

Ensayos

Corrección de Iluminación no uniforme en imágenes microscópicas

Resumen

Este documento presenta una técnica para corregir la iluminación no uniforme en imágenes microscópicas, mediante la modificación del modelo radial (función de ajuste), éste genera una imagen de fondo y con ello se lleva a cabo la corrección; además proporciona mejores resultados al compararlo con un modelo cartesiano, el primer modelo reduce considerablemente el margen de error estándar, ya que se obtiene un rango de 29.19 a 48.5 y para el modelo cartesiano es de 46.84 a 14481.64. Es importante realizar esta corrección ya que la uniformidad de la iluminación facilitará la segmentación de los objetos contenidos en la imagen (células, agentes contaminantes, entre otros) y posteriormente contabilizarlos.

Abstract

This paper presents a technique for correcting uneven illumination in microscopic images through the modification of the radial model (adjustment function). A background image is generated by which the correction can be made. This model additionally provides better results compared to the cartesian mode. The former considerably reduces the standard margin of error, given that it yields a range of 29.19 to 48.5, whereas the cartesian model yields from 46.84 to 14481.64. Making this correction is important because uniform illumination allows for the segmentation and tracking of the objects contained in the image (cells, contaminating agents, etc.).

Résumé

Cet article présente une technique pour corriger l'éclairage non uniforme en images microscopiques en utilisant le modèle radial (fonction d'ajustement). Ce modèle génère une image d'arrière-plan grâce à laquelle la correction est faite. En plus, il donne de meilleurs résultats que le modèle cartésien, il réduit considérablement la marge d'erreur standard : l'erreur-type est de 29,19 à 48,5 pour la fonction radiale et de 46,84 à 14481,64 pour le modèle cartésien. Il est important de réaliser cette correction car l'uniformité de l'illumination facilitera la segmentation des objets contenus sur l'image (cellules, agents polluants, etc) et ensuite on pourra les compter.

Sabino Moxo Beatriz A.¹, Márquez Domínguez J. Alberto¹ y Manuel I. Martín Ortiz²

Palabras clave: Procesamiento Digital de Imágenes, Modelos Cartesiano y Radial.

¹Universidad de la Cañada, carretera Teotitlán-San Antonio Nanahuatipán Km 1.7 s/n Paraje Titlacuati tla, Teotitlán de Flores Magón, Oaxaca, México.

²Facultad de Ciencias de la Computación, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.

{beatriz_sabino, albertomarquez}@unca.edu.mx, mmartin@solarium.cs.buap.mx

1. Introducción

Dada la diversidad de tipos de imágenes y fuentes de captura de éstas, existen criterios que determinan su análisis y procesamiento, uno de éstos es la necesidad de uniformidad global, que implica tener los mismos valores de brillo y color, en consecuencia, la iluminación debe ser uniforme y estable para las imágenes adquiridas en diferentes momentos. Es posible realizar correcciones para establecer la uniformidad, sin embargo se requiere de extenso cálculo y conocimiento previo de la superficie y la fuente de iluminación (Russ, 2002).

La Figura 1 muestra un ejemplo de una imagen de microscopio con iluminación no uniforme, el fondo es capturado bajo las mismas condiciones (Figura 2), para la corrección, se resta la imagen de fondo a la original y se obtiene una imagen con valores de brillo uniforme (Figura 3).

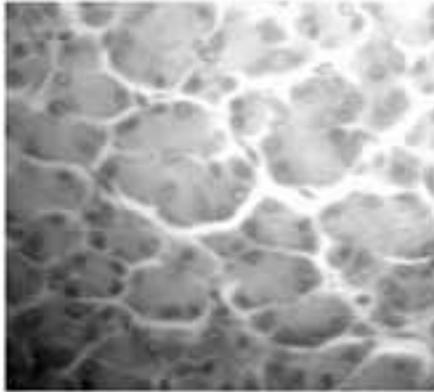


FIGURA 1: IMAGEN DE MICROSCOPIO CON ILUMINACIÓN NO UNIFORME, TOMADA DE RUSS (2002).



FIGURA 2: FONDO DE LA IMAGEN DE LA FIGURA ANTERIOR, TOMADA DE RUSS (2002).

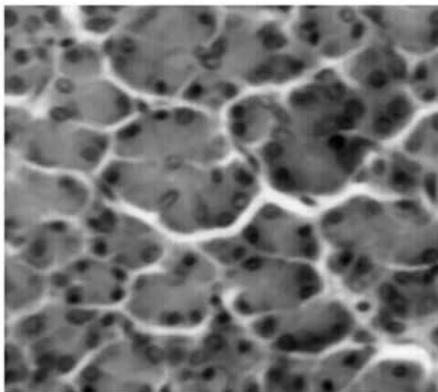


FIGURA 3: IMAGEN DE MICROSCOPIO CON ILUMINACIÓN UNIFORME, TOMADA DE RUSS (2002).

En (Sabino, 2006) se presenta un procedimiento para la corrección de iluminación, sin embargo para utilizarlo se requieren dos imágenes como entrada, mismas que demandan una forma de captura para obtener la resultante. En este trabajo se propone facilitar la corrección de imágenes microscópicas tomando como entrada una imagen y generar otra como salida.

