



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DE UN PROTOTIPO QUE PERMITA
EVALUAR LA ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA EN RATONES DE
LABORATORIO (*Mus musculus*) MEDIANTE LA PRUEBA DE
CAMPO ABIERTO USANDO PROCESAMIENTO DE IMÁGENES.

JUAN JOSÉ PAZMIÑO GORDILLO

Trabajo de Titulación modalidad Proyectos de Investigación y Desarrollo,
presentado ante el Instituto de Posgrado y Educación Continua de la ESPOCH,
como requisito parcial para la obtención del grado de:

MAGÍSTER EN SISTEMAS DE TELECOMUNICACIONES

RIOBAMBA-ECUADOR

JULIO 2019



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

CERTIFICACIÓN:

EL TRIBUNAL DEL TRABAJO DE TITULACIÓN CERTIFICA QUE:

El Trabajo de Titulación modalidad Proyectos de Investigación y Desarrollo, denominado: “DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DE UN PROTOTIPO QUE PERMITA EVALUAR LA ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA EN RATONES DE LABORATORIO (*Mus musculus*) MEDIANTE LA PRUEBA DE CAMPO ABIERTO USANDO PROCESAMIENTO DE IMÁGENES”, de responsabilidad del señor JUAN JOSÉ PAZMIÑO GORDILLO, ha sido minuciosamente revisado y se autoriza su presentación.

Tribunal:

Lcda. Pepita Alarcón MSc.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

FIRMA

Ing. Paúl David Moreno Avilés PhD.

DIRECTOR DE TESIS

FIRMA

Bqf. Gisela Alexandra Pilco Bonilla MSc.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

FIRMA

Ing. Mónica Andrea Zabala Haro MSc.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

FIRMA

Riobamba, Julio 2019

DERECHOS INTELECTUALES

Yo, Juan José Pazmiño Gordillo, declaro que soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este **Trabajo de Titulación modalidad Proyectos de Investigación y Desarrollo**, y el patrimonio intelectual generado por la misma pertenece exclusivamente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.



JUAN JOSÉ PAZMIÑO GODILLO

No. Cédula: 060424469-9

DEDICATORIA

A Dios, por todas las bendiciones recibidas, por ser mi fortaleza, por haber puesto a tanta gente buena en mi camino.

A mis padres Carlos y María, quienes siempre han sido un ejemplo de amor, responsabilidad y respeto para mí y toda la familia.

A mis hermanos Lorena, Catalina, Diego, Carlos Arturo, Laura y Carlos José, por toda su comprensión y apoyo incondicional.

A mis sobrinos Alejandro, Gabriela y Paula.

Juan José

AGRADECIMIENTO

Gracias Ing. David Moreno PhD., Bqf. Gisela Pilco MSc., Ing. Mónica Zabala MSc. e Ing. Oswaldo Martínez MSc. por el apoyo en este trabajo de titulación con su vasto conocimiento y experiencia.

A la Bqf. Jessenia Zurita por su apoyo y colaboración durante las pruebas de campo y la validación del presente proyecto.

A todos los profesores y personal administrativo del Programa de Maestría y de la Facultad de Informática y Electrónica de la ESPOCH por su excelente profesionalismo y colaboración.

Juan José.

CONTENIDO

RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xivv
CAPÍTULO I	1
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Planteamiento del Problema	1
<i>1.1.1 Situación Problemática</i>	<i>1</i>
<i>1.1.2 Formulación del Problema</i>	<i>2</i>
1.2 Preguntas directrices o específicas	2
1.3 Justificación	3
1.4 Objetivo General	3
1.5 Objetivos Específicos	4
1.6 Hipótesis	4
CAPÍTULO II	5
2. MARCO TEÓRICO	5
2.1 Antecedentes del Problema	5
2.2 Bases Teóricas	6
<i>2.2.1 Modelos animales para el estudio de la ansiedad</i>	<i>6</i>
<i>2.2.1.1 Modelos de respuesta condicionada</i>	<i>7</i>
<i>2.2.1.2 Modelos de respuesta no condicionada</i>	<i>7</i>
<i>2.2.2 Prueba de Campo Abierto</i>	<i>8</i>
<i>2.2.3 Mus musculus</i>	<i>9</i>
<i>2.2.3.1 Clasificación Taxonómica</i>	<i>10</i>
<i>2.2.3.2 Comportamiento</i>	<i>10</i>
<i>2.2.4 Representación de una imagen</i>	<i>11</i>
<i>2.2.4.1 Formato de pixel RGB</i>	<i>11</i>
<i>2.2.4.2 Formato de Pixel YUV</i>	<i>12</i>
<i>2.2.5 Análisis y procesamiento de imágenes</i>	<i>13</i>
<i>2.2.5.1 Métodos de dominio espacial</i>	<i>13</i>

2.2.5.2	<i>Segmentación</i>	17
2.2.5.3	<i>Detección de Contornos</i>	17
2.2.5.4	<i>Propiedades Geométricas</i>	19
2.2.5.5	<i>Procesamiento morfológico de imágenes</i>	20
2.2.6	<i>Matlab</i>	22
2.2.7	<i>Sistema de Grabación IP</i>	23
2.2.7.1	<i>Cámara IP</i>	23
2.2.7.2	<i>Administración de Grabación</i>	24
2.2.7.3	<i>Compresión de imágenes y video</i>	25
CAPÍTULO III		29
3.	METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN	29
3.1	Tipo y Diseño de Investigación	29
3.2	Métodos de la Investigación	29
3.3	Enfoque de Investigación	30
3.4	Alcance de la Investigación	30
3.5	Población de Estudio	30
3.6	Unidad de Análisis	30
3.7	Selección de la Muestra	31
3.8	Técnica de recolección de datos primarios y secundarios	31
3.9	Instrumentos de recolección de datos primarios y secundarios	31
3.10	Instrumentos para procesar datos recopilados	31
3.11	Desarrollo del Sistema	32
3.11.1	<i>Elementos de Integración</i>	32
3.11.2	<i>Integración del Hardware</i>	33
3.11.2.1	<i>Infraestructura de grabación</i>	33
3.11.2.2	<i>Propiedades de grabación</i>	35
3.11.3	<i>Software de Procesamiento de video</i>	36
3.11.3.1	<i>Ingreso de videos y pre-procesamiento.</i>	36
3.11.3.2	<i>Procesamiento para la ubicación y distancia recorrida</i>	39

3.11.3.3	<i>Procesamiento para la velocidad</i>	41
3.11.3.4	<i>Procesamiento para las defecaciones</i>	41
3.11.3.5	<i>Procesamiento para las elevaciones</i>	42
3.11.3.6	<i>Procesamiento para el tiempo en ubicaciones específicas</i>	43
3.11.4	<i>Almacenamiento de la información</i>	44
3.11.5	<i>Gráficas estadísticas</i>	44
3.11.5.1	<i>Mapa de Calor</i>	45
3.11.5.2	<i>Trayectoria</i>	46
3.11.5.3	<i>Distancia Recorrida</i>	46
3.11.5.4	<i>Velocidad media</i>	47
3.11.5.5	<i>Defecaciones</i>	48
3.11.5.6	<i>Elevaciones</i>	48
CAPÍTULO IV	49
4.	RESULTADOS	49
4.1	Datos Almacenados	49
4.2	Evaluación estadística de parámetros	51
4.2.1	<i>Número de defecaciones</i>	51
4.2.2	<i>Número de elevaciones</i>	51
4.2.3	<i>Tiempos de permanencia en lugares específicos</i>	52
CONCLUSIONES	53
RECOMENDACIONES	54
BIBLIOGRAFÍA		
ANEXOS		
A		

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2 Pruebas utilizadas para evaluar la ansiedad	8
Tabla 2-2 Clasificación taxonómica del ratón.....	10
Tabla 3-2 Gradientes Roberts y Sobel	12
Tabla 1-4 Resumen de parámetros obtenidos por el sistema de los diez primeros videos. .	42
Tabla 2-4 Número de defecaciones	43
Tabla 3-4 Número de elevaciones.....	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-2 Ratón <i>Mus musculus</i>	10
Figura 2-2 Convención de coordenadas para una imagen	11
Figura 3-2 Combinación de colores RGB	12
Figura 4-2 a) Imagen a escala de grises, b) Imagen con matrices RGB sobrepuestas.....	12
Figura 5-2 Plantilla de vecinos de 3x3	14
Figura 6-2 Función negativo de una imagen	155
Figura 7-2 Imagen y su Histograma	15
Figura 8-2 Imagen e Histograma ecualizados	16
Figura 9-2 a) Pixel y su plantilla, b) Pixel y plantilla después del filtrado de mediana.....	17
Figura 10-2 a) Imagen binaria, b) Imagen después del filtrado de mediana	17
Figura 11-2 a) Imagen de Elaine, b) Imagen de contornos de Elaine.....	19
Figura 12-2 a) Imagen en escala de grises, b) Imagen Binarizada, c) Imagen Erosionada.....	21
Figura 13-2 a) Imagen en escala de grises, b) Imagen Binarizada, c) Imagen Dilatada.....	21
Figura 14-2 Sistema de grabación IP.....	23
Figura 15-2 Estructura de una Cámara IP	23
Figura 16-2 Cámaras IP	24
Figura 17-2 Software de administración D-ViewCam de D-LINK.....	25
Figura 18-2 Compensación de movimientos basadas en bloques.....	26
Figura 1-3 Esquema general del sistema	33
Figura 2-3 Altura mínima de la cámara.....	34
Figura 3-3 Sistema de grabación.....	35
Figura 4-3 Visualización de la primera imagen cuando el programa lee el video	36
Figura 5-3 Selección de la base de la caja e ingreso de coordenadas.....	37
Figura 6-3 a) Componente rojo en escala de grises, b) Detección de contornos Canny, c) Dilatación, d) Ubicación o centro de masa	38
Figura 7-3 Imagen binarizada.....	39
Figura 8-3 Imagen con Filtro de mediana de 6x6	40
Figura 9-3 Resultados de la función <i>regionprops</i>	40
Figura 10-3 a) Componente roja en escala de grises, b) Umbralización de la imagen a, c) negativo de la imagen b.....	41
Figura 11-3 Resultados de la función <i>regionprops</i>	42

