

Detección de actividad locomotora en el acocil *Procambarus clarki* utilizando visión artificial y LabVIEW.

B.A. Valdés¹, J.M. Gómez-González², L. Rodríguez-Sosa³, J.J. Bernal-Alvarado¹, A. Vega-Gonzalez¹

¹Departamento de Ingenierías Química, Electrónica y Biomédica, División de Ciencias e Ingenierías, Universidad de Guanajuato, León Guanajuato 37150

²Departamento de Ingeniería Control y Robótica, Facultad de Ingeniería,

³Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina Universidad Nacional Autónoma de México, México DF 04510

Resumen—El presente trabajo expone el desarrollo de un sistema de monitorización para cuantificar la actividad locomotora de un artrópodo de agua dulce conocido como acocil (*Procambarus clarki*). Se utiliza un sistema de visión artificial constituido por una cámara web comercial y una computadora con LabVIEW. El sistema lleva a cabo el procesamiento de imágenes necesario para la identificación de contornos y del patrón de colores del espécimen. El sistema desarrollado es de bajo costo y provee diferentes opciones para el reconocimiento y detección de la actividad locomotora.

Palabras clave—Acocil, monitorización de actividad locomotora, ritmos biológicos, cronobiología

I. INTRODUCCIÓN

En el área biomédica es común realizar mediciones objetivas de la conducta humana o animal [1, 2], esto es particularmente importante en cronobiología [3, 4]. Esta área ha llegado a ser una disciplina reconocida en la investigación biomédica. La Cronobiología es el estudio de las características temporales de un fenómeno biológico y tiene como objetivo la descripción de la organización temporal de los organismos (ritmos biológicos)[3, 5, 6].

El mecanismo fundamental para la adaptación de los seres vivos a su medio ambiente son los ritmos biológicos. Estos ritmos son expresados en la conducta, en las propiedades y procesos fisiológicos, en la actividad metabólica, etc. [7] La determinación de los mecanismos que generan la organización temporal y los efectos en la alteración de la misma han llegado a ser un factor importante en nuestra salud [8]. Para el estudio de los ritmos biológicos y en general en el estudio de mecanismos fisiológicos se seleccionan organismos mas sencillos que el ser humano. Esta técnica se basa en la clasificación filogenética de las especies basada únicamente en las relaciones de proximidad evolutiva entre las distintas especies.

Con el objetivo de comprender mejor cuáles son mecanismos que regulan el reloj biológico de los organismos vivos, el laboratorio de cronobiología de la Facultad de Medicina de la UNAM (Universidad Nacional Autónoma de México) utiliza el acocil *Procambarus clarkii* y *Cherax quadricarinatus* como modelo experimental. El acocil, un artrópodo de agua dulce similar a un langostino, como modelo animal es ideal para estudiar el sistema

nervioso ya que posee neuronas grandes y escasas, por lo que es fácil analizarlo. Además, es sencillo conseguirlo y su manutención no resulta onerosa [9, 10]. El acocil ha servido como modelo experimental, puesto que manifiesta una variedad de ritmos circádicos y ha sido utilizado para estudiar diferentes fenómenos conductuales y fisiológicos, como aprendizaje [11], conducta de dominancia [12], adicción [13] y sueño [14] entre otros.

Uno de los ritmos más ampliamente estudiado en diversas especies y en particular en el acocil *Procambarus clarki*, es el de la actividad locomotora [15]. En particular en el estudio de los ritmos biológicos que ocurren en el ciclo de 24 h, denominados ritmos circádicos, se efectúan observaciones durante largos periodos de tiempo. La monitorización de la actividad locomotora es la expresión más simple de un ritmo circádico (ciclo de actividad – reposo) y su medición permite caracterizar al sistema circádico. Para la adquisición de esta información se requiere de instrumentos de medición que capturen continuamente los parámetros de interés.

Los sistemas de monitorización de actividad locomotora para el acocil, incluyen sistemas de video, sistemas de infrarrojo y sistemas con acelerómetros [11, 12, 16, 17]. Siendo estos últimos los más recientes en el mercado y también los más costosos, debido al uso de telemetría [16, 17].