La propuesta para la corrección que se describe en este documento se adapta a la forma en cómo el biólogo analiza las imágenes microscópicas, por lo que no es necesario capturar más de una imagen, si no con la misma se construye la imagen de fondo y se lleva a cabo la corrección. Esto se debe a que en algunas ocasiones se utilizan microscopios digitales, en donde la iluminación no es uniforme (Figura 4) o bien se desconoce la fuente de captura de dichas imágenes.

Para medir la uniformidad de la iluminación se utilizará el histograma de la imagen, debido a que si una imagen tiene un fondo uniforme (Figuras 5 y 6) tendrá mayor frecuencia en ciertos niveles de intensidad.



FIGURA 4: MICROSCOPIO DIGITAL PARA CAPTURAR IMÁGENES.



FIGURA 5: FONDO UNIFORME.

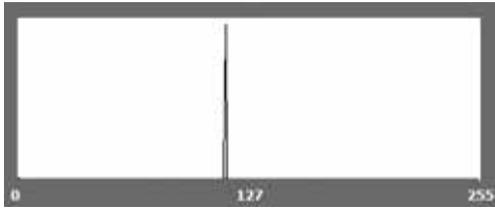


FIGURA 6: REPRESENTACIÓN DE UN HISTOGRAMA DE IMAGEN CON FONDO UNIFORME.

Cabe resaltar que es importante realizar la corrección, ya que la uniformidad de la iluminación facilitará la segmentación de células, hongos, bacilos, cocos, entre otros, contenidos en las imágenes microscópicas.

El documento presenta la descripción del modelo cartesiano, en donde se describe la función de fondo para modelar el comportamiento de la no uniformidad mediante un polinomio de segundo orden; el modelo radial, que especifica la función propuesta; así como la implementación de la corrección, que detalla el procedimiento realizado en esta fase y finalmente las pruebas y resultados obtenidos.

2. Modelo cartesiano

Una alternativa para el cálculo de la función de fondo propuesta en Russ (2002), consiste en un ajuste polinomial, en este caso, un polinomio de segundo orden con seis coeficientes:

$$f(x,y) = a_0 + a_1x + a_2y + a_3x^2 + a_4y^2 + a_5xy \quad (1)$$

Para obtener los valores de los coeficientes de la función anterior se utilizó el Método de Mínimos Cuadrados (MMC), con ello se construyó una matriz de ecuaciones tomando un conjunto de N puntos en la imagen:

$$\begin{bmatrix} N & \sum x_i & \sum y_i & \sum x_i^2 & \sum y_i^2 & \sum x_i y_i & \sum z_i \\ \sum x_i & \sum x_i^2 & \sum x_i y_i & \sum x_i^3 & \sum x_i y_i^2 & \sum x_i^2 y_i & \sum x_i z_i \\ \sum y_i & \sum x_i y_i & \sum y_i^2 & \sum x_i y_i^2 & \sum y_i^3 & \sum x_i y_i^2 & \sum y_i z_i \\ \sum x_i^2 & \sum x_i^3 & \sum x_i^2 y_i & \sum x_i^4 & \sum x_i^2 y_i^2 & \sum x_i^3 y_i & \sum x_i^2 z_i \\ \sum y_i^2 & \sum x_i y_i^2 & \sum y_i^3 & \sum x_i^2 y_i^2 & \sum y_i^4 & \sum x_i y_i^3 & \sum y_i^2 z_i \\ \sum x_i y_i & \sum x_i^2 y_i & \sum x_i y_i^2 & \sum x_i^3 y_i & \sum x_i y_i^3 & \sum x_i^2 y_i^2 & \sum x_i y_i z_i \end{bmatrix}$$

Donde:

N : número de puntos para realizar el ajuste.

x_i : posición del i -ésimo punto en la coordenada X .

y_i : posición del i -ésimo punto en la coordenada Y .

z_i : es el nivel de intensidad en las coordenadas x_i, y_i

Los puntos utilizados para el ajuste fueron obtenidos dividiendo a la imagen en pequeñas celdas y de cada una se tomó el punto más claro o más oscuro. La función (1) generó una imagen con el comportamiento que se muestra en la Figura 7.

Además de la función polinómica se propuso otra alternativa para generar la imagen de fondo y hacer la corrección en las imágenes de estudio, el modelo radial.

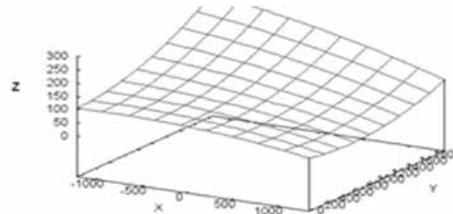


FIGURA 7: MODELO CARTESIANO.