Figura 12-3 Componente roja en escala de grises a) imagen en 24,07s; b) imagen en 24,96s; c) imagen en 25,85s.....	42
Figura 13-3 Componente roja binarizada y filtrada a) imagen en 24,07s; b) imagen en 24,96s; c) imagen en 25,85s.....	43
Figura 14-3 División de la base de la caja.....	43
Figura 15-3 Hoja de cálculo diseñada con resultados almacenados por el programa.....	44
Figura 16-3 Área de opciones de visualización de gráficas estadísticas.	45
Figura 17-3 Mapa de Calor	45
Figura 18-3 Trayectoria.....	46
Figura 19-3 Distancia Recorrida.....	47
Figura 20-3 Velocidad Media	47
Figura 21-3 Defecaciones	48
Figura 22-3 Elevaciones.....	48

ABREVIATURAS

IP	Internet Protocol: Protocolo de Internet
MATLAB	Matrix Laboratory: Laboratorio de Matrices
TIC	Tecnologías de Información y la Comunicación
IBM	International Business Machines
PC	Personal Computer: Computador personal
RGB	Red Green Blue: Rojo Verde Azul
RAM	Random Access Memory: Memoria de Acceso Aleatorio
LAN	Local Area Network
WLAN	Wireless Local Area Network: Red de Área Local Inalámbrica
PAN	Personal Area Network: Red de Área Personal
WAN	Wide Area Network: Red de Área Extensa
JPEG	Joint Photographic Experts Group:
FPS	Frames Per Second: Cuadros por Segundo
MPEG	Moving Picture Experts Group:
PTZ	Pan, Tilt and Zoom:
ARP	Address Resolution Protocol: Protocolo de Resolución de Direcciones
TCP	Transmission Control Protocol: Protocolo de Control de Transmisión
UDP	User Datagram Protocol: Protocolo de Datagrama de Usuario
ICMP	Internet Control Message Protocol: Protocolo de Mensajes de control de Internet
DHCP	Dynamic Host Configuration Protocol: Protocolo de Configuración de Host Dinámico
HTTP	Hypertext Transfer Protocol: Protocolo de Transferencia de Hipertexto
USB	Universal Serie Bus: Bus Universal en Serie
AVI	Audio Video Interleave: Entrelazado de Audio y Video
GUI	Grafical User Interface: Interfaz Gráfica de Usuario

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un prototipo de un sistema electrónico basado en procesamiento de imágenes, que permita automatizar la obtención de los parámetros de la prueba, que tradicionalmente se obtenían mediante la simple observación. El modelo de Campo Abierto es una prueba utilizada para determinar el impacto ansiolítico provocado por sustancias o medicamentos en ratones de laboratorio. Evalúa la ansiedad ponderando ciertos parámetros conductuales: distancia recorrida, velocidad media, número de defecaciones y elevaciones. Se inició analizando las técnicas de procesamiento de imágenes en base al fundamento teórico para su posterior implementación. El sistema está compuesto de una caja de acrílico donde se ubica al ratón, un soporte para la cámara IP que envía inalámbricamente las imágenes al computador con el programa de grabación y el software desarrollado en Matlab que procesa los videos . El resultado se indica a través de la interfaz gráfica y se puede guardar en una hoja de cálculo. El prototipo se validó estadísticamente con un grupo de animales dando una probabilidad de éxito superior al 99% obteniendo los parámetros de la prueba correctamente. Se recomienda tener una iluminación controlada durante la prueba, para evitar errores en el análisis de los videos.

Palabras clave: <TECNOLOGÍA Y CIENCIAS DE LA INGENIERÍA>, <TELECOMUNICACIONES>, <PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMAGENES>, <MATLAB (SOFTWARE-HARDWARE)>, <PRUEBA DE CAMPO ABIERTO>, <EVALUACIÓN ANSIOLÍTICA>



SUMMARY

The objective of the present work was to develop a prototype of an electronic system based on image processing that allows automating the obtaining of the parameters of the test, which traditionally were obtained by simple observation. The Open Field model is a test used to determine the anxiolytic impact caused by substances or drugs in laboratory mice. Evaluate anxiety by weighing certain behavioral parameters: distance traveled, average speed, number of bowel movements and elevations. It began analyzing the techniques of image processing based on the theoretical basis for its subsequent implementation. The system is composed of an acrylic box where the mouse is located, support for the IP camera that wirelessly sends the images to the computer with the recording program and the software developed in Matlab that processes the videos. The result is indicated through the graphical interface and can be saved in a spreadsheet. The prototype was validated statistically with a group of animals giving a probability of success over 99% obtaining the parameters of the test correctly. It is recommended to have controlled lighting during the test, to avoid errors in the analysis of the videos.

Keywords: <TECHNOLOGY AND SCIENCE OF ENGINEERING>, <TELECOMMUNICATIONS>, <DIGITAL PROCESS OF IMAGES>, <MATLAB (SOFTWARE-HARDWARE)>, <OPEN FIELD TEST>, <ANXIOLYTIC EVALUATION>.



CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Planteamiento del Problema

1.1.1 *Situación Problemática*

La ansiedad es la anticipación de algún peligro, donde el ser humano puede experimentar una sensación desagradable con síntomas físicos localizados en ciertas áreas del cuerpo. Se puede asociar con términos como congoja, preocupación, incertidumbre, etc. (Reyes-Ticas, 2005).

La ansiedad, así como tiene un impacto emocional, también puede inducir un comportamiento específico, que se puede producir a causa de ciertos eventos o sucesos en su entorno. Los efectos conductuales producidos por la ansiedad se pueden registrar y valorar en animales de experimentación, en los cuales, esta alteración conductual se puede reflejar en forma de inmovilidad o la inhibición de una respuesta conductual (Molina et al., 2005).

La ansiedad, como síntoma de alguna patología o como efecto secundario de algún medicamento, ha sido analizada a través de modelos animales que simulan la reacción en seres humanos. Actualmente existen alrededor de treinta modelos animales para el estudio de la ansiedad, algunos recurren a respuestas condicionadas y otros modelos utilizan respuestas más naturales de la especie, por lo que son considerados modelos de respuestas no condicionadas, dentro de estos modelos de respuesta no condicionada podemos encontrar varias pruebas como: campo abierto, tabla de agujeros, supresión condicionada, caja de dos compartimientos blanco-negro, laberinto elevado en cruz, etc. (Polanco et al., 2012).

La prueba de campo abierto, que es una de las más utilizadas, consiste en exponer a un ratón de laboratorio a un ambiente desconocido del cual no pueda escapar, este ambiente puede ser una caja vacía bien iluminada, con una base de 68×68[cm] y una altura de 45[cm]. Se analiza el comportamiento motriz del ratón midiendo parámetros específicos como: elevación, actividad motora periférica, locomoción, velocidad, entre otras (Vogel et al., 2013).

Para la medición de parámetros o indicadores se han desarrollado varios procedimientos, como dibujar cuadrículas en la base de la caja, que sirven como referencia para determinar la ubicación del ratón a todo momento, en este procedimiento se requiere comúnmente que una o varias persona registren manualmente las actividades del ratón durante el tiempo de la prueba para un posterior análisis. Sin embargo, al realizarlo de esta forma, mediante la simple visualización y toma de muestras, se pueden originar errores causados por un breve descuido de la persona que realiza el test, quizás mientras toma apuntes de algún evento específico. Estas imprecisiones en la medición originan errores en la interpretación final, haciendo que la veracidad, precisión o eficiencia del test sea menor.

Existen soluciones apoyadas en la tecnología para mejorar la precisión de la medición de estos parámetros, estos procedimientos consisten en una serie de elementos electrónicos (fotorresistencias, láseres, infrarrojos, botones, etc.), colocados en diferentes posiciones alrededor de la caja (Vogel et al., 2013). Los elementos registran la actividad del ratón para su posterior análisis. Estos procedimientos en general involucran una gran circuitería, complejidad o en su defecto, la adquisición de equipos dedicados hechos por fabricantes especializados, pero cuyos costos son elevados.

1.1.2 *Formulación del Problema*

¿El prototipo de evaluación de actividad ansiolítica en ratones de laboratorio permitirá registrar y analizar de manera automática las variables indicativas de la prueba de campo abierto?

1.2 Preguntas directrices o específicas

¿Cuál es el método de obtención y transmisión de las muestras tomadas desde la cámara hacia la PC?

¿Cuáles son las técnicas de procesamiento de imágenes que servirán para identificar los eventos de la prueba de campo abierto?

