sistema de grabación.

Figura 3. Estación de trabajo.

La fuente variable es considerada para ajustar la iluminación que otorga la fuente de iluminación posterior. La Figura 4 muestra el encapsulado del sistema de visión en el cual se consideró una caja rectangular negra para evitar problemas debido a la iluminación. En la misma figura se aprecia la colocación de la cámara, el contenedor con las muestras y el tipo de iluminación posterior. Este sistema está aislado totalmente de la iluminación externa mediante una tapa oscura.

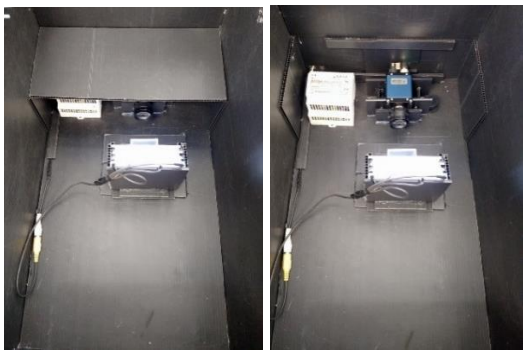
Figura 4. Encapsulado del sistema.

2.3. Algoritmo de detección de movimiento

El algoritmo de detección de movimiento que se describe a continuación corresponde a modelado de fondo mediante mediana aproximada con substracción de fondo.

El algoritmo de mediana aproximada es un método muy usado en aplicaciones simples debido a su fácil implementación [14], se basa en modelar un fondo de referencia, I_B, en base a calcular el valor de cada pixel $i_B \in I_B$ por medio de la siguiente ecuación:

$$i_B(x,y)_t = \begin{cases} i_B(x,y)_{t-1} + \dfrac{1}{\alpha} & \rightarrow \quad i(x,y)_t > i_B(x,y)_{t-1} \\ i_B(x,y)_{t-1} - \dfrac{1}{\alpha} & \rightarrow \quad i(x,y)_t < i_B(x,y)_{t-1} \end{cases} \tag{1}$$

Donde α es el factor de actualización del fondo que puede variar en el intervalo [0,1], $i_B(x,y)_t$ representa el valor del pixel del modelo de fondo actual, t es el número de cuadro, (x,y) es la localización del pixel en la imagen, $i(x,y)_t$ es el valor del pixel del cuadro actual del video, el cual se usa para hacer la comparación con el valor del pixel del modelo de fondo posterior $i_B(x,y)_{t-1}$. El primer modelo de fondo I_B es tomado del primer cuadro de video.

Este modelo es conocido como filtro de mediana debido a que el fondo calculado de cada cuadro eventualmente converge en una estimación donde la mitad de los valores de los píxeles son mayores que el fondo y la otra mitad menores, teniendo el comportamiento de la mediana.

2.4. Algoritmos de seguimiento

En la parte de seguimiento se consideran los métodos de filtro de Kalman [15] y ventana de búsqueda. Los cuales se describen a continuación.

El filtro de Kalman es un proceso recursivo en donde se tienen dos etapas principales: predicción y corrección. La primera etapa consiste en estimar el siguiente estado y la segunda en corregir el error de la estimación.

Para la predicción se tiene lo siguiente:

$$\begin{aligned} X_{k+1} &= F_k X_k + Bu_k \\ P_{k+1} &= F_k P_k F_k^T + Q_k \end{aligned} \tag{2}$$

Donde de la primera ecuación X_{k+1} es el vector de estado futuro, F_k es la matriz que define el modelo de movimiento, X_k es el vector de estado actual. B es la matriz de control y u_k el vector de control. Sin embargo, como no tenemos influencia externa, se pueden omitir estos dos términos.

De la segunda ecuación tenemos que P_{k+1} es la matriz de covarianza futura, P_k es la matriz de covarianza presente y Q_k es una covarianza que se agrega al modelo para cuando se tiene un comportamiento incierto del ambiente.

Para la etapa de corrección se tiene que una vez conociendo en donde se encuentra realmente nuestro objeto podemos retroalimentar a nuestra predicción y así el proceso se vuelve recursivo como se muestra en la Figura 5.