3. Modelo radial

Este modelo permite construir una imagen con un comportamiento radial (Sabino, 2006), debido a ello puede adecuarse a la corrección de imágenes microscópicas.

$$g(x,y) = a_0 + a_1R + a_2R^2 + a_3R^3 + a_4R^4 + a_5R^5 \quad (2)$$

$$R = x^2 + y^2 \quad (3)$$

De la misma manera que en caso anterior, para obtener los coeficientes de la función se utilizó MMC y la siguiente matriz:

$$\begin{bmatrix} N & \sum R_i & \sum R_i^2 & \sum R_i^3 & \sum R_i^4 & \sum R_i^5 & \sum z_i \\ \sum R_i & \sum R_i^2 & \sum R_i^3 & \sum R_i^4 & \sum R_i^5 & \sum R_i^6 & \sum R_i z_i \\ \sum R_i^2 & \sum R_i^3 & \sum R_i^4 & \sum R_i^5 & \sum R_i^6 & \sum R_i^7 & \sum R_i^2 z_i \\ \sum R_i^3 & \sum R_i^4 & \sum R_i^5 & \sum R_i^6 & \sum R_i^7 & \sum R_i^8 & \sum R_i^3 z_i \\ \sum R_i^4 & \sum R_i^5 & \sum R_i^6 & \sum R_i^7 & \sum R_i^8 & \sum R_i^9 & \sum R_i^4 z_i \\ \sum R_i^5 & \sum R_i^6 & \sum R_i^7 & \sum R_i^8 & \sum R_i^9 & \sum R_i^{10} & \sum R_i^5 z_i \end{bmatrix}$$

Donde:

N : número de puntos para realizar el ajuste.

z_i : es el nivel de intensidad en las coordenadas x_i, y_i

R_i : es el resultado de la operación $x_i^2 + y_i^2$ de i -ésimo punto.

Las funciones (2) y (3) generan una imagen (Figura 8).

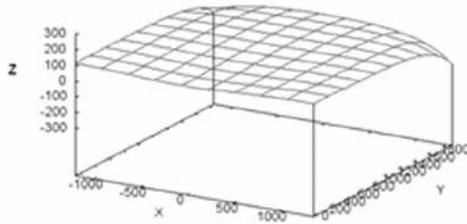


FIGURA 8: MODELO RADIAL.

En la siguiente sección se describe el procedimiento para corregir la no uniformidad de iluminación, utilizando la imagen generada.

4. Corrección de iluminación

Para la corrección en las imágenes se establece un procedimiento general, que consiste en los siguientes pasos:

- Conversión de la imagen original a escala de grises.
- Generar la imagen de fondo.
- Corrección de la imagen microscópica.
- Expansión del histograma.

Conversión de la imagen original a escala de grises. En este paso se promedian los tres canales *R*, *G* y *B* de la imagen original y se asignan el valor resultante al pixel correspondiente.

Generar la imagen de fondo. Se obtuvo una muestra de puntos de la imagen, para no hacerlo aleatoriamente y tener un mejor ajuste se lleva a cabo una división de celdas (Sabino 2006), de cada una se localiza el punto más claro o bien el más oscuro como lo recomienda Russ (2002) y finalmente se construye la función de ajuste.

Corrección de la imagen microscópica. Para este paso, se realiza la diferencia de los valores de la imagen original y la función de ajuste.

Expansión del histograma. En esta fase la imagen resultante puede estar en bajo contraste, por ello se aplica la transformación del histograma para modificar el brillo y contraste (Pajares *et al.* 2004). La función para expandir los niveles de gris de un histograma se puede definir de la siguiente manera:

$$h(i,j) = \left[\frac{I(i,j) - I(i,j)_{MIN}}{I(i,j)_{MAX} - I(i,j)_{MIN}} \right]_{[MAX - MAX]} \quad (4)$$

Donde $I(i,j)$ es el nivel de gris de la imagen de entrada; $I(i,j)_{MAX}$ es el mayor valor del nivel de gris en la imagen y $I(i,j)_{MIN}$ es el menor valor del nivel de gris en la

imagen de entrada I ; MAX y MIN corresponden al máximo y mínimo valores posibles de los niveles de gris.

La ecuación (4), toma una imagen de entrada I y expande el histograma a lo largo del rango de valores completo de los niveles de gris para incrementar el contraste (Figura 9). Si se desea que la expansión no cubra el rango total de niveles de gris, se pueden especificar los valores para MAX y MIN .

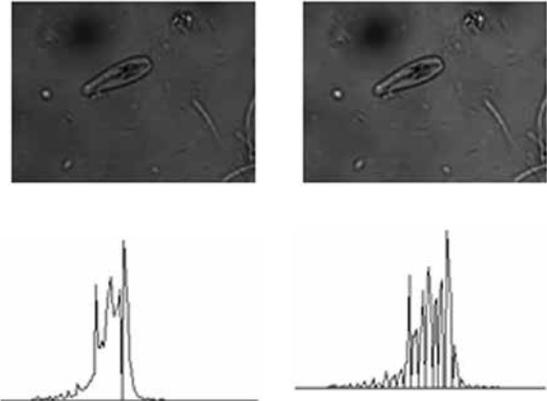


FIGURA 9: IZQUIERDA, HISTOGRAMA DE IMAGEN ORIGINAL Y DERECHA EXPANSIÓN DEL HISTOGRAMA.

En el siguiente apartado se muestran las pruebas realizadas utilizando diferentes tipos de levadura y los resultados obtenidos comparando el modelo cartesiano y radial.

