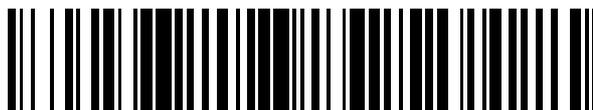


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 660 064**

51 Int. Cl.:

G01N 15/06 (2006.01)

G01N 15/14 (2006.01)

G06M 11/00 (2006.01)

G06T 7/00 (2007.01)

G06M 1/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.01.2014 PCT/NO2014/050015**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.07.2014 WO14116120**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.01.2014 E 14708347 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.11.2017 EP 2948753**

54 Título: **Sistema y procedimiento para contar zooplancton**

30 Prioridad:

28.01.2013 NO 20130147

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

20.03.2018

73 Titular/es:

**C-FEED AS (100.0%)
Postboks 4762 Sluppen
7465 Trondheim, NO**

72 Inventor/es:

**ALVER, MORTEN y
ATTRAMADAL, YNGVE**

74 Agente/Representante:

DURAN-CORRETJER, S.L.P

ES 2 660 064 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Sistema y procedimiento para contar zooplancton

5 INTRODUCCIÓN

La presente invención se refiere a un dispositivo y a un procedimiento para contar zooplancton en un medio líquido y, en concreto, copépodos en un medio acuoso.

10 ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

Es bien conocido que los copépodos son una especie de "bomba de vitaminas" para alevines de peces. Los copépodos son un tipo de zooplancton y el valor nutricional se considera mejor que el de los rotíferos. El objetivo es producir huevos de copépodos que puedan cosecharse y purificarse para su posterior venta. Cuando se utilizan como alimento para peces, los huevos se cultivan y eclosionan, y los copépodos resultantes se utilizan para alimentar a los peces. Los copépodos se pueden utilizar como alimento para larvas de peces marinos, por ejemplo, en una instalación de acuicultura o en un acuario. Además, se han conseguido buenos resultados con los huevos de copépodos como alimento inicial para las crías de peces de acuario poco comunes. Los copépodos pueden ser del tipo *Acartia tonsa*.

En una gran planta de producción de copépodos para la producción de huevos de copépodos, es deseable proporcionar un proceso automatizado para la producción de huevos. El recuento manual de las densidades de copépodos lleva mucho tiempo, y por esta y otras razones, la producción de alimentos vivos supone una parte significativa de los costes de producción de las especies de peces marinos. Las plantas de copépodos actuales requieren la presencia de un operador humano para distribuir el alimento según el crecimiento y la densidad de los copépodos. Para permitir una mejor monitorización de los cultivos de copépodos y las densidades de alimento en depósitos de larvas, se necesita un procedimiento de medición más eficiente. Aprovechando el hecho de que los copépodos se pueden diferenciar visualmente en tamaño y forma de otras partículas presentes en el agua de cultivo, el proceso de recuento puede ser automatizado.

Un proceso automatizado para contar rotíferos en agua de cultivo se muestra esquemáticamente en la figura 1 y se describe en M. O. ALVER y otros: "Medición automática de las densidades del rotífero *Brachionus plicatilis* en primeros depósitos de alimentación". *Aquacultural Engineering* 36 (2007) 115-121. Una caja de toma de imágenes -1- está provista de un vidrio portaobjetos -2- en su interior. Las bombas -3- controladas por ordenador y las válvulas -4- permiten extraer automáticamente muestras de uno o varios depósitos de alimentación -5- hasta el vidrio portaobjetos -2- del interior de la caja de imágenes -1-. El vidrio portaobjetos proporciona un volumen definido a una cierta distancia de una cámara digital -6-. El volumen definido es proporcionado por un espacio entre las dos placas de vidrio que constituyen el vidrio portaobjetos -2-. El espacio entre las dos placas de vidrio se puede elegir dependiendo del volumen de muestra deseado y de la profundidad de enfoque de la cámara. Para densidades altas se debe elegir un espacio más corto para reducir el riesgo de superposición de rotíferos en la imagen. Los rotíferos en el volumen son fotografiados por la cámara digital y la imagen digital es procesada mediante procesamiento de imagen para obtener una densidad de rotíferos en el interior del volumen fijo. La figura 2 muestra una disposición de las fuentes de luz -7-, el vidrio portaobjetos -2- y la lente de la cámara -6- del contador de rotíferos de la técnica anterior mostrado en la figura 1. La iluminación es proporcionada por 16 diodos emisores de luz -7- montados en un cuadrado con cuatro diodos a lo largo de cada lado. El cuadrado está dispuesto de modo que el cono visible para la cámara (línea de visión de la cámara) se encuentre entre los diodos emisores de luz -7-. Esta configuración proporciona condiciones de campo oscuro, en las que la luz es reflejada por partículas en el agua, haciendo que rotíferos y otras partículas aparezcan en las imágenes como puntos brillantes sobre un fondo oscuro. Las condiciones de campo oscuro proporcionan imágenes con mejor contraste que las condiciones de campo claro.

Los principios del contador de rotíferos se pueden utilizar para organismos que se mueven con suficiente lentitud o que no responden fuertemente a estímulos tales como el bombeo o la luz. Sin embargo, organismos como los copépodos de *Acartia* y muchas otras especies se mueven rápidamente, reaccionan a los gradientes de presión causados por el bombeo y muestran fuertes desplazamientos hacia la luz. Al bombear muestras desde un depósito, este comportamiento invalida la suposición de que la densidad de plancton en el volumen de medición es igual a la densidad en el depósito.

CABELL S DAVIS Y OTROS: "Una grabadora de video digital de plancton de arrastre rápido en tres ejes para exámenes rápidos de taxones de plancton e hidrografía", *LIMNOLOGÍA Y OCEANOGRAFÍA: PROCEDIMIENTOS*, vol. 3; 2005-01-01; páginas 59-74; el documento XP05512158 da a conocer un procedimiento para la identificación de plancton mediante el procesamiento de imágenes, que incluye detección de enfoque, extracción de características, clasificación y visualización de datos. Para la detección del foco, cada imagen está segmentada (binarizada) en un umbral de brillo seleccionado por el usuario. Se detectan regiones blancas (blobs, objetos grandes binarios) y las que están por encima de un tamaño mínimo se utilizan como máscara en la imagen original para determinar el gradiente en escala de grises en la región de interés (ROI, region of interest) como medida de su

nivel de enfoque. Si el nivel de enfoque está por encima del umbral especificado por el usuario, la ROI de la imagen original se guarda en un disco.

5 CABELL S DAVIS Y OTROS: "Observación en tiempo real de distribuciones de plancton específicas para taxones: un procedimiento de muestreo óptico". MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES, vol. 284. 2004-12-01; páginas 77-96. El documento XP055121848 da a conocer la detección del enfoque calculando los valores del gradiente promedio para todos los píxeles del interior de un cuadro delimitador que cubre la partícula. Si el gradiente promedio del brillo de los píxeles del blob está por encima de un valor umbral, el blob se considera enfocado.

