(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 328 440**

(21) Número de solicitud: 200750068

(51) Int. Cl.:

G01N 15/00 (2006.01)
G01N 33/483 (2006.01)
G06T 7/00 (2006.01)
G06T 7/60 (2006.01)
G06K 9/46 (2006.01)

(12) PATENTE DE INVENCIÓN B1

(22) Fecha de presentación: **10.04.2006**

(30) Prioridad: **26.04.2005 BR 0501535**

(43) Fecha de publicación de la solicitud: **12.11.2009**

Fecha de la concesión: **18.08.2010**

(45) Fecha de anuncio de la concesión: **30.08.2010**

(45) Fecha de publicación del folleto de la patente: **30.08.2010**

(73) Titular/es: **EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA**
Parque Estação Biológica - PqEB
Av. W3 Norte (final)
Brasilia D.F. 70770-901, BR

(72) Inventor/es: **Martinez Bruno, Odemir;**
Pazoti, Mario Augusto y
Pessoa, José Dalton Cruz

(74) Agente: **Illescas Taboada, Manuel**

(54) Título: **Método para identificar *Guignardia citricarpa*.**

(57) Resumen:
Método para identificar *Guignardia citricarpa*.
La presente invención se refiere a un sistema de visión por ordenador para identificar el hongo *Guignardia citricarpa*, el agente causante de la mancha negra de los cítricos.

ES 2 328 440 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. Pº de la Castellana, 75 – 28071 Madrid

DESCRIPCIÓN

Método para identificar *Guignardia citricarpa*.

La presente invención se refiere a un sistema de visión por ordenador para identificar el hongo *Guignardia citricarpa*, el agente que causa la mancha negra de los cítricos.

Puesto que el proceso usado actualmente para identificar y contar las esporas del hongo *Guignardia citricarpa*, el agente que causa la mancha negra de los cítricos (Figura 1), se realiza manualmente, y por esta razón consume tiempo y es cansado, se creó el sistema de visión artificial, para ayudar a dicho proceso.

Con la ayuda de técnicas por ordenador, se analizaron las imágenes obtenidas a partir de discos de colección usados habitualmente, y las partículas encontradas en estas imágenes se sometieron a un proceso de identificación automático. Con esto, la presente invención muestra una alternativa para automatizar dicha etapa, como un intento para ayudar al trabajo desarrollado por el especialista.

Se estudió y se comparó un conjunto de técnicas para analizar las imágenes y la caracterización de las ascosporas fúngicas, basándose en la forma. Entre las técnicas, la curvatura y los descriptores de Fourier muestran resultados muy buenos, y se usaron para implementar el sistema de visión por ordenador -CITRUSVIS- que analiza e identifica las ascosporas encontradas en las imágenes de los discos de colección.

Aunque los sistemas de visión similares al sistema de visión biológica se desarrollarán en un futuro muy lejano, actualmente hay mecanismos que realizan ciertas actividades más eficientemente que el sistema de visión humano, por ejemplo. Este es el caso de los sistemas de medida, biométricos, de instrumentación y otros.

Los sistemas de visión artificial se dirigen a obtener un conjunto de técnicas que pueden apoyar el desarrollo de productos suficientemente eficaces y fiables para aplicaciones prácticas en un gran número de campos. Se han usado en varias aplicaciones, tales como la industria, la agricultura, la medicina y otros, para realizar varias tareas.

Estos sistemas, provistos con funciones de análisis de imágenes y de toma de decisiones, están tomando un lugar importante a la hora de controlar y asegurar la calidad de productos, realizando tareas que se asignan habitualmente a inspectores humanos. Por ejemplo, en la agricultura, la introducción de tecnologías de visión artificial pretende ayudar al proceso de producción, por ejemplo en el manejo de plagas y enfermedades.

Se usaron técnicas de visión por ordenador, capaces de caracterizar las ascosporas del hongo *Guignardia citricarpa* a partir de imágenes microscópicas obtenidas de los discos de colección. Adicionalmente, se desarrolló una herramienta de análisis de imágenes para identificar esporas eventuales capturadas en el disco, identificando y contando las ascosporas del hongo mediante el uso de un conjunto selecto de técnicas que es el objeto de la presente invención.

Para desarrollar este sistema, se vieron implicados los campos de visión por ordenador, de morfología matemática, y de procesamiento de imágenes y señales, además de los aspectos biológicos. Esta es una investigación multidisciplinar dirigida al campo de la agrotecnología.

Un sistema de visión tradicional comprende las etapas de adquirir, segmentar, extraer rasgos y clasificar (González y Woods, 2002). Entre las etapas esenciales en el procesamiento de imágenes, las etapas de segmentación y de análisis son algunas de las más importantes, y también las más difíciles.

Se realizó un estudio comparativo con las técnicas de análisis de formas, para caracterizar las ascosporas. El fin de esta comparación fue evaluar las técnicas y seleccionar aquellas que muestren el mejor comportamiento. A fin de realizar este estudio, se usó un conjunto de muestras seleccionado de las imágenes obtenidas de los discos de colección. Para evaluar/cuantificar el comportamiento de las técnicas en este conjunto de muestras, se empleó el método de clasificación basado en la distancia mínima.

La técnica seleccionada fue la curvatura de la forma asociada con los descriptores de Fourier. Cuando se compara con otras técnicas empleadas, esta técnica mostró el mejor resultado cuando se caracteriza y se segrega el conjunto de muestras.

Después de seleccionar las técnicas para analizar y extraer los rasgos, se prestó atención a las otras etapas requeridas por un sistema de visión por ordenador. Se obtuvo un resultado satisfactorio por medio de una combinación entre algunas de ellas, como ocurrió en la fase de segmentación de imágenes.

Puesto que las imágenes contenían varias partículas y no parecían ser uniformes, la combinación de técnicas de uso de umbrales con filtros no lineales y la transformada del algoritmo de segmentación del procesamiento de imágenes (*watershed*) permitió que se segmentara correctamente un gran número de partículas.

En la etapa de identificación de las partículas, se usaron dos técnicas: la técnica de la distancia mínima, y las redes neuronales artificiales. La red neuronal se seleccionó entre ellas debido a los resultados satisfactorios obtenidos.