5. Pruebas y resultados

A continuación se muestra una serie de casos de prueba para la evaluación de los modelos, en todos se tomaron 40,000 puntos para realizar el ajuste y obtener los coeficientes de las funciones (ver Apéndice), el número de puntos puede variar dependiendo del tamaño de la imagen, para estas pruebas se manejó de 800x600, de esta manera se trabajó con una muestra aproximadamente del 12% puntos con respecto a toda la imagen, si las imágenes son de mayor o menor tamaño debe considerarse un número de puntos diferente.

Para determinar cuál es la mejor función de ajuste se calculó la varianza residual (5) y el error estándar (6), ya que son indicadores que miden el grado de acoplamiento que existe entre los datos originales y los valores teóricos que se obtienen de la regresión (Villafranca, 2005). El error estándar determina el tipo de modelo a utilizar para la corrección.

$$S_r^2(x/y) = \frac{\sum_{i=1}^N e_i^2}{N} = \frac{\sum_{i=1}^N (e_i - \bar{e})^2}{N} \quad (5)$$

La variable e (residuo) es la diferencia entre el valor real y el valor teórico de la regresión. Para obtener el error estándar se obtiene la raíz cuadrada de la varianza residual (Martínez, 2006).

$$S_r(x/y) = \sqrt{S_{r(x/y)}^2} \quad (6)$$

El resultado de la varianza residual será una cantidad mayor o igual que cero. De forma que cuanto más baja sea, mejor será el grado de ajuste y por consecuencia lo mismo sucederá con el error estándar.

A continuación se muestran cuatro casos de imágenes microscópicas con iluminación no uniforme, presentando los siguientes: imagen original, histograma, funciones de ajuste y el error estándar.

La notación utilizada para identificar los tipos de modelos son:

Cc: Modelo Cartesiano con puntos más claros.

Co: Modelo Cartesiano con puntos más oscuros.

Rc: Modelo Radial con puntos más claros.

Ro: Modelo Radial con puntos más oscuros

Las muestras de cepas de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* con las que se trabajó fueron las siguientes: una para la producción de Etanol, otra para el uso en la panificación y por último una muestra de pulque obtenida de la Región de la Cañada Oaxaqueña.

Caso A: Muestra 1 de levadura comercial usada en la panificación.

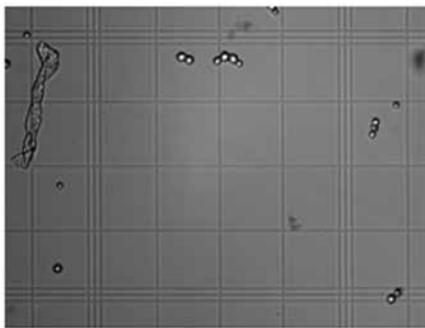


FIGURA 10: IMAGEN DE LA MUESTRA DE LEVADURA COMERCIAL USADA EN LA PANIFICACIÓN.

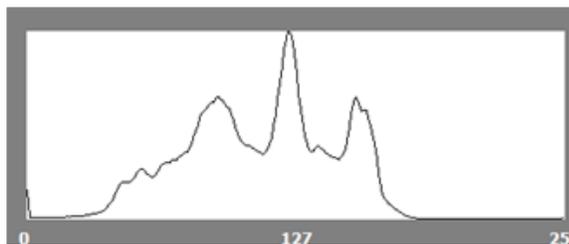


FIGURA 11: HISTOGRAMA DE LA IMAGEN DEL CASO A.

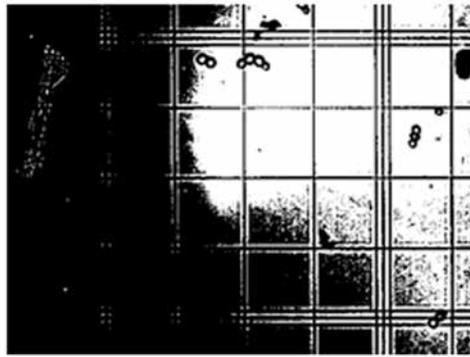


FIGURA 12: BINARIZACIÓN DE LA IMAGEN QUE INDICA LA NO UNIFORMIDAD DE LA MUESTRA.

Como se observa en el histograma y en la imagen de la levadura comercial usada en la panificación (Figuras 10 y 11), el nivel de gris que aparece con mayor frecuencia está cerca de la mediana (valor 127), además existe mayor frecuencia de los tonos oscuros, con respecto a los tonos claros que pertenecen a la zona donde hay mayor iluminación como puede notarse al realizar una binarización sobre la misma (Figura 12).

Realizando los ajustes para obtener el modelo cartesiano y radial (Figuras 13 y 14), se percibe que el segundo describe mejor el comportamiento de la imagen de análisis ya que el primero tiene variaciones por debajo del tono 0, siendo este valor mínimo de color.

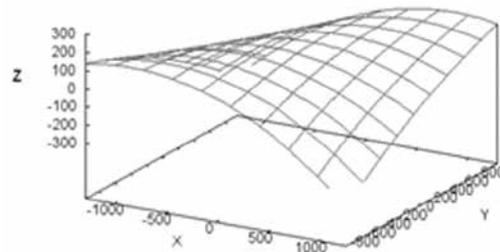


FIGURA 13: MODELO CARTESIANO DEL CASO A CON CO.