10 C. S. DAVIS Y OTROS: "La grabadora de video de plancton (VPR)", ARCHIV FÜR HYDROBIOLOGIE. BEIHEFTE. ERGEBNISSE DER LIMNOLOGIE; vol. 3; 1992-07-01; páginas 67-81. El documento XP055121598 da a conocer un sistema para cuantificar la abundancia de plancton que comprende una cámara de video/unidad estroboscópica, una caja grabadora de plancton y un sistema de procesamiento de imágenes. La abundancia de plancton se calcula a partir del video contando el número por área y dividiendo por el volumen del área. Los contornos de las imágenes de video se determinan en tiempo real mediante un procesador de imágenes y se transfieren a un ordenador central, en el que se calculan los índices morfométricos y los organismos se clasifican en taxones principales utilizando análisis discriminante. Un análisis de las imágenes incluye una serie de etapas de proceso previas, que incluyen umbralización (*thresholding*), erosión, dilatación y detección de bordes.

20 JULLES JAFFE Y OTROS: "Toma de imágenes ópticas subacuáticas: estado y perspectivas"; OCEANOGRAPHY; vol. 14, nº 3; 2001-01-01; páginas 64-75; el documento XPO55093781 analiza varias técnicas de toma de imágenes ópticas subacuáticas que incluyen, por ejemplo, la grabadora de video de plancton (como anteriormente), la holografía óptica subacuática, los sistemas de toma de imágenes con un rango de alcance y la exploración síncrona.

25 CARACTERÍSTICAS DE LA INVENCION

La invención da a conocer una solución para los problemas identificados anteriormente.

30 En un primer aspecto, la invención da a conocer un procedimiento para la medición de la densidad del zooplancton in situ en solución acuosa, comprendiendo el procedimiento:

- obtener, por lo menos, una imagen de un volumen V de la solución acuosa;

35 - procesar, por lo menos, una imagen, e identificar partículas en la imagen;

- analizar las partículas identificadas en función de la nitidez de cada partícula, e

40 - identificar el zooplancton que se va a contar, donde analizar la nitidez de cada partícula comprende, además, trazar un límite de cada partícula identificada, calcular un gradiente de intensidad para cada píxel a lo largo del límite de cada partícula a partir de, por lo menos, una imagen, en base a un índice de cambio de intensidad entre los píxeles vecinos, y calcular un gradiente promedio de la intensidad de todos los píxeles a lo largo del límite de cada partícula.

45 El análisis de la nitidez de cada partícula puede comprender, además, corregir el gradiente promedio de la intensidad para un nivel de contraste general, por lo menos, en una imagen.

50 El procedimiento puede comprender, además, el filtrado de las partículas identificadas, por lo menos, en una imagen en base a los parámetros de forma que identifican qué partículas son zooplancton que se debe contar. Se puede controlar un dispositivo de iluminación para la iluminación del volumen de la solución acuosa en interacción con la obtención y el procesamiento de las imágenes.

55 En un segundo aspecto, la invención da a conocer un sistema para la medición de la densidad del zooplancton in situ en una solución acuosa, que comprende un dispositivo de toma de imágenes para la obtención, por lo menos, de una imagen de un volumen V de la solución acuosa; una placa dispuesta a una cierta distancia del dispositivo de toma de imágenes, definiendo la distancia y un ángulo de visión del dispositivo de toma de imágenes el volumen V de la solución acuosa obtenida por el dispositivo de toma de imágenes; y un dispositivo de procesamiento de imágenes que realiza el procesamiento de imagen, por lo menos, de una imagen del dispositivo de toma de imágenes identificando las partículas en la imagen, analizando las partículas identificadas en función de la nitidez de cada partícula e identificando el zooplancton que se debe contar, donde analizar la nitidez de cada partícula comprende, además, trazar un límite de cada partícula identificada, calcular un gradiente de intensidad para cada píxel a lo largo del límite de cada partícula a partir de, por lo menos, una imagen en base a un índice de cambio de la intensidad entre píxeles vecinos, y calcular un gradiente promedio de la intensidad de todos los píxeles a lo largo del límite de cada partícula.

65 En otra realización, el dispositivo de toma de imágenes puede comprender un cuerpo envolvente de la cámara que incluye, por lo menos, una cámara digital. Se proporciona, por lo menos, un dispositivo de iluminación que ilumina el volumen de la solución acuosa. Se puede proporcionar un controlador para controlar el dispositivo de toma de

imágenes y el dispositivo de iluminación en base a la retroalimentación del dispositivo de procesamiento de imágenes.

5 En otros aspectos, la invención da a conocer la utilización del sistema y el procedimiento anteriores para establecer una densidad de copépodos de zooplancton en una solución acuosa. El sistema y el procedimiento se pueden utilizar asimismo para controlar la distribución de comida a los copépodos en una instalación automatizada de producción de huevos de zooplancton. El zooplancton puede ser copépodos.

10 En otro aspecto la invención da a conocer asimismo un programa informático adaptado para ser ejecutado en un ordenador, que comprende un procesador y un medio de almacenamiento legible, para llevar a cabo el procedimiento anterior. En otro aspecto más, la invención da a conocer un producto de programa informático que tiene almacenadas en el mismo instrucciones para llevar a cabo el procedimiento tal como el definido anteriormente.

15 Con la presente invención, la cantidad de zooplancton se cuenta in situ en la solución acuosa. El zooplancton no se ve afectado por el bombeo, las corrientes inducidas en la solución o la luz intensa. Esto proporciona una medición simple y fiable sin perturbar ni dañar el zooplancton que se va a medir. La medición no se basa en partes móviles o tubos y vidrios portaobjetos que necesitan ser sustituidos, y se puede llevar a cabo con un bajo coste.

20 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

A continuación, se describirán realizaciones a modo de ejemplo de la invención, haciendo referencia a los siguientes dibujos, en los que:

25 la figura 1 muestra una vista general de un contador de rotíferos según la técnica anterior;

la figura 2 muestra una disposición de fuentes de luz, vidrio portaobjetos y lente de la cámara del contador de rotíferos de la técnica anterior mostrado en la figura 1;

30 las figuras 3a y 3b muestran una vista esquemática de un contador para zooplancton según una realización de la invención;

la figura 3c muestra una vista esquemática del sistema para contar zooplancton según una realización de la invención, en la que el contador para zooplancton está sumergido en una solución acuosa;

35 la figura 4 muestra un ejemplo de utilización del contador según una realización de la invención para contar *Acartia tonsa* que muestra una imagen en la que están enfocados dos individuos;

40 la figura 5 muestra un ejemplo de utilización del contador según una realización de la invención para contar *Acartia tonsa* que muestra una imagen en la que varios individuos están en diferentes grados de enfoque;

la figura 6 muestra un ejemplo de utilización del contador según una realización de la invención para contar *Acartia tonsa*, en el que la densidad de copépodos se muestra como función del tiempo;