Se implementó un prototipo de sistema propuesto en MATLAB®, dirigido a ensayar y validar la funcionalidad de las técnicas seleccionadas. Con este prototipo, fue posible analizar cada imagen contando las partículas identificadas como ascosporas. Además, cada una de estas partículas se marca en la imagen de forma que el especialista puede comprobar visualmente el resultado.

Conviene enfatizar que algunas imágenes usadas en los ensayos tienen problemas, que hacen difícil el análisis, tales como: baja calidad y resolución de las imágenes, y falta de enfoque que emborronaba algunas de ellas, falta de estandarización de los factores de agrandamiento de las imágenes, y otros.

Incluso con estas dificultades, el resultado del ensayo de identificación de las ascosporas se consideró muy satisfactorio (96,6% de concordancia), satisfaciendo de este modo las expectativas. Sin embargo, se cree que este resultado se puede mejorar usando imágenes estandarizadas y de mejor calidad, en un proceso de adquisición controlada/dedicada.

Adicionalmente, este resultado se basa sólo en las partículas sometidas a la identificación por la red neuronal-partículas preseleccionadas en términos de perímetro. Si se toma en cuenta el total de partículas segmentadas, el porcentaje de concordancia es 99,6%, puesto que la preselección basada en el perímetro elimina un gran número de partículas no ascospóricas. Se debe decir que estas imágenes muestran un amplio intervalo de partículas, incluyendo aquellas que tienen una forma que es muy similar a una forma de ascosporas.

Generalmente, las técnicas ensayadas alcanzaron porcentajes de concordancia de alrededor de 60%, un resultado que se considera positivo. La Tabla 1 muestra un resumen de los resultados obtenidos durante la comparación de las técnicas. El enfoque basado en la curvatura de la forma mostró el mejor resultado (una concordancia de aproximadamente 92%). Es crucial enfatizar que este resultado se alcanzó cuando se considera sólo un tipo de rasgo -la curvatura- usado como la base de los descriptores de Fourier.

La curvatura ha mostrado un resultado satisfactorio para caracterizar las ascosporas. Adicionalmente, otro rasgo mostró ser útil en este proyecto: el perímetro. Tal rasgo permite preseleccionar las muestras. Por lo tanto, parte de las partículas no ascospóricas encontradas en la imagen se desecha, reduciendo de este modo el número de muestras a ser sometidas al proceso de extracción e identificación de los rasgos.

Se debe de mencionar que los resultados presentados, y el estudio comparativo, son específicos para la identificación de las ascosporas de *Guignardia citricarpa*.

TABLA 1

	Ascosporas			Otras partículas			Totales	
Experimentos	Empareja-mientos	Errores	(% de Error)	Empare-jamien-tos	Errores	(% de Error)	Empareja-mientos	(% de Em-pareja-mientos)
Momentos - signatura	13	7	35%	23	17	43%	36	60%
Momentos - curvatura	19	1	5%	25	15	38%	44	73%
Fourier - con-torno	9	11	55%	37	3	8%	46	77%
Fourier - sig-natura	13	7	35%	31	9	23%	44	73%
Fourier - pro-yección	12	8	40%	40	0	0%	52	87%
Fourier - cur-vatura	**17**	**3**	**15%**	**38**	**2**	**5%**	**55**	**92%**
Transformación de ondas pe-queñas (*wave-lets*) - curva-tura	16	4	20%	29	11	28%	45	75%

La principal motivación para desarrollar este sistema fue crear un entorno que permitiese la realización de ensayos usando imágenes de discos de colección, considerando la aplicación de todas las etapas desarrolladas (segmentación, extracción e identificación de rasgos).

A continuación se describen las etapas implicadas en el desarrollo del sistema CITRUSVIS, así como los métodos usados en cada una. Se muestran los resultados obtenidos y el sistema implementado.

Las imágenes usadas se obtuvieron de los discos de colección usando cámaras digitales conectadas a un microscopio convencional. Antes de adquirir las imágenes, se aplicó sobre los discos un color azul láctico usado ampliamente en laboratorios de microbiología. Este color se usó para teñir indistintamente las estructuras de hialina (transparentes como vidrio), permitiendo que se viesen con la ayuda de un microscopio. Se tiñen tanto las ascosporas de *Guignardia citricarpa* como las otras esporas e hifas (partes filamentosas) de otros hongos capturados también en los discos.

La Figura 2 muestra una de las imágenes obtenidas de los discos de colección. Esta imagen muestra diferentes partículas que se recogen en los huertos. Entre estas partículas, se destaca una ascospora del hongo *Guignardia citricarpa*.

Las imágenes usadas están en formato JPEG (un patrón internacional propuesto por el comité ISO -*Joint Photographers Expert Group*), y muestran diferentes tamaños, la mayoría de ellos de 640 x 512 pasos.

En los ensayos se usaron alrededor de 70 imágenes. Entre ellas, se encontraron algunos de los siguientes problemas: (i) diferentes colores y sombras de la imagen (fondo del disco) y de las partículas, siendo algunos de ellos demasiado claros, impidiendo de este modo la segmentación, (ii) un emborronamiento como resultado del ajuste inadecuado del enfoque del microscopio, que, en algunos casos, cambia la forma de las partículas y requiere el preprocesamiento para usar la imagen, y (iii) baja calidad debido a la compresión de JPEG.

Inicialmente, la idea fue aplicar una segmentación que pudiese separar las partículas basándose en el color, puesto que algunas partículas contenidas en los discos estaban teñidas de azul, incluyendo las ascosporas. Las imágenes se convirtieron de RGB a HSI (Rick, 2000), y sólo se usó el componente H, que se refiere a la sombra, para aplicar el uso de umbrales.

Los valores obtenidos de la conversión se normalizan entre 0 y 1, y, considerando el intervalo que se refiere al color azul se definieron dos umbrales, $Ti = 0{,}4$ y Tf 0,6. De este modo, sólo se segmentaron las partículas que tienen un color que oscila desde ciano a azul (como resultado de las variaciones de color debidas al proceso de tinción), desechando el resto de partículas.

Puesto que las imágenes se compactaron en formato de JPEG, se desechó una cantidad significativa de información relacionada con el color y, en consecuencia, se obtuvieron malos resultados en el proceso de conversión de RGB a HSI. De este modo, la segregación de las partículas se vio alterada, creando varios ruidos y deformaciones en algunas partículas.