¿Cuál es el procesamiento de la información necesario para presentar los resultados de la actividad ansiolítica del ratón de laboratorio?

¿Con que método se pueden validar los resultados presentados?

1.3 Justificación

El uso de la tecnología ha sido de gran importancia en diversas áreas de la ciencia haciendo los siguientes aportes: ayudar a verificar y validar datos con mayor precisión, procesar información casi instantáneamente, automatizar procesos y un sin número de beneficios más, haciendo que el trabajo de los investigadores sea más eficiente (Fernández, 1998).

Hoy en día, el procesamiento digital de imágenes es una rama de las TIC's que más se ha desarrollado con el paso de los años y tiene como finalidad obtener información útil del ambiente y realizar una tarea específica. Una de sus ventajas son las distintas opciones de manipulación que ofrece, así como el hecho de procesar las imágenes para obtener información y dar la posibilidad de reconocer, contar, medir tamaño, forma, posición, velocidad, altura o densidad de determinados objetos (García Luna, 2001).

Actualmente el Bioterio de Facultad de Ciencias, de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, no cuenta con equipos especializados específicamente en la prueba de campo abierto, la automatización de esta prueba sería de gran ayuda para el investigador, liberándolo de mediciones manuales sujetas a errores humanos y de procesamiento de información, optimizando en gran medida su trabajo.

La solución propuesta en el presente proyecto consiste en un sistema de captura y procesamiento de imágenes que sea capaz de identificar y medir los eventos o parámetros de la prueba de campo abierto, ya que es una de las pruebas más utilizadas para evaluar la actividad ansiolítica en ratones de laboratorio, comportamiento que es fundamental en el análisis de tratamientos experimentales. A su vez, se dotaría al Bioterio de la Facultad de Ciencias de una herramienta tecnológica que pueda dar mayor eficiencia a su trabajo y siendo un precedente de cooperación y sinergia entre las Facultades de la ESPOCH.

1.4 Objetivo General

Diseñar e implementar un prototipo que permita evaluar la actividad ansiolítica en ratones de laboratorio (*Mus musculus*) mediante la prueba de campo abierto usando procesamiento de imágenes.

1.5 Objetivos Específicos

Elaborar una base teórica sobre las principales técnicas de procesamiento digital de imágenes que pueden ser utilizadas en la elaboración del prototipo.

Diseñar e implementar un prototipo, basado en el procesamiento digital de imágenes, de reconocimiento y medición de las variables indicativas de la prueba de campo abierto.

Diseñar algoritmos específicos para procesar la información obtenida del prototipo.

Implementar un software que permita mostrar los resultados de la evaluación de la actividad ansiolítica.

Verificar la validez de los resultados obtenidos.

1.6 Hipótesis

Las técnicas de procesamiento de imágenes permitirán diseñar e implementar un prototipo para evaluar la actividad ansiolítica en ratones de laboratorio (*Mus musculus*) mediante la prueba de campo abierto.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes del Problema

Existen varias pruebas que ha utilizado la ciencia para evaluar los comportamientos de ansiedad en animales, y con esto, medir el efecto de los ansiolíticos y otros fármacos. Pruebas que se basan en la reacción de los roedores en circunstancias específicas, dentro de las cuales se puede mencionar: campo abierto, cuarto claro/oscuras, laberinto elevado en cruz y la interacción social (Gómez et al., 2002)

La prueba de campo abierto fue descrita por primera vez en 1934 por Hall, para evaluar el estado emocional de los animales de experimentación. Hall diseñó una superficie iluminada circular de aproximadamente 1,2m de diámetro, con una pared de 0,45m de alto. Las ratas se colocaban individualmente en el campo abierto y se observaba su comportamiento durante dos minutos en días consecutivos. De acuerdo a la evaluación se clasificaron con un mayor grado de ansiedad a las que pasaban menos tiempo en la parte central y que tenían un mayor número de defecaciones comparando con sus congéneres normales (Vogel et al., 2013).

Con el tiempo las características de la prueba han ido evolucionando en cuanto a la iluminación, la existencia o ausencia de objetos, etc. convirtiéndose en una prueba muy popular en investigaciones de farmacología o psicología. De igual forma se ha variado el tamaño de campo abierto, demostrándose que afecta sobre algunos aspectos de la conducta en diversas especies; el color a variado de blanco al negro, subdivisiones; la altura de las paredes; textura del piso que ha incluido madera, metal, concreto, caucho, vidrio; olores dentro del campo; sonidos adicionales; la visibilidad del observados entre otras (Walsh & Cummins, 1976).

Desde la década de los 50 varios investigadores se han apoyado de la tecnología para optimizar el proceso de realización de las pruebas. La interrupción de haces de luz visible e infrarroja como medida de movimientos ha sido utilizada ampliamente y es capaz de registrar no solo la actividad motora general, sino también la locomoción y la velocidad de locomoción. Además de la

interrupción de haces de luz, dispositivos basados en sistemas de capacitancia han sido desarrollados y son ampliamente utilizados (Vogel et al., 2013).

Nikodijevic et al. (1991) estudiaron los efectos del comportamiento de agonistas y antagonistas de adenosina A1 y A2 en ratones. En la investigación se utilizó un monitor de actividad Digiscan (Omnitech Electronics Inc., Columbus, OH) equipado con una computadora compatible con IBM. El sistema incluía jaulas de monitoreo de actividad múltiple (40 × 40 × 30,5 cm), cada una de las cuales estaba rodeado de sensores horizontales y verticales no detectables por el roedor.

Vorhees et al. (1992) utilizaron un sistema de actividad locomotora para roedores. El sistema consiste en una cámara de prueba de color negro, ventilada e internamente iluminada con un techo con una cámara de video montada. La imagen de la cámara es transmitida a un rastreador sensible al contraste que localiza el punto de mayor contraste y retransmite las coordenadas digitalizadas a una PC y el software dedicado almacena la información y simultáneamente muestra un mapa del sujeto rastreado.

Ströhle et al., (1997) montó una cámara de video conectada directamente a una computadora por encima de seis cajas locomotoras (60 × 60 cm cada una). La distancia recorrida por la rata en un intervalo de 20 minutos se determinó con un video digitalizador (TSE Systems, Bad Homburg, Alemania).

2.2 Bases Teóricas

2.2.1 Modelos animales para el estudio de la ansiedad

El miedo es la respuesta de un animal frente a una amenaza que ponga en riesgo su vida. Sin embargo, cuando este miedo es excesivo en los seres humanos, se puede considerar como una patología denominada trastorno de ansiedad, el cual se presenta en forma de fobias, ansiedad generalizada, trastorno de pánico, etc. (Gómez et al., 2002).

Las alteraciones conductuales en seres humanos a causa del miedo son semejantes a las presentadas en diversas especies del reino animal, debido a su conexión evolutiva. De ahí, que se puedan utilizar modelos animales para estudiar el impacto de fármacos en el sistema nervioso (Gómez et al., 2002).

2.2.1.1 *Modelos de respuesta condicionada*

Los modelos de respuesta condicionada permiten al investigador tener un control más preciso de los niveles de conducta del animal, ya que están fundamentados en la capacidad de respuesta del sujeto de experimentación ante un estímulo generalmente molesto o doloroso (Gómez et al., 2002)

En los modelos de respuesta condicionada los sujetos de experimentación requieren pasar por una etapa previa de adaptación y entrenamiento. Se debe tener un grupo de control, con el fin de descartar los efectos no específicos del tratamiento sobre distintas funciones como la memoria, el apetito, etc. (Polanco et al., 2012).

Una respuesta condicionada consiste, por ejemplo, en administrar una leve corriente eléctrica al animal de experimentación, también se pueden adicionar tonos de luz o estímulos auditivos. La evaluación de respuesta condicionada provoca inmovilidad en las diferentes especies, permitiendo evaluar el temor del animal (Polanco et al., 2012).

2.2.1.2 *Modelos de respuesta no condicionada*

En estos modelos se utiliza la curiosidad y otros comportamientos naturales de los animales de experimentación, ante estímulos y situaciones estresantes o nuevas. En la mayoría de las pruebas de este tipo, el sujeto es expuesto a espacios abiertos, cerrados, con luces brillantes, con poca iluminación, etc. para evaluar su respuesta conductual o fisiológica (Cruz et al., 2003).

La ventaja principal de estos modelos radica en la utilización ecológica, al ser una prueba rápida, sencilla y económica. En cuanto a la evaluación de la ansiedad, no se requiere de largas técnicas de formación que impliquen codificaciones de conducta en los sujetos que se están analizando (Cruz et. al., 2003).

En la Tabla 1-2 se pueden observar las pruebas para evaluar la ansiedad basadas en modelos de respuesta condicionada:

Tabla 1-2 Pruebas utilizadas para evaluar la ansiedad

MODELOS DE RESPUESTA NO CONDICIONADA	MODELOS DE RESPUESTA CONDICIONADA
Campo Abierto	Respuesta emocional condicionada
Tabla de agujeros	Supresión condicionada
Caja de dos compartimentos blanco-negro	Evitación pasiva/activa
Laberinto elevado en cruz	Prueba de cuatro planos
Interacción social	Test de conflicto de Geller-Seifter
Supresión de la ingesta inducida por la novedad	Condicionamiento de vocalización ultrasónica
Contraste negativo	Estimulación eléctrica cerebral
Conducta defensiva de enterramiento	Modelo de Thiébot de retirada de la señal de seguridad
Holeboard	Efecto del reforzamiento parcial sobre la extinción

Fuente: (Zurita J, 2018)

2.2.2 *Prueba de Campo Abierto*

La prueba de campo abierto está basada en modelos de respuesta no condicionada y se utiliza para evaluar la actividad ansiolítica. Esta prueba se implementó por primera vez en 1934 y desde ahí, los investigadores la han ido adaptando a sus requerimientos. Inicialmente tenía una forma circular, pero actualmente se utiliza una forma cuadrada o rectangular. Se puede trabajar con iluminación natural o artificial, e incluso se puede modificar el color de la luz o añadir objetos (Zurita, 2018).

