



SEGMENTACIÓN DE BANDAS EN IMÁGENES DGGE, MEDIANTE MODELOS CONEXIONISTAS Y COMPUTACIÓN EVOLUTIVA, UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LA LITERATURA ENTRE EL 2006 Y 2016S

Carola Andrea Figueroa Flores, Angélica Caro Gutiérrez
Departamento de Ciencias de la Computación y Tecnologías de la Información
Universidad del Bío Bío Chillán, Chile
{cfigueroa, mcaro}@ubiobio.cl

RESUMEN

Este artículo tiene como objetivo principal, evaluar sistemáticamente la literatura relacionada con la segmentación e identificación de bandas en imágenes DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis), mediante modelos conexionistas y computación evolutiva. Para ello, se realizó una revisión sistemática de la literatura (RSL) en diferentes bases de datos, tales como Springer, ScienceDirect y Scholar de Google, hasta mayo del 2016. Para poder realizar dicha búsqueda se incluyeron las siguientes palabras claves DGGE, Differential Evolution (DE), Artificial Neural Network y Segmentation, las que fueron combinadas de distintas formas y arrojaron un total de 23.78 artículos, de los cuales sólo 44 fueron seleccionados, en base a los criterios y protocolos de selección definidos en este artículo. Por otro lado, los resultados de esta RSL permitió además resolver la siguiente interrogante de investigación ¿Es posible segmentar bandas de imágenes DGGE usando modelos conexionistas y algoritmos evolutivos? Lo anterior sirvió de apoyo para medir la factibilidad de utilizar modelos conexionistas y computación evolutiva, con el propósito de realizar una correcta segmentación de bandas en imágenes DGGE y también para verificar si se ha utilizado esta técnica en imágenes similares a éstas.

Palabras clave: Gel de electroforesis en gradiente desnaturalizante (DGGE), Evolución Diferencial, Redes Neuronales Artificiales, Segmentación en Imágenes, Revisión Sistemática de la Literatura.

ABSTRACT

This article has as its main objective; systematically assess the related literature with segmentation and identification of bands DGGE images (Denaturing gradient gel electrophoresis) by connectionist models and evolutionary computation. To do this, a systematic review of the literature (RSL) in different databases, such as Springer, ScienceDirect and Google Scholar was held until May 2016. In order to make that search the following keywords DGGE were included, Differential Evolution (DE), Artificial Neural Network and Segmentation, which were combined in different ways and yielded a total of 23,078 items, of which only 44 were selected based on selection criteria and protocols defined in this article. On the other hand, the results of this RSL also allowed solve the following research question is it possible to segment images DGGE bands using connectionist models and evolutionary algorithms? This measure served as support for the feasibility of using connectionist models and evolutionary computation, in order to make a correct segmentation of images DGGE bands and also to check if you used this technique similar to these images.

Keywords: Denaturing Gradient Gel Electrophoresis DGGE, Differential Evolution, Artificial Neural Network, Image Segmentation, Systematic literature review.

1. INTRODUCCIÓN

Las imágenes digitales son representaciones bidimensionales, que corresponden a un conjunto de píxeles dispuestos en una matriz, con el propósito de permitir una posterior manipulación digital. Si su representación es en escala de grises, cada píxel está representado por el uso de un valor numérico que pertenece al intervalo [0-255], el cual ilustra los diferentes tonos de gris que varían desde negro, que corresponde a la intensidad más débil hasta el blanco, que representa la intensidad más alta. Por otro lado, la segmentación en imágenes según [1], [2] es una operación que divide una imagen en partes o regiones que tienen alguna característica en común. Los algoritmos de segmentación se basan en dos propiedades fundamentales, las cuales dependen de los cambios de intensidad. La primera es la similitud entre los píxeles, mientras que la segunda se centra en la continuidad relacionada con niveles de gris. El último enfoque implica una familia de algoritmos de detección de bordes considerando una fuerte intensidad que varía entre los píxeles vecinos.

Por otro lado, el tipo de imagen utilizada en este trabajo, corresponde a una imagen DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis), la cual es una técnica basada en ADN que genera un perfil genético y que permite identificar los miembros de una comunidad microbiana [3], [4]. La muestra de ADN se deposita sobre un gel al que se le aplica una corriente eléctrica, desnaturizando las moléculas de ADN, por lo que sus hebras se desplazan sobre el gel, formando una imagen con carriles (dependiendo del peso molecular del ADN) y bandas (dependiendo del número de bases de ADN), similar a la que se observa en la Figura 1. Una vez obtenida la imagen DGGE en formato digital, comienza el análisis de los resultados de la electroforesis, el cual se realiza mediante la comparación de los caminos entre las bandas.

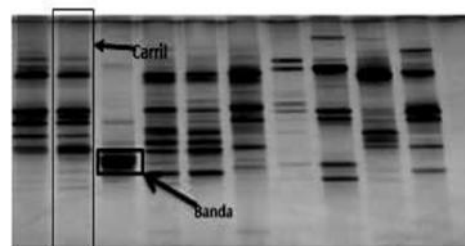


Figura 1. Imagen DGGE

En la actualidad los investigadores de varios Centros de Biotecnología, analizan las imágenes de electroforesis visualmente y construyen una matriz de presencia (también llamada matriz de similitud). Esta matriz sirve como entrada para un software de estadística como GENES [5], STATISTICA [6] o Quantity-One [7], los cuales realizan el análisis de agrupamiento y dispersión de los datos.

Según [8], el análisis digital de imágenes de electroforesis emerge como una aplicación importante para reducir el error humano y mejorar la velocidad de la evaluación de los datos. También, de acuerdo con [9], el análisis automático del patrón de bandas de un carril podría permitir la evaluación de muchos parámetros que son generalmente ignorados por los analistas humanos.

Es por ello, y teniendo en cuenta que el análisis de imágenes de electroforesis es un proceso manual, subjetivo y tedioso para los investigadores, la automatización del análisis de tales imágenes es interesante, ya que reduciría los errores humanos y haría que el proceso de interpretación fuese más rápido, e incluso se podría utilizar para estudiar grandes bases de datos de las muestras. Para entregar una solución eficiente a esta problemática se requiere de una segmentación automática de las bandas presentes en las imágenes DGGE, por lo que se propone utilizar una nueva metodología de segmentación, la cual ha funcionado de manera eficiente en imágenes artificiales, la cual se basa en la utilización de modelos conexionistas (Artificial Neural Network, ANN) para modelar la segmentación requerida de imágenes [10] y [11]. Esta metodología implica que las ANN se aplicarán sobre cada píxel de la imagen, recibiendo la ANN información local de la imagen en

ese pixel para determinar la segmentación en ese pixel. Las ANN se obtendrán y entrenarán de forma automática, mediante métodos de computación evolutiva, particularizando en un método actual con probada eficacia y robustez como Differential Evolution (DE) [12]–[14].