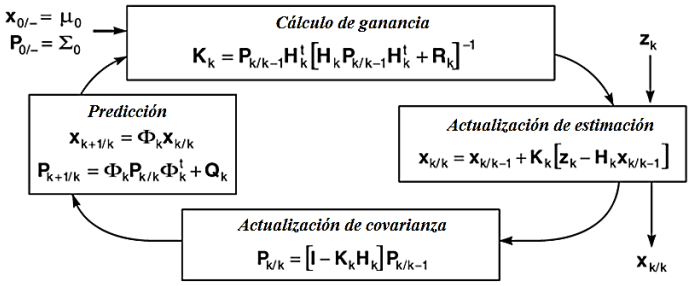

Figura 5. Proceso de implementación del Filtro Kalman.

En la ecuación (3) la actualización de la constante de Kalman K'_{k+1} es a través de F_k, P_k y la matriz de covarianza del modelo de corrección R_k. La nueva estimación X'_{k+1} queda definida por la estimación presente X'_k más la constante de Kalman presente

K'_k multiplicada por la resta de $\overrightarrow{Z_k}$ y $H_k X'_k$ donde $\overrightarrow{Z_k}$ representa la media del modelo de corrección. Finalmente, P'_{k+1} es la estimación de la nueva matriz de covarianza.

$$K'_{k+1} = P_k F_k^T (F_k P_k F_k^T + R_k)^{-1}$$
$$X'_{k+1} = X'_k + K'_k (\overrightarrow{Z_k} - H_k X'_k) \qquad (3)$$
$$P'_{k+1} = P'_k - K'_k (H_k P'_k)$$

Por otro lado, el algoritmo de ventana de búsqueda es un método propuesto, en el cual, se liga un objeto en el cuadro posterior mediante una ventana de búsqueda definida por un objeto en el cuadro actual.
Los pasos para realizar el seguimiento son:

- Encontrar objetos en cuadro actual.
- Adquirir centroides y áreas.
- En el siguiente cuadro se define una ventana de dimensión NxN y se coloca en el centroide de cada objeto.
- En el área de la ventana definida previamente se buscan objetos en el cuadro anterior.
- Si el objeto fue encontrado, se relaciona con objetos encontrados anteriormente mediante distancia euclidiana.
- Escoger el objeto con la mínima distancia y etiquetarlo de acuerdo al número de objeto localizado.

En la Figura 6 se ilustra el proceso de usar los cuadros de búsqueda para realizar el seguimiento de un objeto.

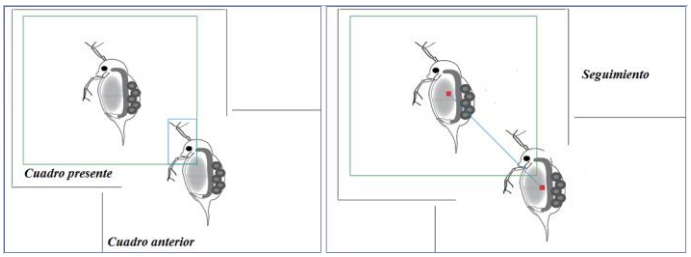

Figura 6. Seguimiento mediante búsqueda por ventana.

3. RESULTADOS

El método de actualización de fondo por mediana aproximada fue elegido en primera instancia porque cuenta con la ventaja de ser simple, al ser un método recursivo no requiere el uso de gran cantidad de memoria, presenta rapidez de procesamiento y elimina pequeñas variaciones de luminosidad. Por lo anterior, este método fue usado para la realización de ambos programas de seguimiento. El parámetro de actualización de fondo usado para la implementación del método fue α =20.
En cuanto a los algoritmos de seguimiento. Las principales ventajas del uso del algoritmo de búsqueda por ventana son su simplicidad y su fácil implementación en código. Sin embargo, este método cuenta con la desventaja de que aún no puede realizar correctamente el seguimiento cuando se cruzan dos o más objetos en el mismo cuadro de búsqueda, otra desventaja bastante significativa es que su procesamiento es lento en comparación al filtro de Kalman. El parámetro de tamaño de ventana utilizado en todas las pruebas fue de N=10. En la Figura 7 se observa la implementación de este método para el seguimiento de la Daphnia.