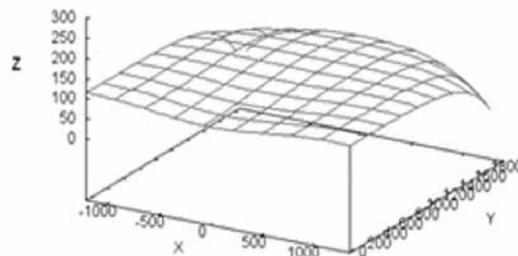


FIGURA 14: MODELO RADIAL DEL CASO A CON RC.

La Tabla 1 muestra los valores del error estándar calculados para cada tipo de función de ajuste, notando que la mejor aproximación fue la radial con puntos más claros.

Modelo	Error Estándar
Cc	74.1644634
Co	14481.6384
Rc	29.1871998
Ro	29.6906291

TABLA 1: VALORES DEL ERROR ESTÁNDAR PARA EL CASO A.

Con la mejor función de ajuste se llevó a cabo la corrección dando como resultado la imagen de la Figura 15, en su histograma se observa que los valores están alrededor de la mediana, también se distingue menor frecuencia de los tonos oscuros y claros (Figura 16) a comparación del histograma original (Figura 11).

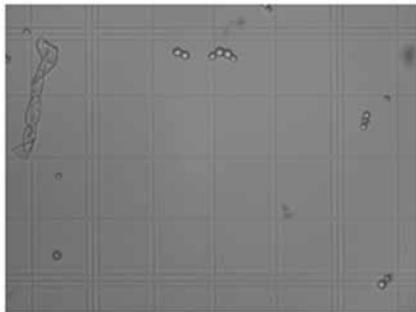


FIGURA 15: IMAGEN CORREGIDA DEL CASO A.

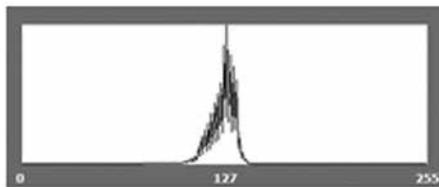


FIGURA 16: HISTOGRAMA DE LA IMAGEN CORREGIDA.

Caso B: Muestra de levadura en la producción de Etanol.

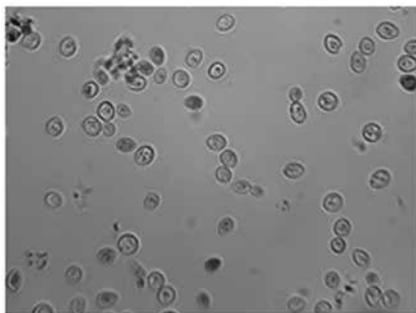


FIGURA 17: IMAGEN DE LA MUESTRA DE LEVADURA EN LA PRODUCCIÓN DE ETANOL.

En el histograma del caso B (Figuras 17 y 18) la frecuencia máxima se establece también alrededor de la mediana, dando lugar a que la imagen sea de alto contraste, debido a que prevalecen los tonos claros. El fondo es casi uniforme, por lo que la función de ajuste debe tener ligeras variaciones entre tonos claros y oscuros.

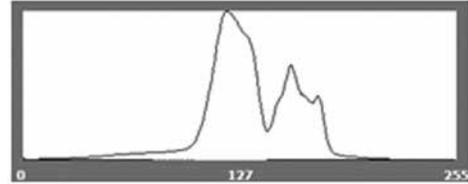


FIGURA 18: HISTOGRAMA DE LA IMAGEN DEL CASO B.

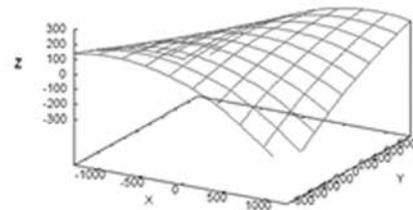


FIGURA 19: MODELO CARTESIANO DEL CASO B CON CC.

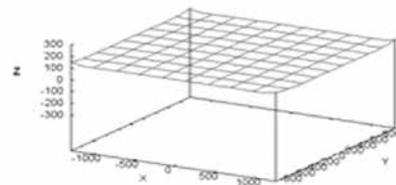


FIGURA 20: MODELO RADIAL DEL CASO B CON RC.

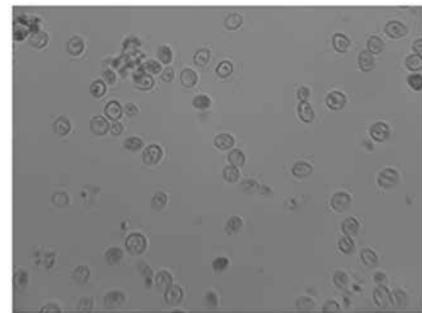


FIGURA 21: IMAGEN CORREGIDA DEL CASO B.

El modelo cartesiano calculado presenta también variaciones por debajo del tono 0, por lo que no es un ajuste adecuado, asimismo el histograma muestra que la mayoría de los tonos de la imagen son claros (Figuras 19 y 20).