Un primer paso hacia el desarrollo de dicha propuesta es evaluar sistemáticamente la literatura relacionada con la segmentación e identificación de bandas en imágenes DGGE, mediante modelos conexionistas y computación evolutiva. Para ello, se realizará una revisión sistemática de la literatura (RSL) en distintas bases de datos y de libre acceso como Springer, ScienceDirect y Scholar de Google hasta mayo del 2016, para dicha búsqueda se incluirán las siguiente palabras claves: DGGE, Differential Evolution, Artificial Neural Network, Image y Segmentation. De esta manera se dará respuesta a la siguiente interrogante de investigación que se sustenta con la solución propuesta descrita anteriormente ¿Es posible segmentar bandas de imágenes DGGE usando modelos conexionistas y algoritmos evolutivos?, de la cual se derivan las siguientes interrogantes: ¿Se ha utilizado el algoritmo DE y/o Modelos conexionistas en segmentación de imágenes?, ¿Cómo ha funcionado la técnica propuesta en otras imágenes? y por último ¿Existen trabajos asociados a la segmentación de imágenes DGGE?. Lo anterior servirá de apoyo para validar la factibilidad de utilizar modelos conexionistas y computación evolutiva, y así realizar una correcta segmentación de bandas en imágenes DGGE.

Al iniciar el desarrollo de la RSL, se detectó que existe mucha información relacionada con la segmentación en imágenes, pero escasos trabajos que abordan la temática de extracción de bandas en este tipo de imagen, y que la técnica propuesta sobre el uso de modelos conexionistas y computación evolutiva efectivamente ha entregado buenos resultados en segmentación, pero no ha sido probada en DGGE, lo mencionado anteriormente lo podemos ver en trabajos tales como [11], [15] y [16], entre otros. Como resultado, la RSL nos ha permitido, por un lado conocer cómo se ha abordado previamente el procesamiento de este tipo de imagen y por otro lado conocer las distintas técnicas de segmentación en todo tipo de imagen, incluyendo la técnica

propuesta.

El resto del artículo se organiza de la siguiente manera. En la sección 2 se presenta la metodología usada para el desarrollo de la RSL y cómo ésta se aplicó para generar los resultados más adelante sintetizados. A continuación, en la sección 3, se expone el análisis de los trabajos obtenidos. En la sección 4 se presenta una discusión de los resultados, y finalmente, en la sección 5, se dan a conocer las conclusiones y trabajo futuros

2. REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LA LITERATURA

La Una RSL se define como una manera de evaluar e interpretar, toda la investigación disponible relevante, respecto de una interrogante de investigación particular, en un área temática o fenómeno de interés [17]. A continuación se describe, en forma breve, en qué consiste la metodología de RSL usada en este trabajo y la manera de cómo ésta fue aplicada.

Metodología RSL

La RSL se debe llevar a cabo a partir de un conjunto de pasos secuenciales, los cuales son definidos mediante una específica y estricta metodología de desarrollo [18]. Esta RSL, utilizó una adaptación del método propuesto en [19]. La adaptación se resume en la Tabla 1.

Aplicación de la metodología RSL

Tabla A continuación, se explicará cómo se abordaron, cada una de las etapas definidas en la Tabla 1.

1) Planificación de la revisión

Para la realización de la planificación de la revisión es necesario identificar la necesidad de revisión. En este caso se tuvo como objetivo resumir la evidencia existente respecto a cómo se ha abordado el procesamiento de imágenes, identificando las principales técnicas de segmentación y el uso de modelos conexionistas y computación evolutiva. Sin embargo, la cantidad de

estudios que abordaba el contexto DGGE era mínima.

Para el desarrollo de la RSL, se usaron los recursos de búsqueda de Google Scholar y las bases de datos de Springer y Science Direct durante los últimos 10 años.

Tabla 1. Metodología para una RSL con sólo un investigador, propuesta Caro et al, en [19]

Etapa 1: Planificación de la Revisión
Identificar la necesidad de revisión
Definir un protocolo de búsqueda
Definir un protocolo de revisión
Evaluar la planificación
Etapa 2: Desarrollo de la Revisión
Búsqueda de estudios primarios
Selección de los estudios primarios
Extracción y gestión de datos Síntesis de datos
Etapa 3: Publicación de los resultados

Para la definición del protocolo de búsqueda se consideraron los términos de búsqueda: DGGE, Image, Segmentation, Artificial Neural Network, Differential Evolution. En base a ellos, se obtuvieron las siguientes combinaciones: Para la definición del protocolo de búsqueda se consideraron los términos de búsqueda: DGGE, Image, Segmentation, Artificial Neural Network, Differential Evolution. En base a ellos, se obtuvieron las siguientes combinaciones: Artificial Neural Network + DGGE+ Image. Differential Evolution + DGGE + Image. Segmentation + DGGE+ Image Artificial Neural Network + Segmentation.+ Image Differential Evolution + Segmentation + Image Artificial Neural Network + Segmentation + DGGE.+Image Differential Evolution+ Segmentation+ Artificial Neural Network+ Image Segmentation+ Artificial Neural Network+ Image

Para la definición del protocolo de revisión se establecieron (i) las normas de revisión de los documentos, por ejemplo, primero revisar títulos, resumen e introducción;(ii) los criterios de inclusión y exclusión, por ejemplo, incluir aquellos trabajos que respondan a la interrogante de investigación, excluir aquellos que no presenten dentro de

títulos y resúmenes los términos claves; (iii) las estrategias de extracción de datos, por ejemplo, por cada estudio seleccionado crear una ficha en un gestor bibliográfico; y (iv) la estrategia de síntesis de datos, por ejemplo, organizar los estudios de acuerdo a si responden a la interrogante principal o las que surgen a partir de ella

2) Desarrollo de la Revisión:

En esta etapa se desarrolló la revisión, de acuerdo a los criterios mencionados en el protocolo de búsqueda. Esta etapa contempla cuatro sub-etapas:

Búsqueda de los artículos: Esta se basó en las combinaciones de términos definidos. Al llevar a cabo las búsquedas, se especifica a los recursos de búsqueda como: artículos científicos, descartando patentes, libros, citas, conferencias y tesis de estudios de la ciencia de la computación. En la Tabla 2 se presentan los resultados

Tabla 2. Total de Artículos encontrados en las distintas fuentes

Términos de Búsqueda	Google Scholar	Springer	Science Direct	Total
Artificial Neural Network + DGGE + Image	75	1	32	108
Differential Evolution + DGGE+ Image	9	1	5	15
Segmentation + DGGE + Image	235	25	38	298
Artificial Neural Network + Segmentation + Image.	17.500	259	389	18.148
Differential Evolution + Segmentation + Image	3.620	29	32	3.681
Artificial Neural Network + Segmentation + DGGE + Image.	7	2	10	19
Differential Evolution+ Segmentation+ Artificial Neural Network + Image	762	31	16	809
Total Artículos Encontrados				23.078

Selección de los documentos: Debido a la gran cantidad de documentos encontrados, sobre todo en la fuente de datos Google Scholar, se decidió que sólo se revisarían los

que estuvieran dentro de las 5 primeras páginas en los resultados de búsqueda (ordenados por relevancia), en cuanto al grado de coincidencia con respecto a las palabras claves.