45 la figura 7 muestra un ejemplo de utilización del contador según una realización de la invención provisto de dos fuentes de luz, en el que una imagen muestra varios individuos de *Acartia tonsa* en diferentes grados de enfoque.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

50 La figura 3a muestra un contador -10- in situ para el zooplancton -11- en una solución acuosa. Un dispositivo de toma de imágenes en forma de cámara -12- está dispuesto en un cuerpo envolvente -13- de cámara resistente al agua. El cuerpo envolvente de cámara está provisto de una ventana para la cámara. La cámara es preferentemente una cámara digital que proporciona una imagen digital con píxeles, pero se pueden prever otros dispositivos digitales de toma de imágenes. Se dispone una placa de fondo -14- delante de la cámara -12- en paralelo con la lente de la cámara -21-. La línea de visión -15- de la cámara cae dentro de la zona definida por la placa de fondo -14-. La placa de fondo -14- puede estar unida a un brazo (no mostrado en la figura) conectado al cuerpo envolvente -13- de la cámara. La placa de fondo -14- es blanca para obtener un buen contraste para el zooplancton -11- que va a ser fotografiado. Tal como se muestra en la figura 3b, el ángulo de visión (línea de visión de la cámara) de la lente -21- de la cámara y la distancia entre la lente de la cámara y la placa de fondo -14- definen un volumen, -V-, fotografiado por la cámara. Dentro de -V-, hay un volumen más pequeño, -V₂-, limitado por un intervalo de enfoque -17- de la lente -21- de la cámara, en el que las partículas en el agua se capturan nítidamente. El volumen -V₂- está de este modo delimitado en dos dimensiones por el campo de visión de la cámara, y en la tercera dimensión por el intervalo de enfoque -17-. Solamente las partículas en el interior de este intervalo de enfoque -17- quedarán nítidas en la imagen. Una imagen obtenida por la cámara es procesada por un dispositivo de procesamiento de imágenes y las partículas en la imagen son identificadas. Las partículas identificadas se analizan en función de la nitidez de cada partícula y se identifica el zooplancton a contar. Dado que el volumen -V₂- es conocido, se puede obtener la densidad.

Se dispone una fuente de luz -16- en un lado de la cámara que ilumina el volumen -V- a fotografiar. La fuente de luz -16- proporciona preferentemente luz blanca y puede ser un diodo emisor de luz (LED, Light Emitting Diode) u otra fuente de luz adecuada. La fuente de luz puede estar conectada al cuerpo envolvente -13- de la cámara o al brazo conectado al cuerpo envolvente de la cámara. En otra realización, el cuerpo envolvente de la cámara puede estar provista de dos fuentes de luz dispuestas a cada lado de la cámara. Esto permite una iluminación más uniforme y más fuerte y proporciona un contraste más intenso entre el fondo de la placa blanca y el zooplancton en el volumen que va a ser fotografiado.

El cuerpo envolvente -13- de la cámara con el brazo separador y la placa de fondo está adaptado para ser sumergido en el depósito -19- que contiene la solución acuosa con el zooplancton que se va a controlar, tal como se muestra en la figura 3c. El cuerpo envolvente -13- de la cámara puede estar dispuesto asimismo, por ejemplo, en un poste -18- para ser colocado en diferentes posiciones dentro del depósito. El poste puede estar conectado a una disposición motorizada. En la realización de la figura 3c, se muestra una realización con un cuerpo envolvente -13- de cámara en un poste -18-. El poste se puede mover en todas las direcciones para colocarlo en cualquier lugar dentro del depósito. Las flechas en la figura 3c solo indican movimiento en dos direcciones por sencillez del dibujo, pero también son posibles las otras direcciones. El cuerpo envolvente -13- de la cámara puede ser movido hacia arriba y hacia abajo en el poste. La cámara -12- dentro del cuerpo envolvente -13- de la cámara está conectada a un ordenador -20- para analizar las imágenes, controlar la cámara, las fuentes de luz y la disposición motorizada. Un controlador, ejemplificado por un ordenador en la figura 3c, controla el dispositivo de imagen y el dispositivo de iluminación en base a la retroalimentación del dispositivo de procesamiento de imágenes.

La cámara está conectada a un dispositivo de control con software para contar zooplancton. El dispositivo de control puede ser un ordenador común con una interfaz de control. El software está provisto de un algoritmo de procesamiento de imágenes según la invención, que se explicará con más detalle a continuación. La fuente de luz es activada por un módulo de luz. El módulo de luz está conectado al dispositivo de control. El módulo de control comprende asimismo una interfaz de control de luz que controla la fuente de luz. Las interfaces de control para la fuente de luz y la cámara son coordinadas por el software que implementa el algoritmo de procesamiento de imágenes. La fuente de luz preferiblemente solo proporciona luz en periodos cortos cuando se debe tomar una nueva imagen para minimizar el efecto sobre el comportamiento del zooplancton.

La cámara del contador in situ obtiene varias imágenes del volumen -V- dentro de la solución acuosa con zooplancton. Una imagen puede ser suficiente para contar la cantidad de zooplancton en un momento dado, pero normalmente se obtienen y analizan varias imágenes consecutivas para proporcionar una estimación más precisa de la densidad del zooplancton en la solución acuosa en un momento dado. Si se obtienen varias imágenes consecutivas, cada imagen se procesa por separado, y luego se estima un promedio de la cantidad de zooplancton. Por lo menos una imagen es procesada por el algoritmo de procesamiento de imágenes y las partículas en la imagen son identificadas. Las partículas identificadas se analizan adicionalmente con respecto a la nitidez de cada partícula, y se identifica el zooplancton a contar. El análisis con respecto a la nitidez de cada partícula permite filtrar las partículas fuera del intervalo de enfoque de la lente de la cámara, proporcionando de este modo el recuento de zooplancton dentro del volumen -V₂- definido.

El algoritmo de procesamiento de imágenes puede disponer las siguientes etapas:

analizar la nitidez de cada partícula puede incluir el trazado de un límite de cada partícula identificada. Se puede calcular un gradiente de intensidad para cada píxel a lo largo del límite de cada partícula a partir de, por lo menos, una imagen basada en un índice de cambio de intensidad entre píxeles vecinos, y calcular un gradiente promedio de la intensidad de todos los píxeles a lo largo del límite de cada partícula. Las partículas identificadas, por lo menos en una imagen, se pueden filtrar en base a parámetros de forma que identifican qué partículas son zooplancton que debe ser contado.

A continuación, se proporcionan más detalles de las etapas del algoritmo de procesamiento de imágenes.

1. Suavizado de la intensidad. La imagen se divide en varias partes (n x m); por ejemplo, 5x5 partes. La intensidad promedio (media o mediana) se calcula para los píxeles en cada parte y luego se ajusta hacia arriba o hacia abajo para cada parte en base a una desviación con respecto a la media de las intensidades promedio para el número de partes (n x m) (por ejemplo, 5x5 partes). El ajuste es interpolado en cada píxel para evitar gradientes pronunciados en los bordes entre las partes.

