



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Informática
Maestría en Sistemas Computacionales

**Metodología para la Identificación y reconocimiento de nanopartículas solapadas
utilizando técnicas de procesamiento de imagen**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestro en Sistemas Computacionales

Presenta:

Ricardo Antonio Medina Espinosa

Dirigido por:

Dra. Ana Marcela Herrera Navarro

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Fecha de aprobación por el Consejo Universitario (enero, 2022)
México



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Informática
Maestría en Sistemas Computacionales

Metodología para la Identificación y reconocimiento de nanopartículas solapadas utilizando técnicas de procesamiento de imagen

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestro en Sistemas Computacionales

Presenta:

Ricardo Antonio Medina Espinosa

Dirigido por:

Dra. Ana Marcela Herrera Navarro

Dra. Ana Marcela Herrera Navarro
Presidente

Dr. Hugo Jiménez Hernández
Secretario

Mct. Juan Manuel García Huerta
Vocal

Dr. Ricardo Chaparro Sánchez
Suplente

Mto. Carlos Alberto Olmos Trejo
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Fecha de aprobación por el Consejo Universitario (enero, 2022)
México

Resumen

La segmentación de medidas extremadamente pequeñas, como las nanoestructuras, es uno de los principales temas de interés que enfrenta hoy en día la ciencia; su relevancia radica en manipular las estructuras moleculares para fabricar nuevos materiales a partir del reordenamiento de sus átomos. Dicha segmentación o caracterización de contornos permite visualizar los detalles y bordes de todos los elementos presentes en una imagen. Existen varias técnicas de procesamiento de imágenes que permiten detectar los bordes de los objetos; la técnica del gradiente de imágenes permite identificar los cambios de color e intensidad, mientras que el algoritmo de línea divisora de aguas controlada por marcadores está basado en la utilización de barreras que delimitan la cuenca hidrográfica del valor de intensidad de cada píxel. Por otra parte, la desviación estándar es utilizada para medir la dispersión de un conjunto de datos con respecto al valor de la media, mientras que la medida de circularidad permite evaluar la precisión del cálculo del radio de las nanopartículas. En esta investigación se propone una metodología robusta y efectiva a partir de la combinación de operadores morfológicos y técnicas de procesamiento de imágenes, con la finalidad de segmentar la mayor cantidad de nanoestructuras sin importar su orientación y solapamiento, para remover su solapamiento a partir del trazo de trayectorias.

Palabras clave: nanoestructura, segmentación, contorno, desviación estándar, medida de circularidad

Summary

The segmentation of extremely small measurements, such as nanostructures, is one of the main topics of interest that science is facing today, with the purpose of being able to manipulate the molecular structures to manufacture new materials from the rearrangement of their atoms. This segmentation or characterization of contours allows to visualize the details and silhouettes of all the elements present in an image. There are several image processing techniques that allow you to detect the object edges; the image gradient technique allows the identification of color and intensity changes, while the marker-controlled watershed algorithm is based on barriers that helps to delimit the hydrographic basis from the intensity value of each pixel. On the other hand, the standard deviation is used to measure the dispersion of a set of data with respect to the value of the mean, while the circularity measurement allows to evaluate the precision of the calculation of the radius of the nanoparticles. In this research, a robust and effective methodology is proposed from the combination of image processing techniques and morphological operators, in order to segment the largest number of nanostructures regardless of their orientation and occlusion, to remove its occlusion with trajectory trace.

Keywords: nanostructures, segmentation, edge, standard deviation, circularity measurements.

Dedicatorias

A mi padre, madre, hermana y esposa por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad; todos mis logros se los debo a ustedes y les agradezco por el gran apoyo incondicional y por el cariño que me han dado a lo largo de mi vida.

Agradecimientos

Las oportunidades que la universidad me ha brindado son incomparables, agradezco mucho la ayuda de mi asesora, profesores y compañeros en las experiencias y los conocimientos adquiridos; de igual manera, me gustaría agradecer de manera especial al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo financiero que me brindó a lo largo de estos cuatro semestres para continuar mejorando mi desarrollo académico.

Índice	
Resumen	II
Summary	III
Dedicatorias	IV
Agradecimientos	V
Índice	VI
Índice de Tablas	VIII
Índice de Ecuaciones	IX
Índice de Figuras	X
I. Introducción	1
II. Planteamiento teórico	4
1. Supuesto teórico	4
2. Objetivo general.....	4
3. Objetivos particulares.....	4
III. Metodología	5
1. Materiales y métodos.....	5
2. Pre-procesamiento.....	8
3. Algoritmo para remover oclusiones	10
4. Post-procesamiento	21
5. Análisis de la medida de circularidad	25

IV. Resultados y discusión	26
1. Aplicación del algoritmo descrito en la metodología	26
2. Comparación de los resultados entre los algoritmos	31
3. Análisis estadístico	35
4. Conclusiones y trabajo a futuro.....	38
V. Referencias.....	40

Índice de Tablas

Tabla 4.1 - Comparación de valores entre las partículas de la parte inferior	32
Tabla 4.2 - Comparación de valores entre las partículas de la parte central	33
Tabla 4.3 - Comparación de valores entre las partículas de la parte superior	34
Tabla 4.4 - Comparación de la medida de dispersión	36

Índice de Ecuaciones

coordenada del centro (1).....	10
distancia del centro (2).....	11
total de columnas (3).....	16
total de renglones (4).....	16
rango de columnas (5).....	19
rango de renglones (6).....	19
circularidad (7).....	25
radio (8).....	25

Índice de Figuras

Figura 3.1 - Nanopartículas de oro, fotografía con resolución de 426x436 píxeles a 100 nanómetros.....	5
Figura 3.2 - Diagrama de la metodología para remover solapamiento de nanopartículas	7
Figura 3.3 - Aplicación del filtro Canny en la imagen original.....	8
Figura 3.4 - Detección de contornos durante el pre-procesamiento.....	9
Figura 3.5 - Coordenadas del contorno: centro, mínimos y máximos	11
Figura 3.6 - Diagrama de obtención de las coordenadas más cercanas al centro de cada cuadrante - parte 1.....	13
Figura 3.7 - Diagrama de obtención de las coordenadas más cercanas al centro de cada cuadrante - parte 2.....	14
Figura 3.8 - Coordenadas más cercanas al centro de cada cuadrante en posición horizontal	15
Figura 3.9 - Coordenadas más cercanas al centro de cada cuadrante en posición vertical	16
Figura 3.10 - Diagrama sobre el trazo de trayectoria horizontal para remover oclusión.....	17
Figura 3.11 - Diagrama sobre el trazo de trayectoria vertical para remover oclusión.....	18
Figura 3.12 - Trayectoria trazada para remover oclusión mejorar categorías	20
Figura 3.13 - Umbralización de la imagen original	22

Figura 3.14 - Umbralización de la imagen resultante del algoritmo para remover oclusiones	23
Figura 3.15 Aplicación de la morfología de cierre sobre la Figura 3.14.....	23
Figura 3.16 - Detección de contornos de la Figura 3.15	24
Figura 4.1 - Aplicación de una trayectoria vertical en partículas ocluidas horizontalmente	26
Figura 4.2 - Aplicación de una trayectoria horizontal en partículas ocluidas verticalmente	27
Figura 4.3 - Aplicación de una trayectoria diagonal en partículas ocluidas diagonalmente	27
Figura 4.4 - Trayectorias resultantes de la metodología.....	28
Figura 4.5 - Umbralización y de la morfología de cierre sobre la imagen resultante de las trayectorias.....	29
Figura 4.6 - Comparación de la detección de contornos	29
Figura 4.7 - Comparación de la detección de círculos	30
Figura 4.8 - Comparación ilustrativa entre las partículas de la parte inferior	32
Figura 4.9 - Comparación ilustrativa entre las partículas de la parte central	33
Figura 4.10 - Comparación ilustrativa entre las partículas de la parte superior	34

Figura 4.11 - Variación de los radios entre Hough y el algoritmo para remover oclusiones
.....35

Figura 4.12 - Conteo de valores de circularidad del algoritmo para remover oclusiones ...36

Figura 4.13 - Conteo de rango de radios del algoritmo para remover oclusiones 37

I. Introducción

En los últimos años, el estudio de la nanotecnología ha sido de gran interés para áreas como la electrónica, la biología, la medicina y la informática. El análisis de medidas extremadamente pequeñas (1×10^{-9} metros) permite manipular los átomos y las estructuras moleculares de un elemento, con el propósito de fabricar nuevos materiales a partir del reordenamiento de sus partículas, por ejemplo “las partículas de oro poseen unas propiedades ópticas, derivadas de su plasmón de superficie (LSPR), que las hacen únicas entre todos los materiales. El LSPR, es la oscilación colectiva de los electrones de la nanopartícula al interactuar con la luz” (Morán, 2017, p. 10). La ventaja de manipular este tipo de partículas permite modular tanto su tamaño como su forma, lo cual genera el principal beneficio de convertir dicha energía en calor por medio de la absorción y dispersión de luz.

La visión por computadora y el procesamiento de imágenes cuentan con algoritmos que benefician la detección, la diferenciación y el conteo de ciertos elementos que son de interés. La segmentación en sistemas de visión por computador tiene el fin de subdividir los elementos de interés en una imagen, esto representa un gran desafío para la obtención de ciertas propiedades como la proporción de tamaños y la diferencia de radios con respecto a su longitud, por lo que existen distintos métodos que se basan en obtener características tales como colores, texturas y bordes para así, descomponer una imagen en regiones uniformes (Baglietto et al., 2017).

Las técnicas de procesamiento de imágenes, basadas en metodologías y algoritmos, son muy variadas y sirven para realizar tareas que benefician la segmentación de elementos de interés a través de la clasificación y su separación del fondo, el cual, puede variar su nitidez de acuerdo a las condiciones en las que se haya capturado la imagen. Un borde se define como el límite que conecta dos regiones diferentes (Mohamad et al., 2018), este

elemento permite delimitar el área de objetos abstractos al momento de analizar los componentes en una imagen.

Se han desarrollado una gran variedad de técnicas para facilitar el análisis y el procesamiento de píxeles, entre las cuales, el gradiente morfológico de Canny, es un vector caracterizado por su amplitud y dirección que permite identificar los rangos de intensidad de contraste en niveles de gris entre los píxeles mediante la resta de los valores entre la dilatación y la erosión en una imagen. Esta técnica permite obtener los contornos de cualquier imagen mediante la identificación de los cambios de intensidad en un grupo de píxeles (Lalaoui y Dib, 2017).

Por otro lado, el algoritmo de la línea divisora de aguas (transformada de Watershed), se encarga de resaltar los valores mínimos de grises en los límites de los píxeles de una imagen (Danciu, 2017); al combinar varios métodos de procesamiento de imagen, como la transformada de Watershed y el gradiente morfológico, se puede definir con mayor precisión los contornos de un elemento de interés para así poder determinar con exactitud las dimensiones de las nanoestructuras que se pretenden analizar.

Existen otro tipo de técnicas sofisticadas que reducen el número de variables de entrada y facilitan el análisis de características en una representación significativa, tal es el caso de la segmentación a partir de los súper píxeles. Las propiedades de la técnica antes mencionada consisten en garantizar la precisión en la definición de los límites de un elemento para definir una estandarización del tamaño de análisis de los elementos, así como la construcción de patrones regulares para futuros cálculos de dimensiones de los objetos (Ban et al., 2018).

La oclusión de objetos es una de las mayores problemáticas que enfrenta el proceso de segmentación debido a la cantidad de variables que presenta una imagen, “las técnicas clásicas de segmentación funcionan bien cuando la imagen a segmentar contiene estructuras bien definidas, con bordes bien resaltados y formas regulares. Pero no son tan eficientes con imágenes que presentan objetos irregulares, incompletos y solapados” (Lobo y Maldonado, 2019, p. 30); la oclusión puede ser clasificada mediante la geometría del

objeto, su opacidad, su sombra e iluminación, a pesar de ser afectada por otros objetos en la imagen.

La deformación de objetos, causada por la oclusión con otros elementos, es un problema complejo ya que no existe un algoritmo universal que pueda optimizar los casos que presentan imperfecciones en el campo de reconocimiento de objetos solapados.

Por lo tanto, la presente investigación se enfoca en proponer una metodología que permita realizar el reconocimiento e identificación de nanopartículas solapadas con el objetivo de analizar sus características a partir de la extracción de sus propiedades, superando los principales problemas que llegan a presentarse en el análisis de imágenes, tales como el bajo contraste y las deformaciones causadas por elementos obstruidos.

II. Planteamiento teórico

1. Supuesto teórico

Se pueden identificar las características y propiedades de nanopartículas solapadas mediante el procesamiento de imágenes con filtros y técnicas de segmentación de invariancia a posición para comprobar que la detección de nanopartículas sobrepuestas en imágenes tenga una mayor precisión.