La prueba de campo abierto consiste en medir diversas conductas del animal de experimentación. El ratón se ubica en una superficie vacía sin objetos, en donde no puede escapar. Al iniciar la prueba se coloca al animal en el centro del instrumento, el tiempo de análisis varía en función del criterio del investigador; generalmente oscila entre 5 a 20 minutos. El comportamiento a valorar es específico y con resultados definidos (Prut & Belzung, 2003).

En la prueba se evalúan parámetros conductuales como: distancia recorrida, deambulación, actividad exploratoria o número de elevaciones, intentos de fuga, tiempo sin movimiento, ubicaciones en las zonas del campo, en las paredes, etc. Al igual que los movimientos corporales en cuanto a manipulación de objetos, olfateo, rascarse, excavar, acicalarse, exploración visual entre otros. Además medidas del sistema nervioso autónomo (defecación, micción, frecuencia cardíaca y ritmo, respiración) (Zurita, 2018).

En la prueba de campo abierto el comportamiento del sujeto de experimentación puede ser alterado durante la realización de la prueba por factores visuales, táctiles, auditivos, etc. La cantidad de alimento que ha recibido el ratón antes de la prueba, es un factor que puede alterar el nivel de exploración del sujeto. De igual manera, la iluminación es otro factor que puede alterar los resultados, debido a que puede modificar el reloj interno del animal relacionado con las conductas (Prut & Belzung, 2003).

2.2.3 *Mus musculus*

El ratón es un animal mamífero de sangre caliente que posee hábitos nocturnos. Por su pequeño tamaño esta especie es muy sensible a cambios ambientales, debido a que una variación de la temperatura en el rango de 2 a 3°C, puede modificar su fisiología (Benavides & Guénet, 2003, pp 312).

El tamaño del ratón en su etapa adulta oscila entre 12 a 15 cm desde la punta de la cola a la punta de la nariz; la longitud de la cola es igual a la longitud del cuerpo. Después del parto las crías tienen un peso aproximado entre 1 a 2 gramos, con un aumento considerable de peso durante la lactancia; hasta llegar a unos 30 gramos en la etapa adulta. (Benavides & Guénet, 2003, pp 312). Poseen un agudo sentido auditivo, así también su sentido del olfato está muy desarrollado, para identificar comida y depredadores. Su visión en cambio es muy pobre, no pudiendo percibir los colores (Balseca & Vinuesa, 2016, pp 26).

El ratón de laboratorio se adapta a una gran variedad de condiciones ambientales y climas, desde zonas tropicales a regiones muy frías, con preferencia por las zonas secas (Benavides & Guénet, 2003, pp 312).

Presentan un sistema social bien desarrollado, el cual depende de la densidad de poblacional, por lo que son aptos para modelos sobre determinaciones in vivo para análisis de trastornos sociales y cognitivos. Comúnmente son muy mansos, con excepción de algunas cepas sobre las cuales no se tenga estricto control en su cría, a las cuales se les denomina exocriadas y se caracterizan por mantener su agresividad, al igual que sus antecesores salvajes (Balseca & Vinuesa, 2016, pp 26).



Figura 1-2 Ratón *Mus Musculus*

Fuente: (Geréz & Gullace, 2011, pp 56).

2.2.3.1 Clasificación Taxonómica

En la siguiente tabla se resume la clasificación taxonómica del ratón:

Tabla 2-2 Clasificación taxonómica del ratón.

Clasificación Taxonómica	
Clase:	<i>Mammalia</i>
Familia:	<i>Muridae</i>
Género:	<i>Mus</i>
Especie:	<i>Mus musculus</i>

Fuente: (Geréz & Gullace, 2011, pp 56).

2.2.3.2 Comportamiento

El ratón de laboratorio es un animal que se mantiene en grupos sin ningún problema, ya que posee una naturaleza sociable. Sin embargo, algunas cepas de machos pueden presentar ciertos signos de agresividad a pesar de haber sido agrupados desde temprana edad. En un grupo de machos existe uno dominante que puede ser muy agresivo. En contraste, no se registran con frecuencia incidentes de peleas en hembras, inclusive cuando se hayan agrupado en una misma jaula en la edad adulta (Balseca & Vinueza, 2016, pp 26).

Se alimentan durante todo el día, pero con mayor volumen durante el periodo de oscuridad, de igual manera su consumo de agua es más abundante en el periodo de oscuridad. El ratón de laboratorio divide su caja en áreas específicas para comer, dormir, orinar y defecar. Las hembras previo al parto construyen un nido en el que permanecen mucho tiempo para el cuidado de sus crías (Balseca & Vinuela, 2016, pp 26).

2.2.4 Representación de una imagen

Se puede representar una imagen como una matriz de muestras, denominadas píxeles, con valores específicos y espaciados uniformemente. Cuando las imágenes son representadas de esta manera se las denomina imágenes digitales; y pueden ser definidas por una función $f(x,y)$, donde x y y son coordenadas espaciales, y el valor que toma la función en cada coordenada (x,y) se denomina intensidad (Mendoza, 2009).

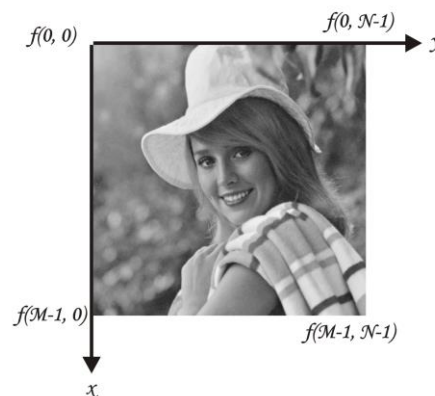


Figura 2-2 Convención de coordenadas para una imagen
Fuente: (Mendoza, 2009).

Como se observa en la Figura 2-2, la imagen posee una cantidad de M filas y N columnas, el origen de la imagen con coordenadas $(x,y) = (0,0)$ se encuentra en la parte superior izquierda. Dentro de cada coordenada se encuentra el valor de la intensidad de cada píxel L , este es un valor discreto representado por varios bits de acuerdo a la resolución que se desee (Mendoza, 2009).

2.2.4.1 Formato de pixel RGB

Para el caso de las figuras a color se usa un modelo denominado RGB (Red, Green y Blue) en el cual, es posible representar un color mediante la mezcla por adición de tres colores primarios: rojo, verde y azul. Este modelo funciona bien sobre un “fondo negro”, por ejemplo una pantalla de computador, (Roncagliolo, 2008).

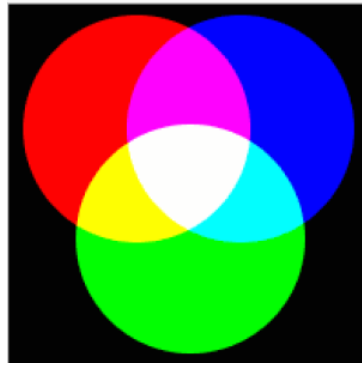


Figura 3-2 Combinación de colores RGB

Fuente: (Roncagliolo, 2008).

En las imágenes a color se tienen tres matrices de colores RGB de las mismas dimensiones sobrepuestas para obtener distintas tonalidades, como se muestra en la Figura 4-2.

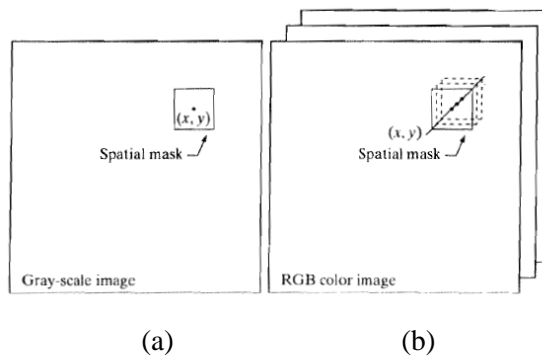


Figura 4-2 a) Imagen a escala de grises, b) Imagen con matrices RGB sobrepuestas.

Fuente: (Gonzalez & Woods, 2007).

Específicamente el formato Rgb24 usa 24 bits de datos por píxel (8 bits por píxel para cada uno de los tres colores primarios: rojo, verde y azul). Se traduce en 256 tonalidades de cada color primario para proporcionar un máximo de 16 millones de colores para cada imagen (Colmenar & Castro, n.d.).

2.2.4.2 Formato de Pixel YUV

YUV es un formato de codificación de color para las imágenes naturales en el que son independientes la luminancia (el componente en blanco y negro de una señal de vídeo que controla la intensidad de luz) y la crominancia (el componente de color de la señal de vídeo). El ojo humano es menos sensible a las variaciones de color, que a las variaciones de intensidad.

YUV hace la codificación de la información de luminancia (Y) en el ancho de banda completo y la información de crominancia (UV) en la mitad de ancho de banda (Colmenar & Castro, n.d.).