2. Suavizado de la imagen para eliminar variaciones de alta frecuencia.

3. Umbralización de la imagen para proporcionar una imagen binaria. La umbralización de la imagen se realiza a un nivel de intensidad entre un nivel de intensidad promedio de la imagen y el píxel más oscuro en la imagen, a una distancia mínima del nivel de intensidad promedio. La ponderación del nivel de intensidad promedio en comparación con el nivel más oscuro (píxel más oscuro) para encontrar el nivel umbral es ajustable dependiendo de la iluminación

del volumen fotografiado por la cámara y el zooplancton que se va a medir. La imagen binaria resultante es invertida, por lo que los píxeles más oscuros que el nivel umbral se vuelven blancos, y los píxeles restantes negros.

4. Erosión de la imagen binaria invertida para eliminar partículas pequeñas (partículas que cubren solo un pequeño número de píxeles, habitualmente de 1 a 10 píxeles en este contexto). La eliminación de estas partículas pequeñas reduce el tiempo de cálculo para el procesamiento adicional de la imagen.

5. Las partículas en la imagen binaria invertida, que son colecciones de píxeles blancos conectados, son filtradas posteriormente por tamaño. Las partículas a lo largo de los bordes de la imagen son descartadas, y las partículas restantes se analizan con respecto a la nitidez. El análisis con respecto a la nitidez se realiza siguiendo primero el límite de cada partícula. Para cada píxel a lo largo del límite de una partícula, el gradiente de intensidad se calcula a partir de la imagen original; es decir, la imagen obtenida antes del inicio del procesamiento de imágenes en la etapa 1) en función del índice de cambio de la intensidad entre los píxeles adyacentes. La nitidez de la partícula se define como el gradiente promedio de todos los píxeles a lo largo del límite de la partícula, corregido para conseguir un nivel de contraste general en la imagen original. Todas las partículas con nitidez por debajo de cierto nivel son descartadas. Esto representa un filtrado de partículas fuera del intervalo de enfoque de la lente de la cámara.

6. Las partículas restantes después de filtrar en base a la nitidez pueden ser filtradas adicionalmente utilizando parámetros de forma conocidos tales como el factor de circularidad, el alargamiento, los momentos de inercia, el área convexa y la compacidad para decidir qué partículas son de especies de zooplancton que se deben contar y cuáles son detritus u otros organismos. El algoritmo de procesamiento de imágenes descrito anteriormente resulta en una cantidad de partículas identificadas para ser contadas. Todas estas partículas identificadas se miden a continuación en la imagen procesada con respecto al tamaño en píxeles, y este tamaño en píxeles se puede convertir a continuación en una estimación aproximada del volumen para cada zooplancton.

El principio se puede utilizar potencialmente en una amplia gama de organismos planctónicos, incluidas las larvas de peces.

Ejemplos

El contador se probó en un acuario primero con una alta densidad de copépodos y, a continuación, con una baja densidad de copépodos. El burbujeo del acuario fue proporcionado para crear una circulación tranquila en el acuario. El contador fue configurado para almacenar aproximadamente 500 imágenes por hora para cada densidad, con aproximadamente 7 segundos entre cada imagen.

La figura 4 muestra un ejemplo de una imagen después del procesamiento de imágenes basado en la nitidez con dos copépodos enfocados. La figura 5 muestra el resultado después del procesamiento de imágenes en base a la nitidez con copépodos individuales en diferentes grados de enfoque. Solo se cuentan los copépodos con suficiente nitidez y los copépodos restantes son filtrados. En la figura 5, solo uno de los copépodos, el que está en la esquina superior, es lo suficientemente nítido para ser contado. El umbral para una nitidez suficiente es establecido de antemano para la cámara y la configuración de iluminación en función de la inspección visual de las imágenes.

En la figura 6 se proporciona un ejemplo de recuento de densidad en momentos determinados, en el que se obtiene una imagen aproximadamente cada dos minutos. Se contó el número de copépodos individuales por imagen en la prueba y se estimó la densidad de copépodos. La densidad de copépodos se representa como una función del tiempo. Los números para la densidad de copépodos en la figura 6 son números no calibrados, pero las variaciones relativas entre los números son correctas. La calibración del contador se puede realizar comparando con recuentos manuales de copépodos. La línea perpendicular indica el tiempo en que se redujo la densidad de copépodos. El número de copépodos contados por el contador y, por lo tanto, la densidad de copépodos estimada, sigue la reducción de la densidad.

La figura 7 muestra un ejemplo en el que se utilizaron dos diodos emisores de luz. La imagen muestra de 4 a 5 copépodos individuales en diferentes grados de enfoque; es decir, algunos copépodos están enfocados mientras que otros están menos enfocados. Se determina la nitidez para cada uno de los cuatro individuos. El individuo más cercano al centro de la imagen y el que está arriba y a la derecha del centro tienen suficiente nitidez para ser contados. Las pruebas muestran que se consigue un buen contraste con la utilización de dos diodos emisores de luz. Preferentemente, el tiempo de obturación de la cámara debe ser lo más bajo posible (aproximadamente 6,7 ms), proporcionando una buena nitidez cuando existe un cierto movimiento de los copépodos en el volumen a fotografiar.