Otra opción de realizar seguimiento de una manera más robusta es mediante el filtro de Kalman. Este filtro predice el estado futuro mediante el conocimiento del estado presente.
Para la implementación del filtro primero se obtuvo la máscara binaria donde se encuentran detectados los objetos dinámicos del modelo de fondo, se procedió a buscar centroides y recuadros que encierran a los objetos del cuadro actual y se inician las trayectorias, luego, mediante el filtro de Kalman se predicen los estados futuros de los objetos que ya tenían una etiqueta de trayectoria existente, de lo contrario se crea una nueva ruta de seguimiento, se asignan los seguimientos a los objetos con su etiqueta existente y se asignan etiquetas nuevas a los no asignados. Después se corrige la predicción mediante el valor real donde se encuentre el objeto en el cuadro actual y se actualizan los seguimientos. Por último, en cada iteración se muestran los resultados del seguimiento. En la Figura 8 se muestra el seguimiento realizado mediante el Filtro Kalman.

El filtro de Kalman resultó ser una buena herramienta para seguir múltiples objetos ya que no presentó problemas en seguir más de 100 objetos. Por otro lado, con el método de ventana de búsqueda obtenemos un procesamiento lento al seguir más de 60 objetos, sin embargo, hay que recordar que para la realización de este proyecto se plantea el uso de grupos de alrededor de 30 Daphnias. Otra cosa a destacar es que el filtro Kalman se comportó robusto ante las oclusiones pudiendo predecir el estado futuro y manteniendo el seguimiento de los objetos, mientras que el método de ventana de búsqueda presenta problemas cuando existen dos o más objetos en la ventana.

Los algoritmos de detección y seguimiento serán usados en una etapa posterior para realizar el análisis del comportamiento del organismo Daphnia, a manera que se pueda obtener una relación entre el número de decesos y el nivel de concentración de toxicidad en el agua en un intervalo de exposición definido.

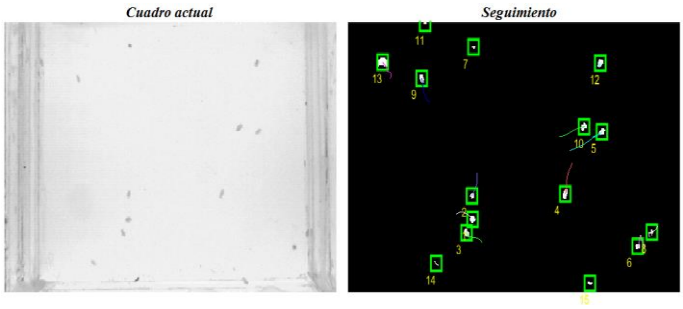

Figura 7. Seguimiento por medio del método ventana de búsqueda

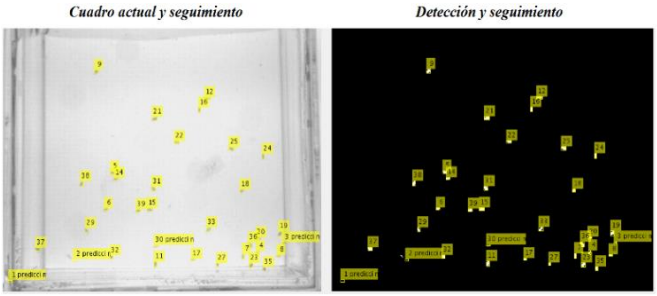

Figura 8. Seguimiento por medio del Filtro de Kalman

4. CONCLUSIONES

Los sistemas de visión no son una tarea fácil de realizar, incluso teniendo ambientes controlados y el material necesario para una correcta toma de videos, siempre existirán factores externos que pueden arruinar la toma y representar un reto, por ejemplo, el tipo de contenedores que se usen en la toma de videos es un factor muy importante para definir el tipo de iluminación que usará el sistema. Otro de los retos para el análisis de estos microorganismos es el calcular que velocidad de captura se necesita para seguir prediciendo su desplazamiento cuando ocurre un brinco de un cuadro a otro y que esta velocidad no exija el uso excesivo de memoria.

En cuanto a los algoritmos de detección y seguimiento. El método de substracción de fondo por medio de mediana aproximada fue elegido debido a que es un algoritmo recursivo que no exige un elevado costo computacional, lo cual, es ideal en aplicaciones en tiempo real. El algoritmo logra una correcta detección debido a su capacidad de adaptarse para actualizar el modelo de fondo. Por otra parte, debido a que se cuenta con un ambiente controlado, no habrá cambios bruscos de iluminación que puedan afectar la segmentación.

En la parte de seguimiento, el filtro de Kalman muestra un comportamiento robusto para predecir la trayectoria de múltiples objetos. Es un método recursivo que no necesita una gran cantidad de procesamiento ya que únicamente requiere el conocimiento del objeto en el estado presente, el estado calculado previamente y la matriz de incertidumbre. Por otro lado, el método de ventana de búsqueda se plantea como una opción más para realizar el seguimiento, cuenta con las ventajas de ser simple y de fácil implementación. Sin embargo, se encuentra en proceso de desarrollo para evitar los problemas ocasionados al existir dos o más objetos en la ventana de búsqueda.

