

CLASIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS MEDIANTE PROCESADO DE IMAGEN

Fernando Tadeo
Susana González
M^a Teresa Álvarez

Dpto. Ingeniería de Sistemas y Automática, Universidad de Valladolid

Jose Luis Arribas

Empresa Depuradora de Aguas Residuales, Ávila

Resumen

El trabajo que se presenta a continuación realiza un estudio de técnicas de procesado de imagen en análisis de imágenes microscópicas de microorganismos. Para ello se desarrolla una aplicación informática que realiza el procesado de imágenes tomadas del agua mediante un microscopio óptico y su posterior clasificación en base a su contenido. El reconocimiento de las imágenes se realiza mediante una red neuronal competitiva, cuyo patrón de entrada se obtiene a partir de análisis frecuencial de las imágenes, previamente tratadas para realzar sus características diferenciadoras.

1. INTRODUCCIÓN

El análisis y tratamiento digital de imágenes abarca los procesos de obtención, caracterización e interpretación de información de imágenes tomadas del mundo real, pudiéndose utilizar dicha información para analizar procesos o para interactuar de forma automática con diversos dispositivos [Pratt, 1991; Gonzalez, 1992; Russ, 1994]. Cuando se aplican técnicas de tratamiento digital de imágenes se pretende obtener tanta información útil como sea posible de la imagen de partida. Para ello la imagen se someterá a unas operaciones (eliminación de ruidos, extracción de características, filtrado, etc) que permitirán analizarla. Al conjunto de todas esas operaciones es lo que denominamos tratamiento de imágenes. La forma en la que se realicen las diferentes operaciones nos dará lugar a diferentes técnicas de tratamiento de imagen.

El análisis de la imagen es un proceso de descubrimiento, identificación y comprensión de patrones que son relevantes en el desempeño de una tarea basada en imágenes. Una de las principales metas del análisis de la imagen por ordenador es dotar a la máquina con la capacidad para aproximar, algo que normalmente pueden realizar los seres humanos. Por ejemplo, en un sistema de lectura automática de imágenes de documentos

escritos, los patrones de interés son los caracteres alfanuméricos y el objetivo es conseguir la precisión en el reconocimiento de caracteres.

Como es bien sabido, el tratamiento digital de imagen es una línea que tiene aplicaciones en entornos muy diversos, tales como la psicología, medicina, informática, ingeniería, agricultura, astronomía, biología, etc. (Russ, 1994; Haralick and Shapiro, 1992; the references therein; González, 1998; Plaza et al., 1999, Laya et al., 1999. Gracias a los avances de hardware y software, las técnicas desarrolladas permiten realizar, con éxito, estudios muy complejos. Por ejemplo, los médicos pueden extraer información muy importante para el tratamiento de los pacientes a partir de las tomografías y de las resonancias magnéticas. La supervisión y el guiado de vehículos móviles han avanzado, también mucho. Si hablamos de la industria de procesos, ésta ha visto como el tratamiento de imágenes es una herramienta más para realizar la inspección de determinados procesos de fabricación o para el control de calidad de los productos.

La Biología, y en concreto en la Microbiología, también se pueden beneficiar de las técnicas de tratamiento y análisis digital de imágenes. En entornos acuáticos, el crecimiento de determinadas especies de microorganismos está relacionado directamente con la temperatura, la densidad lumínica, y las características fisicoquímicas del entorno (pH, salinidad, presencia de materia orgánica, etc.). Por ello su estudio permite estudiar los cambios ambientales.

En particular la identificación del tipo (y cantidad) de diatomeas presentes en una muestra facilita la determinación del denominado Índice Biológico de Diatomeas (IBD). El IBD es el valor numérico (AFNOR, 2000) que permite valorar la calidad del agua basándose en la presencia y abundancia de determinadas especies de diatomeas, fue adoptado internacionalmente en 1994. Se eligen normalmente las diatomeas como bioindicadores por:

- Estar presentes en variados entornos acuáticos: desde el nacimiento del río al mar.

- Reflejan rápidamente cambios en la calidad del agua.
- Incluyen formas adaptadas a muchos niveles de contaminación.