Habiendo descrito las realizaciones preferentes de la invención, será evidente para los expertos en la técnica que se pueden utilizar otras realizaciones que incorporan los conceptos. Estos y otros ejemplos de la invención mostrados anteriormente están destinados solamente a modo de ejemplo y el alcance real de la invención se determinará a partir de las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la medición de la densidad de zooplancton in situ en una solución acuosa, comprendiendo el procedimiento:
- 5
- obtener, por lo menos, una imagen de un volumen V de la solución acuosa;
 - procesar, por lo menos, una imagen, e identificar partículas en la imagen;
- 10
- analizar las partículas identificadas en función de la nitidez de cada partícula, e
 - identificar el zooplancton que se va a contar; en el que analizar la nitidez de cada partícula comprende, además:
- 15
- trazar un límite de cada partícula identificada,
 - calcular un gradiente de la intensidad para cada píxel a lo largo del límite de cada partícula a partir de, por lo menos, una imagen, en base a un índice de cambio de la intensidad entre píxeles vecinos, y **caracterizado por**
 - calcular un gradiente promedio de la intensidad de todos los píxeles a lo largo del límite de cada partícula.
- 20
2. Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que analizar la nitidez de cada partícula comprende, además, corregir el gradiente promedio de la intensidad para un nivel de contraste general en, por lo menos, una imagen.
3. Procedimiento, según las reivindicaciones 1 o 2, que comprende, además, filtrar las partículas identificadas en, por lo menos, una imagen en base a los parámetros de forma que identifican qué partículas son zooplancton que se debe contar.
- 25
4. Procedimiento, según una de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende, además, controlar un dispositivo de iluminación para la iluminación del volumen de la solución acuosa en interacción con la obtención y el procesamiento de la imagen.
- 30
5. Sistema para la medición de la densidad de zooplancton (11) in situ en una solución acuosa, que comprende:
- 35
- un dispositivo de toma de imágenes (12) para obtener, por lo menos, una imagen de un volumen V de la solución acuosa;
 - una placa (14) dispuesta a una cierta distancia del dispositivo de toma de imágenes (12), definiendo la distancia y un ángulo de visión del dispositivo de toma de imágenes el volumen V de la solución acuosa captado por el dispositivo de toma de imágenes (12); y
- 40
- un dispositivo de procesamiento de imágenes que realiza el procesamiento de imágenes de, por lo menos, una imagen del dispositivo de toma de imágenes identificando las partículas en la imagen, analizando las partículas identificadas en base a la nitidez de cada partícula e identificando el zooplancton que se debe contar;
- 45
- en el que el análisis de la nitidez de cada partícula comprende, además:
- trazar un límite de cada partícula identificada,
 - calcular un gradiente de la intensidad para cada píxel a lo largo del límite de cada partícula a partir de, por lo menos, una imagen, en base a un índice de cambio de la intensidad entre píxeles vecinos, y
 - calcular un gradiente promedio de la intensidad de todos los píxeles a lo largo del límite de cada partícula.
- 50
6. Sistema, según la reivindicación 5, en el que el dispositivo de toma de imágenes comprende un cuerpo envolvente (13) de cámara que incluye, por lo menos, una cámara digital.
- 55
7. Sistema, según la reivindicación 5 o 6, que comprende, además, por lo menos, un dispositivo de iluminación (16) que ilumina el volumen de la solución acuosa.
- 60
8. Sistema, según una de las reivindicaciones 5 a 7, que comprende, además, un controlador que controla el dispositivo de toma de imágenes (12) y el dispositivo de iluminación (16) en base a la retroalimentación desde el dispositivo de procesamiento de imágenes.
- 65
9. Utilización del sistema, según una de las reivindicaciones 5 a 8, para establecer una densidad de copépodos de zooplancton (11) en una solución acuosa.

ES 2 660 064 T3

10. Utilización del sistema, según una de las reivindicaciones 5 a 8, para controlar la distribución de alimento a los copépodos en una instalación automatizada de producción de huevos de zooplancton.
- 5 11. Utilización del procedimiento, según una de las reivindicaciones 1 a 4, para establecer una densidad de zooplancton (11) en una solución acuosa.
12. Utilización del procedimiento, según una de las reivindicaciones 1 a 4, para controlar la distribución de alimento al zooplancton en una instalación automatizada de producción de huevos de copépodos.
- 10 13. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, en la que el zooplancton está formado por copépodos.
14. Programa informático adaptado para ser ejecutado en un ordenador que comprende un procesador y un medio de almacenamiento legible, para llevar a cabo el procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 4.
- 15 15. Producto de programa informático que tiene almacenadas en el mismo instrucciones para llevar a cabo el procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 4.