Luego, se llevó a cabo la preselección de los estudios, donde se incluyeron sólo los documentos que mencionaran los términos claves en títulos y/o resúmenes. Los resultados de la preselección son presentados en la Tabla 3, específicamente en el ítem preseleccionados, denotado en la tabla por (P)

Selección de artículos: Basándonos en los criterios de inclusión y exclusión, se leyeron los títulos, resúmenes, introducción y conclusión de los documentos preseleccionados (P). Y a partir de la lectura se logró seleccionar un total de 44 artículos útiles (U), véase la Tabla 3.

Tabla 3. Total de artículos seleccionados

Términos de Búsqueda	P/U	Scholar	Springer	Science Direct	Total
Artificial Neural Network + DGGE+Image	P	4	0	4	0
	U	0	0	0	
Differential Evolution + DGGE + Image	P	4	1	0	0
	U	0	0	0	
Artificial Neural Network + Segmentation. + Image	P	40	24	18	21
	U	10	3	8	
Differential Evolution + Segmentation + Image	P	32	1	7	17
	U	9	3	5	
Artificial Neural Network + Segmentation + DGGE + Image	P	0	0	0	0
	U	0	0	0	
Differential Evolution+ Segmentation+ Artificial Neural Network+Image	P	31	10	0	6
	U	4	1	2	
Total Artículos Seleccionados					44

El análisis de los artículos seleccionados se presenta en la siguiente sección.

3. RESULTADO DE LA RSL

A continuación se presenta el resultado de la RSL. En primer lugar se dará respuesta a las preguntas derivadas de la interrogante principal de investigación definida en este artículo y luego se responderá a esta última.

Para esto se han utilizados los artículos clasificados con la letra U de la Tabla 3, y que hacen referencia a los siguientes términos claves: Image, Segmentation, Differential Evolución y Artificial Neural Network.

¿Se ha utilizado el DE y/o Modelos conexionistas en segmentación en imágenes?

Antes de responder de forma positiva o negativa a esta interrogante, vamos a describir algunos de los artículos etiquetados con la letra U y que provienen de la Tabla 3. Shahryar et al en [20] destaca lo difícil que es proponer un método universal para manejar la umbralización en imagen, debido a la gran variedad existente. Dado lo anterior proponen un nuevo enfoque que mezcla el concepto de optimización y Differential Evolution, el cual segmenta la imagen en dos clases por minimización de disimilitud entre los niveles de gris, comparándose dicho resultado con el algoritmo de Kittler, debido a su superioridad. El único inconveniente detectado al usar el Differential Evolution, se debe justamente a que es un algoritmo evolutivo, ya que la optimización que se busca depende del tamaño de la población.

Por otro lado en [21] proponen un detector de bordes basado en una Red Neural Celular (CNN) y optimizada por medio del algoritmo Differential Evolution (DE). La clonación de la plantilla de la CNN propuesto se sintoniza de forma adaptativa mediante el uso de imágenes de entrenamiento simples. Con respecto al rendimiento del detector de borde propuesto se evalúa en diferentes imágenes de prueba y se compara con detectores de bordes clásicos de la literatura, como Sobel y Canny. Dando como resultado una herramienta simple pero potente y eficiente para la detección de contornos.

En cambio en [22] se propone un algoritmo evolutivo y difuso, para agrupar automáticamente los píxeles de una imagen en diferentes regiones homogéneas, sin requerir de un conocimiento previo del número de conglomerados. Además, corresponde a una variante mejorada del algoritmo de evolución diferencial (DE), el que ha utilizado para determinar el número de grupos que se producen de forma natural en la imagen, así como para refinar los

centros de los conglomerados. Entregando al final del artículo una amplia comparación del rendimiento entre el nuevo método, una técnica de "agrupamiento difuso genético" y el clásico algoritmo fuzzy c-means, sobre un conjunto de pruebas que comprende las imágenes en escala de grises y las imágenes de satélite de teledetección. Estas comparaciones ponen de manifiesto, una significativa superioridad de la técnica propuesta en términos de velocidad, precisión y robustez, gracias al uso del DE.

En [23] presentan un enfoque importante relacionado con la clasificación no supervisada de píxeles en imágenes remotas. El problema relacionado con la clasificación de imágenes en diferentes regiones homogéneas, es visto como la tarea de agrupar los píxeles en el espacio en base a su intensidad. La detección de regiones o grupos suelo, puentes, agua, bosques etc, presenta una tarea difícil, debido al tamaño variado que ocupan en la imagen. Una técnica de agrupamiento difuso basado en DE, que se propone en este artículo proporciona resultados significativos y de alto superioridad con respecto al uso de otros modelos.

En [24] proponen tres enfoques del algoritmo DE en base a secuencias caóticas, utilizando la ecuación logística para el proceso de mejora de la imagen. El propósito de utilizar el DE, consiste en que es un algoritmo de optimización evolutiva simple pero potente que ha sido utilizado con éxito en la solución de problemas continuos. Los esquemas de DE caótica propuestos tienen una tasa de convergencia rápida, pero también mantienen la diversidad de la población con el fin de escapar de los óptimos locales. En este trabajo, el aumento del contraste de imagen se plantea como un problema de optimización no lineal restringida. El objetivo de los esquemas de evolución diferencial caótica propuestas es maximizar el criterio de la aptitud con el fin de mejorar el contraste y detalle en la imagen mediante la adaptación de los parámetros usando una técnica de realce del contraste. Los resultados de la simulación en tres imágenes de prueba muestran que la aplicación de secuencias caóticas en lugar de secuencias aleatorias es una nueva alternativa para

mejorar el rendimiento del clásico algoritmo de optimización DE.

En otro estudio [25] presentan una modificación al algoritmo DE, el cual fue desarrollado para el agrupamiento difuso de píxeles en imágenes en escala de gris. Una característica importante del algoritmo propuesto que de este algoritmo, consiste en la capacidad de encontrar el número óptimo de agrupaciones de forma automática (es decir, el número de grupos no tiene que ser conocido de antemano). Los resultados experimentales muestran que el nuevo enfoque supera a las estrategias de agrupamiento difuso como FVGA, KFAC y una versión kernelizada del algoritmo FCM.