En el trabajo que se presenta en este artículo se ha realizado un estudio de técnicas de procesado de imagen para analizar imágenes de diatomeas. Para ello se ha desarrollado una aplicación que realiza el procesado de imágenes tomadas del agua y su posterior clasificación. En el primer apartado se describen las técnicas utilizadas de tratamiento de imagen, para presentar a continuación los mecanismos de generación de patrones. Finalmente se discute la elección de una red neuronal competitiva, como mecanismo de clasificación y se presentan unos resultados preliminares del trabajo.

2. TRATAMIENTO DE IMAGEN

De todas las etapas que tradicionalmente componen el tratamiento digital de imágenes, sólo necesitaremos aplicar el preprocesado. El objetivo es realzar los objetos a identificar frente al resto, ya que en las imágenes microscópicas a estudiar se encuentran junto con los microorganismos que se tratan de clasificar otros microorganismos y muchas impurezas.

Las diatomeas son microorganismos que se distinguen bien por sus bordes, siendo el resto del cuerpo transparente y sus niveles de intensidad se corresponden con los del fondo de la imagen (Krammer and Lange-Bertalot, 1986). Como muestra, fijémonos en las Figura 1 y Figura 2. La primera muestra una diatomea que responde a lo descrito al comienzo del párrafo, por el contrario, el protozoo de la Figura 2 tiene unas características totalmente diferentes. Así que este será el criterio que se tendrá en cuenta en todo momento para intentar la mejora.

Para llevar a cabo este realce de manera automática, se han programado técnicas del dominio espacial. Se han escogido por dos razones: se ajustan al problema a resolver y su implementación no es demasiado costosa (ni en recursos, ni en tiempo). En el preprocesado distinguimos dos partes: la operación por bloques y la expansión de intensidad. Realmente, la expansión de intensidad se hace bloque a bloque para corregir variaciones en la iluminación (de izquierda a derecha o de arriba a abajo).

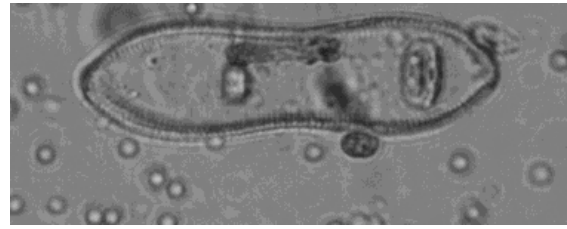


Figura 1: Imagen ejemplo en niveles de gris [Diatoma sp. (x100 aumentos)]



Figura 2: Imágenes de otros microorganismos a reconocer [En sentido horario: Protozoo, Diatoma Vulgare (x100), Pediostrum Clatmatum (x500)]

2.1. OPERACIÓN POR 'BLOQUES'

Esta mejora inicial de la imagen consiste en dividirla en regiones de igual tamaño (Figura 3) que denominaremos bloques. Cada región se procesará por separado del resto.

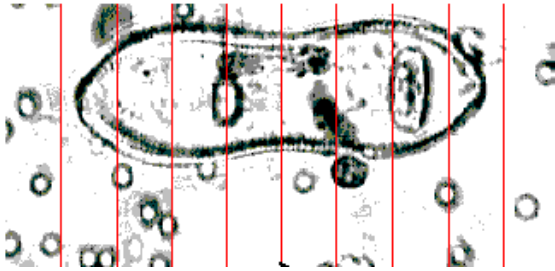


Figura 3: Obtención de bloques

Esta manera de funcionar ofrece varias ventajas:

- El resultado global de la imagen puede verse mejorado porque los parámetros de decisión del algoritmo se basan en características de cada bloque, no influyendo en ésta otras zonas de la imagen que podrían empeorar el resultado.
- Se realiza de forma sencilla una compensación de intensidad de la imagen.
- Exige menos recursos de procesamiento porque se trabaja con subimágenes, que requieren menos cantidad de memoria para el almacenamiento de los datos intermedios que genera el algoritmo.

2.2. EXPANSIÓN DE INTENSIDAD

Las técnicas de compensación o ajuste de la imagen resultan efectivas para aumentar el contraste de las imágenes y el realce de las partes no transparentes de los microorganismos. En particular, la entrada recortada o expansión de intensidad, nos permite hacer uso de todo el rango de niveles de intensidad permisible, en caso de que las imágenes a estudiar se encuentren en un intervalo restringido de éste (Figura 4).