Los sistemas de video han mostrado ser de gran utilidad cuando son acompañados de software de análisis automático de movimiento [4, 11, 12]. Sin embargo las versiones comerciales de estos sistemas tienen un costo excesivo y generalmente no cuentan con las opciones particulares para cronobiología. Aunado a esto, en la mayoría de estos sistemas la adquisición esta separada del análisis de datos y por lo tanto se vende por separado. Por lo que el costo de una sistema de adquisición y análisis aumenta considerablemente. De lo anterior surge el requerimiento de contar con un sistema automatizado para monitorizar la actividad locomotora del acocil.

El presente trabajo describe el desarrollo de un sistema amigable y de bajo costo para monitorizar de forma continua la actividad locomotora del acocil *Procambarus clarki*. El sistema presentado utiliza la técnica de análisis de video, o visión artificial, para la detección y cuantificación de la actividad locomotora.

II. METODOLOGÍA

El sistema de adquisición y procesamiento de imágenes está compuesto por: una cámara web Logitech C110 (la cual adquiere imágenes en formato MJPG con una resolución de 1024 píxeles x 768 píxeles) y una computadora conteniendo el paquete de software NI LabVIEW 2009 [18].

El espécimen se encuentra dentro de una pecera de acrílico con dimensiones de 43 cm x 34 cm. Esta pecera contiene grava de color blanco en el fondo, para crear un alto contraste con el color rojizo del animal y de esta manera facilitar las mediciones. La cámara web se aseguró en una posición perpendicular a la pecera a una distancia de 83 cm, para evitar errores de perspectiva. La pecera se colocó sobre una mesa con superficie blanca para disminuir los errores dentro de los cálculos de procesamiento de imágenes.

El seguimiento del espécimen dentro de la imagen se realiza a través de los algoritmos de reconocimiento de patrones de color ofrecidos por LabVIEW, mismos que contienen parámetros que pueden ser modificados para optimizar el procesamiento y el despliegue de resultados. La configuración del sistema puede observarse en la Fig. 1. Mientras que el diagrama de flujo del sistema se muestra en la Fig. 2

La detección de la actividad locomotora se realizó en tres etapas: adquisición, aprendizaje del patrón a reconocer y el seguimiento y cuantificación de la actividad locomotora (Fig.1).

En la primera etapa se adquiere la imagen original, en la segunda se inserta el patrón de colores a buscar y en la última se busca este patrón para realizar un seguimiento del espécimen.

III. RESULTADOS

La configuración final del sistema puede apreciarse en las figuras 3 y 4. La ventana principal de la aplicación de LabVIEW (Fig. 4) cuenta con un panel de configuración, el cual se encuentra dividido en tres apartados.

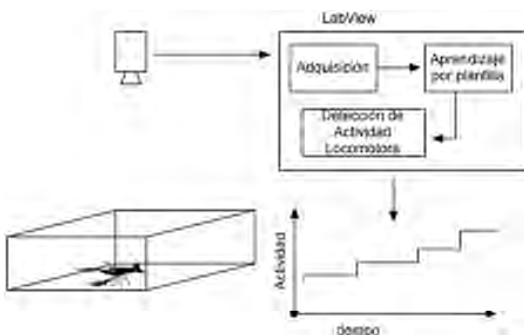


Fig. 1. Configuración del sistema. En esta figura se muestra: la pecera en la que está contenido el espécimen, la cámara en una posición perpendicular a la mesa de trabajo y los tres bloques en los que se divide el programa de LabVIEW.