2. Objetivo general

Desarrollar una metodología de segmentación para la detección de nanoestructuras solapadas en visión computacional, con el fin de evaluar su eficiencia en la adquisición de características y propiedades de estas partículas al aplicarle una medida de circularidad para encontrar la mayor cantidad de partículas sin importar su grado de orientación.

3. Objetivos particulares

- Analizar y seleccionar algoritmos de segmentación multiescala para la identificación de partículas.
- Aplicar algoritmos que detectan bordes para identificar el cambio de intensidad de pixeles de los objetos solapados invariantes a posición.
- Evaluar la distribución del radio de las nanoestructuras a partir del cálculo de la circularidad obtenida a partir del perímetro y área de cada partícula.

III. Metodología

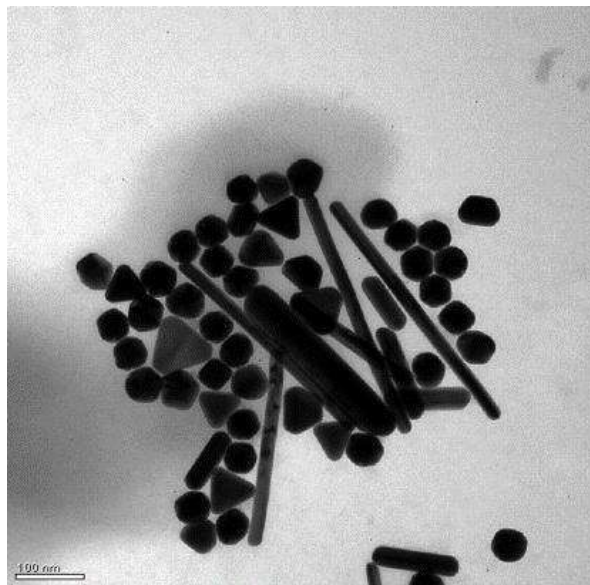
1. Materiales y métodos

El material utilizado para el desarrollo de la metodología fue elaborado en una laptop con Windows 10 versión 21H1 (OS Build 19043.1165), con un procesador de Intel Core i7-7700HQ CPU @ 2.80GHz y con una tarjeta gráfica NVIDIA GeForce GTX 1050. Para la implementación se utilizó la versión 3.6.8 de Python y se agregó a la instalación los siguientes paquetes: cv2==4.2.0, matplotlib==3.3.0, numpy==1.18.5.

Para esta investigación se utilizó la Figura 3.1, dicha imagen contiene un conjunto de nanoestructuras de oro obtenidas a partir de tetracloruro áurico trihidratado extraída a partir de un microscopio de transmisión y barrido de electrones de alta precisión.

Figura 3.1

Nanopartículas de oro, fotografía con resolución de 426x436 píxeles a 100 nanómetros.



Nota. Nanopartículas de oro [Fotografía], por Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica (CIDETEQ), 2018, Dr. Iván Ramón Terol Villalobos.

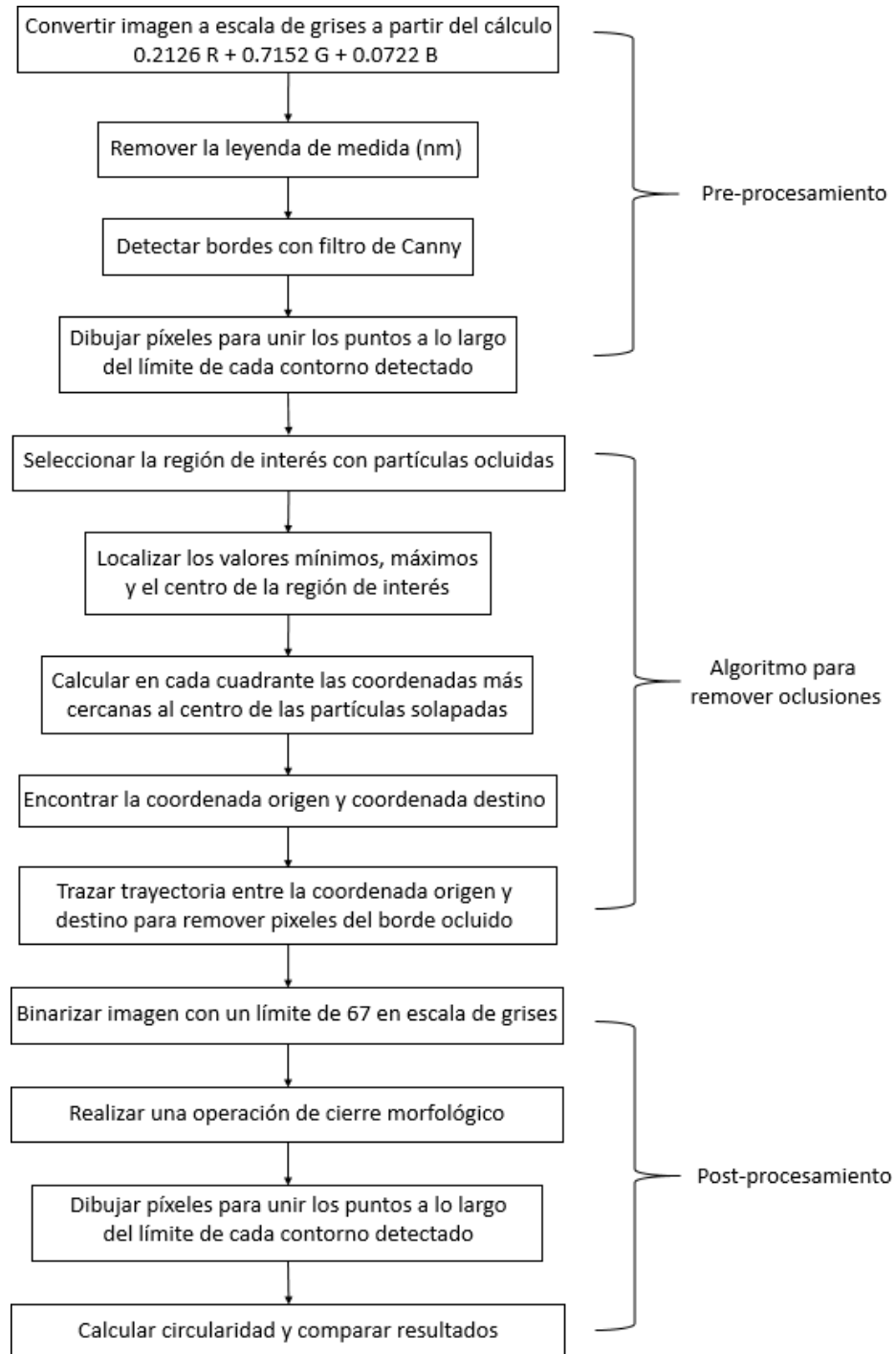
Para abordar el problema de la identificación de nanopartículas, se propone una metodología que traza trayectorias para remover oclusiones y posteriormente se remueve el fondo de la imagen de acuerdo con la intensidad del umbral convirtiendo la imagen a blanco y negro; finalmente se limpia el ruido de dicho procesamiento a partir del uso de operaciones morfológicas. Los operadores morfológicos facilitan la reconstrucción de objetos en una imagen (Siqueira et al., 2019).

La metodología propuesta se implementó utilizando el lenguaje de programación de Python (ver Figura 3.2):

- 1) Pre-procesamiento: en esta etapa se remueve el ruido y el fondo de la imagen.
- 2) Algoritmo para remover oclusiones: en esta fase se localizaron las coordenadas para remover la oclusión entre dos partículas y se trazó una trayectoria vertical, horizontal o diagonal.
- 3) Post-procesamiento: finalmente, la imagen resultante se convierte en blanco y negro para aplicar una operación de cierre morfológico y se procede a detectar cada partícula. Por último, se realiza una comparación de la imagen original y de la imagen resultante una vez ejecutado los pasos mencionados anteriormente.

Figura 3.2

Diagrama de la metodología para remover solapamiento de nanopartículas.

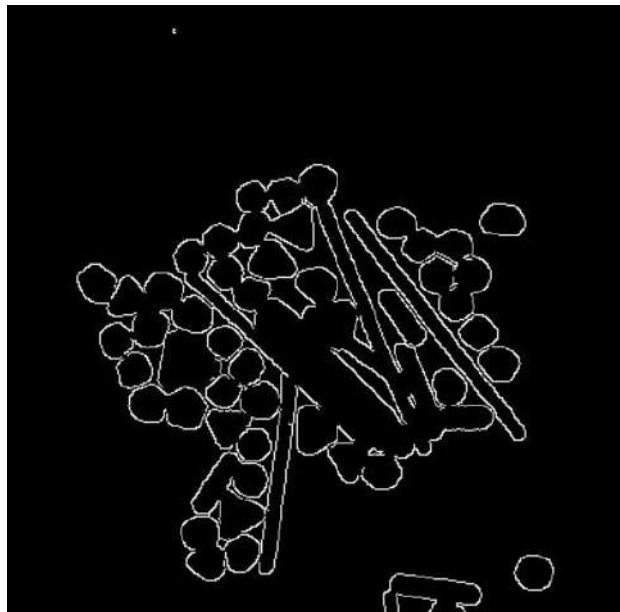


2. Pre-procesamiento

La extracción de características, como primera etapa de procesamiento, es necesaria para poder determinar el conjunto de técnicas que pueden ser utilizadas con el propósito de mejorar la segmentación de cada uno de los objetos; de esa manera, se puede profundizar en las características del punto de interés para poder llevar a cabo una reconstrucción de la oclusión de cada uno de los objetos solapados (Pacheco et al., 2017). Durante la etapa del pre-procesamiento de la metodología propuesta, se eliminó el ruido y se separó el fondo de las partículas de interés para poder encontrar sus bordes. El primer paso consistió en la conversión de la Figura 3.1 a escala de grises con la función de Open CV `cv2.cvtColor()`. Posteriormente, se removió la leyenda de medida de 100 nm. Acto seguido, se identificó el valor apropiado para aplicar en el filtro de Open CV `cv2.Canny()`, mediante la prueba de diferentes valores a partir de una barra de rango de 0 a 255, donde el valor es de 173 en la escala numérica y en la Figura 3.3 se observa el resultado.

Figura 3.3

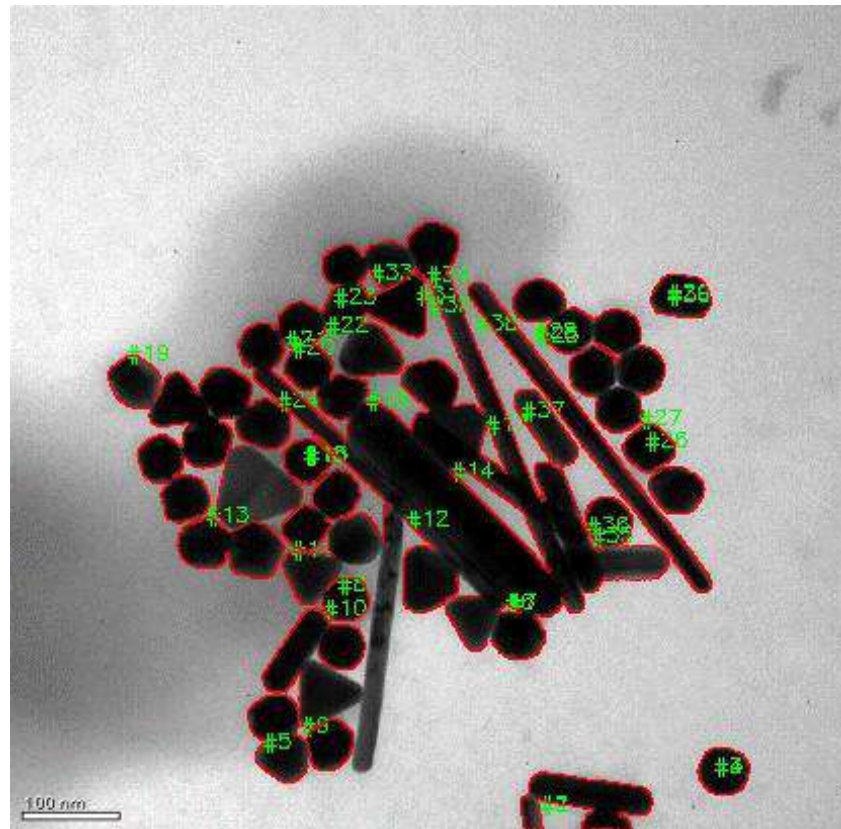
Aplicación del filtro Canny en la imagen original.



Uno de los principales objetivos de la segmentación es dividir los elementos que no son visibles a simple vista, por lo que se busca encontrar las secciones de interés donde se pueda subdividir con mayor minuciosidad (Wada et al., 2018). La segmentación permite subdividir la región de interés en una imagen a partir de la selección de diferentes características tales como colores, texturas o bordes, para descomponer una imagen en regiones uniformes. Por lo tanto, se aplicó la función de Open CV `cv2.findContours()` para guardar en una lista el conjunto de coordenadas de las partículas segmentadas, en donde cada elemento de la lista puede llegar a presentar una, dos o más de tres partículas ocluidas. En la Figura 3.4 se puede observar la enumeración de los contornos detectados, los cuales fueron resaltados de color rojo.