Adicionalmente, otro problema fue el color de fondo del disco en algunas imágenes. En algunos casos, no fue posible segmentar las partículas de la imagen mediante el uso de umbrales, puesto que el color de fondo de la imagen dio como resultado una sombra dentro del intervalo de color definido. Puesto que la mayoría de las imágenes mostró algunos de estos problemas, se abandonó este enfoque, puesto que no fue posible obtener nuevas imágenes con una mejor calidad en el tiempo para realizar nuevamente los experimentos.

Una alternativa a la segmentación de las partículas fue aplicar un algoritmo de umbrales directamente sobre la imagen convertida a escala de grises. Entre los algoritmos de segmentación, se escogió el algoritmo Otsu (1979), debido al buen comportamiento observado durante los ensayos realizados con el mismo usando las imágenes del disco de colección. Sin embargo, se generaron ruidos después del proceso de uso de umbrales, como resultado de la variación del nivel de grises de las imágenes, evitando de ese modo una buena segmentación.

Una forma para reducir los ruidos contenidos en la imagen es aplicar filtros suavizantes de la imagen, tales como el filtro gausiano (González y Woods, 2002). Sin embargo, este filtro cambia las regiones frontera debido al emborronamiento que causa en los bordes de las partículas, cambiando de ese modo la forma de algunas de ellas después del uso del umbral, además de la posibilidad de aumentar el número de partículas conectadas.

Después se decidió aplicar el filtro de difusión no lineal propuesto por Perona y Malik (1990). Este filtro suaviza la imagen, conservando las regiones frontera. Reduce la variación de los niveles de grises por región, y consecuentemente los ruidos tras el uso de umbrales (Weickert, 1997). La ecuación de difusión aplicada está definida por Perona y Malik (1990) como

$$g\left(\|\nabla I\|\right) = \frac{1}{1+\left(\frac{\|\nabla I\|}{K}\right)^2} \qquad (1)$$

Para aplicar este filtro en la imagen I, se consideró el parámetro K = 4 (umbral frontera). Este parámetro indica las regiones consideradas como fronteras, esto es, para $\|\Delta I\| > K$. En estas regiones, el proceso de difusión tiene un efecto disminuido. Por otro lado, $\|\Delta I\| > K$, el coeficiente de difusión tiene una amplitud elevada, y el efecto suavizante será más potente (Morel y Solimini, 1995; Voci *et al*., 2004). Adicionalmente, el número de iteraciones consideradas para aplicar el filtro sobre las imágenes de los discos fue $N = 30$.

Cuando se comparan los resultados obtenidos aplicando los filtros lineales y no lineales sobre una imagen adquirida a partir de un disco de colección a las imágenes respectivas después del uso de los umbrales, se observó que ambos filtros muestran menos ruidos cuando se comparan con el umbral cuando se aplica directamente a la imagen original.

Sin embargo, mediante el uso del filtro de Perona-Malik, se observó que la similitud de las formas obtenidas cuando se comparan con las partículas originales es mucho mayor que aquellas obtenidas usando el filtro gausiano. En la imagen con el filtro gausiano, algunas partículas parecen ser mayores que lo que en realidad son, o no se ven completamente. También se observó que aumenta la conexión entre los bordes de diferentes partículas.

Finalmente, es crítico enfatizar que, aunque el filtro de Perona-Malik muestra un mejor resultado para este ensayo, el coste de ordenador de esta técnica es mayor.

Esto ocurre debido al número de interacciones requeridas para obtener un resultado satisfactorio del proceso de difusión. No obstante, esta alternativa se adoptó para este trabajo, principalmente debido a que el filtro mantiene una forma similar a la obtenida después de suavizar con la forma original de las partículas.

Usando el filtro de Perona-Malik, se minimizan los problemas relacionados con ruidos y espacios en las formas de las partículas, pero no se eliminan. Además de algunos ruidos que resultan del proceso del uso de umbrales, aún pueden aparecer en la imagen partes de algunos filamentos y otras partículas pequeñas. Por esta razón, se aplicó un filtro morfológico a fin de eliminar los ruidos que quedan.

Otro aspecto positivo que se refiere a la aplicación del filtro morfológico es el hecho de que suaviza los bordes de las partículas, eliminando de este modo pequeños picos en los bordes, y cerrando los pequeños espacios. Para aplicar el filtro, se consideró un elemento estructuralmente circular que mide 5 x 5 pasos.

Una vez que se analizan individualmente los objetos de la imagen, una de las dificultades principales con este tipo de imagen se refiere al solapamiento o conexión entre las partículas. Este tipo de problema se encuentra habitualmente en imágenes que consisten en varios elementos, igual que las partículas recogidas en los discos. Para resolver este problema, se aplicó la técnica de morfología matemática del algoritmo de segmentación del procesamiento de imágenes (*watershed*) (Roerdink y Meijster, 2000).

Este enfoque adoptado para segregar estas partículas consiste en el algoritmo de inmersión propuesto por Vincent y Soille (1991). Para aplicar este algoritmo, es necesario usar la Transformada de Distancia (Saito y Toriwaki, 1994) para obtener el mapa de distancias, permitiendo interpretar la imagen binarizada como una liberación requerida para aplicar la transformada del algoritmo de segmentación del procesamiento de imágenes (*watershed*). Con esto, todas las partículas comienzan a mostrar niveles de profundidad a partir de los cuales se definen las localizaciones mínimas para cada región.

Estas localizaciones mínimas se usan como marcadores de región, para evitar problemas tales como la sobresegmentación de la imagen.

Aunque hay partículas que solapan sobre las imágenes obtenidas de los discos de colección, se han de considerar ciertos aspectos. Puesto que esta es una imagen binarizada, cuando hay un grupo de partículas aglomeradas, la Transformada de la Distancia no siempre permitirá la definición correcta de los marcadores de regiones con relación a la disposición real de las partículas en la imagen.