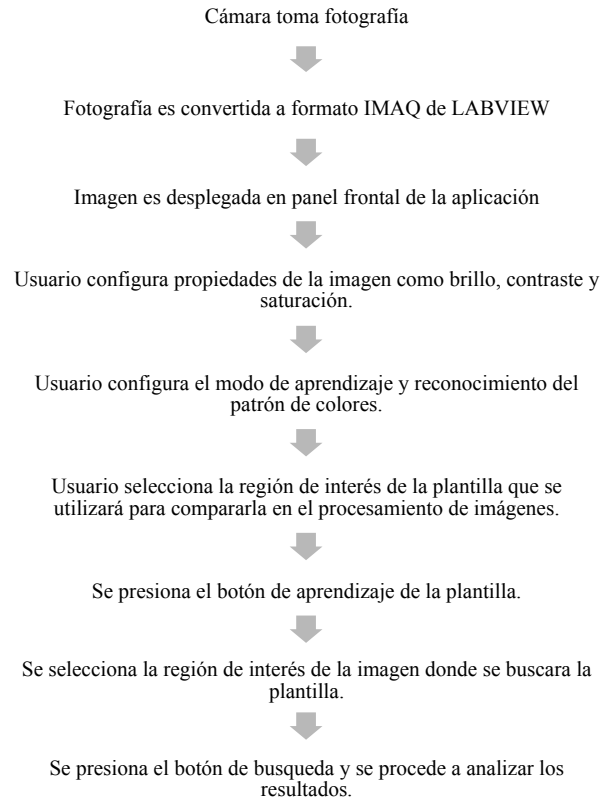


Fig. 2. Diagrama de Flujo del sistema propuesto. En esta figura se observan los diferentes pasos por los que el sistema adquiere la imagen original y finalmente realiza el procesamiento para la detección del espécimen.

El primer apartado es el de controles en el que se pueden configurar propiedades de la imagen adquirida como: el brillo, saturación, contraste, gamma y hue. El siguiente apartado cuenta con los controles para la configuración del aprendizaje de la plantilla a buscar dentro de la imagen.

En este apartado se modifican los valores en caso de que la plantilla gire, o bien si el aprendizaje contemplará solo el color o también la forma. Aquí también es posible seleccionar si se tomará en cuenta el blanco y el negro dentro de la gama de colores.

El último apartado de controles contiene la configuración referente a la forma en que se buscará la plantilla dentro de la imagen. En este se configura: la puntuación mínima para considerar válida la plantilla encontrada, el contraste mínimo a considerar, el peso del color dentro del algoritmo de búsqueda, la estrategia de búsqueda, la sensibilidad al color, si se quiere considerar la forma o el color o ambos, si la búsqueda considera rotaciones y cambios de posición y si se quiere tener una precisión a nivel subpíxel. Los botones en la parte inferior de la imagen con nombres: Learn y Search, son utilizados para identificar la plantilla una vez que ha sido seleccionada y para buscarla dentro de la imagen (Fig. 5 panel superior).



Fig. 3. Configuración del sistema. En la parte superior se observa la cámara web y en la parte inferior el acocil dentro de la pecera. La cámara se encuentra posicionada a una altura de 70 cm por arriba de la pecera.

El programa calcula la posición del centro de la plantilla encontrada, en coordenadas relativas “x” y “y” con respecto al área de búsqueda (rectángulo verde). Al mismo tiempo una gráfica de movimiento muestra el desplazamiento del espécimen a lo largo del tiempo. Cuando la condición de movimiento es cumplida un contador es incrementado y su valor se despliega en el eje “Y” de la gráfica de movimiento, mientras que en el eje “X” se muestran los segundos transcurridos desde el inicio de la monitorización (Fig. 5 panel inferior).

La tabla 1 muestra un extracto de valores que son almacenados en el archivo compatible con MS-Excel®. Los valores son almacenados cada segundo y el usuario podrá en un momento agrupar o acumular las cuentas de actividad para formar épocas. Los datos que almacena el programa son fecha, tiempo (hora, minuto y segundo), cuenta acumulada del movimiento y posición relativa (x,y). Con la finalidad de no perder información es la eventualidad de un fallo de energía eléctrica, los archivos pueden almacenarse cada 3, 6 horas u otro intervalo de tiempo definido por el usuario.

Tabla 1. Extracto de datos almacenados por el sistema desarrollado.

Date	Hour	Minute	Second	Movement	X	Y
30/07/12	18	51	33	27	266.7	44.0
30/07/12	18	51	34	28	265.8	36.8
30/07/12	18	51	35	29	257.2	30.6
30/07/12	18	51	36	30	251.4	31.1
30/07/12	18	51	37	30	253.0	32.0
31/07/12	18	51	33	9965	403.7	297.1
31/07/12	18	51	34	9965	403.6	297.3
31/07/12	18	51	35	9965	402.9	296.8
31/07/12	18	51	36	9965	402.9	295.6
31/07/12	18	51	37	9965	402.6	296.5

IV. DISCUSIÓN

Debido a que la forma del espécimen puede cambiar en cualquier momento, la estrategia para buscar la forma completa del espécimen no era suficiente para detectar cambios. Por lo que se decidió dar un peso considerable a la discriminación por color, de esta forma se obtuvieron mejores resultados.