Figura 3.4

Detección de contornos durante el pre-procesamiento.



3. Algoritmo para remover oclusiones

La detección de contornos se encarga de extraer información relevante de las diferentes formas de los objetos reconocidos, de igual manera, permite remover la información innecesaria de la imagen a partir de la creación de discontinuidades para la delimitación de contornos (Acharjya y Dutta, 2017). Al dibujar los contornos de color rojo sobre la imagen original, se delimitaron las regiones que abarcaban las distintas formas detectadas, las cuales se analizaron después del pre-procesamiento.

Posteriormente, se eligió el contorno #13 de la Figura 3.4 como la región de interés, en la Figura 3.5 se puede observar en color amarillo las coordenadas resultantes de ese contorno, mientras que en color rojo, se muestra el resultado de la función de Open CV `cv2.drawContours()`, la cual se encarga de unir la curva entre las coordenadas de color amarillo. No obstante, se puede observar que los puntos de color amarillo no están detectando todos los puntos de color rojo y esto se debe a la discontinuidad de un pixel al momento de encontrar los bordes con el filtro Canny en el pre-procesamiento.

La precisión en la subdivisión de regiones de interés de una imagen es un factor clave que influye directamente en la selección y clasificación de características (Duan et al., 2019). A partir de la selección de la región de interés (contorno #13), se procedió a extraer la columna y el renglón mínimo de la región de interés al igual que la columna y el renglón máximo del objeto, para de esa manera subdividir la región de interés y poder calcular el centro del objeto de interés obtenido mediante la aplicación de la Ecuación 1.

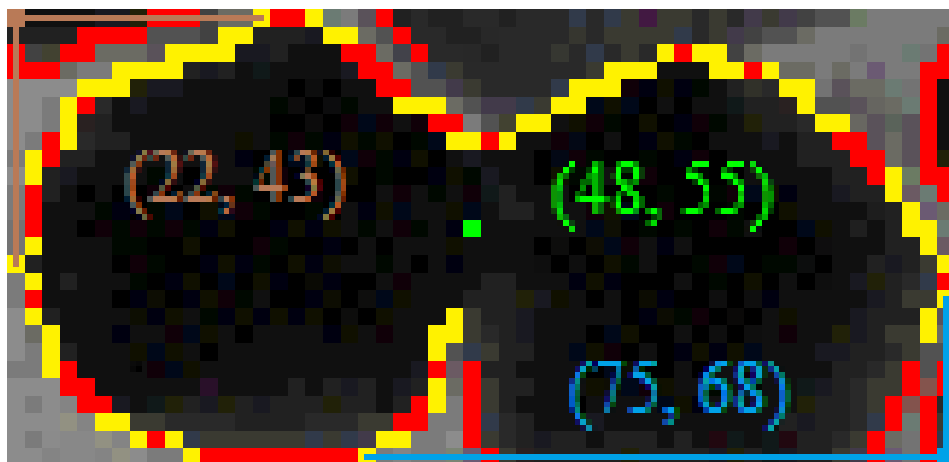
$$coordenada_centro = \left(\frac{\max(columna) - \min(columna)}{2}, \frac{\max(renglon) - \min(renglon)}{2} \right) \quad (1)$$

El uso de indicadores es de suma importancia para identificar el origen de la región de interés y la ubicación final donde termina el objeto detectado, ya que tiene la finalidad de delimitar los bordes con un conjunto de píxeles (Ding et al., 2017). Estos valores

definieron los límites que cada contorno amarillo abarca, como se puede ver en la Figura 3.5, en donde los valores mínimos se ubicaron en la esquina superior izquierda en la coordenada café (22,43) y los valores máximos en la esquina inferior derecha en la coordenada azul (75, 68); al aplicar la Ecuación 1 se obtuvo el centro del contorno, el cual fue marcado en la Figura 3.5 con un pixel de color verde.

Figura 3.5

Coordenadas del contorno: centro, mínimos y máximos.



Posteriormente, se dividió la región de interés en cuatro secciones, para de esa manera, hacer un barrido de todos los pixeles del contorno con el propósito de almacenar en cuatro listas los pixeles de los contornos rojos para cada cuadrante, al igual que su distancia respecto al centro a partir de la aplicación de la Ecuación 2.

$$\begin{aligned}
 \text{distancia_al_centro} = & (\text{abs}(\text{columna_iteracion} - \text{columna_centro}) + \\
 & \text{abs}(\text{renglon_iteracion} - \text{renglon_centro})) \quad (2)
 \end{aligned}$$

En la Figura 3.6 se observa el diagrama que representa los pasos para obtener los contornos de cada cuadrante, durante el barrido de la imagen, en cada iteración se agregaron los siguientes elementos a la lista de cada cuadrante:

- Columna.
- Renglón.
- Resultado de la Ecuación 2, es decir la distancia al centro.
- Cuadrante al que pertenece del contorno analizado de cada iteración.

Al terminar el barrido de la imagen, se ordenaron las listas de cada cuadrante utilizando el valor de la distancia al centro como parámetro de ordenación de forma ascendente, esto, con el propósito de posicionar al inicio de cada lista la coordenada más cercana al centro de cada cuadrante; una vez que se ordenaron las cuatro listas, se procedió a crear una quinta lista con el elemento inicial de cada una de las cuatro listas previamente ordenadas.

Posteriormente, se realizó el conteo de los píxeles tanto del eje “x”, como del eje “y” con la finalidad de determinar la dirección de la trayectoria que se trazará más adelante; la dirección se define en función de la diferencia del total de columnas y del total de renglones. En la quinta lista se definió el primer elemento como la coordenada origen, mientras que la coordenada destino, resultó ser el cuadrante más cercano al centro que garantizó la trayectoria para remover la oclusión de las partículas. En la Figura 3.7 se muestra el diagrama de las funciones mencionadas anteriormente para obtener tanto la coordenada origen, como la destino.

Figura 3.6

Diagrama de obtención de las coordenadas más cercanas al centro de cada cuadrante - parte 1.

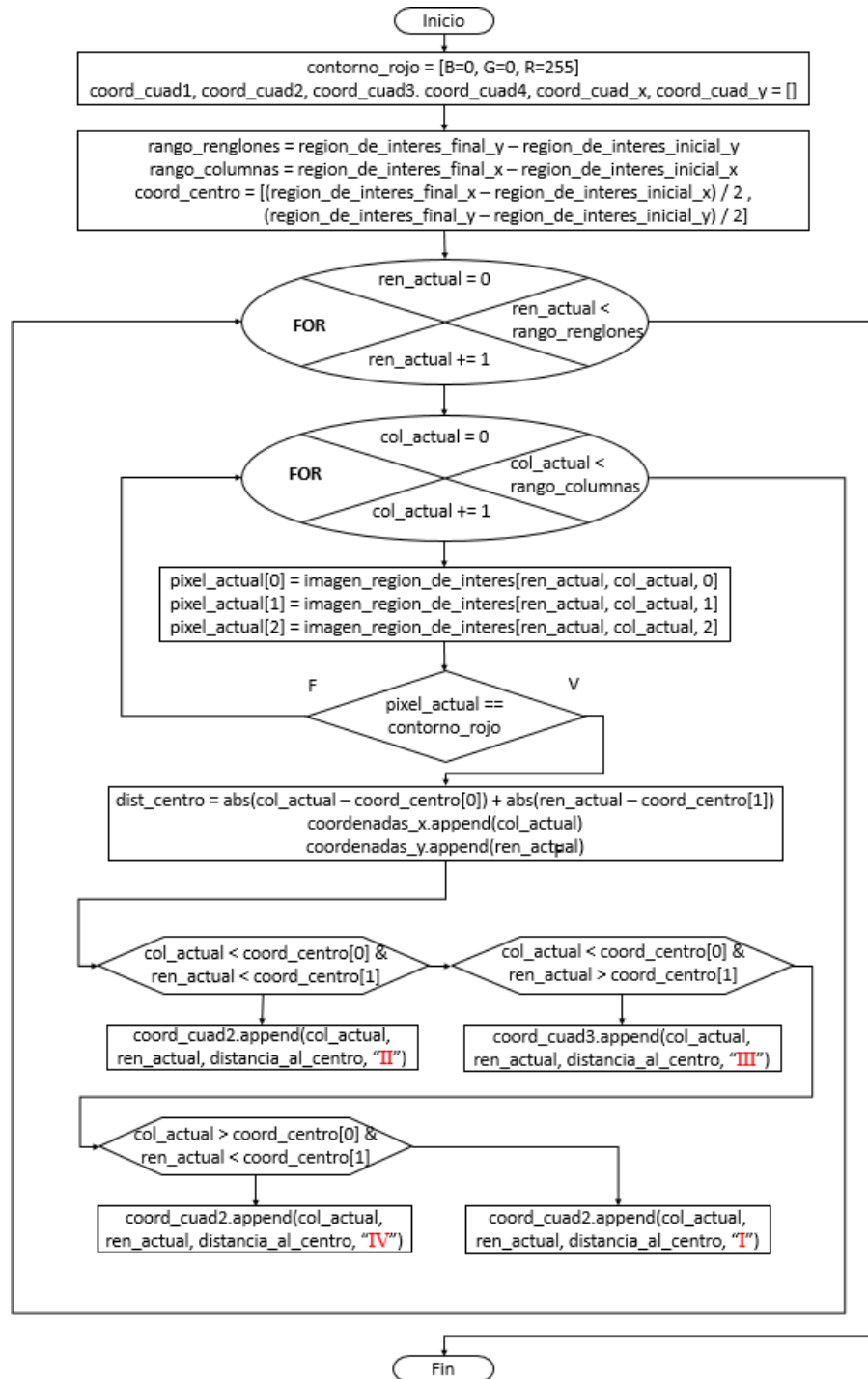
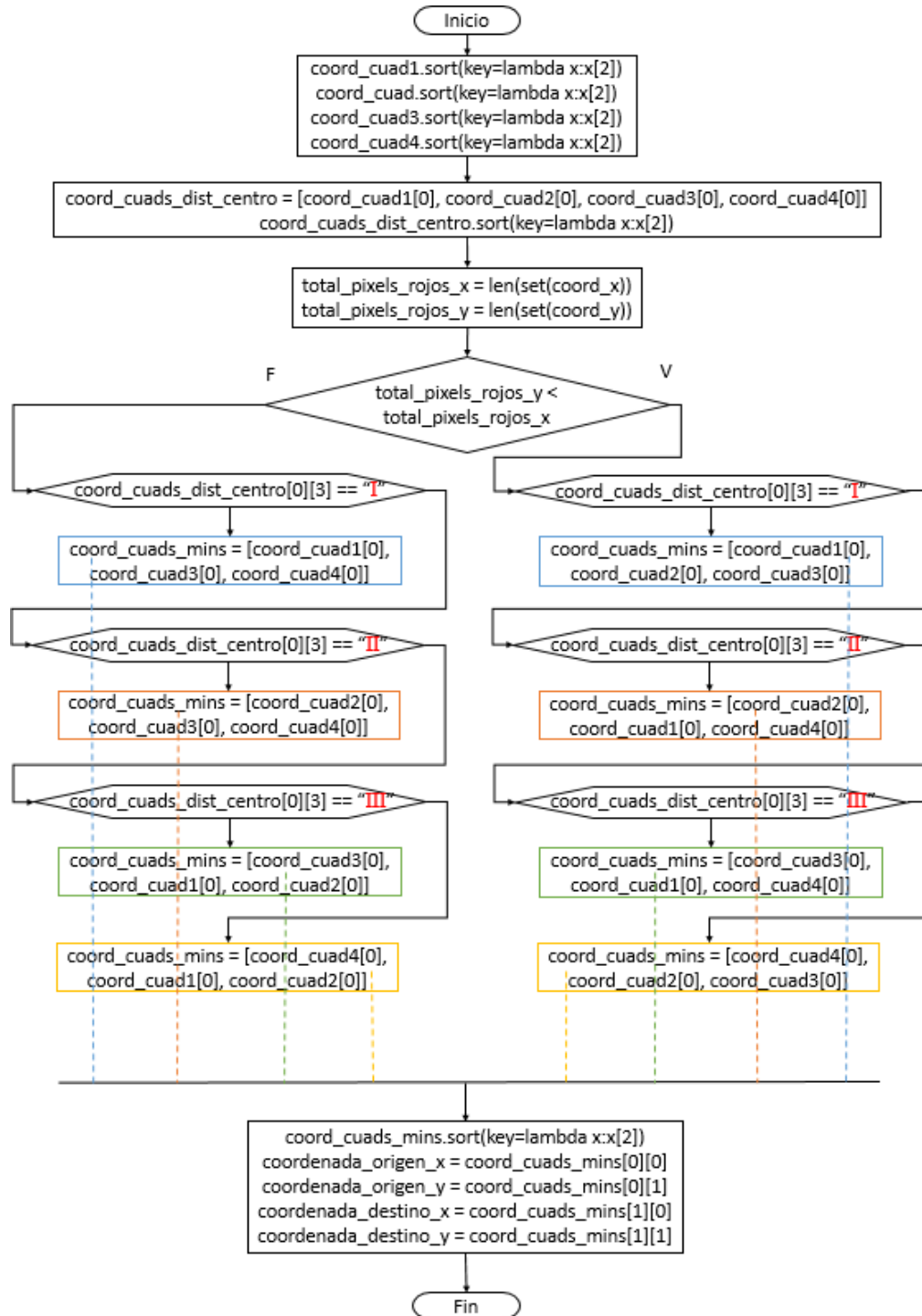


Figura 3.7

Diagrama de obtención de las coordenadas más cercanas al centro de cada cuadrante - parte 2.