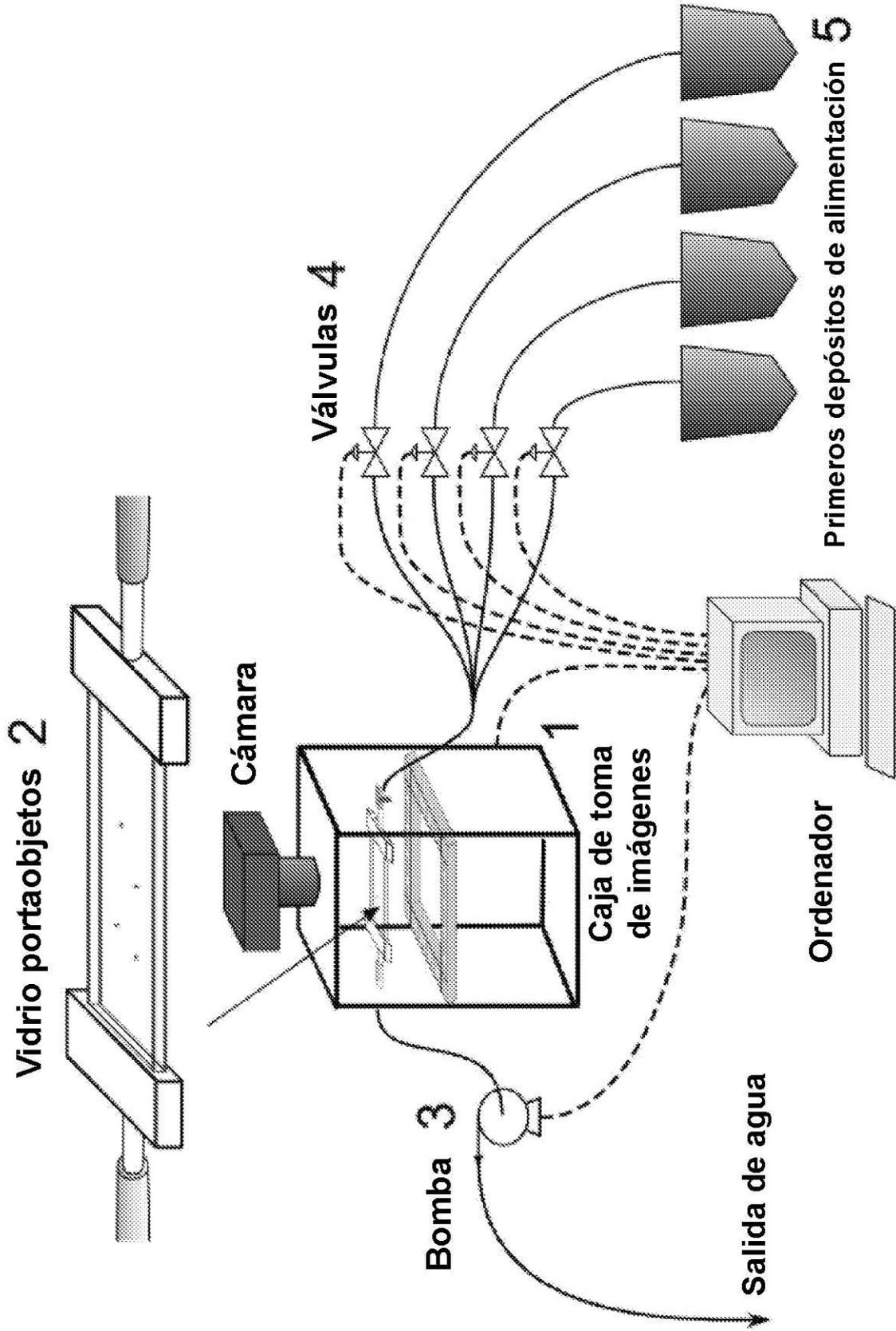


Fig. 1

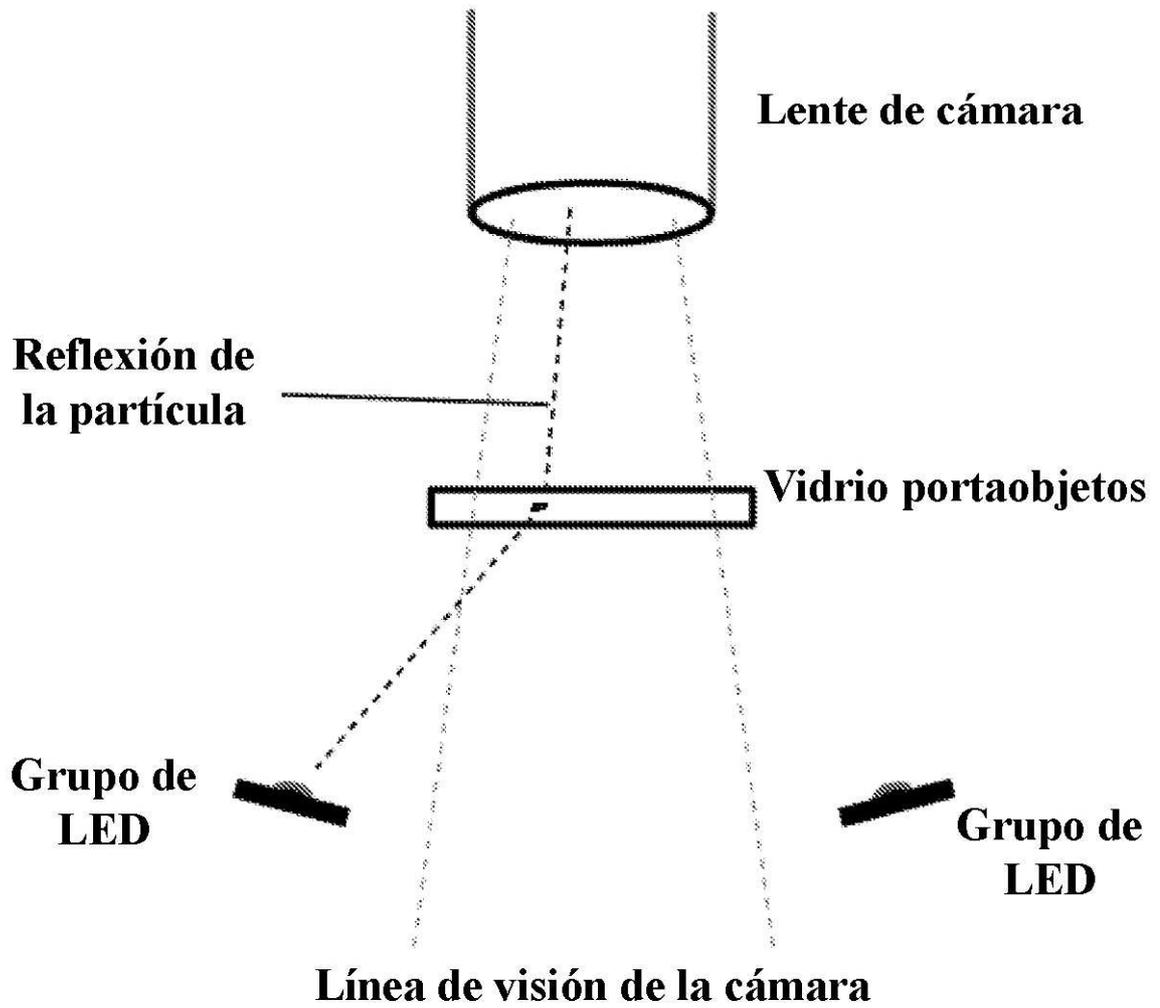


Fig. 2

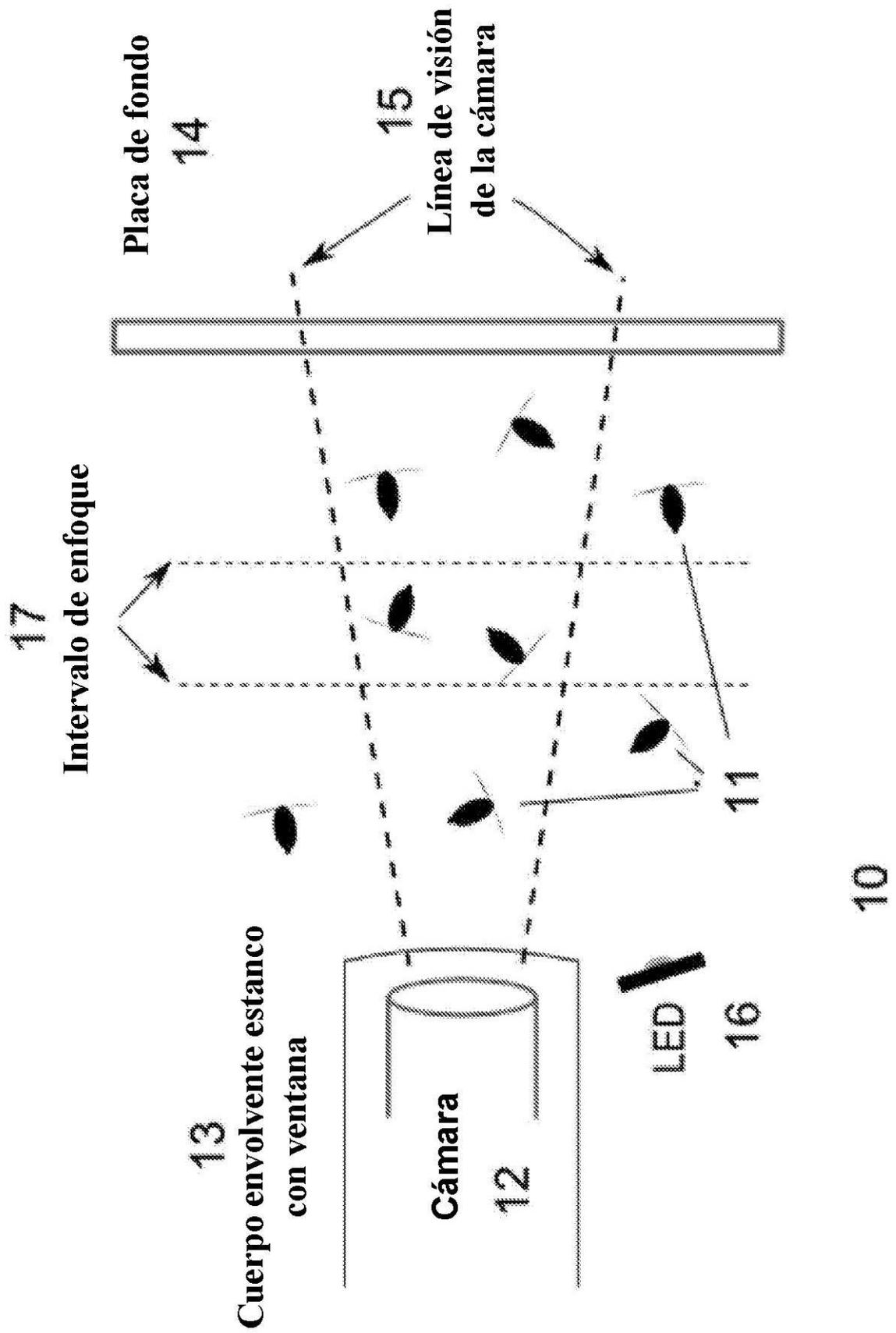