Modelo	Error Estándar
Cc	316.944145
Co	316.944145
Rc	32.5716521
Ro	32.5716521

TABLA 2: VALORES DEL ERROR ESTÁNDAR PARA EL CASO B.

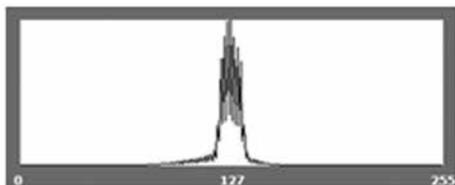


FIGURA 22: HISTOGRAMA DE LA IMAGEN CORREGIDA CON RC.

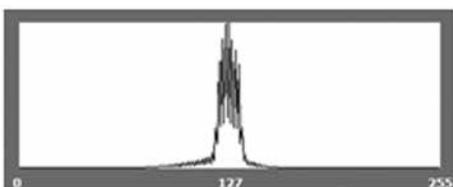


FIGURA 23: HISTOGRAMA DE LA IMAGEN CORREGIDA RO.

La Figura 21 muestra la corrección realizada con el modelo Rc , tanto Rc como Ro tuvieron el mismo error estándar (Tabla 2), en los histogramas de las figuras 22 y 23 se observa que la imagen corregida resultante es similar, en este caso cualquiera de los modelos radiales corrige la no uniformidad de la iluminación.

Caso C: Muestra de pulque de la región de la Cañada.

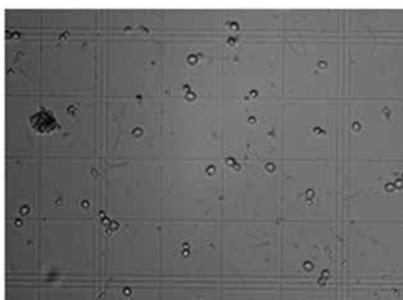


FIGURA 24: IMAGEN DE LA MUESTRA DE PULQUE DE LA REGIÓN DE LA CAÑADA.

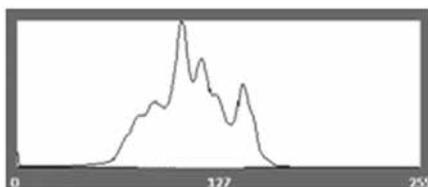


FIGURA 25: HISTOGRAMA DE LA IMAGEN DEL CASO C.

El histograma de la muestra (Figura 24) se observa que la mayoría de los tonos están por debajo de la mediana (Figura 25). Aplicando las funciones de ajuste se obtienen las siguientes gráficas (Figuras 26 y 27).

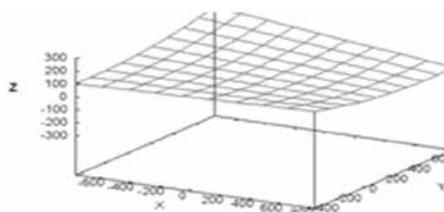


FIGURA 26: MODELO CARTESIANO DEL CASO C.

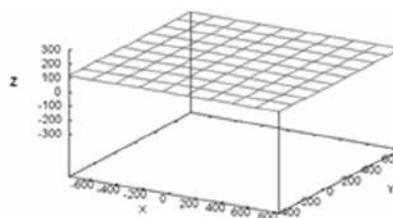


FIGURA 27: MODELO RADIAL DEL CASO C.

Modelo	Error Estandar
Cc	72.2502029
Co	72.2502029
Rc	48.4983693
Ro	48.4983693

TABLA 3: VALORES DEL ERROR ESTÁNDAR PARA EL CASO C.

En este caso, tanto el modelo Rc como el Ro proporcionan menor error estándar de acuerdo a la Tabla 3, por lo que al hacer la corrección aportaron la misma solución (Figuras 28 - 30).

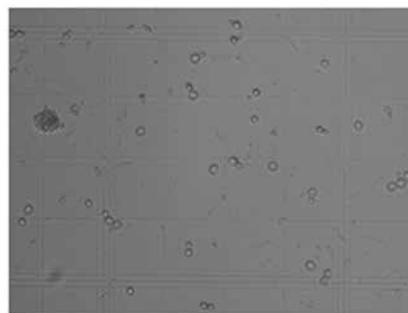


FIGURA 28: IMAGEN CORREGIDA DEL CASO C.

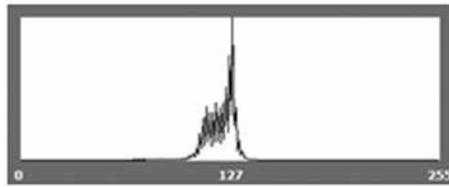


FIGURA 29: HISTOGRAMA DE LA IMAGEN CORREGIDA CON RC.

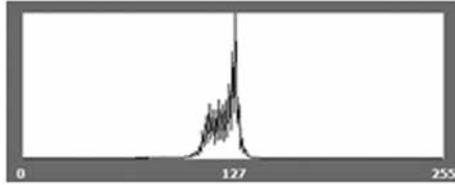


FIGURA 30: HISTOGRAMA DE LA IMAGEN CORREGIDA CON RO.

Caso D: Muestra 2 de levadura comercial usada en la panificación.

El histograma del caso D muestra que hay una frecuencia mayor de los tonos oscuros (Figuras 31 y 32).