En la Figura 3.8 se muestran las coordenadas más cercanas al centro de cada cuadrante: el pixel azul del cuadrante II, el pixel amarillo del cuadrante I, el pixel gris del cuadrante III y el pixel morado del cuadrante IV. La coordenada origen se ubicó en el cuadrante II; dado que las partículas están posicionadas de manera horizontal, se necesitó generar una trayectoria vertical para remover el solapamiento de estas, por lo que se descartó el cuadrante I debido a que este generaría una trayectoria horizontal. Finalmente, la coordenada destino se ubicó en el cuadrante III ya que se encontró más cercana al centro que la del cuadrante IV.

Figura 3.8

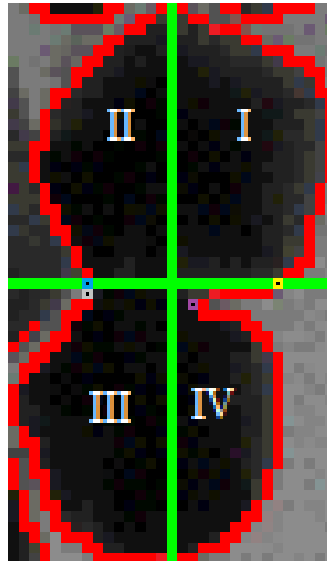
Coordenadas más cercanas al centro de cada cuadrante en posición horizontal.



En caso de que las partículas se encuentren posicionadas de manera vertical como en la Figura 3.9, se genera una trayectoria horizontal para remover el solapamiento de estas, por lo que se descarta el cuadrante I debido a que este generaría una trayectoria vertical. La coordenada origen se ubicaría en el cuadrante IV, mientras que la coordenada destino en el cuadrante II.

Figura 3.9

Coordenadas más cercanas al centro de cada cuadrante en posición vertical.



Partiendo de la ubicación de la coordenada origen y de la coordenada destino, se procedió a realizar la trayectoria como se muestra en el diagrama de la Figura 3.10; inicialmente, se invierten las posiciones entre renglones y columnas debido a que se intercambian las posiciones en el lenguaje Python. Posteriormente, se calculó la cantidad de pixeles necesarios para el trazo de la trayectoria utilizando la Ecuación 3 y la Ecuación 4, donde se reemplazó la coordenada origen con (48, 50) y la coordenada destino con (47, 60), como se muestra en la Figura 3.12 el resultado generado de un total de 2 columnas y un total de 11 renglones.

$$total_columns = abs(coordenada_destino\ x - coordenada_origen\ x) + 1 \quad (3)$$

$$total_renglones = abs(coordenada_destino\ y - coordenada_origen\ y) + 1 \quad (4)$$

Figura 3.10

Diagrama sobre el trazo de trayectoria horizontal para remover oclusión.

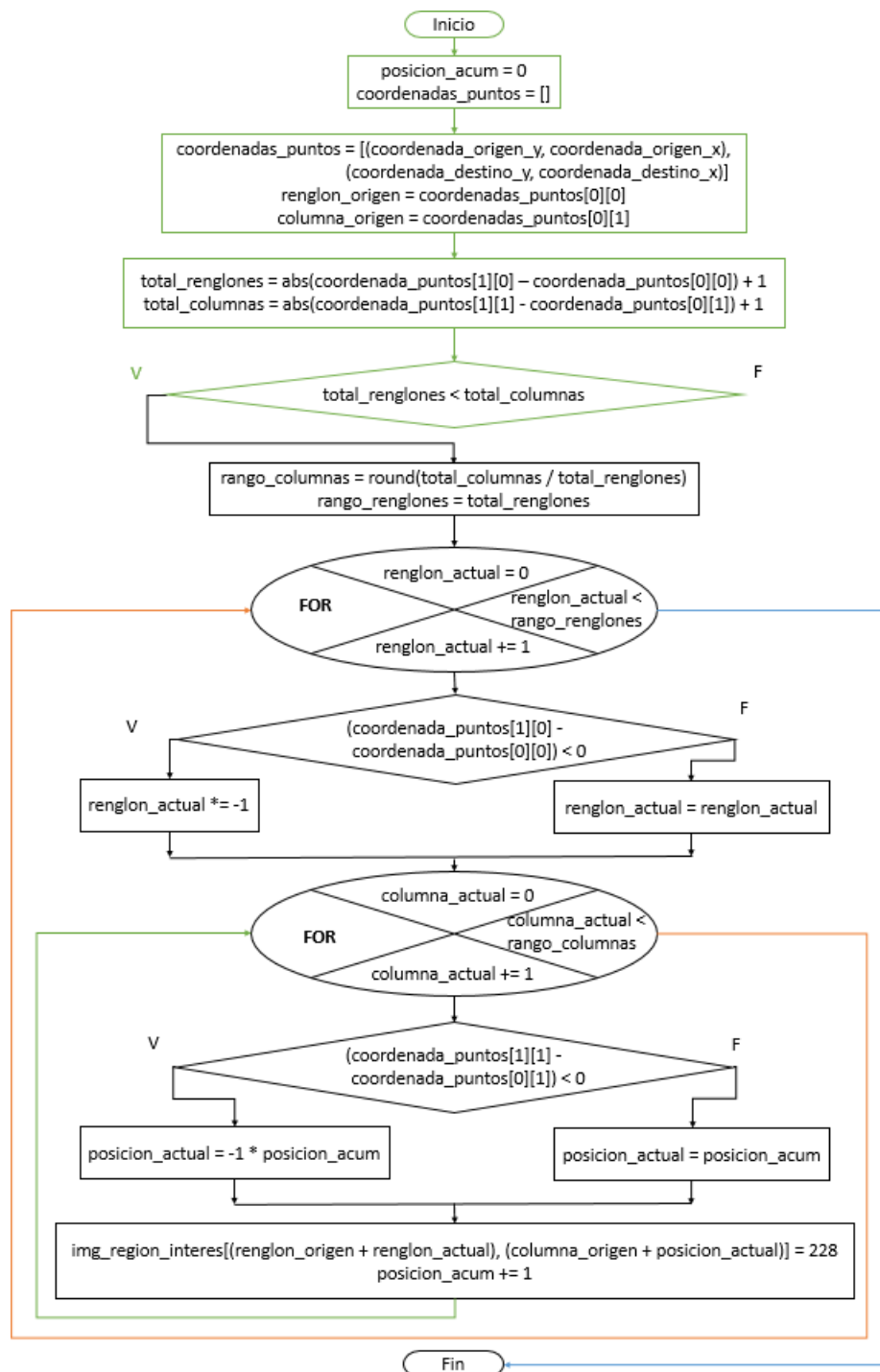
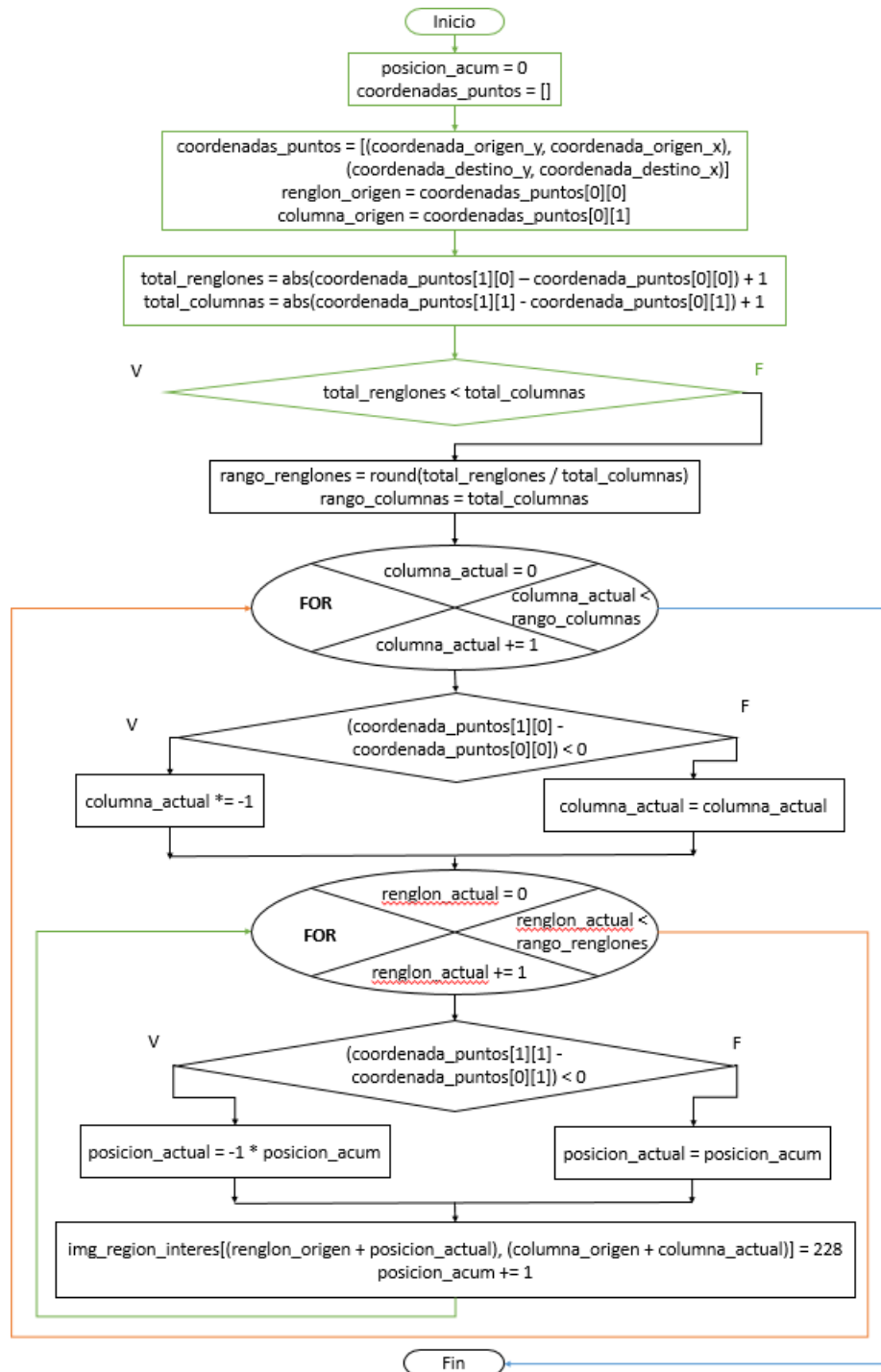


Figura 3.11

Diagrama sobre el trazo de trayectoria vertical para remover oclusión.



En la región de interés que se ha estado analizando, el valor total de renglones resultó ser mayor que el total de columnas, por lo que se ejecutaron las instrucciones del diagrama de la Figura 3.11, utilizando la Ecuación 5 y la Ecuación 6; se truncó el resultado de la división de once renglones entre dos columnas para obtener el rango de renglones con un valor de cinco, mientras que el rango de columnas se le asignó el valor de dos.

$$\text{rango_columnas} = \text{total_columnas} \quad (5)$$

$$\text{rango_renglones} = \text{round}\left(\frac{\text{total_renglones}}{\text{total_columnas}}\right) \quad (6)$$

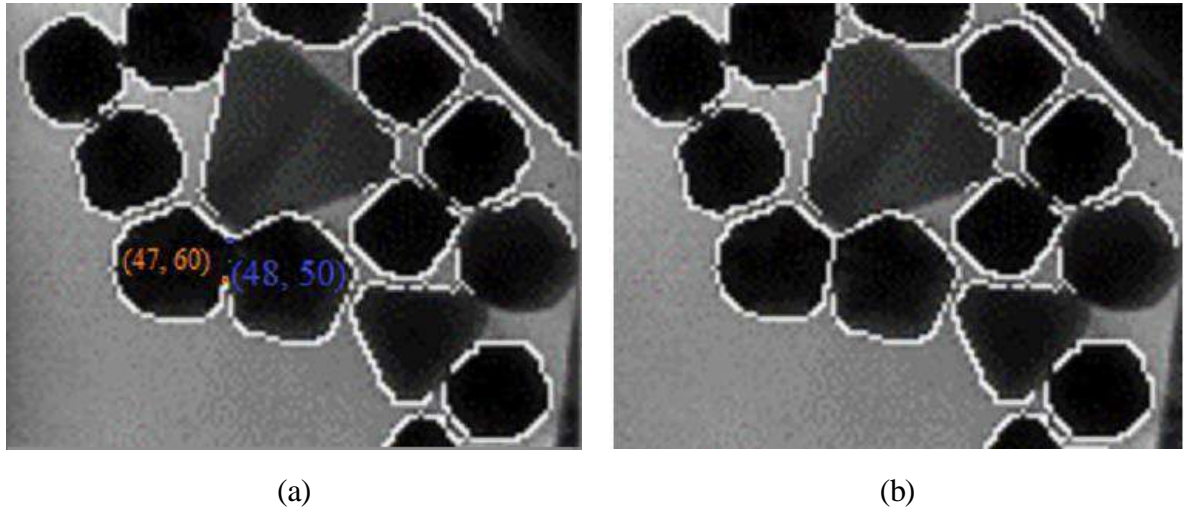
Las iteraciones de rangos en Python inician en cero y terminan en el (valor-1), para este ejemplo se realizaron dos iteraciones en el rango de columnas, las cuales tuvieron un incremento ascendente debido a que la columna destino, con valor de 48, es mayor que la columna origen de 47.