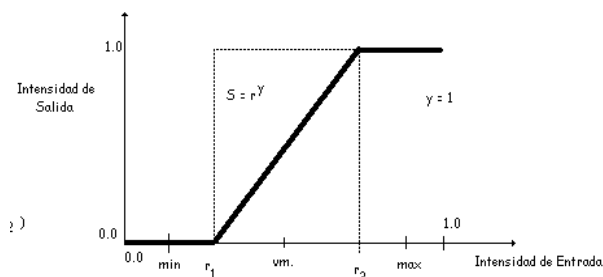


Figura 4: Proyección de intensidades realizadas en las imágenes

La expansión de intensidad proyecta un intervalo de los niveles de gris de la imagen, el rango de intensidad total, según una transformación del tipo: $S = R^\gamma$, siendo S el rango de intensidad final, R el rango de intensidad inicial y γ un parámetro positivo denominado *corrección gamma*.

En nuestro caso, se optó por proyectar el rango de intensidad de la entrada al rango total (Figura 4), obteniendo como salida una imagen con los microorganismos proyectados hacia el negro.

2.3. APLICACIÓN DEL PREPROCESADO AL RECONOCIMIENTO DE MICROORGANISMOS

La Figura 1 muestra la fotografía de una diatomea antes de ser procesada. El histograma (Figura 5) de esta imagen muestra como la intensidad se concentra en un intervalo, no se expande a todo el rango. Como resultado de las dos etapas del preprocesado (Figura 6), la imagen resultante presenta un microorganismo que destaca claramente sobre el fondo.

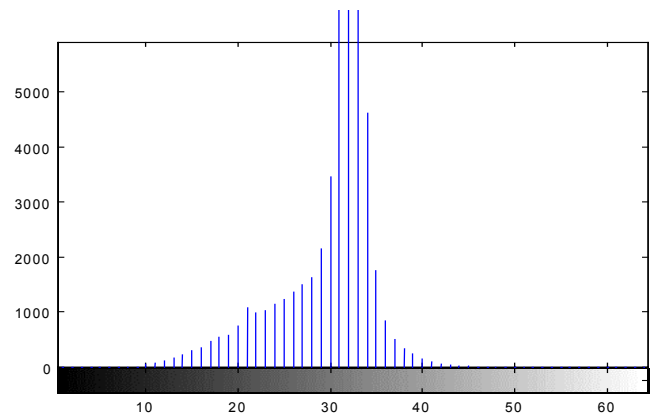


Figura 5: Histograma típico de las imágenes

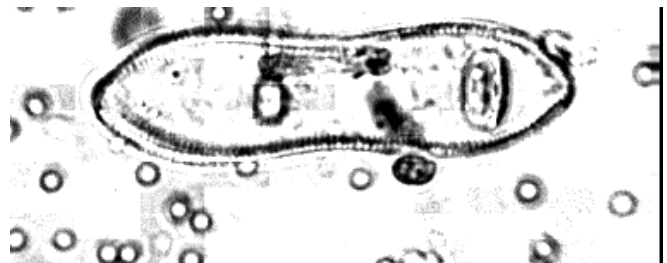


Figura 6: Imagen preprocesada con los valores por defecto

3. RECONOCIMIENTO DE IMAGEN

La tarea de reconocimiento (Gonzalez 1992; Pratt, 1991; Santos, 1999; Kulkarni, 1994; Russell, Norvig, 1995) supone la existencia de una serie de descriptores o rasgos a partir de los cuales se pueda decidir qué tipo de objeto o qué situación tenemos representada en la imagen. En la literatura es también usual hablar de patrones, que por lo general están formados por uno o más rasgos, y que constituyen una descripción de un objeto o de algunas entidades de interés en la imagen.

Teniendo esto en cuenta, el éxito del reconocimiento depende, en gran medida, de los rasgos que sean seleccionados para efectuar la distinción, y ello a su vez nos lleva al problema de la selección o extracción de rasgos, que depende de los objetivos de reconocimiento en la aplicación en cuestión.