Aplicando las funciones de ajuste se obtienen las Figuras 33 y 34, y de acuerdo a la Tabla 4 las funciones Rc y Ro (Tabla 4) proporcionaron un menor error estándar, por lo que el uso de éstas es indistinto para la corrección (Figuras 35 y 36).



FIGURA 31: IMAGEN DE LA MUESTRA DE LEVADURA USADA EN LA PANIFICACIÓN.

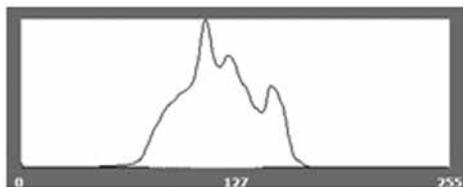


FIGURA 32: HISTOGRAMA DE LA IMAGEN DEL CASO D.

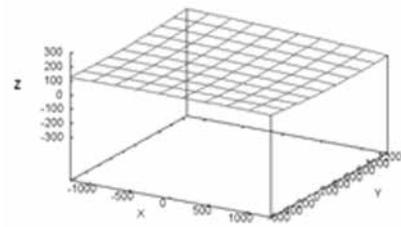


FIGURA 33: MODELO CARTESIANO DEL CASO D CON CC.

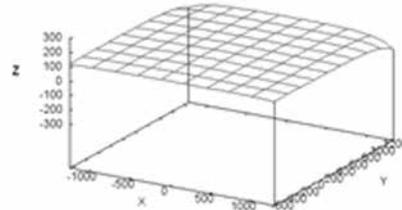


FIGURA 34: MODELO RADIAL DEL CASO D CON RO.

Modelo	Error Estándar
Cc	46.8429714
Co	46.8429714
Rc	40.375357
Ro	40.375357

TABLA 4: VALORES DEL ERROR ESTÁNDAR PARA EL CASO D.

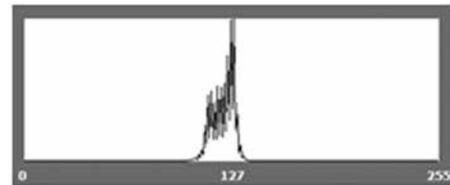


FIGURA 35: HISTOGRAMA DE LA IMAGEN CORREGIDA CON RO.



FIGURA 36: IMAGEN CORREGIDA DEL CASO D.

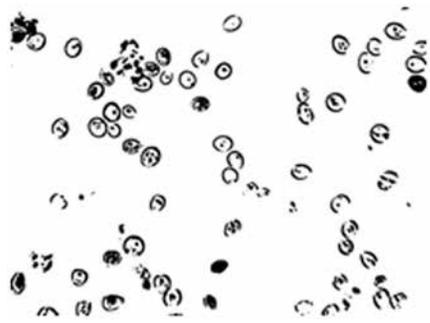


FIGURA 37: IMAGEN SEGMENTADA DEL CASO B SIN CORRECCIÓN DE ILUMINACIÓN.

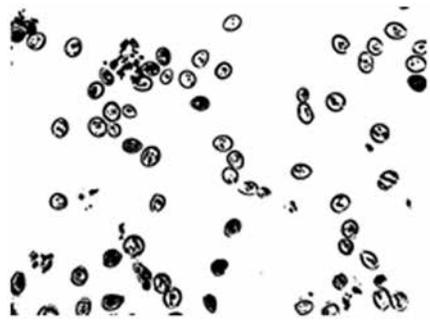


FIGURA 38: IMAGEN SEGMENTADA DEL CASO B CON CORRECCIÓN DE ILUMINACIÓN.

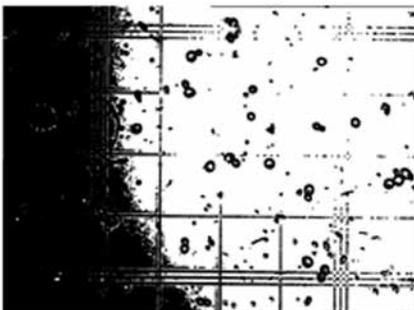


FIGURA 39: IMAGEN SEGMENTADA DEL CASO C SIN CORRECCIÓN DE ILUMINACIÓN.

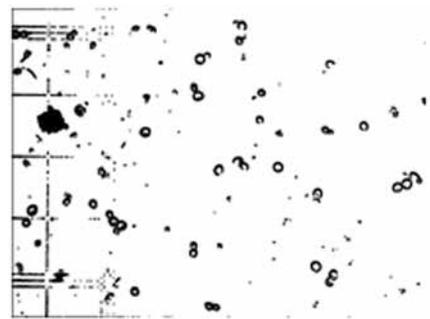


FIGURA 40: IMAGEN SEGMENTADA DEL CASO C CON CORRECCIÓN DE ILUMINACIÓN.