Para cada inciso del rango de columnas, se procedió a hacer cinco iteraciones en el rango de columnas de forma descendente, debido a que el renglón destino, con valor de 50, es menor que el renglón origen de 60; para este caso durante las cinco iteraciones se fue decrementando desde cero hasta -4 en el primer ciclo, mientras que el segundo ciclo, se iteró del valor -5 a -9.

Durante cada iteración se reemplazó el pixel de la coordenada resultante con un color gris, con el propósito de remover la oclusión entre ambas partículas, dicho resultado se puede observar en la Figura 3.12 en donde se realizó el trazo de una trayectoria vertical para remover la oclusión de un par de partículas acomodadas de forma horizontal.

Figura 3.12

Trayectoria trazada para remover oclusión mejorar categorías.



Nota. Figura 3.12 (a) El pixel de color azul corresponde a la coordenada origen, mientras que el pixel de color naranja es de la coordenada destino, Figura 3.12 (b) Trazo de trayectoria vertical para remover la oclusión de partículas solapadas de forma horizontal.

4. Post-procesamiento

La caracterización de objetos de interés consiste en identificar los cambios de intensidad de píxeles para delimitar la región en la que está ubicado, mientras que la reconstrucción consiste en estimar la geometría del objeto a partir de la separación del solapamiento para redefinir su forma (Malik et al., 2016); después de terminar de ejecutar los pasos del algoritmo, a cada par de partículas solapadas se le reconstruyó su contorno a partir de las trayectorias trazadas para remover su oclusión

Los operadores de reconstrucción morfológica utilizan una máscara para iterar varias ocasiones con dilataciones o erosiones hasta obtener mayor claridad en la imagen y poder homogenizar los valores mínimos y máximos de cada conjunto de píxeles (Pastore et al., 2017). Dichos operadores fueron utilizados durante el post-procesamiento con el objetivo de resaltar con mayor nitidez cada uno de los bordes de la imagen, para posteriormente, simplificar el análisis y localización de las partículas.

Los enfoques de segmentación se pueden clasificar en función de la cantidad de datos, del tiempo de procesamiento o del grado de automatización, lo cual puede generar una ventaja dependiendo de la situación y de los conocimientos necesarios para resolver la problemática (Sahba, 2016). Para el caso de la identificación de objetos solapados, se ajustaron los parámetros de las funciones de Open CV para procesar la imagen de manera eficiente y de esa manera poder determinar las coordenadas necesarias para remover su solapamiento.

El proceso de umbralizar consiste en separar las partículas del fondo de la imagen a partir de la selección del valor límite que determina el color al que cambiará cada pixel; se identificó el valor apropiado para aplicar en el algoritmo de Open CV `cv2.threshold()` mediante la prueba de diferentes números con una barra de rango de 0 a 255, el cual se puede observar en la Figura 3.13, en donde los píxeles que fueron menores o igual a 67 se sustituyeron por color negro, mientras que los valores mayores a 67, se reemplazaron por un color blanco.

Figura 3.13

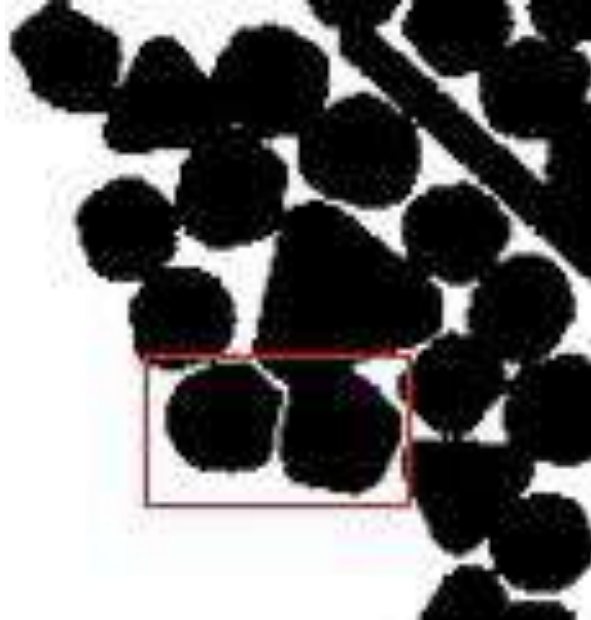
Umbralización de la imagen original.



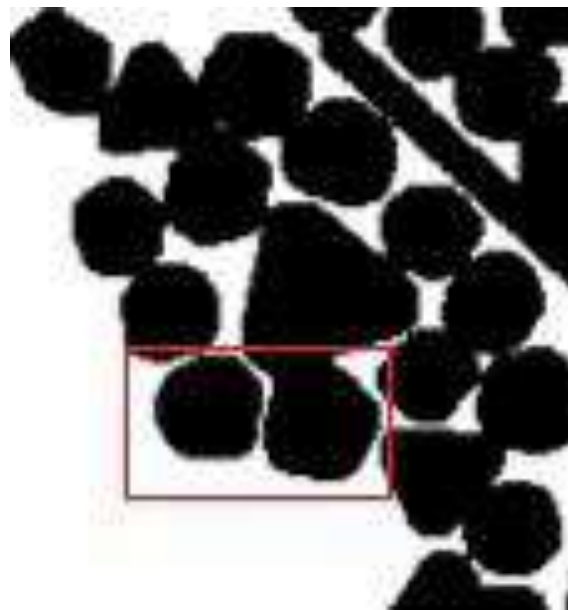
La erosión se encarga de remover píxeles de los bordes, mientras que la dilatación se encarga de agregar píxeles en las orillas de los objetos; ambas técnicas son operadores morfológicos complementarios que generan que los contornos se vean con mayor prominencia y claridad de contraste (Acharjya y Dutta, 2017); estas técnicas permitieron la eliminación del ruido alrededor de las nanopartículas con el objetivo de lograr una detección de contornos con mayor claridad. En la Figura 3.14 se muestra la aplicación del cierre morfológico que mejoró las condiciones lumínicas dentro de los contornos de las nanoestructuras.

Figura 3.14

Umbralización de la imagen resultante del algoritmo para remover oclusiones.

**Figura 3.15**

Aplicación de la morfología de cierre sobre la Figura 3.14.

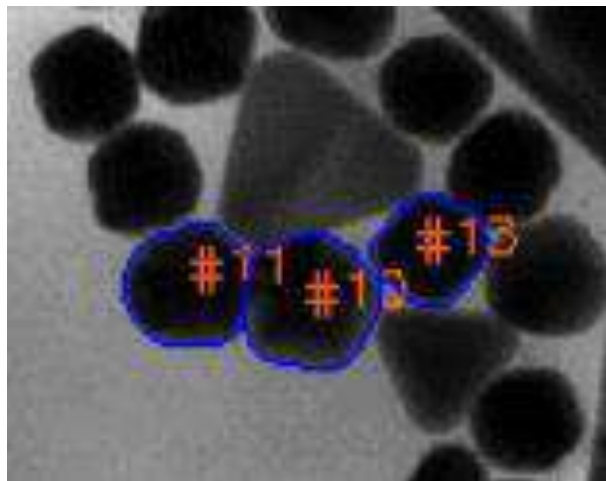


Por otro lado, el contraste influye en la percepción de objetos durante el análisis de regiones de interés; otros elementos que también afectan son la iluminación y el ruido del fondo (Iwanowski, 2019). Para aminorar el impacto de estos factores, se mejoró la definición de contornos mediante la aplicación de la operación de cierre morfológico con la finalidad de limpiar los pixeles donde se generó la trayectoria que removió la oclusión.

Para concluir con el post-procesamiento, se procedió a dibujar los contornos encontrados en la imagen procesada con los pasos descritos previamente al final del pre-procesamiento; a partir de la aplicación de la función de Open CV `cv2.findContours()`, el contorno #13 de la Figura 3.4 se detectó en dos contornos, en el #11 y en el #10 de la Figura 3.16 gracias al trazo de la trayectoria vertical.

Figura 3.16

Detección de contornos de la Figura 3.15.



5. Análisis de la medida de circularidad

La Sociedad Americana para Pruebas y Materiales (por sus siglas en inglés ASTM) recomienda el uso de la función redondez, también conocida como el factor de forma, la cual demuestra que, al aumentar la redondez, su factor de forma disminuye de acuerdo al grado de modularidad, definido por el área del objeto circunscrito, para medir la mayor distancia entre los extremos de la circunferencia y así realizar una aproximación sobre el radio de la misma.

Para determinar la efectividad del algoritmo se debe analizar la esfericidad del conjunto de píxeles segmentados en las nanopartículas de la imagen con el propósito de evaluar con resultados medibles los valores de redondez de la Ecuación 7 en donde un círculo perfecto se define con un valor de circularidad de uno (Hetzner, 2008).

$$circularidad = \frac{4\pi A}{P^2} \quad (7)$$

Para calcular el perímetro de cada contorno se aplicó la función de Open CV `cv2.arcLenght()`; de igual forma, se utilizó la función de `cv2.contourArea()` para obtener el área de cada contorno. Para obtener el radio se utilizó la fórmula del área de una circunferencia en donde se multiplica el radio al cuadrado por la constante de Pi, lo cual genera en la Ecuación 8 el despeje necesario para obtener el radio de cada partícula.

$$radio = \sqrt{\frac{area}{\pi}} \quad (8)$$

IV. Resultados y discusión

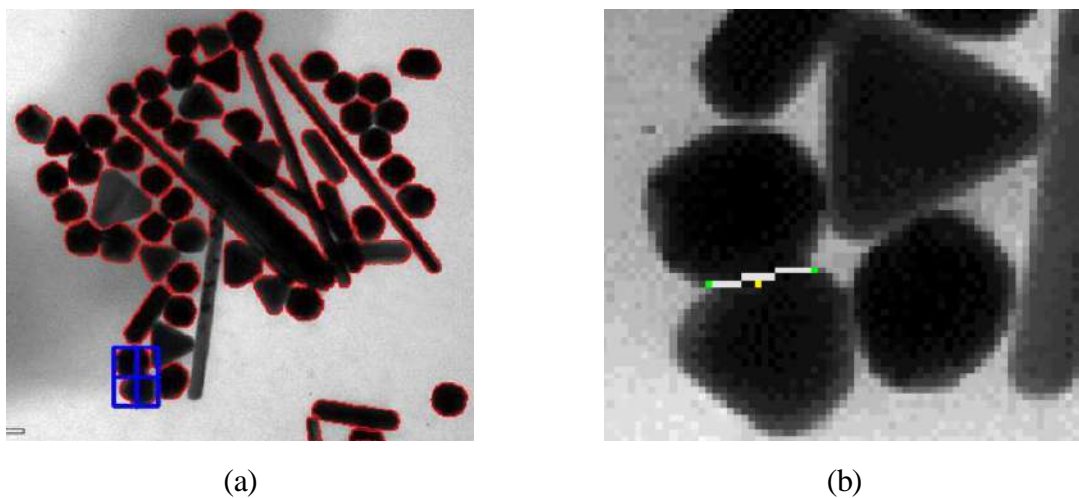
1. Aplicación del algoritmo descrito en la metodología

La metodología para remover oclusiones fue elaborada a partir del análisis de la región de interés en donde se ubicaron tanto la coordenada origen como la coordenada destino para cada uno de los objetos solapados detectados y de esa manera se realizó el trazo de trayectorias.

La combinación de la metodología con la umbralización, y cerradura morfológica permitió caracterizar el contraste de los bordes, dicha aplicación facilitó el trazo de trayectorias verticales, horizontales y diagonales entre dos puntos cercanos a su centro; dichas trayectorias removieron el solapamiento de las nanoestructuras a partir de la obtención de la coordenada origen y de la coordenada destino. Este proceso es útil para extraer los datos del área, perímetro, radio y circularidad de cada partícula de las siguientes imágenes.