Por otra parte, en [26] se plantea una nueva propuesta para la segmentación de imágenes, basada en la optimización del DE, debido a que es un método heurístico ideal para resolver problemas complejos de optimización, además es fácil de usar, tiene una estructura simple y, Por otro lado, el proceso de segmentación propuesto considera que en primer lugar, el algoritmo llene el histograma de la imagen utilizando una mezcla de funciones gaussianas cuyos parámetros se calculan usando el método de DE. Cada función gaussiana aproximará cada pixel y punto de umbral que se encuentra dentro del histograma. El enfoque propuesto no sólo es computacionalmente eficiente, sino también no requiere supuestos previos de ningún tipo sobre la imagen. Los resultados experimentales demuestran la capacidad del algoritmo para realizar la selección automática de umbral conservando las características principales de la imagen original, gracias al uso del DE.

En cambio en [27] presentan una nueva técnica de filtrado morfológico basado en el filtrado- homomorphic para el tratamiento de imágenes médicas. Esta técnica combina la descomposición morfológica de la subband y las características mejoradas de homomórficas y el uso del algoritmo DE para maximizar los beneficios en la reconstrucción de una imagen. Los resultados obtenidos se pueden ver claramente en la mejora del contraste de cada imagen, por lo que este método sería de gran utilidad para apoyar actividades tales como el diagnóstico de

enfermedades o en cámaras de vigilancia, autenticación y planificación quirúrgica.

En [11] proponen una nueva metodología evolutiva para optimización del TAN (Topological Active Net Model). El enfoque DE que se implementó en este trabajo, presenta algunas ventajas considerables con respecto al algoritmo clásico GA (Genetic Algorithm). En particular, el conjunto de los operadores genéticos del GA fue reemplazado por uno solo, lo que implica una mayor simplicidad, a fin de minimizar las decisiones que tienen que ser realizadas por el diseñador. El método requiere diferentes fases evolutivas del GA, con diferentes objetivos y pesos de los parámetros de energía. Ambas fases fueron integradas usando DE. El método también propuesto proporcionó una convergencia más rápida y mejores resultados, como se muestra en los gráficos de evolución de la calidad. Por otra parte, se desarrolló una combinación híbrida del enfoque DE con la búsqueda local voraz, la integración de las ventajas de las dos estrategias: la búsqueda global superar la posible presencia de ruido en las imágenes, mientras que la búsqueda voraz ayudó a acelerar la segmentación. Además, la combinación híbrida introdujo la posibilidad de cambios topológicos para realizar mejores ajustes y segmentaciones en superficies complejas o incluso la detección y segmentación de varios objetos en la escena. En [10] desarrollan un método novedoso de segmentación utilizando modelos deformables. Como modelo deformable utilizaron al igual que en [11] TAN, modelo que integra características de las técnicas de segmentación basados en límites y regiones. La deformación en el tiempo se define por una Red Neuronal Artificial (ANN) que aprende a moverse en cada nodo del modelo de segmentación basado en su energía circundante. La ANN se aplica a cada uno de los nodos y en diferentes pasos temporales hasta que se obtiene la segmentación final. La formación ANN se obtiene mediante la evolución simulada, utilizando evolución diferencial para obtener automáticamente la ANN que ofrece la segmentación emergente. Esta propuesta se puso a prueba en diferentes imágenes artificiales y reales, que muestran la capacidad de la metodología. En [28] presentan un TAN para la

segmentación de imágenes, el cual es un modelo deformable que integra características de técnicas de segmentación basadas en la región y contornos, similar al de [11]. El proceso de segmentación propuesto se convierte en una tarea minimización de las funciones de energía que controlan el modelo de deformación, para lo cual se utilizó DE como un método evolutivo que minimiza las decisiones del diseño con respecto a otros métodos evolutivos, con una búsqueda voraz, resultando una mejora en el rendimiento en el proceso de segmentación.

En [29] la localización de estructuras en imágenes biomédicas se considera como un problema de optimización continua y que puede ser resuelto por medio de técnicas de computación flexible. Para lo cual desarrollaron un método automático destinado a la localización del hipocampo en imágenes histológicas, después de los descubrimientos que indica la relevancia de los cambios estructurales de esta región como biomarcadores tempranos de la enfermedad de Alzheimer y la epilepsia. La localización se consigue mediante la búsqueda en los parámetros de un modelo deformable derivado empíricamente del hipocampo que maximizar su superposición con la estructura anatómica correspondiente en imágenes del cerebro. La comparación entre seis técnicas de optimización de parámetros reales muestran que DE supera significativamente a las otras técnicas en esta tarea, proporcionando localizaciones exitosas en el 90,9% y 93,0% de los dos conjuntos de pruebas de imágenes reales y sintéticas, respectivamente.

En [30] proponen una nueva estrategia para la segmentación automática de leucocitos y así ayudar a las empresas farmacéuticas para tomar decisiones en el descubrimiento de fármacos y con ello propiciar el desarrollo de un sistema de reconocimiento de leucocitos automatizado. La segmentación de los leucocitos en las imágenes de tejidos es un proceso complejo, debido a la presencia de diversos efectos del ruido, gran variabilidad en las imágenes y la forma de los núcleos.. Esta propuesta se basa en el uso del algoritmo DE para segmentar los leucocitos teñidos con H&E desde las imágenes. La estrategia propuesta es un primer avance en

línea utilizado una base de datos de imágenes. Además, esta propuesta se compara con los algoritmos de segmentación conocidos. Los resultados muestran que la estrategia propuesta supera a las técnicas tradicionales de segmentación de imágenes.

En [31] el problema relacionado con la optimización para la detección de objetos, se aborda haciendo uso de los algoritmos Particle Swarm Optimization (PSO) y DE. Para lo cual se compara el funcionamiento de ambas técnicas de optimización en dos problemas paradigmáticos del mundo real, en los que muchos otros problemas de reconocimiento de objetos pueden ser mapeado, como por ejemplo la localización del hipocampo en imágenes histológicas y la estimación del cuerpo humano en secuencias de vídeo. En el primer caso, un modelo deformable en 2D de dicha estructura y analizar así la expresión génica en subregiones específicas. En el segundo caso, un modelo en 3D de un cuerpo humano se compara con un conjunto de imágenes de un ser humano que realizan alguna acción específica, tomadas desde diferentes perspectivas, para estimar la postura del sujeto en el espacio y teniendo en cuenta la carga computacional significativa impuesta por este enfoque, se optó por implementar de forma paralela los algoritmos PSO y DE. Gracias a la paralelización se logró la realización de pruebas masivas en miles de genes en un tiempo razonable.

En [32] proponen una nueva técnica para abordar el problema relacionado con la optimización lineal en el tratamiento de imágenes con un umbral de múltiples niveles, la cual se basa en la utilización de la versión sinérgica del DE (SDE), una versión avanzada que involucra dos criterios (i) entropía y (ii) una aproximación del histograma de normalización de una imagen en base a una distribución Gaussiana para encontrar los umbrales óptimos.