Formatos YUV se subdividen en dos grupos: comprimidos y planos. En el formato comprimido, los componentes Y, U y V se almacenan en una sola matriz. Los tres componentes se empaquetan en lo que se conoce como un macropíxel (dos píxeles almacenados en un valor entero sin signo). Por el contrario, el formato de plano almacena estos componentes en tres matrices independientes y combina los planos para formar la imagen (Colmenar & Castro, n.d.).

2.2.5 *Análisis y procesamiento de imágenes*

El análisis de imágenes se utiliza para extraer información o algún dato de interés por medio de técnicas y operaciones. Por otro lado, el procesamiento de imágenes consiste en obtener otra imagen con alguna característica diferente a la imagen original. Ambos conceptos pueden complementarse dependiendo de la necesidad o el problema que se desee solucionar (Mendoza, 2009).

2.2.5.1 *Métodos de dominio espacial*

Los métodos de dominio espacial realizan una operación sobre una imagen $f(x,y)$ haciendo un recorrido sobre cada uno de sus píxeles, operación denominada *mapping*, para obtener una nueva imagen $g(x,y)$. La operación efectuada T , puede tomar en cuenta para la transformación, a los vecinos del píxel que se está analizando, denominado r . A los píxeles vecinos al píxel que se está analizando se los denomina plantilla o vecindario; y el píxel resultante de la operación o transformación realizada se denomina s (Mendoza, 2009).

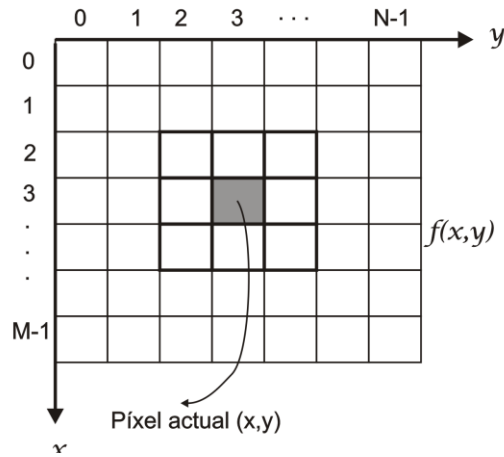


Figura 5-2 Plantilla de vecinos de 3x3
Fuente: (Mendoza, 2009).

- *Binarización y umbral*

La binarización es el proceso de convertir los valores de cada pixel de la imagen a solo dos posibles: blanco (1 lógico) o negro (0 lógico). Esta conversión se la realiza a través de un valor denominado umbral, que es el valor de referencia para la operación. Todos los valores de pixel menores al umbral serán convertidos a negro; y todos los valores de pixel mayores o iguales al umbral serán convertidos a blanco (Gonzalez & Woods, 2007).

$$s = \begin{cases} 1, & r \geq \text{umbral} \\ 0, & r < \text{umbral} \end{cases} \quad \text{Ec. 1-2}$$

- *Negativo*

El negativo de una imagen con una escala de valores en cada pixel de 0 a L-1, se obtiene al restar al valor de cada de sus pixeles del valor máximo de la escala L-1, es decir:

$$s = (L - 1) - r \quad \text{Ec. 2-2}$$

Con esta operación es posible resaltar detalles blancos o grises que no pueden ser observados a simple vista, especialmente cuando en la imagen dominan los tonos oscuros. En la Figura 6-2 se puede observar la gráfica de la función, donde se encuentran los valores de los pixeles de entrada y sus respectivos valores de salida (Mendoza, 2009).

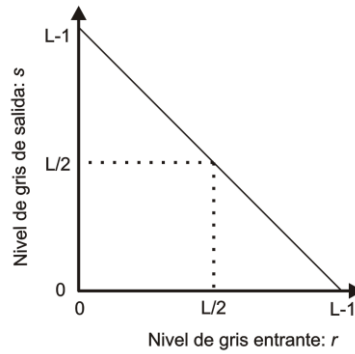


Figura 6-2 Función negativo de una imagen
Fuente: (Gonzalez & Woods, 2007).

- *Histograma*

El histograma de una imagen es una función que muestra cada uno de los valores de intensidad de pixel que tiene la imagen con el número de pixeles que tienen dicha intensidad; es decir, muestran el número de ocurrencias de cada valor de intensidad de pixel en la imagen.

$$h(r_k) = n_k \quad \text{Ec. 3-2}$$

donde r_k es el k-ésimo valor de intensidad y n_k es el número de pixeles de la imagen que contienen dicho valor de intensidad. En la Figura 7-2 se puede observar una imagen con su respectivo histograma (Mendoza, 2009).

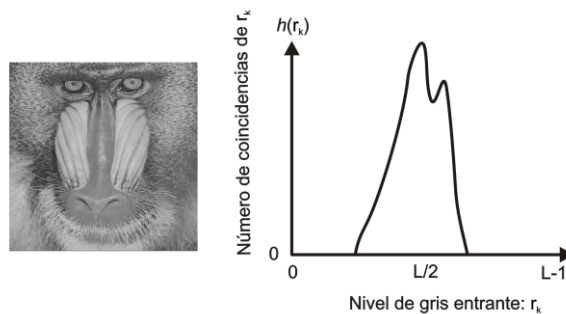


Figura 7-2 Imagen y su Histograma
Fuente: (Mendoza, 2009).

El histograma brinda información del denominado *contraste* de una imagen, que es la facilidad con la que el ojo humano puede diferenciar intensidades de luz, objetos, áreas, etc. Las imágenes con rango dinámico bajo, como en la Figura 7-2, poseen poco contraste; mientras que las figuras con un rango dinámico mayor, tendrán mayor contraste (Mendoza, 2009).

- *Ecuación del histograma*

Es la técnica que permite ampliar el rango dinámico del histograma de una imagen, con el fin de mejorar su contraste. Para esto, se hace un mapeo del histograma de entrada aplicando la Ecuación 4-2 que se muestra a continuación:

$$v_k = \frac{(L-1)(s_k - s_{kmin})}{(s_{kmax} - s_{kmin})} \quad \text{Ec. 4-2}$$

donde es el k-ésimo valor de intensidad de la imagen resultante y en la k-ésima probabilidad acumulada de los valores de intensidad de la imagen. En la Figura 8-2 se muestra la imagen previa con el histograma ecualizado (Mendoza, 2009).

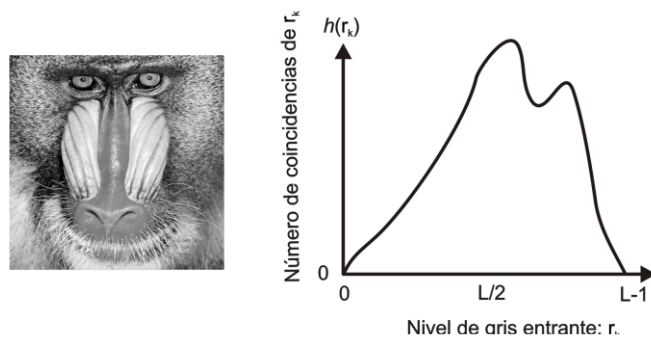


Figura 8-2 Imagen e Histograma ecualizados
Fuente: (Mendoza, 2009).

- *Filtrado de mediana*

El filtrado de mediana consiste en modificar el valor de un pixel en función del valor de sus vecinos. El nuevo valor corresponde a la mediana de todos los elementos del vecindario o plantilla. Para esto se ordenan los valores del vecindario y se escoge el que está en el centro. En la Figura 9-2 se puede observar una plantilla de 3x3 antes y después del filtrado de mediana.

120	101	44
115	90	20
80	26	5

(a)

5	20	26
44	80	90
101	115	120

(b)

Figura 9-2 a) Pixel y su plantilla, b) Pixel y plantilla después del filtrado de mediana
Realizado por: PAZMIÑO, Juan, 2018

El filtrado de mediana es utilizado principalmente para eliminar ruido o determinadas componentes u objetos que no superen un tamaño específico. Este filtrado se lo puede aplicar en cualquier tipo de imágenes, pero es más utilizado en imágenes binarias. (Mendoza, 2009). Se obtiene un resultado como el de la Figura 10-2.

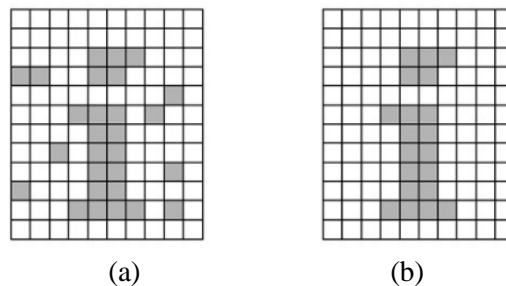


Figura 10-2 a) Imagen binaria, b) Imagen después del filtrado de mediana
Fuente: (Gonzalez & Woods, 2007).

2.2.5.2 Segmentación

Mediante la segmentación de imágenes se pretende obtener atributos o zonas específicas de las imágenes procesadas. Los algoritmos de segmentación están basados en detectar similitudes en los píxeles de la imagen; donde, se particiona la imagen en regiones que tienen propiedades específicas de acuerdo a criterios de selección establecidos (Gonzalez & Woods, 2007).