Figura 4.1

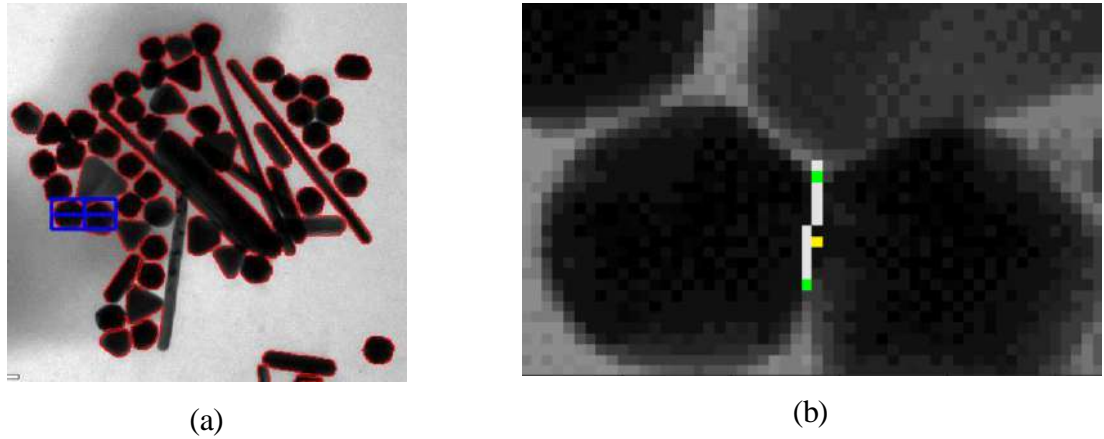
Aplicación de una trayectoria vertical en partículas ocluidas horizontalmente.



Nota. Figura 4.1 (a) Región de interés vertical, (b) Trayectoria horizontal.

Figura 4.2

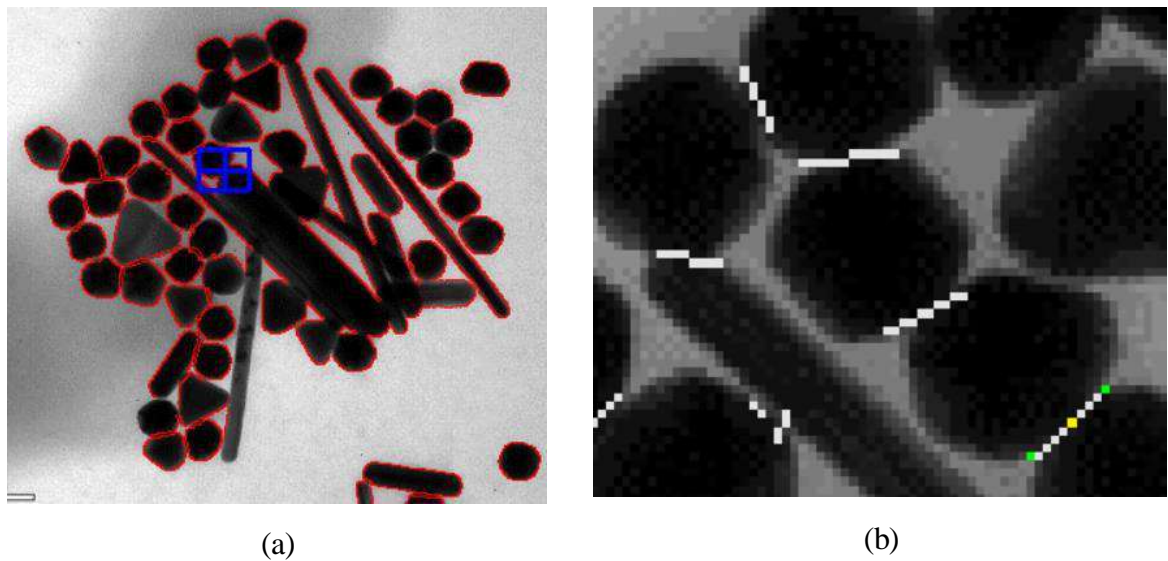
Aplicación de una trayectoria horizontal en partículas ocluidas verticalmente.



Nota. Figura 4.2 (a) Región de interés horizontal, (b) Trayectoria vertical.

Figura 4.3

Aplicación de una trayectoria diagonal en partículas ocluidas diagonalmente.

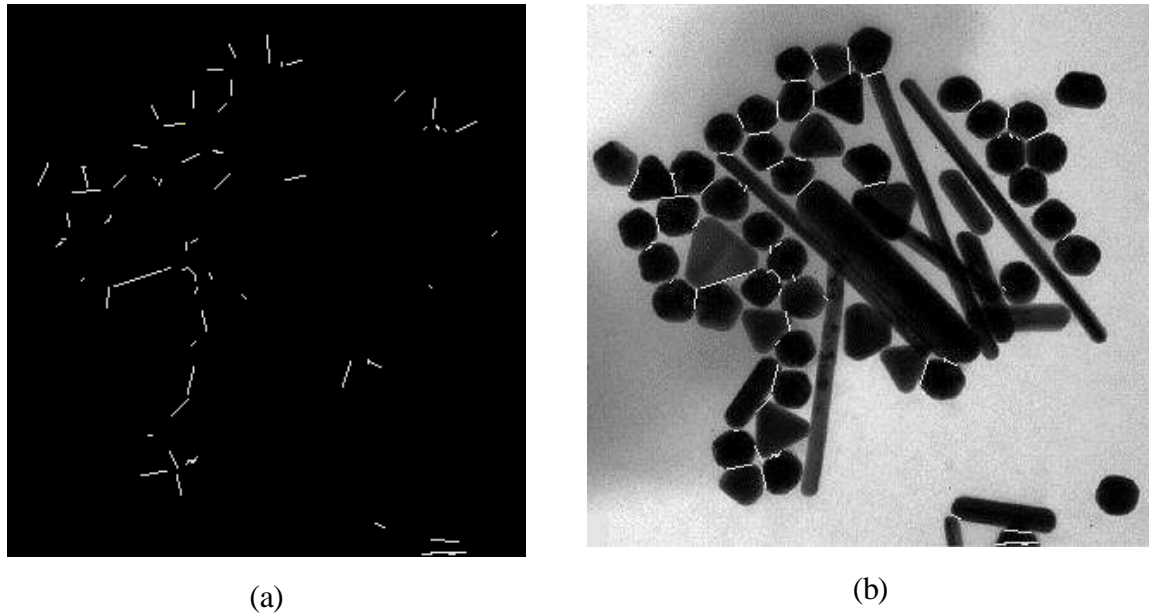


Nota. Figura 4.3 (a) Región de interés diagonal, (b) Trayectoria diagonal.

En la Figura 4.4 (a) se pueden observar las trayectorias que fueron generadas a partir de las coordenadas origen y destino de cada uno de los contornos detectados; En la Figura 4.4 (b) se muestra la aplicación de dichas trayectorias sobre la Figura 3.1 para remover la oclusión de las partículas.

Figura 4.4

Trayectorias resultantes de la metodología.

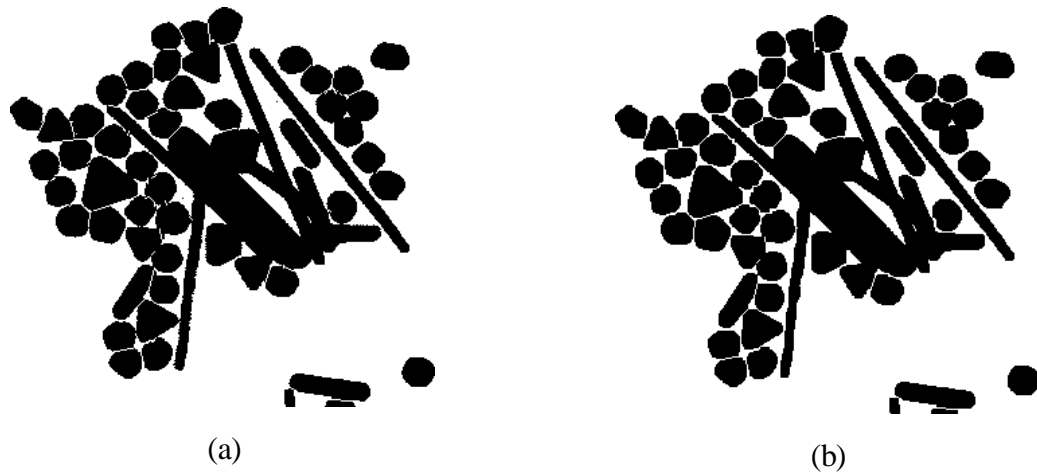


Nota. Figura 4.4 (a) Trazo de trayectorias del algoritmo para remover oclusiones de partículas, (b) Aplicación de trayectorias resultantes a imagen original.

Consecutivamente, se umbralizó la Figura 4.4 (b) para remover el ruido del fondo y convertirla a blanco y negro, como se muestra en la Figura 4.5 (a), posteriormente, se aplicó el filtro morfológico de cierre para poder definir con mayor claridad los contornos de cada una de las partículas como se observa en la Figura 4.5 (b).

Figura 4.5

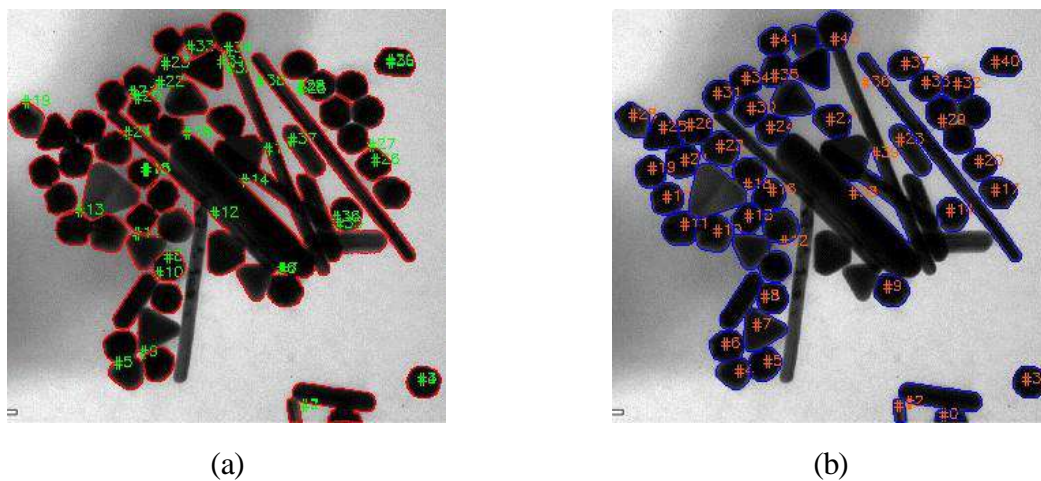
Umbralización y de la morfología de cierre sobre la imagen resultante de las trayectorias.



Nota. Figura 4.5 (a) Umbralización de la Figura 4.4 (b) con un valor umbral de 67, (b) Aplicación de morfología de cierre de la Figura 4.5 (a).

Figura 4.6

Comparación de la detección de contornos.



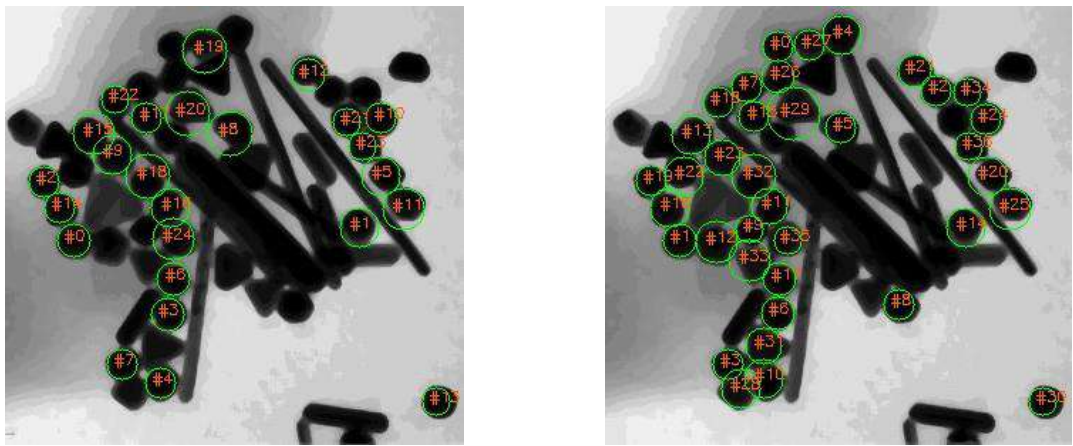
Nota. Figura 4.6 (a) Detección de contornos de la imagen original sin remover oclusiones, (b) Detección de contornos de la Figura 4.5 (b) al remover oclusiones.

Como se puede observar que en la Figura 4.6 (b) se detectó un mayor número de partículas gracias a la supresión de solapamiento con el algoritmo para remover oclusiones, a diferencia de la Figura 4.6 (a) en donde se detectaron una menor cantidad de contornos debido a que no se realizó ningún procesamiento.