Una vez que el conjunto de rasgos haya sido seleccionado, la tarea de reconocimiento se reduce a partir del espacio de rasgos. Aquí entran en juego las técnicas de reconocimiento, que básicamente se dividen en métodos de decisión teórica y en métodos estructurales. Los primeros están basados en la representación en forma de vector de los rasgos y en la búsqueda de aproximaciones para agrupar y asignar los vectores dentro de diferentes clases. En los segundos, los rasgos son representados en forma simbólica (cadena de caracteres, árboles, etc.) y los métodos se basan en la coincidencia de símbolos o en modelos que tratan a los símbolos de rasgos como sentencias de un lenguaje artificial.

Normalmente se utiliza la palabra patrón para referirse a uno o más rasgos de una imagen, entendiéndose por tales las características o atributos que describen la imagen, a partir de una información descriptiva, cuantitativa o estructural.

La forma más normal de representar los patrones es mediante vectores para las descripciones cuantitativas, y cadenas de caracteres o árboles para las descripciones estructurales. En nuestro caso trabajaremos con descripciones cuantitativas obtenidas a partir del análisis frecuencial de la imagen, por lo que la representación de los patrones serán vectores de valores reales.

El reconocimiento de patrones por ordenador involucra técnicas para la asignación de patrones a sus respectivas clases, entendiéndose por *clase* de patrón aquel conjunto de patrones que comparten propiedades comunes (en nuestro caso, corresponder a imágenes de la misma especie de microorganismo).

3.1. GENERACIÓN DE PATRONES PARA IMÁGENES DE MICROORGANISMOS

Para cumplir el objetivo de reconocer el microorganismo presente en la fotografía microscópica será necesario analizar ciertos rasgos espectrales que distinga unos corpúsculos de otros. En nuestro caso, utilizaremos información basada en los componentes en frecuencia de las imágenes, generados a partir del *espectro de potencia* (o densidad espectral) de las imágenes. Para el caso de imágenes en dos dimensiones, el espectro de

potencia corresponde a la matriz de dos dimensiones con componentes reales definidos por:

$$\phi(u, v) = F(u, v)[F(u, v)]^*$$

donde $F(u, v) = \frac{1}{MN} \sum_{x=0}^{M-1} \sum_{y=0}^{N-1} f(x, y) e^{-j2\pi(ux/M+vy/N)}$ es

la transformada de Fourier de la imagen digital $f(x, y)$ y $F(u, v)^*$ su conjugada. (Maren et al, 1990).

El análisis frecuencial de estas imágenes se realiza a partir de los resultados obtenidos del procesamiento. Dado que el espectro es simétrico, se emplea sólo la mitad de éste para conformar el vector de rasgos. Aquí se tiene en cuenta que la simetría del espectro 2-D es “inversa diagonal”, independientemente de que el componente de frecuencia 0 haya sido o no trasladado al centro del plano frecuencial.

El primer cuadrante se corresponde con el cuarto, y de igual manera se corresponden el segundo y el tercero. A su vez el espectro es simétrico, por lo que es suficiente con considerar uno de los cuadrantes del espectro de potencia generado (Figura 7).

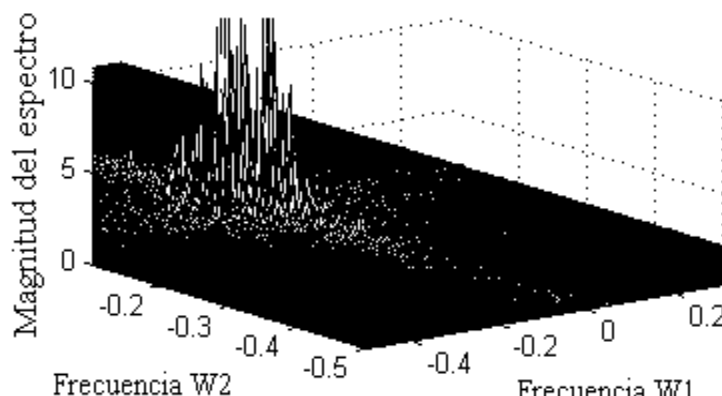


Figura 7: Espectro de potencia 2-D de una imagen

Aún así, el vector de rasgos sigue teniendo un número excesivo de parámetros para permitir su clasificación: una imagen microscópica típica genera un vector de intensidades medias de 100-400 valores. Es necesario entonces derivar parámetros del espectro de las imágenes de tal forma que disminuya, sensiblemente más, la dimensión del vector de rasgos.