Fig. 4. Ventana principal de la aplicación desarrollada. La aplicación está dividida en tres paneles: el de parámetros, el de resultados y el de vista (que despliega el video en línea).

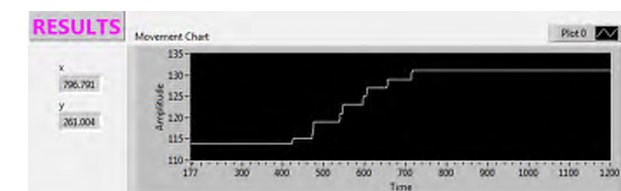


Fig. 5. Acercamiento al panel de visualización del panel de resultado. En el panel de visualización se observa la detección del patrón (rectángulo rojo), para la cuantificación del movimiento dentro del área de búsqueda (marco verde). En el panel de resultado se observa la cuantificación acumulada del movimiento.

El algoritmo que se utilizó para el procesamiento de la imagen tiene una resolución aproximada de 30 píxeles. Por lo que para evitar falsos positivos, la resolución óptima fue de 50 píxeles.

Una ventaja del sistema es que la mayoría del contenido de color dentro de la imagen son tonalidades cercanas al blanco y lo único que difiere es el espécimen, la bomba de agua y la manguera. Por esta razón es importante probar otros algoritmos que tomen en cuenta estas características y así obtener resultados más confiables.

Para disminuir la carga de procesamiento se seleccionó solo el área de acción del acocil (rectángulo verde en la Fig. 4), de esta manera se redujo el tamaño de la imagen y tiempo de procesamiento.

El sistema desarrollado utiliza una cámara web de escasos 270 pesos y LabVIEW. La mayoría de las universidades cuentan con una licencia de LabVIEW, como es el caso de la UNAM y la UG, por lo que no se realizó gasto extra en la licencia del software. Comparado con otros sistemas de monitorización, el sistema de Stoeling Co tiene un costo superior a los 800 dólares y provee un software para rastreo automático por video. Por otro lado el sistema de Mini Meter tiene un costo de alrededor de los 600 dólares por transponder (un transponder por animal). Ambos sistemas venden por separado el software para el análisis de datos, como el "Vitalview", con un costo aproximado de 900 dólares. Lo cual representa una inversión substancial. Es importante mencionar que los datos obtenidos por el sistema desarrollado se podrán analizar mediante el software DiSPAC (desarrollado por los autores), el cual es un software propio, desarrollado exclusivamente para análisis datos en cronobiología [19].

Una característica importante en el sistema desarrollado es la forma en que almacena cada medición. En cronobiología es común acumular la actividad locomotora en unidades de tiempo llamadas épocas. Entre los valores de época más comunes se encuentran cada 6, 15, 30 y 60 minutos. El sistema almacena la información cada segundo, dando así la posibilidad al usuario de adecuarla a sus necesidades. Esta característica de reagrupar los datos se dejará para el programa de análisis DiSPAC, de tal forma que el usuario tenga una mayor flexibilidad en la manipulación y análisis de datos.

V. CONCLUSIÓN

El sistema desarrollado es capaz de localizar al espécimen dentro de un área específica con fondo blanco. Los datos obtenidos pueden ser utilizados para monitorizar el ritmo del acocil y de esta manera poder generar un perfil de actividad por periodos prolongados.

Debido a que el sistema se encuentra actualmente en proceso de validación, los algoritmos de búsqueda de la plantilla podrían ser optimizados o cambiados en caso de que se encuentre algún método que mejore los resultados de búsqueda.

Las coordenadas reportadas actualmente están en coordenadas reales con valores en milímetros, de esta forma se puede extraer más información sobre el ritmo del espécimen y patrón exploratorio. Los valores que se muestran en la gráfica de movimiento son exportados a un archivo de texto que contiene la fecha y hora de la medición para poder conservar un historial sobre el ritmo del animal durante los diferentes días de la monitorización.

El sistema es suficientemente flexible y el contar con el código fuente permite realizar modificaciones acorde a las necesidades del usuario u otros usuarios en caso de que deseen utilizar el sistema desarrollado.