Fig.3a

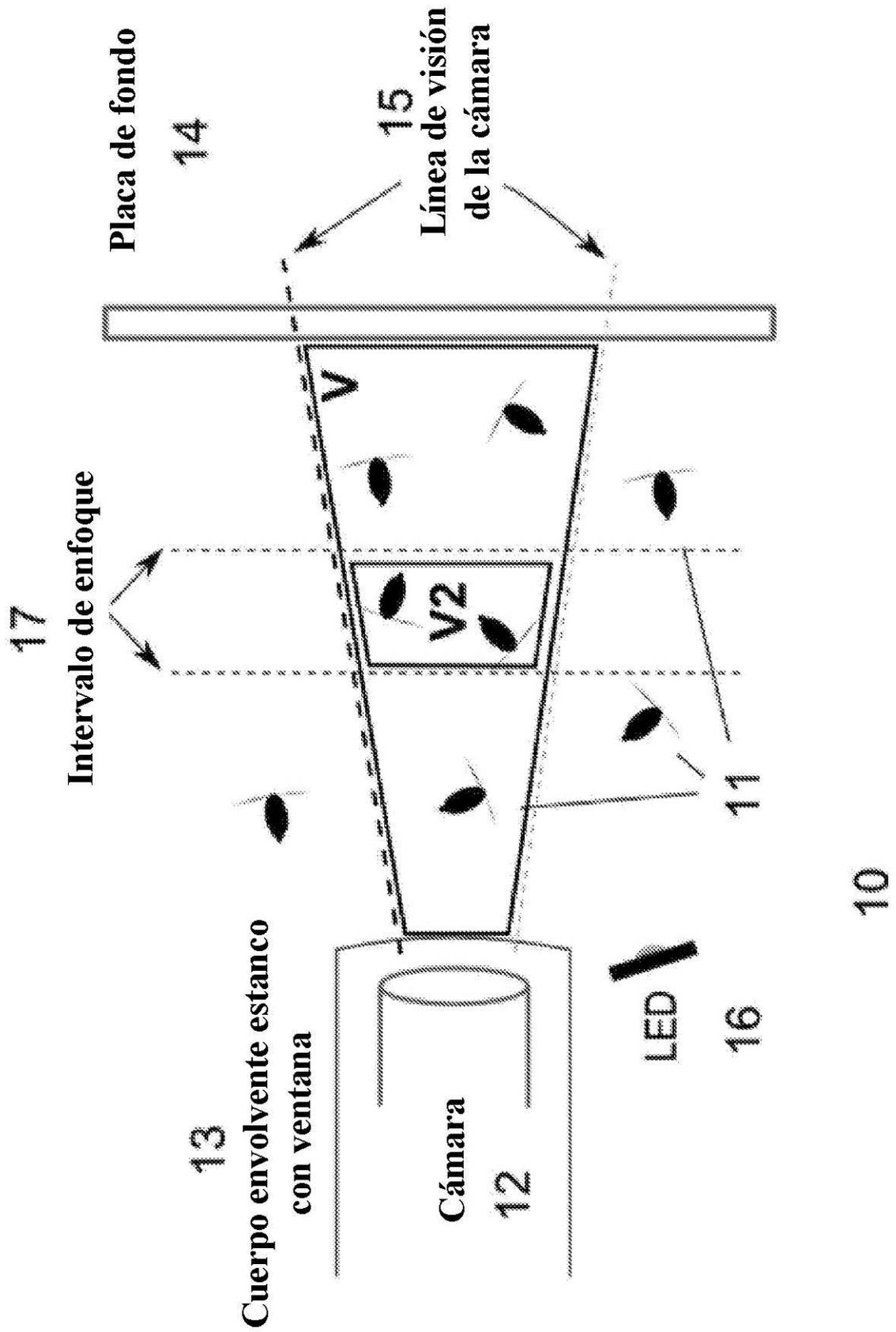


Fig. 3b

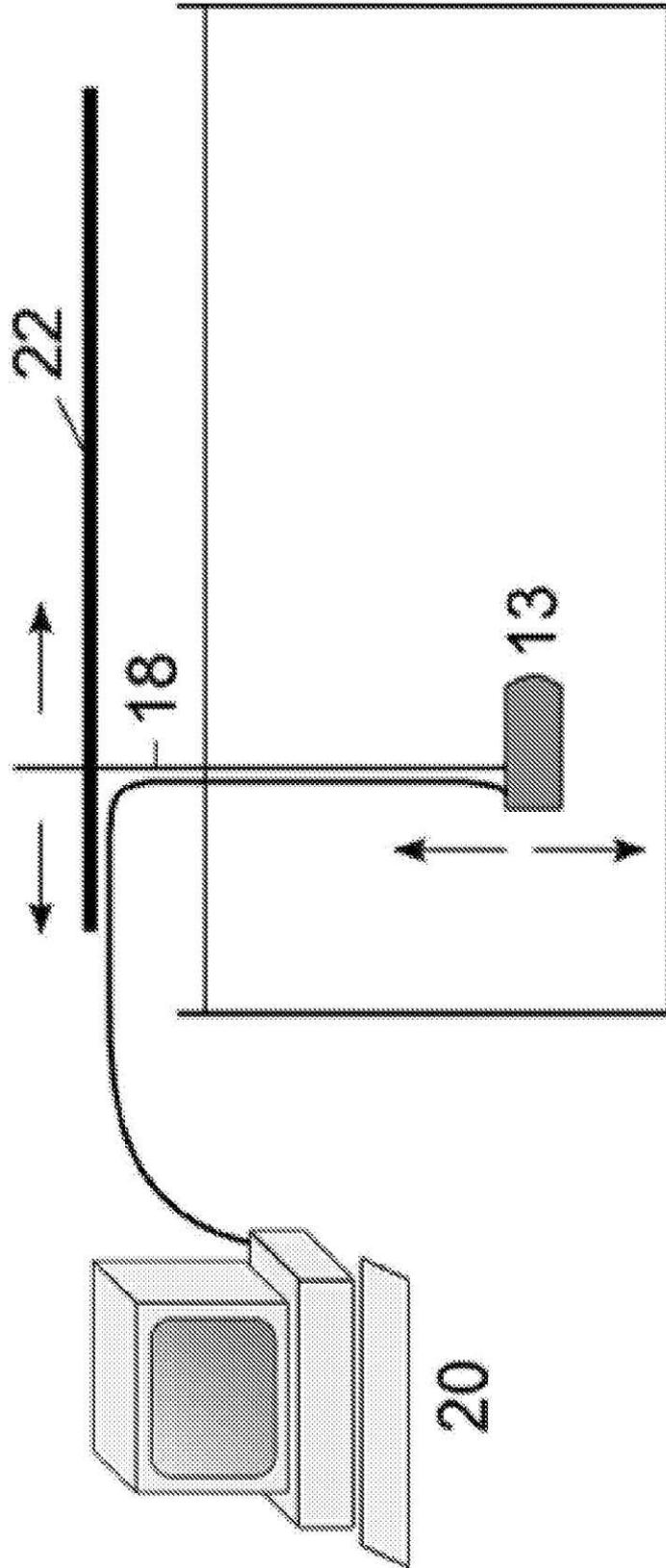