Los resultados de segmentación obtenidos por medio de esta técnica son prometedores y animan a otras investigaciones para la aplicación del algoritmo de SDE en tiempo real.

Y por último, en [33] presentan una nueva técnica de segmentación, para resolver el

problema relacionado con la extracción de múltiples regiones en imágenes digitales, haciendo uso para ello la umbralización de histogramas, proponiendo una nueva técnica que surge del algoritmo clásico DE, llamado BDE (Beta Differential Evolution) y el uso del criterio Otsu. Este nuevo enfoque fue capaz de definir automáticamente los umbrales para la segmentación en imágenes y así obtener mejores resultados comparación con FODPSO (Fractional order Darwinian PSO).

En base a los 17 artículos descritos anteriormente y que están estrechamente relacionados con el algoritmo DE en el proceso de segmentación en imágenes, se puede concluir que en las diferentes formas en que se ha utilizado, ya sea con ANN, GA, o PSO entre otros, los resultados obtenidos siempre tienen como característica en común el buen rendimiento y la eficacia en la extracción y detección de contornos. En la Tabla 4 se describe un resumen sobre el uso del DE en imágenes y en sus diferentes variaciones.

Tabla 4: Variaciones del uso del DE

Variación del DE	Descripción	Citas
DE + Umbralización	El DE es usado en la curva de frecuencias para percibir de mejor manera los cambios bruscos en la escala de gris	[17] [26]
DE+ TAN + Modelos Deformables	El uso del DE y modelos deformables en conjunto los resultados de segmentación son mucho mayores que si se usará el clásico GA	[10] [27] [32] [33] [28] [20]
DE + Agrupamiento difuso	Gracias al uso del DE fue posible encontrar el número óptimo de regiones para su posterior segmentación.	[24] [22] [21]
DE + Filtrado-Homomorphic	La combinación de ambas técnicas permitió la reconstrucción de imágenes y la mejora en el contraste de cada una de ellas para su futuro procesamiento.	[26]

Otras variaciones	DE en base	[23]
	a secuencias	[15]
	caóticas.	[31]
	BDE	[30]
	SDE	[34]
	PSO + DE	
	DE	

Por otro lado, sólo en el ámbito de los modelos conexionistas o ANN en el proceso de segmentación en imágenes se tienen los siguientes estudios.

En [34] se presenta un marco de trabajo mediante el uso de ANN, como SOM (Mapa autoorganizado de Kohonen), ISOM (Mapa autoorganizado Incremental de Kohonen), los cuales se aplicaron en imágenes médicas (resonancia magnética, tomografías y ultrasonido). Los resultados obtenidos indican que el uso de Kohonen no da un rendimiento satisfactorio en comparación a otros métodos como el propuesto ISOM, en términos de calidad de las imágenes reconstruidas.

En [35] proponen un algoritmo de segmentación que se basa en una ANN de retropropagación estándar. Los experimentos iniciales muestran resultados muy alentadores con exactitud de la segmentación de hasta 91,21%. La velocidad es otro factor importante. En este trabajo se ha descrito brevemente un progreso hacia la meta final de reconocimiento de palabras cursivas sin restricciones con una mayor tasa de reconocimiento y velocidad.

En [36] se propone para la segmentación de imágenes médicas un algoritmo tipo ISNN (incremental supervised neural network) más el uso de dos métodos de extracción basados en las características de los segmentos de tejidos en este tipo de imagen, por lo que los resultados obtenidos son mucho mejores que si se usará por ejemplo Grow and Learn (GAL).

En [37] proponen un nuevo método de segmentación para imágenes satelitales, utilizando una ANN sin supervisión llamado mapa de organización de Kohonen y thresholding. El Mapa auto-organización se utiliza para organizar píxeles de acuerdo con su nivel de gris, en múltiples grupos y luego una técnica de threshold que se utiliza para agrupar la imagen en regiones disjuntas, este nuevo método se llama TSOM. Los experimentos realizados en dos imágenes satelitales diferentes confirman la estabilidad,

la homogeneidad, y la eficiencia del método de TSOM con comparación con el método de análisis de datos de auto-organización iterativo ISOM.

En cambio en [38] se presenta un algoritmo para la segmentación del hígado en imágenes de RM (resonancia magnética) abdominal. El algoritmo propuesto utiliza MLP (neural networks and watershed algorithm). Esta propuesta se aplicó a una serie de imágenes de prueba para extraer la región de hígado. Los resultados experimentales mostraron resultados positivos en cuanto a su funcionamiento y rendimiento.

En [39] inspirado por el conocimiento de la corteza visual, este modelo se compone de neuronas con acoplamiento espiga y mejora de gradiente, y que es la misma que la de la corteza visual que puede distinguir algunos objetos en la escena real a través de la captura de información de límites. El modelo suaviza píxeles dentro de las regiones y mejora píxeles en las fronteras mediante la creación de una función de ajuste. Las salidas del modelo son la imagen segmentada deseada. Los experimentos muestran que el método no sólo detecta regiones de la imagen original.

Finalmente, y gracias a la búsqueda relacionada con ANN+Segmentation+ Image, podemos afirmar que si existe material suficiente para concluir que si se ha utilizado DE y/o Modelos conexionistas en el proceso de segmentación en imágenes, y que los trabajos en su mayoría están relacionados con el manejo del umbral y redes neuronales no supervisadas, para la detección de contornos y posterior extracción, cabe destacar que hay más trabajos relacionados a lo mismo, por lo que se decidió no detallarlos, debido a la similitud con los trabajos ya descritos, sin embargo a continuación se citan algunos de ellos [35], [37], [40]–[45].

B ¿Cómo ha sido procesada este tipo de imagen?

Como se pudo apreciar en la Tabla 3, los resultados etiquetados con la letra U y que estaban asociados en sus diferentes combinaciones con las imágenes DGGE

fueron nulos, debido a que ninguno específicamente se dedicaban a este tipo de imagen, sin embargo pese a la búsqueda realizada y gracias a la experiencia en el tema por parte de los autores de este artículo se describen a continuación algunos de los trabajos realizados y que están estrechamente relacionados con este tipo de imagen.

En [46] describen una metodología para el procesamiento de este tipo de imagen, la que se inicia

con la extracción de carriles, y luego la obtención del "Histograma de Suma de Píxeles", el cual es sometido al uso de operadores morfológicos y de suavización. Después de obtener la curva suavizada del histograma de suma de píxeles, se da paso a su normalización, la cual funciona a través de derivadas parciales sobre los puntos mínimos de cada cumbre presente en el histograma. Este proceso permite mejorar la detección de las bandas y, por ende, la eliminación del ruido. Obteniendo con ello la detección de bandas como aparece en la Figura 2.