Para un grupo de partículas solapadas, los marcadores no se definieron correctamente usando el mapa de distancias, y, en consecuencia, el resultado obtenido con el algoritmo de segmentación del procesamiento de imágenes (*watershed*) no correspondió a la separación real entre las partículas. Sin embargo, según los especialistas de análisis de discos, las ascosporas raramente aparecen aglomeradas con otras partículas. También se observó en el grupo de imágenes usado en este proyecto. Se observó solapamiento sólo en algunas imágenes, pero siempre entre unas pocas partículas. Cuando están conectadas mediante una pequeña región, estas partículas se separaron por medio del algoritmo de segmentación del procesamiento de imágenes (*watershed*).

Después de la etapa de segmentación, cada partícula segmentada se analizó para determinar la extracción de los vectores de rasgos correspondientes. A fin de llevar a cabo esta etapa, se empleó un enfoque basado en la curvatura de la forma, que, a su vez, se obtiene del contorno paramétrico. A continuación se muestran las etapas de extracción del contorno y adquisición de los descriptores usando la curvatura de formas.

Para extraer el contorno de las partículas, se aplicó el algoritmo después del contorno (Costa y Cesar, 2000). Sin embargo, se proporcionó una adaptación de forma que se extrajo en la misma imagen el contorno de varias partículas, almacenándose cada una en una lista encadenada. Merece la pena enfatizar que las partículas conectadas al borde de la imagen son desechadas, ya que estas partículas habitualmente no están completas, esto es, parte de la forma se perdió durante la adquisición de la imagen.

Durante la extracción del contorno, se preseleccionaron muestras a partir del perímetro. De este modo, sólo se analizan aquellas partículas que tienen el perímetro dentro del intervalo considerado (120 a 220 pasos).

Finalmente, se extrajo un conjunto preseleccionado de contornos a partir de cada imagen, de forma que se extrajeron subsiguientemente los descriptores.

Los descriptores se extraen del conjunto de contornos obtenido de cada imagen analizada. Para cada uno de estos contornos, se calcula la curvatura, considerando $k(n,\sigma)=\Im^{-1}\{K(f).G(f,\sigma)\}$, siendo la desviación estándar del filtro gausiano $\sigma = 0{,}22$.

Los descriptores se obtienen aplicando la Transformada de Fourier sobre la señal de curvatura, normalizándose el espectro. Después, se seleccionan 60 descriptores considerando sólo la densidad espectral de la señal en el dominio de frecuencias (espectro de potencia). De este modo, cada partícula obtenida de la imagen se representa mediante un vector de rasgo, y se aplican sobre los vectores los métodos de reconocimiento estándares.

En esta etapa, el fin fue usar técnicas de reconocimiento estándares para validar la capacidad discriminatoria obtenida usando la descripción de formas por medio de la curvatura que, en este trabajo, pretendía identificar las ascosporas del hongo *Guignardia citricarpa*. Cuando se comparan las técnicas, el buen resultado obtenido usando la clasificación de distancia mínima condujo a escoger la curvatura como la técnica a aplicar en la descripción de las partículas. Sin embargo, en un intento por mejorar el resultado obtenido con este enfoque, se decidió usar las redes neuronales artificiales.

A fin de realizar ensayos con redes neuronales, se usó *la caja de herramientas* de las redes neuronales de MATLAB® (Demuth y Beale, 2003). Además de obtener una interfaz gráfica disponible para la construcción, entrenamiento y simulación de redes, esta *caja de herramientas* también permite la integración de redes con las otras etapas implicadas en el sistema de visión, tales como la extracción de rasgos, facilitando de este modo el desarrollo del prototipo del sistema CITRUSVIS.

La red seleccionada fue una red de *retropropagación alimentada hacia delante* con 60 entradas, dos capas intermedias con 20 y 15 neuronas cada una, y una capa de salida con 2 neuronas (Figura 3).

Una de las neuronas de la capa de salida representa la clase *Ascosporas*, y la otra representa la clase de *Otras partículas*. La neurona que tiene el mayor valor de salida indica la decisión de la red en la clase a la que pertenece el estándar analizado.

Para el entrenamiento de redes neuronales, se consideró el número más elevado de muestras. Estas muestras se dividieron en 3 grupos: entrenamiento, validación y ensayo. Se usó un total de 300 muestras, cada una con 60 descriptores. Las muestras se dividieron en 160 muestras para entrenamiento, 70 muestras para validación y 70 para ensayo. Merece la pena destacar que las muestras no se repiten entre los grupos, esto es, una muestra que pertenece al grupo de entrenamiento no se consideró para los otros grupos.

El algoritmo de entrenamiento usado fue la *retropropagación* de Levenberg-Marquardt (*trainlm*) (Demuth y Beale, 2003; Hagan y Menhaj, 1994), y la función de activación fue la función sigmoidal (logsig), cuyo intervalo de salida oscila desde 0 hasta 1. El rendimiento obtenido durante el entrenamiento usando la topología (20-15-2) fue alrededor de 6,9 e-8, considerando como medida el error cuadrático medio (MSE). Se ensayaron otras topologías y otros algoritmos de entrenamiento que estuvieron disponibles gracias a la caja de herramientas. Sin embargo, muestran unas menores prestaciones.

El resultado obtenido usando la red fue muy bueno (98% de concordancia), una mejora significativa cuando se compara con el resultado obtenido basándose en la distancia mínima entre los vectores de rasgos (alrededor de 92% - véase Tabla 1). Merece la pena destacar que este resultado se obtuvo con el conjunto preseleccionado de muestras para el ensayo.

Como se ha mencionado anteriormente, el prototipo de sistema de visión para identificar las ascosporas del hongo *Guignardia citricarpa* se desarrolló a fin de proporcionar un entorno para realizar los ensayos usando las imágenes obtenidas a partir de los discos de colección. Adicionalmente, este entorno facilita la visualización del resultado obtenido, marcando en la imagen del disco las ascosporas identificadas.

Este prototipo se desarrolló usando la interfaz gráfica MATLAB®. Esta interfaz se escogió puesto que integra fácilmente todas las etapas desarrolladas (desde la segmentación de imágenes hasta la identificación de partículas, usando las redes neuronales). Además, el entorno permite varias funcionalidades básicas. La Figura 4 muestra la interfaz del prototipo desarrollado.