Fig. 3c



Fig. 4

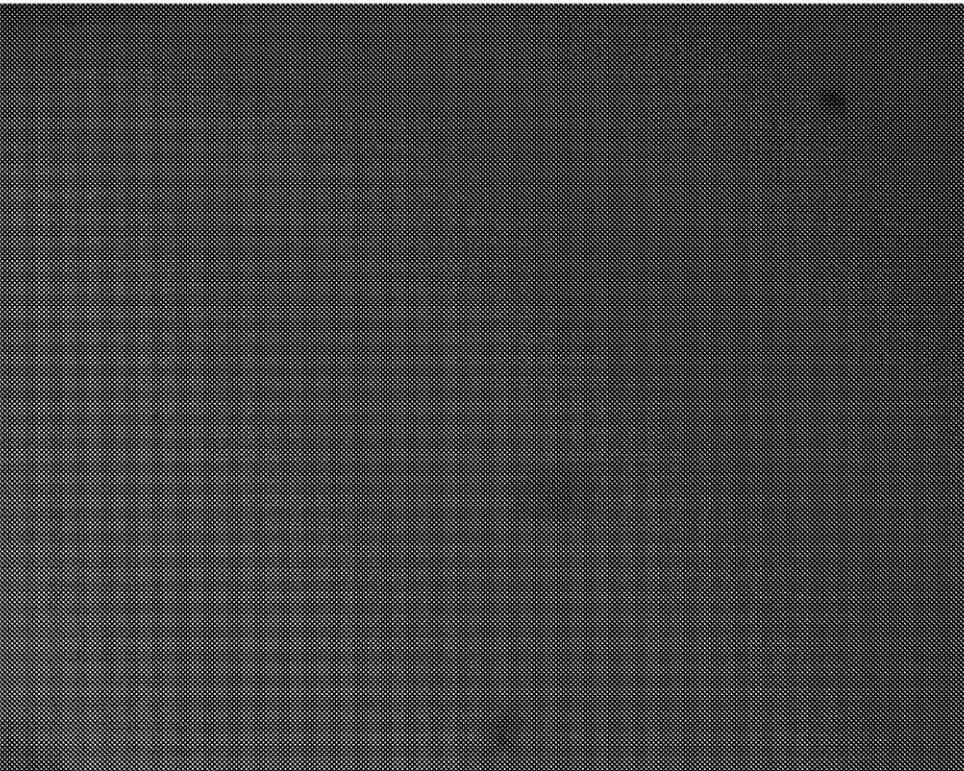


Fig. 5

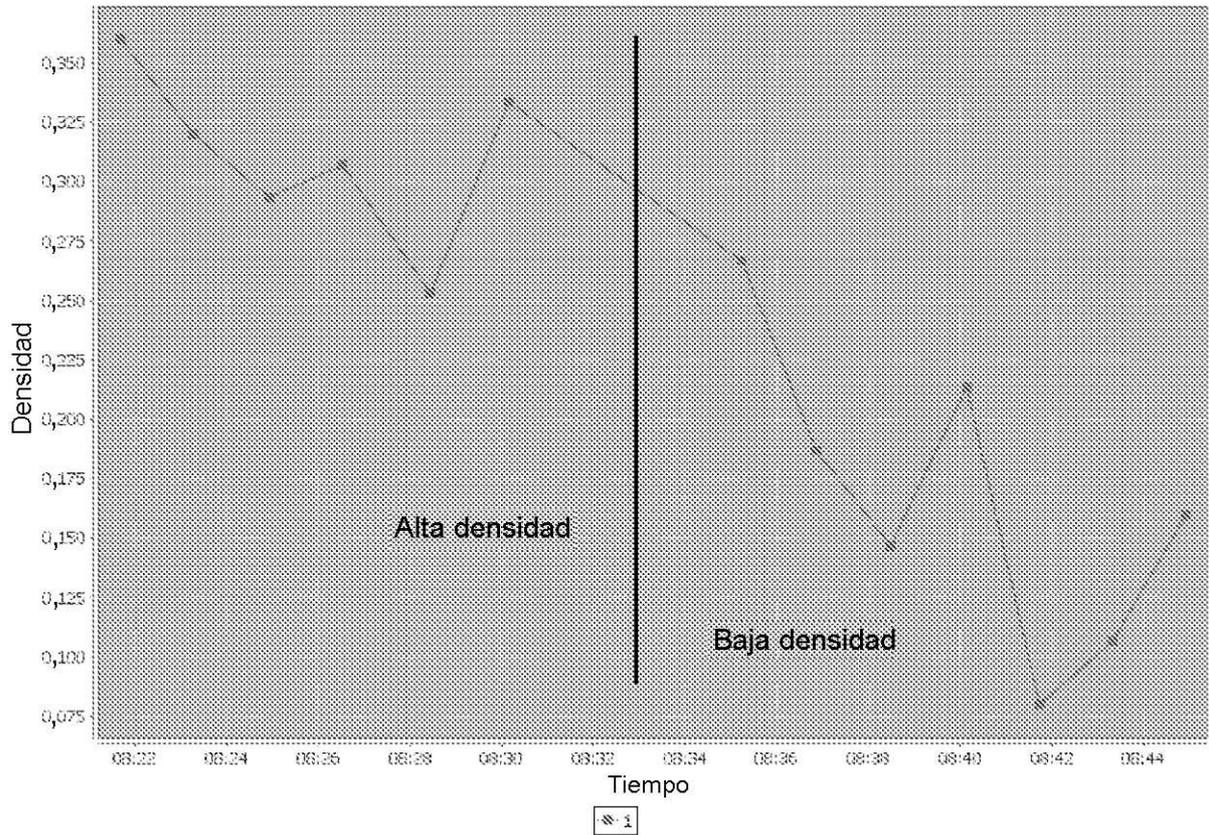


Fig. 6



Fig. 7