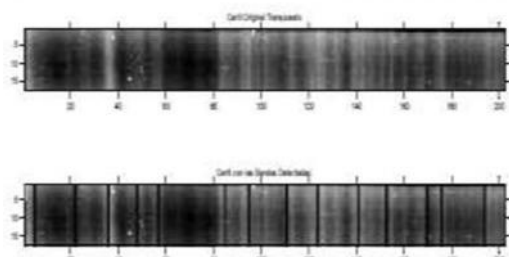


Figura 2: Bandas identificadas y marcadas

No obstante, pese al trabajo realizado no fue posible lograr una correcta segmentación de las bandas, ya que al normalizar y quitar el ruido se pierde información útil para los expertos en ADN.

Otro trabajo relacionado con el procesamiento de imágenes DGGE es el propuesto por Pinninghoff en [47], en el cual se trabajó en la detección de bordes con dos algoritmos basados en hormigas Ant System y Elitist Ant System, definidos en [47], [48]. En estos algoritmos, las hormigas virtuales simulaban el proceso de stigmergy. El que se logró adaptar correctamente para obtener

una optimización en la detección de las bandas, con el fin de trazar el contorno de cada una. Algunos de los experimentos efectuados se pueden apreciar en la Figura 3.

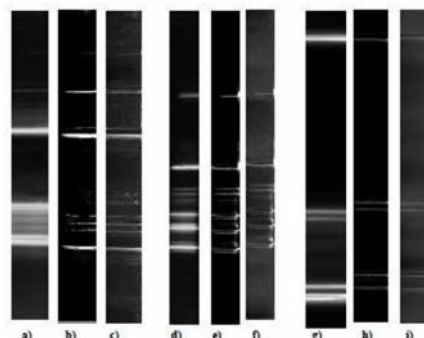


Figura 3: Comparación de los valores obtenidos de los algoritmo Ant System (b, e, h) y Elitist Ant System (c, f, i).

Como se puede apreciar en la Figura 3, hay ciertas bandas que fueron difíciles de detectar por las hormigas virtuales y, por tanto, la segmentación resultante no fue exitosa.

Entre los trabajos posteriores a [48] y que han abordado el tratamiento de imágenes DGGE, se encuentran el realizado en [49], el cual presenta algunos métodos que permiten mejorar la calidad de la presentación de la imagen DGGE, con respecto a aspectos de las bandas usando para ello algoritmos genéticos puros y algoritmos genéticos con Tabu Search. Otros en cambio sólo corrigen la forma, de como el desarrollado por Gárate en [50], sin embargo en este último utilizaron sólo imágenes RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA, RAPD), para evaluar el funcionamiento de la técnica, combinando la técnica de los algoritmos genéticos junto con Tabu Search y Thresholding, debido a su gran parecido con las DGGE.

Luego de describir los trabajos relacionados al procesamiento de este tipo de imagen, podemos destacar que el problema relacionado con la extracción automática de bandas en imágenes DGGE aún no ha sido resuelto en su totalidad.

C Interrogante Principal: ¿Es posible segmentar bandas de imágenes DGGE usando modelos conexionistas y algoritmos evolutivos?

De los resultados reflejados en la Tabla 3 y de lo inferido por medio de las preguntas A y B, podemos inferir que la cantidad de trabajos relacionados con "Artificial Neural Network + Segmentation + Differential Evolution + DGGE", es nulo, pero si profundizamos en la técnica propuesta, la cual se involucra con el uso de modelos conexionistas y computación evolutiva y como se observa en los trabajos de [51], [52] sería posible y viable poder detectar y segmentar estas bandas mediante la incorporación de estas herramientas.

Para ello, partiríamos de la metodología anteriormente comentada al utilizar una ANN para definir una segmentación emergente a lo largo del tiempo. Sin embargo, siendo el interés en las imágenes DGGE una segmentación de contornos, no se utilizará un modelo deformable y, en cambio, se propone utilizar una ANN como un operador de segmentación que va definiendo los contornos de los carriles y de las bandas de las imágenes DGGE a lo largo de un proceso iterativo temporal.

En la adaptación de la metodología a las imágenes DGGE y de nuestro objetivo principal, la ANN tendrá como información de entrada la vecindad de píxeles alrededor del pixel al que se le aplica la ANN, mientras la salida de ésta indicará un nivel de gris (tratando de indicar en qué píxeles va a haber transiciones de gradiente). La misma ANN será aplicada a todos los píxeles en variadas iteraciones, por lo que de nuevo se obtendrá una segmentación emergente definiendo los contornos de las bandas. El ANN que define la segmentación será obtenido automáticamente por medio del DE, por ser un

método con probada robustez en la optimización de problemas que se codifican en un genotipo de números reales (como nuestro caso en el que el genotipo de los individuos de la población genética define los pesos de conexión numéricos entre los nodos de la ANN) y con un balance automático entre exploración y explotación en la búsqueda.

Por tanto, la ANN actuará como un operador

de segmentación, sin embargo, a diferencia de un operador de segmentación clásico prefijado (Sobel, Prewitt, Kirsch, ...), la ANN se aplica iterativamente en tiempo y, además, ésta se "optimiza" de modo automático para las imágenes a segmentar. En otras palabras, se automatiza la búsqueda del operador de segmentación adecuado. Además, una ANN se obtendrá de modo evolutivo con una imagen o conjunto de imágenes (conjunto de entrenamiento), pudiendo probar su generalización con imágenes (DGGE o incluso de otro tipo) no consideradas durante su entrenamiento/evolución (conjunto de validación), utilizando así la metodología clásica de validación de los modelos conexionistas. Las segmentaciones obtenidas con esta metodología lógicamente deben ser contrastadas con las soluciones clásicas de segmentación de contornos.

4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Con el propósito de evaluar la efectividad de los algoritmos evolutivos junto con modelos conexionista para la segmentación automática de bandas en imágenes DGGE y determinar además si esta técnica ha sido utilizada en otro tipo de imagen. Para ello se realizó una RSL utilizando las siguientes palabras claves: Image, Segmentation, Differential Evolution y Artificial Neural Network; en Google Scholar, Science Direct y Springer, dando un total de 23.078, de los cuales sólo se seleccionaron 44 estudios, en base al cumplimiento del protocolo y de los criterios de selección descritos anteriormente. Por otro lado y en base a lo reflejado en la Tabla 2 y 3, se puede afirmar que el mayor número de publicaciones se concentra en la búsqueda de las siguientes combinaciones: Differential Evolution + Segmentation + Image y Artificial Neural Network Network+ Segmentation + Image, dando como resultado 13 y 45 artículos útiles (ver Tabla 3), sin embargo, cuando se desea ser más específico en la búsqueda y en donde se puedan combinar ambas combinaciones, el número de resultados no supera el valor 6, y si a lo anterior se añade la palabra clave DGGE, la respuesta es 0. En base a lo anterior, se asume que no existe evidencia en