Puesto que la idea principal de este sistema fue construir un entorno para ensayar y validar el enfoque adoptado, se permitieron algunas opciones para permitir la selección de algunas técnicas a aplicar durante el proceso de análisis. Haciendo esto, es posible comparar mejor los resultados obtenidos usando la combinación de diferentes enfoques de segmentación (filtros lineales o no lineales y la aplicación del algoritmo de segmentación del procesamiento de imágenes (*watershed*)) y la identificación (basada en la distancia mínima o en redes neuronales artificiales).

Además de mostrarlos como un texto (número de muestras, números de ascosporas y tiempo), los resultados se muestran en la propia imagen, marcándose las partículas identificadas como ascosporas mediante un contorno rojo. También es posible visualizar los otros contornos preseleccionados (en azul), y también las etiquetas de las partículas (índice de lista de contornos), como se muestra en la Figura 4.

A fin de validar la solución adoptada, se analizaron las imágenes de los discos de colección. De este modo, se aplicaron todas las etapas desarrolladas, desde la segmentación hasta la identificación de las partículas que existen en la imagen de los discos. Para llevar a cabo este experimento, se separaron 3 grupos de imágenes, esto es, Disco 1 (20 imágenes), Disco 2 (15 imágenes) y Disco 3 (20 imágenes).

Se llevaron a cabo tres experimentos, uno para cada grupo de imágenes. Cuando se evaluaron los resultados, se tuvieron en cuenta los siguientes apartados: tiempo de procesamiento en segundos; número de partículas segmentadas; número de partículas preseleccionadas mediante el perímetro; número de errores durante la preselección (partículas de ascosporas no preseleccionadas); número de ascosporas que existen en la imagen (identificadas manualmente); número de ascosporas identificadas correctamente por el sistema; número de falsos positivos y falsos negativos; y el error total, es decir, la suma de los errores aparecidos en la preselección e identificación por la red neuronal.

Los resultados obtenidos usando el análisis de cada grupo de imágenes se muestran en las Tablas 2, 3 y 4. Estas tablas incluyen dos tipos de errores: el error que se refiere a la preselección de las partículas, que se produce cuando no se preselecciona la partícula de una ascospora; y el error que se refiere a la red neuronal, que se produce cuando una partícula preseleccionada no es clasificada correctamente por la red. En este último caso, los errores se separan todavía como falsos positivos y falsos negativos, puesto que en este trabajo la aparición de falsos negativos es más significativo que los falsos positivos. Cada tabla muestra también un resumen del resultado general obtenido con el grupo correspondiente de imágenes.

TABLA 2

Imágenes	Tiempo (s)	N° de muestras	Cantidad de preselección	Errores de preselección	Errores de preselección en %	Ascosporas en la imagen	Red neuronal			Errores de la red	Errores de la red en %	% de error por imagen
							Empalejamientos	FP	FN			
disco 1_1	53	90	8	1	11%	1	0	0	0	0	0%	11%
disco 1_2	66	148	24	0	0%	2	2	1	0	1	4%	4%

disco 1_3	54	94	18	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 1_4	60	121	18	0	0%	1	0	0	1	1	6%	6%
disco 1_5	54	81	11	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 1_6	59	120	14	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 1_7	73	179	25	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 1_8	85	219	42	0	0%	1	1	2	0	2	5%	5%
disco 1_9	68	132	32	0	0%	1	1	1	0	1	3%	3%
disco 1_10	72	173	24	0	0%	0	0	1	0	1	4%	4%
disco 1_11	68	159	26	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 1_12	70	168	22	1	4%	1	0	0	0	0	0%	4%
disco 1_13	63	137	20	0	0%	1	0	1	1	2	10%	10%
disco 1_14	59	119	21	0	0%	1	0	1	1	2	10%	10%
disco 1_15	71	177	23	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 1_16	66	136	17	1	6%	1	0	1	0	1	6%	11%
disco 1_17	55	104	9	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 1_18	49	71	3	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 1_19	45	53	3	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 1_20	59	110	12	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%

FP - Falso positivo

FN - Falso negativo

Resultado General		
Tiempo medio del procesamiento	62,45	
Número total de muestras preseleccionadas (perímetro)	372	
Errores durante la preselección	3	0,8%
Errores producidos en la red neuronal	11	2,96%
Partículas totales (errores preseleccionados + preselección)	375	
Errores totales (preselección + red neuronal)	14	3,7%

TABLA 3

Imágenes	Tiempo (s)	N° de muestras	Cantidad de preselección	Errores de preselección	Errores de preselección en %	Ascosporas en la imagen	Red neuronal			Errores de la red	Errores de la red en %	% de error por imagen
							Emparejamientos	FP	FN			
disco 2_1	68	173	9	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 2_2	67	157	14	0	0%	1	1	1	0	1	7%	7%
disco 2_3	57	105	17	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 2_4	88	245	31	0	0%	1	1	1	0	1	3%	3%
disco 2_5	62	138	8	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 2_6	71	176	16	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 2_7	40	15	3	1	25%	1	0	1	0	1	33%	50%

disco 2_8	43	39	13	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 2_9	71	171	15	0	0%	1	0	0	1	1	7%	7%
disco 2_10	75	178	27	0	0%	1	0	0	1	1	4%	4%
disco 2_11	60	126	15	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 2_12	76	163	23	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 2_13	72	175	19	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 2_14	55	106	3	1	25%	1	0	0	0	0	0%	25%
disco 2_15	79	217	11	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%

FP - Falso positivo

FN - Falso negativo

Resultado General		
Tiempo medio del procesamiento	65,6	
Número total de muestras preseleccionadas (perímetro)	224	
Errores durante la preselección	2	0,9%
Errores producidos en la red neuronal	5	2,2%
Partículas totales (errores preseleccionados + preselección)	226	
Errores totales (preselección + red neuronal)	7	3,1%