Tomando como referencia a la mediana en tono 127, durante las pruebas realizadas, se observa lo siguiente:

- Cuando la frecuencia de los tonos superiores a la mediana es considerablemente mayor a la de los tonos que están por debajo de dicha referencia se utiliza el ajuste R_c .
- Si la frecuencia de los tonos menores a la media es mayor se aplica el R_o , como en el caso A.
- Cuando la frecuencia de ambos es semejante o con una diferencia mínima los valores de los coeficientes de las funciones son los mismos (véase en Apéndice) y proporcionan la misma varianza residual y error estándar, por lo que es indistinto utilizar los tonos más claros u oscuros para la regresión Radial, eso sucede en los casos B, C y D.

Como se ha mencionado anteriormente, la corrección de las imágenes microscópicas facilita la segmentación de los objetos de interés en las muestras, debido a que con dicha corrección se elimina el ruido causado por la no uniformidad de la iluminación, como puede observarse en las Figuras 37 al 40.

Dicha segmentación se realizó como se reporta en Sabino *et al.* (2011).

A continuación se presentan las conclusiones de dicho trabajo.

6. Conclusiones

Los modelos recomendados para la corrección de la no uniformidad de la iluminación no son aplicables para imágenes microscópicas, en particular la forma cuadrática cartesiana bidimensional es insuficiente. El modelo radial propuesto es mejor que el polinomial cartesiano ya que proporciona una función que se acerca al comportamiento de la iluminación.

Al realizar el ajuste en imágenes cuya frecuencia de tonos claros (mayor igual que 127) es semejante a los oscuros (menor que 127), los valores de los coeficientes de las funciones son los mismos, proporcionan la misma varianza residual y error estándar, por lo que es indistinto R_o o R_c . Para el caso contrario, se utiliza el ajuste radial para el tono que tiene más frecuencia.

Esta corrección coadyuva en la localización de células de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* que pertenece a un proyecto llevado a cabo en la Universidad de la Cañada **T**

Referencias

- Burden, Richard L., Faires, J. Douglas. 1998. *Análisis Numérico, Matemáticas*. International Thomson. 6a edición.
- Pajares Gonzalo, De la Cruz Jesús M., Molina José M., Cuadrado Juan, López Alejandro. 2004. *Imágenes Digitales, Procesamiento Práctico con Java*. Alfaomega, Rama. pp 95.
- Martínez Bencardino, Ciro. 2006. *Estadística básica aplicada*. Eco ediciones. 3ra edición.
- Russ, John C. 2002. *The Image Processing Handbook*, CRC Press, 4a Edición.
- Sabino Moxo, Beatriz A. 2006. Digitalización de mastografías con corrección de luz. Tesis Ingeniería en Cs. Computacionales. BUAP – Facultad de Ciencias de la Computación.
- Villafranca Romero, Rafael, Zúñiga Ramajo, Luisa Rosa. 2005. *Métodos estadísticos en ingeniería*. Editorial Universidad Politécnica de Valencia.
- Sabino Beatriz A.; Márquez José A.; Campos Jesús M. (2011). Segmentación de Células de la Levadura *Saccharomyces cerevisiae*. *Temas de Ciencia y Tecnología*. 15(45): 3-8.

Apéndice

En este apartado, se muestran todos los valores obtenidos para los coeficientes de las funciones (a_i) de ajuste cartesiano y radial, donde: Cc es el Modelo Cartesiano con puntos más claros, Co el Modelo Cartesiano con puntos más oscuros, Rc el Modelo Radial con puntos más claros y por último Ro el Modelo Radial con puntos más oscuros.

	Cc	Co	Rc	Ro
a_0	97.10	124.88	89.77	91.03
a_1	-0.02	-0.14	0.00	0.00
a_2	-0.01	0.13	0.00	0.00
a_3	0.00	0.00	0.00	0.00
a_4	0.00	0.00	0.00	0.00
a_5	0.00	0.00	0.00	0.00

TABLA 5: VALORES DE LOS COEFICIENTES DE LAS FUNCIONES DE AJUSTE PARA EL CASO A.

	Cc	Co	Rc	Ro
a_0	147.69	147.69	138.71	138.71
a_1	0.00	0.00	0.00	0.00
a_2	0.01	0.01	0.00	0.00
a_3	0.01	0.00	0.00	0.00
a_4	0.00	0.00	0.00	0.00
a_5	0.00	0.00	0.00	0.00

TABLA 6: VALORES DE LOS COEFICIENTES DE LAS FUNCIONES DE AJUSTE PARA EL CASO B.

	Cc	Co	Rc	Ro
a_0	95.72	95.72	126.19	126.19
a_1	-0.03	-0.03	0.00	0.00
a_2	-0.02	-0.02	0.00	0.00
a_3	0.00	0.00	0.00	0.00
a_4	0.00	0.00	0.00	0.00
a_5	0.00	0.00	0.00	0.00

TABLA 7: VALORES DE LOS COEFICIENTES DE LAS FUNCIONES DE AJUSTE PARA EL CASO C.

	Cc	Co	Rc	Ro
a_0	112.73	112.73	136.74	136.74
a_1	0.00	0.00	0.00	0.00
a_2	0.00	0.00	0.00	0.00
a_3	0.00	0.00	0.00	0.00
a_4	0.00	0.00	0.00	0.00
a_5	0.00	0.00	0.00	0.00

TABLA 8: VALORES DE LOS COEFICIENTES DE LAS FUNCIONES DE AJUSTE PARA EL CASO D.