Actualmente el desarrollo del sistema para el análisis del microorganismo Daphnia se encuentra en proceso de validación y experimentación. Como trabajo futuro se planea finalizar la configuración de la toma de video y realizar mejoras a los programas de detección y seguimiento con el fin de que sean robustos y presenten un mejor desempeño.

5. REFERENCIAS

[1] G. C. Morales, “Ensayos Toxicológicos Y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas,” in *Ensayos Toxicológicos Y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas*, 1era ed., Estado de México: IMTA (Instituto Mexicano de Tecnología del Agua), 2004, pp. 47–97.

[2] J. Martins, L. Oliva Teles, and V. Vasconcelos, “Assays with Daphnia magna and Danio rerio as alert systems in aquatic toxicology,” *Environ. Int.*, vol. 33, no. 3, pp. 414–425, 2007.

[3] D. Ebert, *Ecology, Epidemiology and Evolution of Parasitism in Daphnia*, vol. 3, no. 1. 2005.

[4] N. Lehman, M. E. Pfrender, P. a Morin, T. J. Crease, and M. Lynch, “A hierarchical molecular phylogeny within the genus Daphnia.,” *Molecular phylogenetics and evolution*, vol. 4, no. 4. pp. 395–407, 1995.

[5] S. J. Adamowicz, P. D. N. Hebert, and M. C. Marinone, “Species diversity and endemism in the,” *Zool. J. Linn. Soc.*, vol. 140, pp. 171–205, 2004.

[6] T. Kimura, M. Ohashi, K. Crailsheim, T. Schmickl, R. Odaka, and H. Ikeno, “Tracking of Multiple Honey Bees on a Flat Surface,” *2012 Fifth Int. Conf. Emerg. Trends Eng. Technol.*, pp. 36–39, 2012.

[7] J. García, A. Gardel, I. Bravo, J. Luis Lázaro, M. Martínez, and D. Rodríguez, “Detección y Seguimiento de Personas Basado en Estereovisión y Filtro de Kalman,” *Rev. Iberoam. Automática e Informática Ind. RIAI*, vol. 9, no. 4, pp. 453–461, 2012.

[8] J. S. Kulchandani and K. J. Dangarwala, “Moving object detection: Review of recent research trends,” *Pervasive Comput. (ICPC), 2015 Int. Conf.*, vol. 0, no. c, pp. 1–5, 2015.

[9] M. Baillieul and P. Scheunders, “On-line determination of the velocity of simultaneously moving organisms by image analysis for the detection of sublethal toxicity,” *Water Res.*, vol. 32, no. 4, pp. 1027–1034, 1998.

[10] B. A. N. and S. R. S. M. M. Roomi, “A Novel Approach for Heart Beat Counting of Daphnia Pulex,” *2013 Fourth Int. Conf. Comput. Commun. Netw. Technol.*, pp. 1–6, 2013.

[11] J. Jeon, J. H. Kim, B. C. Lee, and S. D. Kim, “Development of a new biomonitoring method to detect

the abnormal activity of Daphnia magna using automated Grid Counter device," *Sci. Total Environ.*, vol. 389, no. 2–3, pp. 545–556, 2008.

[12] K. Horak, J. Klecka, and M. Richter, "Water Quality Assessment by Image Processing," in *Telecommunications and Signal Processing (TSP), 2015 38th International Conference on*, 2015, pp. 577–581.

[13] J. Kunze, S. Hartmann, K. Witte, and K. Kuhnert, "Daphnia magna as biosensor for Ag-nanoparticles in water systems : Development of a computer vision system for the detection of behavioral changes," in *23rd International Conference on Pattern Recognition (ICPR 2016)*, 2016.

[14] M. I. Chacon-Murguia, R. Sandoval-Rodriguez, and O. Arias-Enriquez, "Human gait feature extraction including a kinematic analysis toward robotic power assistance," *Int. J. Adv. Robot. Syst.*, vol. 9, pp. 1–9, 2012.

[15] G. Welch and G. Bishop, "An Introduction to the Kalman Filter," *In Pract.*, vol. 7, no. 1, pp. 1–16, 2006.