Finalmente, la transformada de Hough se utilizó para detectar círculos a partir de la aplicación de la función de Open CV `cv2.HoughCircles()`, la cual retorna una lista de circunferencias con la propiedad de circularidad igual a uno. La Figura 4.7 (a) se observa la aplicación de la transformada de Hough sin haber procesado la imagen, mientras que en la Figura 4.7 (b) se aplicó la transformada de Hough a la Figura 4.4 (b) resultante de la metodología.

Figura 4.7

Comparación de la detección de círculos.



(a)

(b)

Nota. Figura 4.7 (a) Detección de círculos de la imagen original sin remover oclusiones, Figura 4.7 (b) Detección de círculos de la Figura 4.6 (b) al remover oclusiones.

2. Comparación de los resultados entre los algoritmos

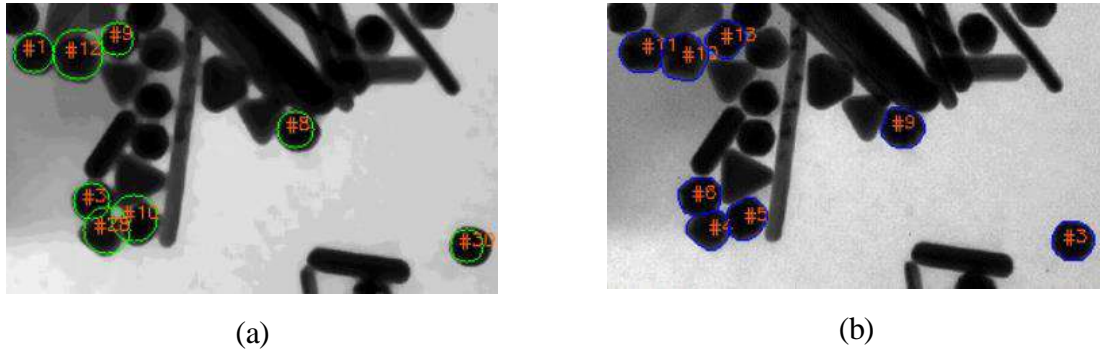
Los valores a comparar entre la metodología y la transformada de Hough son el radio, la circularidad, el área y el perímetro; los cuales fueron divididos en tres grupos para simplificar la complejidad de relación de partículas. En la Figura 4.8 se observa el primer grupo que corresponde a las partículas posicionadas en la parte inferior de la imagen y se elaboró la Tabla 4.1 para ilustrar la comparación de resultados de cada uno de los algoritmos y poder cada una de sus propiedades.

En la Figura 4.9 se observa el segundo grupo corresponde a las partículas posicionadas en la parte central de la imagen y se tabularon los valores resultantes en la Tabla 4.2; Por último, en la Figura 4.10 se muestra el tercer grupo que corresponde a las partículas posicionadas en la parte superior de la imagen y de igual forma se enlistaron las diferencias de resultados en la Tabla 4.3.

Se puede observar que el 60% de las muestras de los renglones en las tablas no presentan un color verde, esto se debe a que la transformada de Hough no es precisa al momento de calcular el radio de objetos semicirculares, como es el caso de 15 partículas; al comparar las imágenes se puede observar que algunas partículas se detectaron con una circunferencia mayor a la del área que tiene la partícula.

Figura 4.8

Comparación ilustrativa entre las partículas de la parte inferior.



Nota. Figura 4.8 (a) Aplicación de la transformada de Hough al remover oclusiones, (b) Detección de contornos al remover oclusiones.

Tabla 4.1

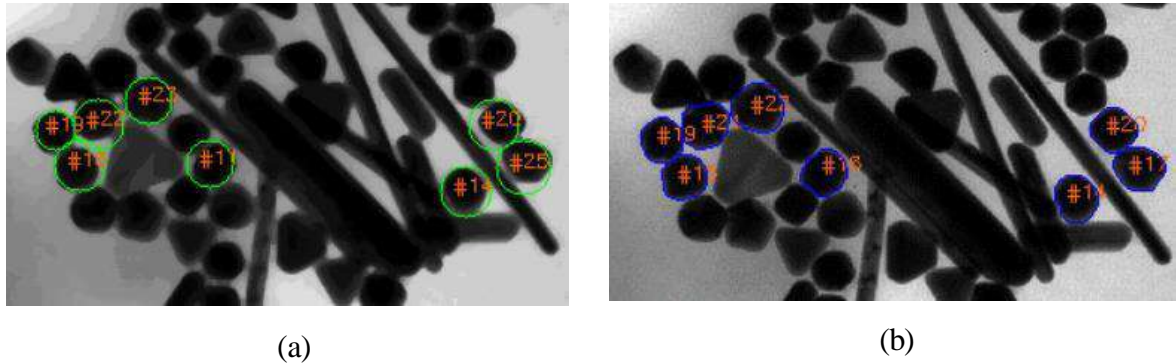
Comparación de valores entre las partículas de la parte inferior.

Transformada de Hough					Algoritmo para remover oclusiones				
#	Radio	Circ.	Área	Perim.	#	Radio	Circ.	Área	Perim.
#30	10.31	1.00	64.78	333.94	#3	12.30	0.92	80.77	475.00
#28	14.27	1.00	89.66	639.73	#4	11.92	0.86	80.77	446.00
#10	14.49	1.00	91.04	659.61	#5	12.09	0.84	82.77	459.00
#3	11.96	1.00	75.15	449.38	#6	12.20	0.88	81.70	467.50
#8	11.41	1.00	71.69	409.00	#9	12.38	0.85	84.18	481.50
#1	12.95	1.00	81.37	526.85	#11	12.96	0.89	86.18	527.50
#12	15.59	1.00	97.95	763.56	#10	14.12	0.87	95.01	626.50
#9	10.86	1.00	68.24	370.52	#13	11.30	0.85	77.01	401.50

Nota. Los renglones de color verde muestran una diferencia de radio menor a 0.5 nm.

Figura 4.9

Comparación ilustrativa entre las partículas de la parte central.



Nota. Figura 4.9 (a) Aplicación de la transformada de Hough al remover oclusiones, (b) Detección de contornos al remover oclusiones.

Tabla 4.2

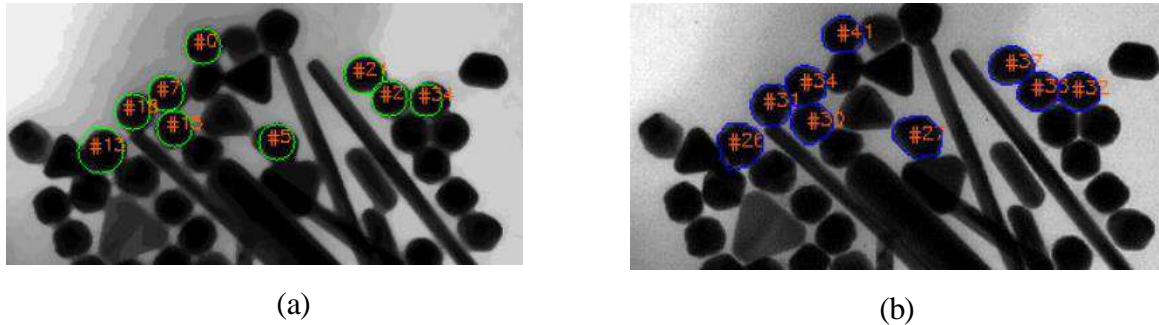
Comparación de valores entre las partículas de la parte central.

Transformada de Hough					Algoritmo para remover oclusiones				
#	Radio	Circ.	Área	Perim.	#	Radio	Circ.	Área	Perim.
#14	14.16	1.00	88.97	629.91	#14	12.05	0.88	80.77	456.00
#16	14.38	1.00	90.35	649.63	#15	12.07	0.86	81.94	458.00
#11	13.28	1.00	83.44	554.05	#16	11.94	0.79	84.18	447.50
#25	15.59	1.00	97.95	763.56	#17	12.58	0.88	84.43	497.00
#19	11.74	1.00	73.76	433.00	#19	11.71	0.90	77.36	430.50
#20	14.27	1.00	89.66	639.73	#20	11.89	0.90	78.67	444.50
#22	14.49	1.00	91.04	659.61	#21	12.60	0.87	85.11	499.00
#23	13.06	1.00	82.06	535.84	#22	13.45	0.87	90.43	568.00

Nota. Los renglones de color verde muestran una diferencia de radio menor a 0.5 nm.

Figura 4.10

Comparación ilustrativa entre las partículas de la parte superior.



Nota. Figura 4.10 (a) Aplicación de la transformada de Hough al remover oclusiones, (b) Detección de contornos al remover oclusiones.

Tabla 4.3

Comparación de valores entre las partículas de la parte superior.

Transformada de Hough					Algoritmo para remover oclusiones				
#	Radio	Circ.	Área	Perim.	#	Radio	Circ.	Área	Perim.
#13	13.01	1.00	90.35	649.63	#26	13.01	0.86	88.18	531.50
#5	12.98	1.00	3.76	433.00	#27	12.98	0.87	87.60	529.00
#15	11.60	1.00	74.46	441.15	#30	11.60	0.88	77.60	426.00
#18	11.91	1.00	75.15	449.38	#31	11.91	0.91	78.53	445.50
#34	11.45	1.00	666.16	348.34	#32	11.45	0.87	77.11	412.00
#2	11.56	1.00	72.38	416.92	#33	11.56	0.91	76.18	419.50
#7	11.62	1.00	72.38	416.92	#34	11.62	0.88	77.94	424.00
#21	11.83	1.00	77.91	483.05	#37	11.83	0.87	79.60	440.00
#0	11.10	1.00	70.31	393.38	#41	11.10	0.91	73.11	387.00

Nota. Los renglones de color verde muestran una diferencia de radio menor a 0.5 nm.

3. Análisis estadístico

En la Figura 4.11 se muestra claramente la diferencia de datos con respecto a la distribución normal para ambos algoritmos, de igual manera, se observa que la transformada de Hough tiene una mayor variación de datos, lo cual se debe a que las partículas semicirculares fueron detectadas con un radio mayor al que en realidad poseen.

Figura 4.11

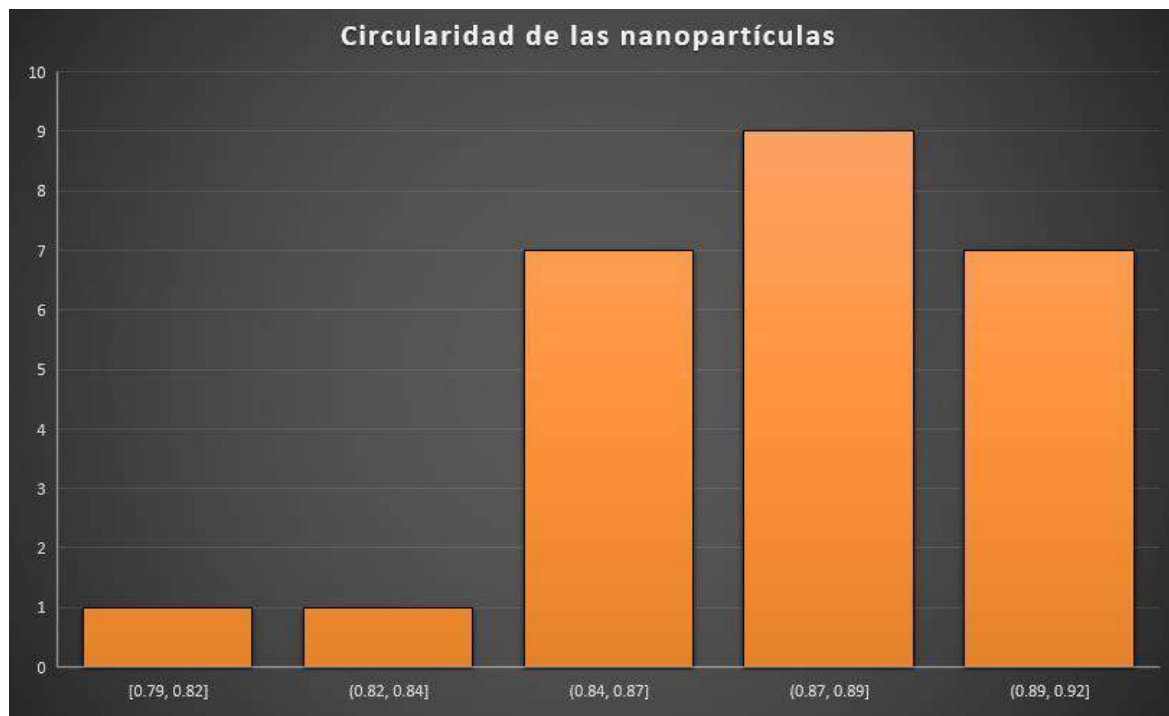
Variación de los radios entre Hough y el algoritmo para remover oclusiones.