investigaciones relacionadas específicamente con el uso de esta técnica en imágenes DGGE, sin embargo esta técnica si ha sido utilizada y si ha dado excelentes resultados en imágenes, esto se puede observar en trabajos como [10], [27], [32] y en otros trabajos que aunque no han combinado ambas técnicas, si se han visto mejoras incorporando el uso del DE en sus diferentes variaciones tal como se refleja en la Tabla 4. Finalmente, en la adaptación de la metodología propuesta, la ANN tendría como información de entrada la vecindad de píxeles alrededor del pixel al que se le aplicará la ANN, mientras la salida de ésta indicará un nivel de gris (tratando de indicar en qué píxeles va a haber transiciones de gradiente). La misma ANN será aplicada a todos los píxeles en variadas iteraciones, por lo que de nuevo se obtendrá una segmentación emergente definiendo los contornos de las bandas. La ANN que define la segmentación será obtenida automáticamente por un método evolutivo. Proponemos "Evolución Diferencial" Por tanto, la ANN actuará como un operador de segmentación, pero, a diferencia de un operador de segmentación clásico prefijado (Sobel, Prewitt, Kirsch), la ANN se aplica iterativamente en tiempo y, además, ésta se "optimiza" de modo automático para las imágenes a segmentar. En otras palabras, se automatiza la búsqueda del operador de segmentación adecuado. Además, una RNA se obtendrá de modo evolutivo con una imagen o conjunto de imágenes (conjunto de entrenamiento), pudiendo probar su generalización con imágenes (DGGE o incluso de otro tipo) no consideradas durante su entrenamiento/evolución (conjunto de validación), utilizando así la metodología clásica de validación de los modelos conexionista.

5. AGRADECIMIENTOS

Esta investigación es parte del proyecto DIUBB 150919 3/I, financiado por la Dirección General de Investigación, Desarrollo e Innovación de la Universidad del Bío-Bío.

6. REFERENCIAS

- [1] J. Mao and A. K. Jain, "Texture classification and segmentation using multiresolution simultaneous autoregressive models," *Pattern Recognit.*, vol. 25, no. 2, pp. 173–188, Feb. 1992.
- [2] V. R. Rathod, R. S. Anand, and Alaknanda, "Comparison of different segmentation techniques in detection of flaws in weldments," 2010 2nd Int. Conf. Comput. Autom. Eng. ICCAE 2010, vol. 2, pp. 673–677, 2010.
- [3] G. Muyzer and K. Smalla, "Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology.," *Antonie Van Leeuwenhoek*, vol. 73, no. 1, pp. 127–41, Jan. 1998.
- [4] M. H. Nicolaisen and N. B. Ramsing, "Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) approaches to study the diversity of ammonia-oxidizing bacteria.," *J. Microbiol. Methods*, vol. 50, no. 2, pp. 189–203, Jul. 2002.
- [5] C. D. Cruz, "GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics," *Acta Sci. Agron.*, vol. 35, no. 3, pp. 271–276, Jul. 2013.
- [6] Statsoft, "Statsoft," 2014. [Online]. Available: <http://www.statsoft.com/Textbook>. [Accessed: 02-Jul-2014].
- [7] Quantity-One, "Quantity-One," 2016. [Online]. Available: <http://www.bio-rad.com/en-mx/product/quantity-one-1-d-analysis-software>. [Accessed: 01-Apr-2016].
- [8] X. Ye et al., "A Recent Development in Image Analysis of Electrophoresis Gels," pp. 19–21, 1999.
- [9] A. Machado, M. Campos, and A. M. Siqueira, "An Iterative Algorithm for Segmenting Lanes in Gel Electrophoresis Images," *Comput. Graph. Image Process.* 1997. Proceedings., X Brazilian Symp., pp. 140–146, 1997.
- [10] C. Sierra, J. Novo, J. Santos, and M. Penedo, "Emergent Segmentation of Topological Active Nets by Means of Evolutionary Obtained Artificial Neural Networks," *ICAART 2013*, vol. 2, 2013.
- [11] J. Novo, J. Santos, and M. G. Penedo, "Topological Active Models optimization with Differential Evolution," *Expert Syst. Appl.*,

vol. 39, no. 15, pp. 12165–12176, 2012.

[12] D. Graves and W. Pedrycz, "Multivariate Segmentation of Time Series with Differential Evolution," *IFSA/EUSFLAT Conf.*, pp. 1108–1113, 2009.

[13] A. Salman, A. P. Engelbrecht, and M. G. H. Omran, "Empirical analysis of self-adaptive differential evolution," *Eur. J. Oper. Res.*, vol. 183, no. 2, pp. 785–804, 2007.

[14] T. Imagawa and H. Iba, "Differential Evolution." pp. 1–7.

[15] S. Rahnamayan and H. R. Tizhoosh, "Image thresholding using micro Opposition-Based Differential Evolution (Micro-ODE)," 2008 IEEE Congr. Evol. Comput. CEC 2008, pp. 1409–1416, 2008.

[16] S. Rahnamayan, H. R. Tizhoosh, and M. M. a Salama, "Image Thresholding Using Differential Evolution," *Most*, no. 1.

[17] B. Kitchenham, "Procedures for performing systematic reviews," Keele, UK, Keele Univ., vol. 33, no. TR/SE-0401, p. 28, 2004.

[18] Z. Stapic and E. López, "Performing Systematic Literature Review in Software Engineering," *CECIIS 2012-23rd ...*, pp. 441–447, 2012.

[19] M. A. Caro Gutiérrez, A. Rodríguez Ríos, C. Calero, E. Fernández-Medina, and M. Piattini, "Análisis y revisión de la literatura en el contexto de proyectos de fin de carrera: Una propuesta," *Rev. Electrónica la Soc. Chil. Cienc. la Comput.*, vol. 6, no. 1, 2005.

[20] S. Rahnamayan, H. R. Tizhoosh, and M. M. a Salama, "Image Thresholding Using Differential Evolution," *Most*, no. 1, pp. 244–249, 2006.

[21] A. Ba türk and E. Günay, "Efficient edge detection in digital images using a cellular neural network optimized by differential evolution algorithm," *Expert Syst. Appl.*, vol. 36, no. 2 PART 2, pp. 2645–2650, 2009.

[22] S. Das and A. Konar, "Automatic image pixel clustering with an improved differential evolution," *Appl. Soft Comput. J.*, vol. 9, no. 1, pp. 226–236, 2009.

[23] U. Maulik and I. Saha, "Differential Evolution Based Fuzzy Clustering Technique: Application to Satellite Image Segmentation," *Int. Conf. Syst. Cybern. Informatics*, pp. 362–368, 2009.

[24] L. D. S. Coelho, J. G. Sauer, and M. Rudek, "Differential evolution optimization combined with chaotic sequences for image

contrast enhancement," *Chaos, Solitons and Fractals*, vol. 42, no. 1, pp. 522–529, 2009.