TABLA 4

Imágenes	Tiempo (s)	N° de muestras	Cantidad de preselección	Errores de preselección	Errores de preselección en %	Ascosporas en la imagen	Red neuronal			Errores de la red	Errores de la red en %	% de error por imagen
							Emparejamientos	FP	FN			
disco 3_1	47	17	9	0	0%	7	7	0	0	0	0%	0%
disco 3_2	100	35	4	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 3_3	55	48	6	2	25%	6	4	0	0	0	0%	25%
disco 3_4	90	15	2	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 3_5	46	12	11	0	0%	8	8	0	0	0	0%	0%
disco 3_6	47	20	5	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 3_7	47	18	1	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 3_8	57	52	16	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 3_9	65	84	16	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 3_10	53	39	5	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 3_11	62	75	9	0	0%	1	1	0	0	0	0%	0%
disco 3_12	100	65	8	0	0%	1	0	0	1	1	13%	13%
disco 3_13	165	203	22	1	4%	1	0	1	0	1	5%	9%
disco 3_14	71	186	19	0	0%	0	0	0	0	0	0%	0%

disco 3_15	74	118	10	0	0%	0	0	0	0	0	0%	0%
disco 3_16	72	108	14	0	0%	0	0	0	0	0	0%	0%
disco 3_17	54	45	5	0	0%	0	0	0	0	0	0%	0%
disco 3_18	72	112	4	0	0%	0	0	0	0	0	0%	0%
disco 3_19	57	57	3	0	0%	0	0	0	0	0	0%	0%
disco 3_20	73	114	13	0	0%	0	0	1	0	1	8%	8%

FP - Falso positivo

FN - Falso negativo

Resultado General		
Tiempo medio del procesamiento	70,35	
Número total de muestras preseleccionadas (perímetro)	182	
Errores durante la preselección	3	1,6%
Errores producidos en la red neuronal	3	1,6%
Partículas totales (errores preseleccionados + preselección)	185	
Errores totales (preselección + red neuronal)	6	3,2%

Basándose en los datos obtenidos cuando se analizan los 3 grupos de imágenes, los experimentos se sometieron a una evaluación general. Esta evaluación se muestra en la Tabla 5.

TABLA 5

Resultado General (considerando las 55 imágenes)		
Tiempo medio del procesamiento	66,13	
Número total de muestras preseleccionadas (perímetro)	778	
Errores durante la preselección	8	1,0%
Errores producidos en la red neuronal	19	2,4%
Partículas totales (errores preseleccionados + preselección)	786	
Errores totales (preselección + red neuronal)	27	3,4%

El resultado general obtenido con estos experimentos fue de un 96,6% de emparejamiento en la identificación de partículas que existe en el disco, considerando solamente las partículas preseleccionadas. Este resultado se consideró más que satisfactorio, indicando el buen comportamiento del enfoque adoptado para CITRUSVIS. Adicionalmente, el tiempo medio de procesamiento para cada imagen estaba ligeramente por encima de 1 minuto (66 segundos). Este tiempo se consideró como satisfactorio, puesto que se obtuvo mediante un prototipo del sistema y se realizó en un microordenador Pentium 4, 256 MB de RAM. Adicionalmente, el prototipo consiste en *escrituras* MATLAB® que se interpretan.

Entre los ejemplos mostrados, hay errores tanto falsos positivos como falsos negativos. La mayoría del tiempo, el error del falso negativo se produjo debido a problemas de segmentación de las partículas. Los casos de falsos positivos se produjeron puesto que la forma de las partículas es similar a la de una ascospora, o mostró una señal de curvatura similar a la curvatura mostrada por una ascospora.

El resultado obtenido usando las técnicas seleccionadas se consideró como muy satisfactorio. Merece la pena subrayar que una parte significativa de este resultado es debida a la descripción de las partículas por medio de la curvatura de formas a partir de la cual se extrajeron los descriptores de Fourier. Adicionalmente, el comportamiento obtenido con la red también satisfizo las expectativas, debido al número de partículas analizadas.

La implementación del sistema CITRUSVIS fue muy positiva, puesto que permitió analizar el comportamiento de técnicas en cada etapa llevada a cabo, así como los resultados obtenidos con cada una. También permitió observar la contribución de cada técnica al resultado final. Otro aspecto importante con relación al sistema fue la fácil manipulación del grupo de imágenes y los resultados obtenidos. El tiempo de procesamiento para cada imagen fue satisfactorio, teniendo en cuenta las técnicas empleadas en el análisis.

Los resultados dados a conocer previamente sólo consideraron las partículas preseleccionadas dentro del intervalo de perímetro definido. Sin embargo, la preselección cuando se extrae el contorno de las partículas también se considera como un proceso de clasificación en el que se desestiman las partículas que no tienen el perímetro dentro del intervalo considerado para las ascosporas, es decir, clasificadas inmediatamente como no ascosporas. De este modo, cuando se consideran indistintamente todas las partículas revisadas, el porcentaje de error general obtenido fue sólo 0,4%, es decir, 99,6% de emparejamiento cuando se clasifican las partículas (Tabla 6).

TABLA 6

Disco	**Partículas segmentadas**	**Errores por disco**	**% de Error**
1 (20 imágenes)	2591	14	0,54%
2 (15 imágenes)	2184	7	0,32%
3 (20 imágenes)	1423	6	0,42%
	6198	27	0,44%

La presente invención tuvo las siguientes contribuciones:

• introducción de una disolución para detectar la enfermedad de la mancha negra (*Guignardia citricarpa* usando técnicas de visión por ordenador;

• desarrollo de un método para identificar las ascosporas del hongo *Guignardia citricarpa*; este método ayudará a controlar/combatir la enfermedad de la mancha negra en huertos;

• comparación entre las diferentes técnicas de visión por ordenador para analizar las formas, identificando las ventajas y desventajas de cada una, ayudando así u ofreciendo alternativas a otras situaciones que muestran problemas similares;

• resultado satisfactorio obtenido con la combinación de diferentes técnicas para mejorar el proceso de segmentación que estaba basado en el uso de umbrales con la aplicación de filtros no lineales, en este caso el filtro Perona-Malik;

• desarrollo del prototipo CITRUSVIS basado en las técnicas estudiadas, permitiendo de este modo experimentos que implican a todas las etapas del sistema y la identificación de las ascosporas con resultados muy satisfactorios (99,6%).

Las siguientes figuras son parte de esta aplicación:

1 - ascospora de *Guignardia citricarpa*

2 - imagen digital adquirida del disco de colección, agrandada mediante un microscopio

3 - topología de la red usada en el CITRUSVIS

4 - interfaz del prototipo CITRUSVIS

Una búsqueda en las bases de datos de patentes no devolvió ningún método para la identificación de *Guignardia citricarpa* basado en el sistema de visión por ordenador, evidenciando de este modo que dicho sistema es nuevo.