En la Tabla 4.4 se observa el valor de la media y de la desviación estándar para ambos algoritmos; la metodología tiene un valor de media ligeramente menor al obtenido de la transformada de Hough, sin embargo, el valor de la desviación estándar de la transformada de Hough es el doble que el de la metodología debido a que la transformada de Hough asume una circularidad perfecta en las partículas, por lo que su dispersión de radios es mayor que en la metodología ya que detecta radios más grandes que lo que representa su contorno.

Tabla 4.4*Comparación de la medida de dispersión.*

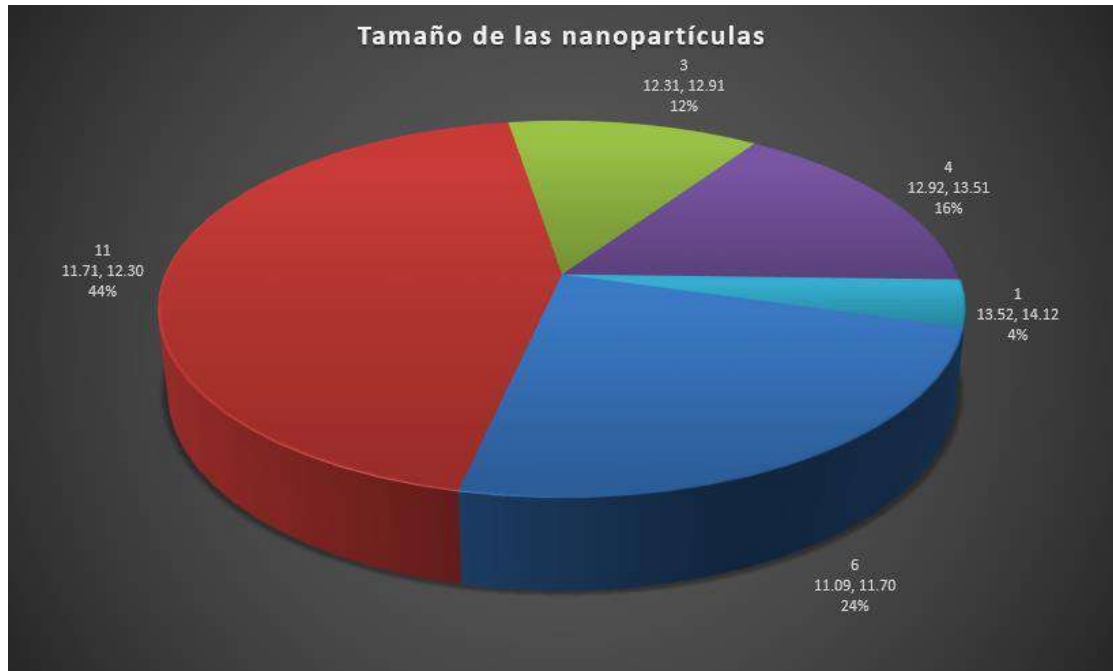
Método	Media	Desviación estándar
Transformada de Hough	0.8051	0.0963
Algoritmo de la metodología	0.7815	0.0442

Figura 4.12*Conteo de valores de circularidad del algoritmo para remover oclusiones.*

En la Figura 4.12 se observa el histograma con los valores de circularidad de las 25 partículas analizadas previamente, las cuales, ninguna presentó una circularidad de uno, ya que se encuentran solapadas con otro tipo de partículas y dichas deformidades impiden tener una circunferencia perfecta; el 28% de estas muestras tuvieron una circularidad entre (0.89 - 0.92], mientras que el 64% tuvieron un rango entre (0.84 - 0.88] y finalmente, el 8% tuvieron una circularidad menor a 0.83 dado su forma de semicírculo.

Figura 4.13

Conteo de rango de radios del algoritmo para remover oclusiones.



En la Figura 4.13 se puede observar que el tamaño del radio de las partículas se encuentra en un rango entre 11.09 y 14.12 nanómetros, esto demuestra que ese tipo de partículas poseen un tamaño promedio derivado del rango antes mencionado.

Finalmente, los resultados experimentales y las medidas estadísticas confirman la eficiencia de la metodología propuesta, comprobando que dicha técnica tiene una gran precisión para mejorar la eficiencia de la detección de nanopartículas solapadas; por otro lado, el pre-procesamiento permite eliminar el ruido alrededor de las nanoestructuras, acto seguido, el algoritmo permite encontrar tanto la coordenada origen, como la coordenada destino para remover la obstrucción, las cuales garantizan una trayectoria opuesta al posicionamiento de las partículas. En el post-procesamiento se evaluó la aplicación de la medida de circularidad de las partículas a las que se les removió la oclusión aprovechando las ventajas de cada una de las técnicas mencionadas anteriormente con el propósito de lograr trazar trayectorias para segmentar con mayor precisión cada uno de los bordes.

4. Conclusiones y trabajo a futuro

Esta investigación tuvo como objetivo proponer una metodología de segmentación a partir del uso de algoritmos de morfología matemática, lo que demostró una mejora en la detección de nanoestructuras solapadas. Con base en un análisis de los radios y de la aplicación de la medida de circularidad, se demostró que la detección de mínimos en dos cuadrantes permite trazar una trayectoria inversa a la posición de las partículas obstruidas. Los resultados indican que las trayectorias permiten detectar el contorno de cada partícula con mayor precisión y de esa manera se pueden extraer todas las características necesarias para el análisis de las mismas

La metodología propuesta representa una solución para la supresión de oclusiones a partir del trazo de trayectorias. Esta metodología genera una trayectoria que garantiza la separación de dos partículas y de esa manera poder extraer sus propiedades; la eficiencia de este algoritmo depende de la geometría de las partículas a evaluar ya que para figuras geométricas que carecen de circularidad, estas presentan una mayor complejidad en la detección de valores mínimos respecto al centro de la región de interés.

La aplicación de operaciones morfológicas sucesivas demostró un funcionamiento apropiado en imágenes que contienen partículas superpuestas invariantes a posición, apoyándose de los criterios del radio y circularidad para aumentar la confiabilidad de este método.

Un área de oportunidad consiste en la detección de la región de interés ya que existen ocasiones en las que un contorno está compuesto por más de 3 partículas, dificultando la obtención de las coordenadas para realizar el trazo de la trayectoria. Como consideración futura para la continuación de este trabajo, se debe de tomar en cuenta la detección de partículas que no sean semicirculares, ya que este tipo de formas impiden que el algoritmo pueda determinar una trayectoria precisa para remover el solapamiento.

Existen otro tipo de métodos que pueden favorecer la segmentación de los contornos, tales como la aplicación de súper píxeles para poder definir el patrón de dichas

composiciones, o la aplicación de redes neuronales donde se puede entrenar continuamente el algoritmo para poder desarrollar con mayor precisión y efectividad la detección de cualquier forma.

Esta metodología permitió remover el solapamiento de partículas a partir del trazo de trayectorias, las cuales fueron generadas a partir del uso de operadores morfológicos que definieron con mayor nitidez los contornos y permitieron evaluar con mayor precisión la circularidad de las partículas para filtrar los detalles innecesarios que las sobreponen.

V. Referencias

- Acharjya, P. P., & Dutta, E. (2018). Image Segmentation and Contour Recognition Based on Mathematical Morphology. En *International Journal of Computer and Information Engineering*, *11(9)*, 1095-1098. Recuperado de <https://pdfs.semanticscholar.org/824a/36b555ad574b8f2a0298d88767d4a1c429ae.pdf>
- Baglietto, S., Kepiro, I. E., Hilgen, G., Sernagor, E., Murino, V., & Sona, D. (2017). Segmentation of Retinal Ganglion Cells From Fluorescent Microscopy Imaging. En *BIOIMAGING* (pp. 17-23). Recuperado de <https://www.scitepress.org/Papers/2017/61103/61103.pdf>
- Ban, Z., Liu, J., & Cao, L. (2018). Superpixel segmentation using Gaussian mixture model. En *IEEE Transactions on Image Processing*, *27(8)*, 4105-4117. Recuperado de <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/8360143>
- Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica (CIDETEQ) (2018). Nanopartículas de oro obtenidas a partir de tetracloruro áurico trihidratado extraída a partir de un microscopio de transmisión y barrido de electrones de alta precisión [Fotografía]. Dr. Iván Ramón Terol Villalobos.
- Danciu, G. M. (2017, May). Method proposal for blob separation in segmented images. En *2017 International Conference on Optimization of Electrical and Electronic Equipment (OPTIM) & 2017 Intl Aegean Conference on Electrical Machines and Power Electronics (ACEMP)* (pp. 1108-1113). IEEE. Recuperado de <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/7975120>
- Ding, K., Xiao, L., & Weng, G. (2017). Active contours driven by region-scalable fitting and optimized Laplacian of Gaussian energy for image segmentation. En *Signal Processing*, *134*, 224-233. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165168416303735>

- Duan, Y., Li, D., Stien, L. H., Fu, Z., Wright, D. W., & Gao, Y. (2019). Automatic segmentation method for live fish eggs microscopic image analysis. En *Aquacultural Engineering*, 85, 49-55. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144860917301176>
- Hetzner, D. (2008). Comparing Binary Image Analysis Measurements - Euclidean Geometry, Centroids and Corners. *Microscopy*, 16(4), 10-17. doi:10.1017/S1551929500059721. Recuperado de <https://www.cambridge.org/core/journals/microscopy-today/article/comparing-binary-image-analysis-measurements-euclidean-geometry-centroids-and-corners/6A8DFE5809F8DBC8FD6BC32DEFF83157>
- Iwanowski, M. (2019, May). Image Contrast Enhancement Based on Laplacian-of-Gaussian Filter Combined with Morphological Reconstruction. En *International Conference on Computer Recognition Systems* (pp. 305-315). Springer, Cham. Recuperado de https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-19738-4_31
- Lalaoui, L., F., & Dib, F. (2020). Level set and Watershed for image segmentation. En *Laboratory LGE faculty technology University Mohamed boudaif of M'sila, Algeria*, 36-45. Recuperado de https://easychair.org/publications/preprint_download/TTng
- Lobo, E., & Maldonado, L. (2019). Identificación de objetos múltiplemente solapados: estadística descriptiva. En *Universidad Ciencia y Tecnología*, 23(94), 7-7. Recuperado de <http://uctunexpo.autanabooks.com/index.php/uct/article/view/167/212>
- Malik, J., Arbeláez, P., Carreira, J., Fragkiadaki, K., Girshick, R., Gkioxari, G., ... & Tulsiani, S. (2016). The three R's of computer vision: Recognition, reconstruction and reorganization. En *Pattern Recognition Letters*, 72, 4-14. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167865516000313>

- Mohamad, A. S., Halim, N. S. A., Nordin, M. N., Hamzah, R., & Sathar, J. (2018, December). Automated Detection of Human RBC in Diagnosing Sickle Cell Anemia with Laplacian of Gaussian Filter. En *2018 IEEE Conference on Systems, Process and Control (ICSPC)* (pp. 214-217). *IEEE*. Recuperado de <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/8704128>
- Morán, I. A. (2017). Terapia Fototérmica en Cáncer mediante Nanopartículas de Oro. En *Universidad Pablo Olavide, Sevilla 1-4*. Recuperado de https://www.upo.es/cms1/export/sites/upo/moleqla/documentos/Numero24/Destacado_2.pdf
- Pacheco M. A., Guerrero P. F., Garcés C. A., & Rodriguez R. L. A. (2017). Un método para el reconocimiento de objetos ocluidos. En *Computación y Sistemas*, 21(2), 267-273. Recuperado de <https://dx.doi.org/10.13053/cys-21-2-2735>
- Pastore, J. I., Brun, M., Bouchet, A., & Ballarin, V. L. (2017). Color morphological reconstruction as a segmentation tool for microscope cell images. En *VII Latin American Congress on Biomedical Engineering CLAIB 2016, Bucaramanga, Santander, Colombia, October 26th-28th, 2016* (pp. 312-315). *Springer, Singapore*. Recuperado de https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-10-4086-3_79
- Sahba, F. (2016, December). Deep reinforcement learning for object segmentation in video sequences. En *2016 International Conference on Computational Science and Computational Intelligence (CSCI)* (pp. 857-860). *IEEE*. Recuperado de <https://ieeexplore.ieee.org/stamp/stamp.jsp?tp=&arnumber=7881459>
- Siqueira, A., Nakasuga, W., Guedes, S., & Ratschbacher, L. (2019). Segmentation of nearly isotropic overlapped tracks in photomicrographs using successive erosions as watershed markers. En *Microscopy Research & Technique Wiley Periodicals*, 82, 1706-1719. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/317559028_Segmentation_of_nearly_isotropic_overlapped_tracks_in_photomicrographs_using_successive_erosions_as_watershed_markers

Wada, K., Kitagawa, S., Okada, K., & Inaba, M. (2018, October). Instance Segmentation of Visible and Occluded Regions for Finding and Picking Target from a Pile of Objects. En *2018 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems (IROS)* (pp. 2048-2055). *IEEE*. Recuperado de <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/8593690>