En particular, en nuestro caso, utilizamos como parámetros el máximo espectral, la energía total, y el ancho de banda que encierra el 95% de la intensidad. Estos parámetros retienen bastante bien las características que diferencian una imagen de

otra, como se ha comprobado experimentalmente en los análisis efectuados sobre varias imágenes.

3.2. CLASIFICACIÓN MEDIANTE REDES NEURONALES

Una vez que se sabe cual va a ser el patrón de rasgos, el siguiente paso es efectuar la clasificación, para ello se utiliza una red de aprendizaje de Cuantificación de Vectores (LVQ) (Ahalt et al, 1990; Bezdek y Pal, 1995; Song y Lee, 1995) que es un tipo determinado de Red Neuronal que ha demostrado previamente su utilidad en tareas de clasificación de imágenes basadas en su información frecuencial. A continuación se describen en detalle.

3.2.1. Conceptos generales

Las redes neuronales artificiales (Haykin, 1994; Kröse y Smagt, 1993) pueden definirse como modelos computacionales formados por un conjunto de elementos que interactúan colectivamente. Estos modelos tienen ciertas propiedades tales como que son capaces de aprender o adaptarse, generalizar, o agrupar u organizar datos. La idea básica en este tipo de sistema es que su comportamiento se logra a partir de información previamente “almacenada”. Esta información o conocimiento se adquiere por un método de aprendizaje o entrenamiento.

Las redes neuronales tienen un amplio espectro de aplicaciones y, entre ellas, han sido utilizadas para modelar los sistemas de visión. En particular se han aplicado previamente con éxito en el análisis de imágenes microscópicas en entornos industriales: factorías azucareras (González, 1998) e Industrias Alimenticias (Plaza et al. 1999).

Las redes neuronales están formadas por unidades de proceso simples, conocidas como neuronas, que están interconectadas. Una neurona está compuesta de un conjunto de entradas, x_j , y una única salida, y_i . Cada entrada tiene asociado un peso, w_{ij} , que proporciona la ganancia entre la entrada j -ésima y la neurona i -ésima.

Para realizar las labores de clasificación, las neuronas suelen agruparse formando capas: las salidas de cada neurona se conecta a las entradas de otras neuronas, que pueden encontrarse en la misma capa, en la siguiente, o en una anterior. Esta combinación de capas y conexiones es lo que conforma la arquitectura de la red neuronal. El número de capas y de neuronas en cada una de ellas, se selecciona dependiendo de la aplicación para la que la red es diseñada.

La primera capa, en cualquier configuración definida, se denomina capa de entrada y recibe las entradas del mundo exterior, la última capa, denominada capa de salida, proporciona la salida del sistema nuevamente al mundo exterior y las capas intermedias, llamadas capas ocultas, llevan todo el peso del procesamiento principal de la red.

Para que la red asuma una actuación deseada debe realizarse un entrenamiento previo. En la literatura, existen diversos métodos denominados algoritmos o reglas de aprendizaje, que permitirán ajustar los pesos de la red (donde se conserva la “experiencia” que la red adquiere), basándose (para unos tipos de redes) en un conjunto de ejemplos del comportamiento que se espera de ella. Estos algoritmos pueden ser categorizados en supervisados, no-supervisados y reforzados. Los *algoritmos supervisados* son aquellos en los que se le suministra a la red pares de entrada/salida y se intenta encontrar una correspondencia entre estos. Los *algoritmos no-supervisados* solo disponen del conjunto de entrada y se intenta inferir alguna relación que agrupe las entradas en diferentes categorías. Estos tipos de entrenamientos son también conocidos como *auto-organizados*. Los *algoritmos reforzados* pueden verse como una categoría intermedia, donde se ofrece un criterio para indicar si la salida de ésta satisface los requerimientos deseados para una entrada dada.

3.2.2. Redes de aprendizaje de cuantificación de vectores

La red utilizada en nuestra aplicación corresponde a una red que utiliza un algoritmo no-supervisado en su capa oculta (para agrupar las clases) y aprendizaje supervisado en su capa de salida (para identificar al usuario a qué clase corresponde la imagen). El funcionamiento se basa en la utilización de Aprendizaje Competitivo, que se describe a continuación.