REIVINDICACIONES

1. Método para identificar *Guignardia citricarpa*, **caracterizado** porque se usa una imagen escaneada de la ascospora, ya sea obtenida desde el disco de captura o no, en el proceso de identificación automática de *Guignardia citricarpa* por medio de las signaturas extraídas a partir del contorno de imágenes del hongo.

2. Método para identificar *Guignardia citricarpa*, **caracterizado** porque se realiza por medio de un sistema de visión por ordenador siguiendo las etapas a continuación:

a) adquisición de imágenes: la primera etapa de este proceso consiste en la adquisición de imágenes a partir del disco de colección usando una cámara digital conectada a un microscopio, que permite agrandar las imágenes y, como resultado, visualizar las partículas recogidas en el campo, incluyendo las ascosporas;

b) preprocesar: esta etapa consiste en aplicar técnicas a fin de mejorar (o corregir) las imágenes escaneadas; en esta fase se aplican filtros principalmente para reducir los ruidos de las imágenes, así como otras anomalías durante la adquisición de imágenes y que se pueden corregir mediante el procesamiento de la imagen;

c) segmentación: en esta etapa se aplican técnicas de segmentación de imágenes a fin de segregar cada partícula en la imagen; esto es necesario puesto que cada partícula se debería de analizar a fin de que se identifique como ascosporas o no; estas partículas se binarizan, y el análisis se lleva a cabo basándose en la forma;

d) análisis y extracción de rasgos importantes: en esta etapa se extraen individualmente los rasgos de las partículas segmentadas, usando técnicas de análisis de imagen; se extrae el contorno de las partículas, así como el conjunto de signaturas relacionadas con este contorno; a partir de estas signaturas, se calculan los descriptores y se selecciona un conjunto de estos descriptores para representar cada partícula que se analiza; las principales signaturas extraídas de las formas de las partículas incluyen: contorno paramétrico, signatura de la distancia entre el contorno de la forma y el centroide, proyección y curvatura; para obtener los descriptores, las técnicas principales fueron los descriptores de Fourier y las *ondas pequeñas* (*wavelets*);

e) identificación: en esta etapa, después del resultado de la etapa previa, las partículas se identifican usando técnicas de inteligencia artificial y redes neuronales artificiales; esta etapa se usa para reconocer las ascosporas en la imagen, dando como resultado su identificación y recuento.

3. Método para identificar *Guignardia citricarpa*, según las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque las signaturas usadas como base para el proceso de caracterización de las partículas de ascosporas pueden incluir:

a) contorno paramétrico: consiste en señales de X e Y que se refieren a las coordenadas (x, y) extraídas del contorno de la forma; el contorno de cada partícula se obtiene usando un algoritmo extractor del contorno, cuyo resultado consiste en una lista con todas las coordenadas (x, y) que se refieren a la frontera de la forma (borde);

b) distancia del contorno al centroide de la forma: consiste en obtener una señal unidimensional que comprende la distancia entre cada coordenada que pertenece al contorno de la forma y la coordenada que se refiere al centroide de la partícula (centro de masas); para obtener la distancia entre estas coordenadas, se puede aplicar cualquier algoritmo que calcule la distancia entre dos puntos;

c) proyección: la signatura obtenida por la proyección consiste en viajar a lo largo de la forma de la partícula en una dirección constante (por ejemplo, hacia abajo), sumándose todos los puntos que pertenecen a ella en cada iteración (es decir, cada línea escaneada); finalmente, se obtiene una señal unidimensional y se puede obtener en todas las direcciones la proyección de la forma;

d) curvatura: esta signatura se calcula a partir del contorno de la forma, y se refiere a la variación de la inclinación del contorno; generalmente, describe las regiones cóncavas y convexas en una forma; las partículas se caracterizan a partir de esta descripción;

todas estas signaturas (señales unidimensionales) muestran una variación con relación al tamaño (número de elementos que lo componen); se produce puesto que el tamaño de la signatura depende del tamaño (perímetro, área) de la partícula analizada; sin embargo, a fin de usarlas para caracterizar las partículas y someterlas subsiguientemente a un proceso de reconocimiento, estas signaturas se deben de normalizar; por esta razón, se aplican a estas signaturas métodos de extracción de descriptores; estos métodos permiten obtener un conjunto finito que tiene el mismo tamaño para todas las formas, permitiendo la caracterización; las técnicas aplicadas a estas signaturas fueron los descriptores de Fourier y los descriptores *wavelets* (*ondas pequeñas*).