2.2.5.3 Detección de Contornos

Los contornos son los límites de un objeto en una imagen, para su obtención se aplica una técnica que detecta discontinuidades significativas en los valores de intensidad de una imagen. Estas discontinuidades son detectadas aplicando la primera y segunda derivada. Cuando se aplica la derivada de primer orden se procesa el gradiente de la imagen $f(x,y)$ obteniendo:

$$\nabla f = \begin{pmatrix} G_x \\ G_y \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \frac{\partial f}{\partial x} \\ \frac{\partial f}{\partial y} \end{pmatrix} \quad \text{Ec. 5-2}$$

Para evitar muchas operaciones en los algoritmos de detección de contornos, se utiliza la siguiente aproximación de la magnitud del gradiente:

$$\nabla f \approx |G_x| + |G_y| \quad \text{Ec. 6-2}$$

El vector gradiente siempre apunta en la dirección del índice máximo de cambio de la función $f(x,y)$, en las coordenadas (x,y) .

Un contorno o borde se caracteriza por tener una transición de claro a oscuro o viceversa. Esta transición se la puede detectar calculando el gradiente de la imagen en dos direcciones ortogonales (Mendoza, 2009). Los operadores gradientes más comunes son los operadores de Roberts y Sobel que se muestran a continuación:

Tabla 3-2 Gradientes Roberts y Sobel

	Horizontal	Vertical
Roberts	$\begin{bmatrix} 0 & 1 \\ -1 & 0 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & -1 \end{bmatrix}$
Sobel	$\begin{bmatrix} -1 & 0 & 1 \\ -2 & 0 & 2 \\ -1 & 0 & 1 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} -1 & -2 & -1 \\ 0 & 0 & 0 \\ 1 & 2 & 1 \end{bmatrix}$

Fuente: (Mendoza, 2009).

Una de las platillas sirve para detectar contornos horizontales y la otra los contornos verticales, para obtener dos imágenes con dos gradientes: Ig_1, Ig_2 . Para verificar si en un pixel hay un contorno o no, se define un umbral a partir del cual se considera la existencia del contorno. La imagen de contornos $I_c(x,y)$ se puede formar a partir de:

$$I_c(x,y) = \begin{cases} 1 & , \text{si } |Ig_1(x,y)| + |Ig_2(x,y)| > \text{umbral} \\ 0 & , \text{en otro caso} \end{cases} \quad \text{Ec. 7-2}$$

Así, todos los pixeles que presenten un gradiente mayor al umbral son declarados contornos. En la Figura 11-2 se muestra una imagen antes y después de la detección de contornos.



Figura 11-2 a) Imagen de Elaine, b) Imagen de contornos de Elaine
Fuente: (Mendoza, 2009).

2.2.5.4 Propiedades Geométricas

En las imágenes binarizadas se pueden observar figuras u objetos formados por píxeles en blanco (1 lógico) adyacentes entre sí. Dichas figuras pueden ser analizadas para obtener información importante para determinadas aplicaciones. Entre las propiedades geométricas de los objetos formados tenemos: área, perímetro, ubicación o centro de masa, excentricidad, orientación, concavidad, entre otras (Gonzalez & Woods, 2007).

- *Área*

Dentro del análisis de imágenes, se entiende por área al número de píxeles adyacentes o vecinos, en blanco (1 lógico), que forman un objeto (Gonzalez & Woods, 2007). El área se puede obtener con la siguiente fórmula:

$$Area = \sum_{x=1}^M \sum_{y=1}^N B(x, y) \quad \text{Ec. 8-2}$$

- *Ubicación*

La posición de un objeto en una imagen se calcula determinando el centro de gravedad o centro de masa de los píxeles que forman la imagen. Para el caso de las imágenes en escala de grises, la intensidad en cada píxel representa la masa del cuerpo en ese punto, pero en el caso de las imágenes binarias todos los puntos que conforman la imagen poseen el mismo valor en cada punto del objeto. La ubicación del objeto se representa con las coordenadas en la imagen de su centro de masa $C(C_x, C_y)$ (Gonzalez & Woods, 2007).

$$C_x = \frac{\sum_{x=1}^M \sum_{y=1}^N x * B(x,y)}{Area} \quad \text{Ec. 9-2}$$

$$C_y = \frac{\sum_{x=1}^M \sum_{y=1}^N y * B(x,y)}{Area} \quad \text{Ec. 10-2}$$

2.2.5.5 *Procesamiento morfológico de imágenes*

Son técnicas de procesamiento no lineal que tienen por finalidad realzar la geometría y la forma de los objetos. Principalmente se las aplica sobre imágenes binarias, pero existen técnicas que se aplican sobre imágenes en niveles de gris. Las técnicas de procesamiento morfológico están fundamentadas en la teoría de conjuntos. Existen dos operaciones fundamentales en las cuales se basan muchos algoritmos de procesamiento morfológico de imágenes que son: erosión y dilatación (Platero, 2012).

- *Erosión*

La erosión se la utiliza sobre imágenes binarizadas, donde los elementos de la imagen que se desean erosionar están formados por pixeles que tienen un valor de 1. Esta técnica consiste en determinar si un elemento estructurante B , se encuentra totalmente incluido dentro de cada elemento de la imagen. Si existe elementos de la imagen, que sean menores que el elemento estructurante, estos serán eliminados (Gonzalez & Woods, 2007).

$$E_B(x) = \{x | B_x \subseteq X\} \quad \text{Ec. 11-2}$$

donde $E_B(x)$ es la imagen erosionada, x corresponde a los pixeles de la imagen, B_x es el elemento estructurante definido en el pixel x y X corresponde al elemento de la imagen original que se está analizando.

La erosión define una geometría determinada al elemento estructurante y después se pasa este elemento sobre la imagen. Los elementos resultantes están degradados con respecto a los elementos de la imagen original como se observa en la Figura 12-2.

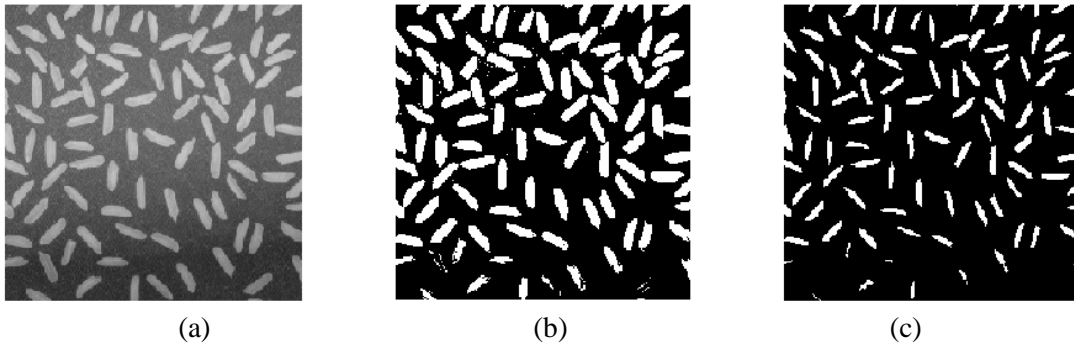


Figura 12-2 a) Imagen en escala de grises, b) Imagen Binarizada, c) Imagen Erosionada
Fuente: (Gonzalez & Woods, 2007).

- *Dilatación*

La dilatación es la operación opuesta a la erosión, donde el resultado es el conjunto de pixeles tal que al menos un pixel del elemento estructurante B este contenido en el elemento X, si el elemento B se desplaza sobre el elemento X.

$$D_B(x) = \{x | B_x \cup X \neq \emptyset\}$$

La dilatación también se puede interpretar como el valor máximo del entorno de vecindad definido por el elemento estructurante. Esta operación significa una expansión progresiva de los elementos de la imagen, dicha expansión está determinada por el elemento estructurante como se muestra en la Figura 13-2.

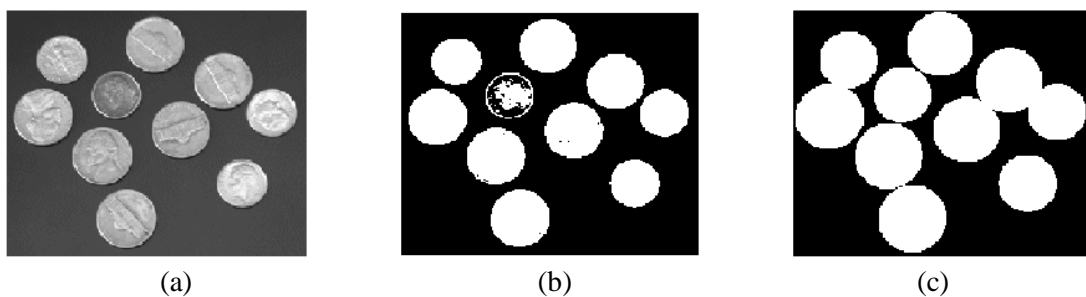


Figura 13-2 a) Imagen en escala de grises, b) Imagen Binarizada, c) Imagen Dilatada
Fuente: (Gonzalez & Woods, 2007).

2.2.6 *Matlab*

El nombre de MATLAB es la abreviatura de “MATirx LABoratory” y es el software matemático más utilizado en ingeniería en todo el mundo; tiene su propio lenguaje de programación y es utilizado para análisis, diseño y simulación de sistemas de la mayoría de áreas técnicas. MATLAB puede realizar cálculos numéricos con vectores y matrices; así como escalares, tanto reales como complejos (Zavala, 2017).