El aprendizaje Competitivo es un procedimiento de entrenamiento que divide el conjunto de elementos de entrada en grupos o clases a las que pertenecen, por alguna característica especial los datos de entrada. Un ejemplo de la topología con que puede ser entrenada una red con aprendizaje competitivo puede verse en la Figura 8.

Como se observa, todas las unidades de la capa de salida, que constituye la capa competitiva, están conectadas a todas las unidades de la capa de entrada. Los pesos de estas conexiones usualmente suelen estar normalizados, al igual que los vectores de entrada, en los intervalos $[0,1]$, $[-1,1]$, a longitud unidad.

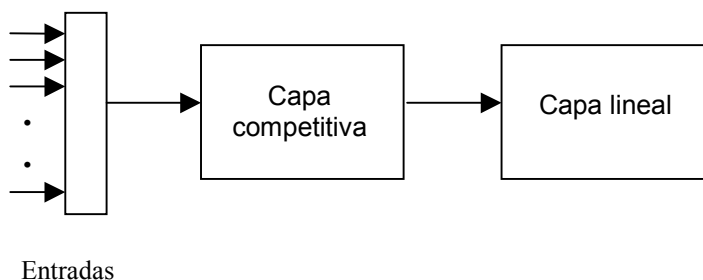


Figura 8: Red Competitiva

En primer lugar cada neurona en la capa competitiva calcula su valor de activación. Seguidamente se selecciona la *neurona ganadora*, entendiéndose como tal aquella que mejor coincida con el vector de entrada, según un cierto criterio de similitud. Sólo los pesos, conectados a la neurona ganadora k se actualizarán, mientras que los pesos restantes serán disminuidos. El ajuste que se logra haciendo que los pesos de la neurona ganadora se acerquen más al vector de entrada actual. De esta manera, el resultado neto es que la neurona ganadora será más probable que gane la competencia la próxima vez que un vector similar sea presentado. Por el contrario, será la menos probable de ganar cuando se presente un vector de entrada muy diferente.

3.2.3. Selección de las redes neuronales en Visión Artificial: redes LVQ

En el campo de la Visión Artificial, inicialmente se utilizaban redes “feed-forward”, del tipo Perceptron. Particularmente en la clasificación de patrones, una red “feed-forward” multicapa es capaz de clasificar los ejemplos o patrones de entrada correctamente, pero se necesita una enorme cantidad de conexiones. Posteriormente las redes auto-organizadas han ido jugando un mayor papel en la resolución de problemas de visión (Ahalt et al, 1990).

En cuanto a su uso como clasificadores de patrones visuales, se han utilizado principalmente han sido empleadas las redes ART (Maren et al., 1990). Su habilidad para crear una nueva categoría de patrones, cuando se le presenta un tipo nuevo de patrón, la hace muy atractiva para las aplicaciones de reconocimiento automático de objetivos.

Dentro de las redes que aprovechan el aprendizaje competitivo figuran las de Cuantificación de Vectores (LVQ). Este tipo de red divide el espacio de entrada en un número de subespacios disjuntos, “etiquetando” al vector de entrada si se encuentra completamente dentro del subespacio. La diferencia con el agrupamiento es que, más que encontrar grupos de datos similares, interesa cuantificar el

espacio de entrada. La cuantificación se realiza por la red competitiva, haciendo un seguimiento de la función de densidad de probabilidad de las entradas: la densidad de las neuronas es mayor, y por tanto el subespacio, en aquellas áreas donde las entradas tiene mayor probabilidad de aparecer, mientras que se obtiene una cuantificación más basta en aquellas áreas donde las entradas son más escasas.

En una gran cantidad de aplicaciones, las redes LVQ son combinadas con otro tipo de red, consiguiendo según la aplicación, un algoritmo de entrenamiento supervisado. Cuando se utilizan tres capas (Figura 8): capa de entrada, capa competitiva y una capa de salida, este tipo de red, permite realizar un entrenamiento supervisado de la capa competitiva, al relacionar las subagrupaciones (referidas como subclases) efectuada por las neuronas competitivas con calificaciones patrones (clases) definidas por el usuario.