FIGURA 1



FIGURA 2

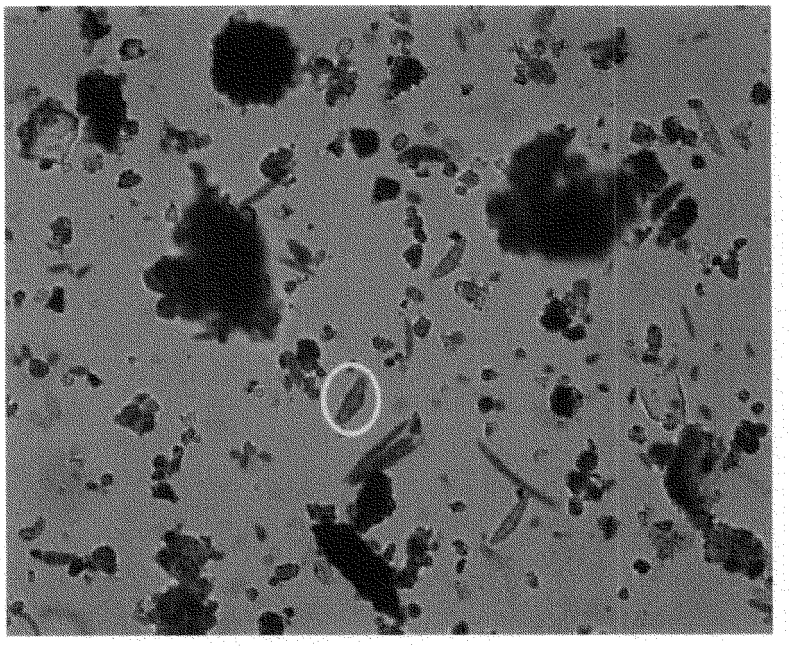


FIGURA 3

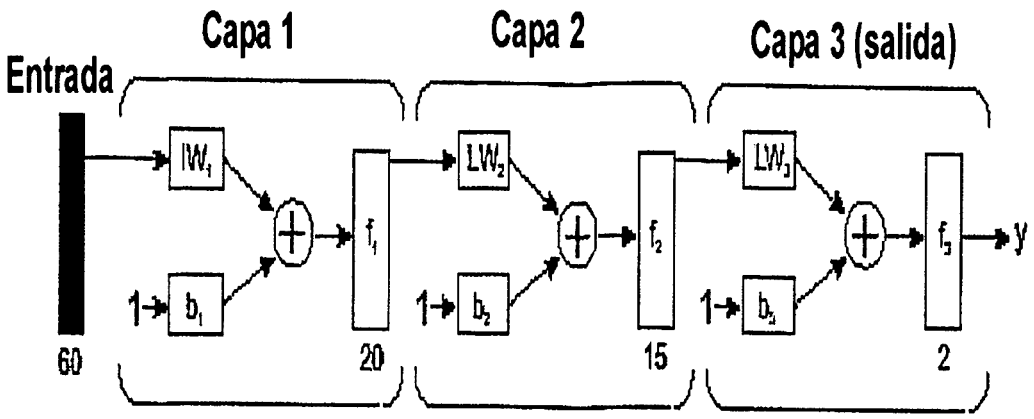
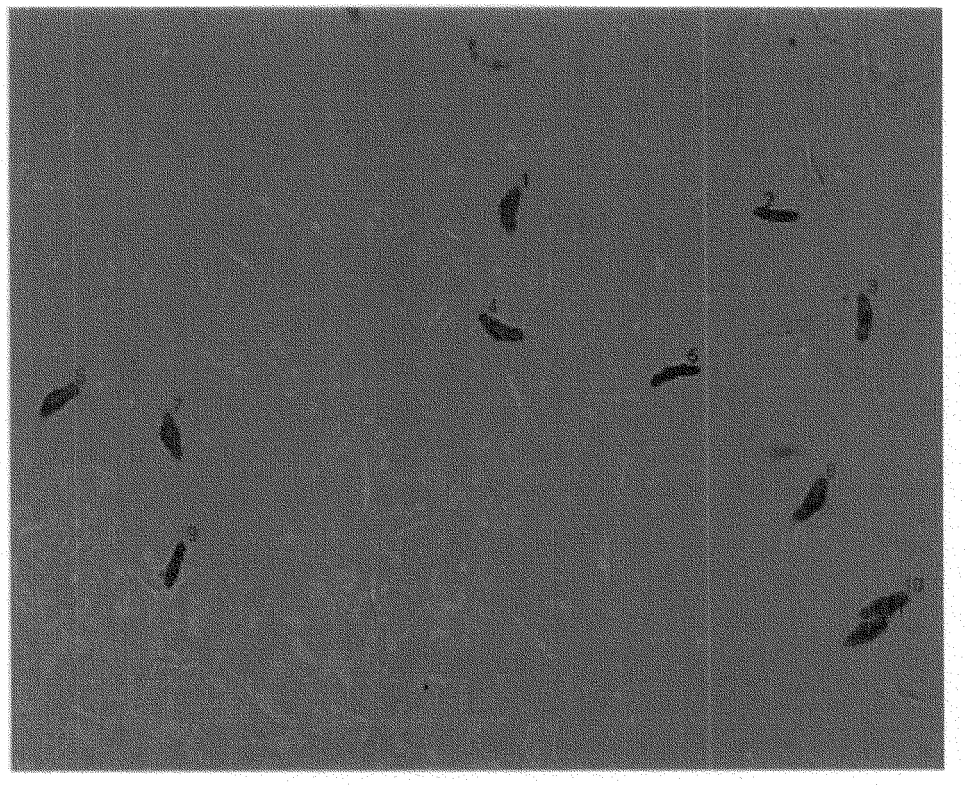

Capa 1
Capa 2
Capa 3 (salida)
Entrada
IW1
b1
f1
LW2
b2
f2
LW3
b3
f3
y
1
1
1
60
20
15
2

FIGURA 4



OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) ES 2 328 440

(21) Nº de solicitud: 200750068

(22) Fecha de presentación de la solicitud: **10.04.2006**

(32) Fecha de prioridad: **26.04.2005**

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

(51) **Int. Cl.:** Ver hoja adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	(56) Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	JP 10240950 A (ASAHI BREWERIES LTD) 11.09.1998	1,2
A	EP 0945830 A1 (KONINKL PHILIPS ELECTRONICS NV) 29.09.1999	1,2
A	WO 02067195 A2 (CYTOKINETICS INC; CONG GE; VAISBERG EUGENI A) 29.08.2002	1,2
A	WO 2004025556 A2 (BAYLOR COLLEGE MEDICINE; PONOMAREV ARTEM L; DAVIS RONALD L) 25.03.2004	1,2

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica
O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones ☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe	Examinador	Página
28.10.2009	Mª C. González Vasserot	1/4

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

G01N 15/00 (2006.01)
G01N 33/483 (2006.01)
G06T 7/00 (2006.01)
G06T 7/60 (2006.01)
G06K 9/46 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

G01N, G06T, G06K

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC

OPINIÓN ESCRITA

Nº de solicitud: 200750068

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 28.10.2009

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	1-3	**SÍ**
	Reivindicaciones		**NO**
Actividad inventiva	Reivindicaciones	1-3	**SÍ**
(Art. 8.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones		**NO**

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de **aplicación industrial.** Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión:

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como ha sido publicada.

1. Documentos considerados:

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	JP 10240950 A	11.09.1998
D02	EP 0945830 A1	29.09.1999
D03	WO 02067195 A2	29.08.2002
D04	WO 2004025556 A2	25.03.2004

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

Ninguno de los documentos citados identifica el hongo Guignardia citricarpa, el documento D1 sí identifica un hongo pero no concretamente este y analiza su contorno y curvatura para su identificación. Estos documentos citados sólo muestran el estado general de la técnica y no se consideran de particular relevancia.

Por lo tanto, la invención reivindicada es nueva y tiene actividad inventiva.