MATLAB dispone de un código básico y de librerías especializadas (*tooboxes*) y es capaz de realizar una amplia variedad de gráficos en dos y tres dimensiones. MATLAB está optimizado para simular y resolver problemas de ingeniería y problemas científicos.

Posee dos herramientas que brindan grandes beneficios al usuario como son: Simulink (Plataforma de simulación multidominio) y GUIDE (Editor de interfaces de Usuario – GUI). Estas herramientas son utilizadas en universidades y centros de investigación y desarrollo. Incorporando cada año nuevas prestaciones como procesadores digitales de señales o crear código VHDL (Zavala, 2017).

MATLAB es un software propietario de Mathworks y sus *toolboxes* se ofrecen de manera independiente. Existen dos versiones para estudiantes. La primera incluye solo MATLAB y la segunda incluye Simulink y los otros 10 módulos. Los requerimientos mínimos del sistema para la versión R2016b son los siguientes:

- Sistema Operativo:
 - Windows: Windows 7 SP1 en adelante, Windows Server 2008 SP2 en adelante.
 - Mac: macOS 10.10 – 10.11
 - Linux: Kernel 2.6 o superior, Glibc 2.11 o superior.
- Procesador: Intel o AMD x86-64 con soporte de instrucciones AVX2.
- Disco: 2GB solo para MATLAB, 4-6 GB para una instalación típica.
- RAM: 1GB mínimo, 4G recomendado
- Tarjeta gráfica: Soporte para OpenGL 3.3 recomendado con 1GB en GPU (García, Rodríguez, & Vidal, 2005).

2.2.7 Sistema de Grabación IP

Un sistema de grabación IP consiste en la adquisición de imágenes por parte de una cámara IP y su transmisión por una red IP de datos (LAN, WLAN, PAN, WAN). Los datos son recibidos por un PC que se encuentra conectada a la red y posee un software de autenticación, gestión, grabación y almacenamiento de los archivos de audio y video de la cámara (Muñoz, 2013).

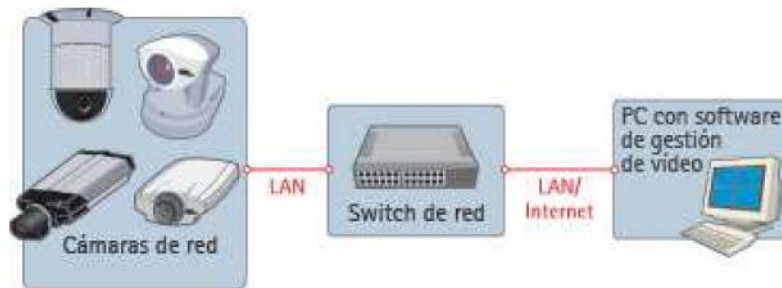


Figura 14-2 Sistema de grabación IP

Fuente: (Muñoz, 2013)

2.2.7.1 Cámara IP

Una cámara IP consiste en una cámara, que además de sus funciones tradicionales, es capaz de realizar ciertas funciones como un computador, ya que posee: procesador, memoria, interfaz de red, etc. (ver Figura 15-2). Su característica principal es la capacidad de transmitir la información que adquiere a través de la red.

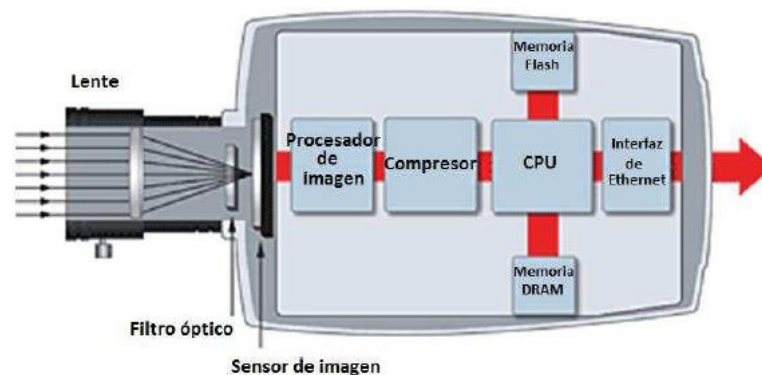


Figura 15-2 Estructura de una Cámara IP

Fuente: (Muñoz, 2013).

Las cámaras IP pueden transmitir video en directo, ya sea de forma continua, en horas programadas, en un evento concreto o por la solicitud de usuarios autorizados. Algunas cámaras IP ofrecen una variedad de eventos y funciones de video inteligente como detección de movimiento, detección de audio, alarma anti-manipulación activa y auto-seguimiento (Muñoz, 2013).



Figura 16-2 Cámaras IP
Fuente: (Muñoz, 2013)

2.2.7.2 *Administración de Grabación*

La administración de las cámaras IP se la realiza vía Web Browser o mediante un software administrador compatible con la cámara, esta administración se la realiza a través de niveles de seguridad:

- **Administrador:** Se utiliza para configurar el sistema y siempre se restringe el acceso con un usuario y una contraseña ya que acceso puede configurar todo el sistema.
- **Usuario:** Se utiliza para manejar las funcionalidades de visualización y grabación de las imágenes, también es necesario un usuario y contraseña.

El software de administración se puede ejecutar bajo diferentes sistemas operativos (Windows, Linux, etc.). Entre las características de este software se encuentran la configuración de parámetros de red de la cámara, control de acceso, códecs de video, gestión de eventos, video inteligente, resolución, etc.

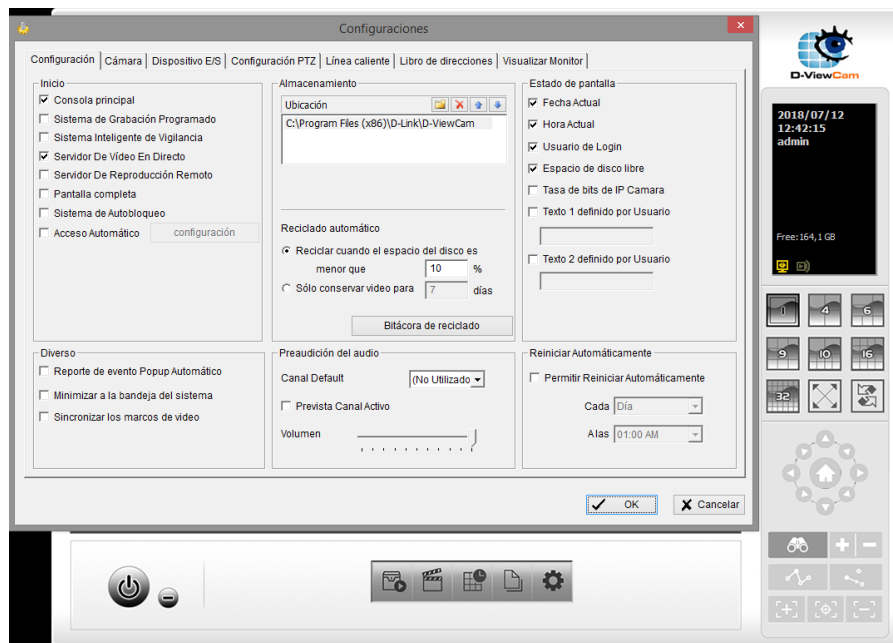


Figura 17-2 Software de administración D-ViewCam de D-LINK
Realizado por: Pazmiño, Juan, 2018

Una vez seleccionado el tipo de grabación, ya sea manual, continua, programada o por eventos; se pueden especificar parámetros como: el formato de video (p. ej. Motion JPEG, MPEG-4, H.264), la resolución (p. ej. 280x360, 480x680, 640x780), frecuencia de la imagen (p. ej. 10fps, 15fps, 20fps), el nivel de compresión, etc. Los cuales afectarán la cantidad de ancho de banda requerido.

Por lo general se utiliza el sistema de ficheros de Windows estándar para el almacenamiento, así que se puede utilizar cualquier disco del sistema o la red, para el almacenamiento de los videos. Los usuarios pueden especificar cuanto tiempo deben permanecer los videos en el disco, antes de ser eliminados automáticamente (Muñoz, 2013).

2.2.7.3 *Compresión de imágenes y video*

- *Compresión de imágenes*

La compresión de imágenes utiliza codificación intra-fotograma, donde los datos se reducen a un fotograma de imagen. En dicho fotograma se elimina la información innecesaria que es imperceptible para el ojo humano.

- *Códec de Video*

Un códec de video son un conjunto de algoritmos utilizados para comprimir y descomprimir videos, tanto en el transmisor como en el receptor. Los códecs de estándares diferentes no suelen ser compatibles entre sí, por esto el contenido del video comprimido con un códec, no puede ser descomprimido con otro. Pero son posible muchos algoritmos diferentes en el mismo software para permitir la coexistencia de varios formatos (Muñoz, 2013).

- *Compresión de video*

La compresión de video se basa en algoritmos que utilizan la predicción inter-fotograma para reducir los datos de video entre las series de fotogramas. Una de estas técnicas, denominado codificación diferencial, consiste en transmitir solamente los datos q varían entre el fotograma actual y el anterior.

La compensación de movimiento basada en bloques es otra técnica de compresión de video. Esta técnica tiene en cuenta que gran parte del fotograma nuevo está ya incluido en el fotograma anterior, pero posiblemente en un lugar diferente del mismo. Así que divide al fotograma en una serie de bloques de pixeles. Se puede predecir un fotograma bloque a bloque, buscando el bloque que coincida en un fotograma de referencia (Muñoz, 2013).