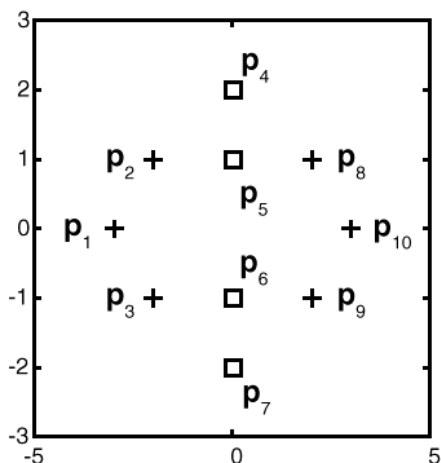


Figura 9: Espacio de rasgos con dos categorías: Vector de entrada

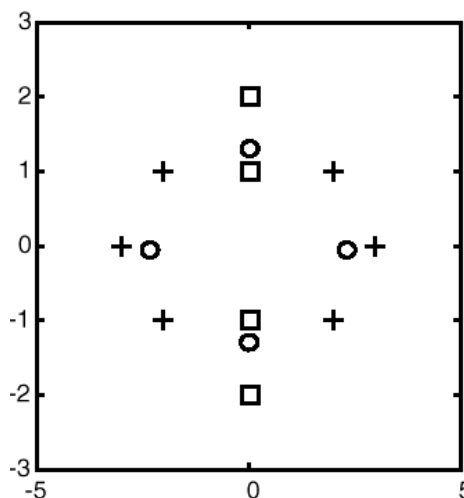


Figura 10: Espacio de rasgos con dos categorías: Pesos después del entrenamiento

Como se esquematiza en las Figuras 9 y 10, las neuronas en la capa competitiva ("o") serán capaces de distinguir estos subespacios y a través de las conexiones con la última capa, se asegura que los subespacios detectados por las dos primeras neuronas se categoricen como correspondientes a la primera clase, mientras que los otros dos serán clasificados en la segunda. Para esto, se inhiben (poniendo los pesos iguales a cero) las conexiones entre las neuronas competitivas y la neurona de salida de la clase diferente. Los vectores patrones de la salida, contendrán un 1 en la posición de la clase a la que corresponden.

De este modo, durante el entrenamiento la neurona que resulta ganadora se actualiza sólo su correspondiente patrón en la capa de salida vale 1. Así, los pesos de la neurona ganadora se mueven hacia el vector de entrada sólo si la neurona competitiva forma una subclase de la clase objeto. Si no, los pesos se alejan del vector de entrada.

3.2.4. Aplicación de la Clasificación de Patrones al Reconocimiento de Microorganismos

El patrón está formado por cuatro valores, por lo que el vector de entrada está formado por cuatro elementos. El número de neuronas en la capa competitiva, que se corresponde con la capa oculta de la red, así como el número de neuronas lineales de la capa de salida, son seleccionados de acuerdo a los objetivos clasificación (por ejemplo, en el caso de tener 5 clases de imágenes a reconocer, 5 neuronas).

Las conexiones entre la capa competitiva y la capa de salida establecen cuáles y cuántas neuronas de la primera capa corresponden a una clase determinada (enlaces continuos), inhibiéndose las conexiones con las restantes clases no adecuadas (enlaces de puntos).

En la Figura 8 se puede ver la arquitectura de una red CV para clasificar los microorganismos que podemos encontrar en el agua a depurar. R es el número de elementos del vector de entrada (en nuestro caso cuatro), S^1 es el número de neuronas competitivas y S^2 el número de neuronas lineales (en nuestro caso cinco)

Conclusiones

En cuanto a las redes neuronales como herramientas de clasificación, hemos podido constatar la validez de las mismas como técnica de clasificación del contenido de las imágenes tomadas del agua, en base a sus componentes frecuenciales.

Se ha mostrado la importancia de hacer un procesamiento previo de la imagen antes de extraer los rasgos necesarios para introducirlos en la red neuronal y obtener los resultados.

Como mejoras de este trabajo se plantea la posibilidad de mejorar el patrón de rasgos elegido: en primer lugar se puede considerar como patrón adicional la presencia de determinados colores en los objetos a detectar. Asimismo, para evitar el trabajo adicional para el usuario de colocar la imagen de forma que el objeto quede horizontal (para poder distinguir frecuencias verticales y horizontales) se propone la posibilidad de, o bien detectar esta dirección automáticamente utilizando la Transformada de Hough, o bien sustituir el patrón de rasgos por un patrón generado a partir de los vectores de frecuencia radial (independiente de la dirección) y varianza a lo largo de los puntos a la misma distancia del origen.