AGRADECIMIENTOS

Apoyo recibido de UG-DAIP 0169/11 y PROMEP /103.5/11/7297

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Muramoto K., Ono, T., and Shibata R., A microcomputer based system for detailed analysis of rat behavior, *Neuroscience Research*, 1986,4: 157-165.
- [2] Ticher, A., Ashkenazi, I. E., Compound structure of rodents activity rhythm, *Physiol. Behav.*, 1994, 57: 37- 40.
- [3] Arechiga H. La problemática de los Ritmos Circádicos. *Bol. Estud. Méd. Biol. Méx.* 29:1-17. 1976
- [4] Hoy J. B., Koehler P. G., Patterson R. S., A microcomputer-based system for real-time analysis of animal movement, *J. Neurosci. Methods*, 1996, Feb. 64(2): 157-61
- [5] Menaker Michael, *Biological Clocks*, *Bioscience* 19;8; 1969 681-689,692.
- [6] Aschoff J., *Handbook of behavioral Neurobiology*, Vol 4 *Biological Rhythms*. Plenum press New York 1984.
- [7] Aguilar-Roblero R, Aréchiga H, Ashkenazi I, Burioka N, Cipolla-Neto J, Cornélissen G, Markus R, Marques N, Menezes AAL, Monk TH, Ralph M, Valdez-Ramírez P, Menna-Barreto L. The brain decade in debate: IV. Chronobiology *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2001; 34: 831-841
- [8] Garaulet M, Madrid JA. Chronobiological aspects of nutrition, metabolic syndrome and obesity. *Adv Drug Deliv Rev.* 2010 ;62(9-10):967-78.
- [9] Rodríguez-Sosa L, Calderón-Rosete, Anaya V, and Flores G. The caudal photoreceptor in crayfish: an overview. In: *Photoreceptors: Physiology, types and abnormalities*. (E Akutagawa and K Ozaki, Eds.) Nova Science Publishers, Inc. New York, 2012. ISBN: 978-1-61942-619-1
- [10] Aréchiga H and Rodríguez-Sosa L. Distributed circadian rhythmicity in the crustacean nervous system. In: *The Crustacean Nervous System*. K. Wise (Ed.) Springer-Verlag. Berlin, 2002 pp 113-123
- [11] Tierney AJ, Lee J. Spatial learning in a T-maze by the crayfish *Orconectes rusticus*. *J Comp Psychol.* 2011 ;125(1):31-9.
- [12] Sato D, Nagayama T. Development of agonistic encounters in dominance hierarchy formation in juvenile crayfish. *J Exp Biol.* 2012 Apr 1;215(Pt 7):1210-7.
- [13] Nathanie T.L., Huber R., Panksepp J. Repeated cocaine treatments induce distinct locomotor effects in Crayfish. *Brain Research Bulletin* 2012 ;87: 328-333
- [14] Ramon F, Mendoza-Angeles K, Hernandez-Falcon J. Sleep in invertebrates: crayfish. *Front Biosci (Schol Ed).* 2012 1;4:1190-200.
- [15] Fanjul-Moles ML, Miranda-Anaya M, Prieto J. Circadian locomotor activity rhythm during ontogeny in crayfish *Procambarus clarkii*. *Chronobiol Int.* 1996 May;13(1):15-26.
- [16] Sullivan JM, Genco MC, Marlow ED, Benton JL, Beltz BS, Sandeman DC. Brain photoreceptor pathways contributing to circadian rhythmicity in crayfish. *Chronobiol Int.* 2009;26(6):1136-68.
- [17] Zhu L, Weng W. Catadioptric stereo-vision system for the real-time monitoring of 3D behavior in aquatic animals. *Physiol Behav.* 2007 16;91(1):106-19.
- [18] *NI Vision for LabVIEW User Manual*, National Instruments, Austin, TX, 2005, pp. 1-149
- [19] Vega-González A., Aguilar-Roblero R. Custom-made software for digital signal analysis on chronobiology. *Third World Congress of Chronobiology*. Mayo 2011, pp 166. <http://www.ifc.unam.mx/3wcc/FilesPDF/3WCC%20ABSTRAC TS.pdf>