[25] S. Das and S. Sil, "Kernel-induced fuzzy clustering of image pixels with an improved differential evolution algorithm," *Inf. Sci. (Ny.)*, vol. 180, no. 8, pp. 1237–1256, 2010.

[26] E. Cuevas, D. Zaldivar, and M. Pérez-Cisneros, "A novel multi-threshold segmentation approach based on differential evolution optimization," *Expert Syst. Appl.*, vol. 37, no. 7, pp. 5265–5271, 2010.

[27] J. Oh and H. Hwang, "Feature enhancement of medical images using morphology-based homomorphic filter and differential evolution algorithm," *Int. J. Control. Autom. Syst.*, vol. 8, no. 4, pp. 857–861, 2010.

[28] J. Novo, M. G. Penedo, and J. Santos, "Optimization of Topological Active Nets with Differential Evolution," *Adv. Comput. Intell.*, vol. 669, p. pp 282-290, 2011.

[29] P. Mesejo, R. Ugolotti, F. Di Cunto, M. Giacobini, and S. Cagnoni, "Automatic hippocampus localization in histological images using Differential Evolution-based deformable models," *Pattern Recognit. Lett.*, vol. 34, no. 3, pp. 299–307, 2013.

[30] M. Saraswat, K. V. Arya, and H. Sharma, "Leukocyte segmentation in tissue images using differential evolution algorithm," *Swarm Evol. Comput.*, vol. 11, pp. 46–54, 2013.

[31] R. Ugolotti, Y. S. G. Nashed, P. Mesejo, S. Ivekovic, L. Mussi, and S. Cagnoni, "Particle swarm optimization and differential evolution for model-based object detection," *Appl. Soft Comput. J.*, vol. 13, no. 6, pp. 3092–3150, 2013.

[32] M. Ali, C. W. Ahn, and M. Pant, "Multi-level image thresholding by synergetic differential evolution," *Appl. Soft Comput. J.*, vol. 17, pp. 1–11, 2014.

[33] H. V. H. Ayala, F. M. Dos Santos, V. C. Mariani, and L. D. S. Coelho, "Image thresholding segmentation based on a novel beta differential evolution approach," *Expert Syst. Appl.*, vol. 42, no. 4, pp. 2136–2142, 2015.

[34] Z. Dokur, "A unified framework for image compression and segmentation by using an incremental neural network," *Expert Syst. Appl.*, vol. 34, no. 1, pp. 611–619, 2008.

- [35] A. R. Khan and Z. Mohammad, "A Simple Segmentation Approach for Unconstrained Cursive Handwritten Words in Conjunction with the Neural Network," *Int. J. Image Process.*, vol. 2, no. 2, pp. 29–35, 2008.
- [36] Z. Iscan, A. Yüksel, Z. Dokur, M. Korürek, and T. Ölmez, "Medical image segmentation with transform and moment based features and incremental supervised neural network," *Digit. Signal Process. A Rev. J.*, vol. 19, no. 5, pp. 890–901, 2009.
- [37] M. Awad, "An unsupervised artificial neural network method for satellite image segmentation," *Int. Arab J. Inf. Technol.*, vol. 7, no. 2, pp. 199–205, 2010.
- [38] H. Masoumi, A. Behrad, M. A. Pourmina, and A. Roosta, "Automatic liver segmentation in MRI images using an iterative watershed algorithm and artificial neural network," *Biomed. Signal Process. Control*, vol. 7, no. 5, pp. 429–437, 2012.
- [39] R. Zhao and Y. Ma, "A region segmentation method for region-oriented image compression," *Neurocomputing*, vol. 85, pp. 45–52, 2012.
- [40] G. Urcid, J. C. Valdiviezo, and G. X. Ritter, "Lattice algebra approach to color image segmentation," *J. Math. Imaging Vis.*, vol. 42, no. 2–3, pp. 150–162, 2012.
- [41] S. Ghose et al., "A survey of prostate segmentation methodologies in ultrasound, magnetic resonance and computed tomography images," *Comput. Methods Programs Biomed.*, vol. 108, no. 1, pp. 262–287, 2012.
- [42] J. Zhang, Y. Zhao, D. Li, Z. Chen, and Y. Yuan, "A novel image annotation model based on content representation with multi-layer segmentation," *Neural Comput. Appl.*, vol. 26, no. 6, pp. 1407–1422, 2015.
- [43] A. Fathi and A. R. Naghsh-Nilchi, "Integrating adaptive neuro-fuzzy inference system and local binary pattern operator for robust retinal blood vessels segmentation," *Neural Comput. Appl.*, vol. 22, no. SUPPL.1, pp. 163–174, 2013.
- [44] W. Jamrozik, "Cellular neural networks for welding arc thermograms segmentation," *Infrared Phys. Technol.*, vol. 66, pp. 18–28, 2014.
- [45] R. Sammouda, N. Adgaba, A. Tourir, and A. Al-Ghamdi, "Agriculture satellite image segmentation using a modified artificial Hopfield neural network," *Comput. Human Behav.*, vol. 30, pp. 436–441, 2014.
- [46] C. Figueroa, T. Gutiérrez, and H. Urrutia, "Identificación y Cuantificación de Bandas en Imágenes DGGE," Universidad del Bío Bío, 2009.
- [47] M. A. Pinninghoff, C. Figueroa, and H. Urrutia, "Using Ant Colony Systems for Edge Detection in DGGE Images," in *Scientific Computing, Communicability and Cultural Heritage: Future Trends in Software and Interactive Design*, 2012, pp. 127–133.
- [48] C. Figueroa, "Identificación y Cuantificación de Bandas en Imágenes DGGE con Algoritmos Basados en Hormigas Identification and Quantification of bands in DGGE Images with algorithms based on Ants.," Universidad de Concepción, 2012.
- [49] M. A. Pinninghoff, M. Valenzuela, R. Contreras, and M. Mora, "Automatic Lane Correction in DGGE Images by Using Hybrid Genetic Algorithms," in *Hybrid Artificial Intelligence Systems. 9th International Conference*, Salamanca, Spain: Springer International Publishing, 2014, pp. 221–232.
- [50] M. A. Pinninghoff, M. Valenzuela, R. Contreras, and M. Mora, "Automatic Lane Correction in DGGE Images by Using Hybrid Genetic Algorithms," in *Hybrid Artificial Intelligence Systems. 9th International Conference, HAIS 2014*, 2014, pp. 221–232.
- [51] J. Novo, J. Santos, and M. Penedo, "Differential evolution optimization of 3D topological active volumes," *Nat. Comput.*, vol. 11, no. 1, pp. 161–174, 2011.
- [52] J. Novo, J. Santos, and M. G. Penedo, "Multiobjective differential evolution in the optimization of topological active models," *Appl. Soft Comput. J.*, vol. 13, no. 6, pp. 3167–3177, 2013.