Como trabajo futuro más ambicioso, se plantea la posibilidad de hacer una clasificación de este tipo de imágenes no sólo en base a características frecuenciales de las imágenes sino también en base a características morfológicas. Esto es así debido a que dadas las características de los objetos que pueden encontrarse en las imágenes que se toman del agua y que conforman un grupo "reducido" constituido típicamente por algas acuáticas, bacterias, protozoos, diatomeas, etc. son en algunos casos muy similares.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado en parte por la Junta de Castilla y León, proyecto C01/200F. Agradecimiento especial a Pastora Vega (University of Salamanca, Spain) y a César de Prada (University of Valladolid, Spain) por su apoyo durante la realización de este trabajo. Agradecimientos especiales a Yolanda Martín, Susana Pérez y Francisco Santos, por la programación de los procedimientos de clasificación en Matlab.

Bibliografía

- [AFNOR, 2000] Norme française expérimentale "Détermination de l'Indice Biologique Diatomées (IBD)
- [Ahalt et al., 1990]. S. C. Ahalt, A. K. Krishnamurthy, P. Chen y D. E. Melton. 1990. "Competitive Learning Algorithms for Vector Quantization". Neural Networks. Vol 3. 1990
- [Bezdek and Pal, 1995] J.C. Bezdek, N.R. Pal. 1995. "Two Soft Relatives of Learning Vector Quantization". Neural Networks. Vol 8, N° 5, 1995.

- [Boyle and Thomas, 1988], Boyle R.D., Thomas R. C., Computer Vision: A First Course, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1988.
- [Caron, 2000] Denis Caron, TAX'IBD, Institut Supérieur d'Agriculture de Lille, Abril 2000
- [Demuth and Beale, 1992], Howard Demuth, Mark Beale. Neural Network Toolbox for Use With Matlab. User's guide. Version 3.0. Junio 1992.
- [Gonzalez, 1992], Gonzalez R.C. Digital Image Processing. Addison-Wesley, 1992.
- [González,1998] E.Susana González. Sensor Inteligente para el Proceso de Cristalización del Azúcar. Ingeniería de Sistema y Automática. Tesis Doctoral, Univ. de Valladolid. Abril 1988.
- [Haralick and Shapiro, 1992], Harlick R. y Shapiro L. Computer and Robot Vision.
- [Haykin, 1994], Haykin. Neural Networks. A comprehensive Foundation. MacMillan College. Publishing Company, 1994.
- [Krammer and Lange-Bertalot, 1986] Krammer, K, Lange-Bertalot H Bacillariophyceae 1., 2., 3. y 4. G Fischer Verlag, Stuttgart, (1986-91)
- [Kröse and Smagt.].B.J. A. Kröse & P.P. van der Smagt. "An introduction to Neural Networks". University of Amsterdam. 1993.
- [Kulkarni, 1994], A. D. Kulkarni. "Artificial Neural Networks for Image Understanding". International Thomson Publishing, 1994.
- [Laya et al., 1999], Laya, D., Matía, D., Tadeo, F. y Alvarez, T. " Aplicación de las wavelets en el análisis y clasificación de imágenes de cristales de azúcar", Universidad de Valladolid, 1999.
- [Maren et al., 1990]. A. Maren, C. Harston y R. Pap. "Handbook of Neural Computing Applications". Academic Press Inc., 1990.
- [Plaza et al., 1999] Plaza A., Cernadas E., Durán M.L., Sánchez J.M., Pretón M.J., Detección Automática de Vetas de Grasa en Jamón Ibérico. Jornadas de Automática, Salamanca, Septiembre 1999
- [Pratt, 1991], Pratt W. K., Digital Image Processing, John Wiley & Sons, New York, 1991.
- [Russ, 1994], John C. Russ. The image processing Handbook. Second Edition. CRC Press, 1994.
- [Russell and Norvig, 1995], S. Russell, P. Norvig. Artificial Intelligence, A Modern Approach, Prentice Hall, 1995.
- [Song and Lee, 1995], H. Song, S. Lee. "LVQ Combined with Simulated Annealing for

Optimal Design of Large-Set Reference Models". Neural Networks, Vol. 9, N° 2.