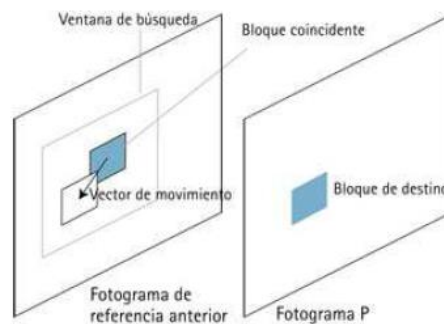


Figura 18-2 Compensación de movimientos basadas en bloques.

Fuente: (Muñoz, 2013)

- *Formatos de compresión de video*

Un formato de compresión de video es una forma de representar un video como un archivo digital mediante la compresión de mismo. Se pueden mencionar 3 formatos de compresión que son muy utilizados: Motion JPEG, MPEG-4 y H.264.

Motion JPEG o M-JPEG es una secuencia de video digital compuesta por una serie de imágenes JPEG individuales. (JPEG son las siglas de Joint Photographic Experts Group - Grupo de Expertos Fotográficos Unidos). Cuando se visualizan 16 o más imágenes por segundo, el ojo humano lo percibe como un video en movimiento (Pérez, n.d.).

Una de las ventajas de Motion JPEG es que cada imagen de una secuencia de video puede conservar la misma calidad garantizada que se determina mediante el nivel de compresión elegido para la cámara de red o codificador de video. Cuanto mayor es el nivel de compresión, menor es el tamaño del archivo y la calidad de imagen. En algunos casos, como cuando hay poca luz o la escena es compleja, el tamaño del archivo puede ser bastante grande y, por lo tanto, usar más ancho de banda y espacio de almacenamiento. Para evitar que ocurra esta situación, los productos de video en red permiten al usuario establecer un tamaño máximo para un fotograma de imagen (Pérez, n.d.).

Al no haber dependencia alguna entre los fotogramas de Motion JPEG, un video Motion JPEG es resistente, lo que significa que si falla un fotograma durante la transmisión, el resto del video no se verá afectado. Motion JPEG no requiere licencia, tiene una amplia compatibilidad y su uso es muy habitual en aplicaciones donde se requieren fotogramas individuales en una secuencia de video -por ejemplo, para el análisis- y donde se utiliza una frecuencia de imagen de 5 fotogramas por segundo o inferior (Pérez, n.d.).

Motion JPEG también puede ser útil para aplicaciones que requieren integración con sistemas solo compatibles con Motion JPEG. Sin embargo, el principal inconveniente de Motion JPEG es que no utiliza ninguna técnica de compresión de video para reducir datos, ya que consiste en una serie de imágenes fijas y completas. El resultado es una frecuencia de bits relativamente alta o una relación de compresión baja para la calidad proporcionada, en comparación con estándares como JPEG-4 y H.264 (Pérez, n.d.).

MPEG-4 generalmente es utilizado en las aplicaciones de videovigilancia. Como todos los estándares MPEG (Moving Picture Experts Group), requiere una licencia. MPEG-4 es compatible con aplicaciones de ancho de banda reducido y aplicaciones que requieren imágenes de alta calidad, sin limitaciones de frecuencia de imagen y con un ancho de banda virtualmente limitado (Pérez, n.d.).

H.264, también conocido como MPEG-4 Parte 10/AAVC para Codificación de Video Avanzada, es el estándar MPEG más actual para la codificación de video. Se espera que el H.264 se convierta en la alternativa de estándar en los próximos años. Ello se debe a que, sin comprometer la calidad de la imagen, un codificador H.264 puede reducir el tamaño de un archivo de video digital en más de un 80% si se compara con el formato Motion JPEG, y hasta un 50% más en comparación con el estándar MPEG-4. Esto significa que se requiere menos ancho de banda y espacio de almacenamiento para los archivos de video. O, visto de otra manera, se puede lograr mayor calidad de imagen de video para una frecuencia de bits determinada (Pérez, n.d.).

El H.264 ha sido definido conjuntamente por organizaciones de normalización del sector de las telecomunicaciones (ITU-T's Video Coding Experts Group) y de las tecnologías de la información (ISO/IEC Moving Picture Experts Group), y se espera que tenga una mayor adopción que los estándares anteriores. En el sector de la videovigilancia, H.264 encontrará su mayor utilidad en aplicaciones donde se necesiten velocidades y resoluciones altas, como en la vigilancia de autopistas, aeropuertos y casinos, lugares donde por regla general se usa una velocidad de 30/225(NTSC/PAL) imágenes por segundo. Es aquí donde las ventajas económicas de un ancho de banda y un almacenamiento reducidos se harán sentir de forma más clara (Pérez, n.d.).

Se espera que en un futuro próximo H.264 acelere también la adopción de cámaras megapíxel, ya que con esta eficiente tecnología de compresión se pueden reducir los archivos de gran tamaño y las frecuencias de bits sin que la calidad de la imagen se vea afectada. En cualquier caso, tiene sus exigencias: aunque H.264 permite ahorrar en costes de ancho de banda y almacenamiento, también necesita cámaras de red y estaciones de control de mejor rendimiento (Pérez, n.d.).

Los codificadores H.264 utilizan el perfil base, lo que supone que sólo se usan los fotogramas I y P. Este perfil es el ideal para cámaras de red y codificadores de video, ya que la latencia se reduce gracias a la ausencia de fotogramas B. La latencia baja es esencial en aplicaciones de videovigilancia donde se realice supervisión en directo, sobre todo si se emplean cámaras PTZ o domos PTZ (Pérez, n.d.).

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

3.1 Tipo y Diseño de Investigación

El presente trabajo fue una investigación experimental, se basó en el estudio de las condiciones particulares de la prueba de campo abierto y la aplicación de técnicas de procesamiento de imágenes que pueden identificar sus variables indicativas. Para lo cual el prototipo requirió de una cámara fotográfica para la adquisición de las imágenes, dicha cámara fue ubicada fijamente sobre una caja de polipropileno. Después del reconocimiento de las variables de la prueba se procesó esta información y se visualizó los parámetros para la evaluación.

Por tratarse de un proyecto factible su implementación se apoyó en la investigación de tipo documental y de campo y su diseño fue longitudinal.

3.2 Métodos de la Investigación

Método Deductivo, para la comprensión de técnicas, conceptos, definiciones, algoritmos, formatos y datos generales que involucran el procesamiento de imágenes.

Método Inductivo, permite que mediante el estudio del escenario particular de la prueba de campo abierto se determinen técnicas de procesamiento de imágenes que se adapten a este tipo de pruebas comunes en la bioquímica.

Análisis, que permite descomponer en partes los hechos e ideas para mostrarlas y describirlas, explicando las etapas llevadas a cabo en la realización del prototipo.

Síntesis, se reconstruyen y unen ciertos elementos circundantes al problema de investigación para facilitar la comprensión y enfocar los análisis para establecer las conclusiones de la investigación.

3.3 Enfoque de Investigación

Cuantitativo

Se aplicó el enfoque cuantitativo ya que se recopilan y analizan las variables indicativas de la prueba de campo abierta y se comparan estos datos con los datos obtenidos con otra técnica diferente. Las características del objeto de investigación deben enfocarse dentro del ámbito de la capacidad de automatización que brinda el procesamiento de imágenes para realizar la prueba de campo abierto y que puede servir de punto de partida para la automatización de pruebas similares. En la presente investigación se analiza el impacto desde el punto de vista técnico.

3.4 Alcance de la Investigación

Correlacional

Por tratarse de la relación del prototipo y su capacidad de reconocer y medir las variables de la prueba de campo abierto la investigación tiene un alcance correlacional.

3.5 Población de Estudio

Como el prototipo es una técnica para la realización de la prueba de campo abierto, la población son todas las pruebas de campo abierto que se deseen realizar por el personal del Bioterio de la ESPOCH

3.6 Unidad de Análisis

Las unidades de análisis son las variables indicativas de la prueba de campo abierto: distancia recorrida, velocidad media, elevaciones, etc.

Se mide la fiabilidad del prototipo en base al porcentaje de confianza que este brinde. Es decir el número de resultados positivos sobre el número de resultados medidos.

3.7 Selección de la Muestra

Dentro del conjunto de técnicas existentes para la realización de la prueba de campo abierto, se seleccionó la observación y registro manual de eventos como técnica de comparación y validación de resultados, puesto que es la única técnica que actualmente se desarrolla en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

Para el tamaño de la muestra se toman en cuenta las siguientes variables y ecuaciones:

$$n = \frac{z^2 * p * (1-p)}{e^2} \quad \text{Ec. 1-3}$$

donde: z = desviación del nivel de confianza de 95% = 1,96

p = proporción esperada (5%) = 0,05

e = margen de error (5%) = 0,05

Al reemplazar estos valores obtenemos un tamaño de muestra de 73.

3.8 Técnica de recolección de datos primarios y secundarios

Lectura bibliográfica de trabajos similares, tesis relacionadas, artículos científicos, además de libros de procesamiento de imágenes.

3.9 Instrumentos de recolección de datos primarios y secundarios

Observación, cámara, computador, pruebas de campo.

3.10 Instrumentos para procesar datos recopilados

Hojas de cálculo, computador, software desarrollado, graficas, tablas, figuras.

3.11 Desarrollo del Sistema

Para el diseño del prototipo se tomaron en cuenta las características más comunes de grabación de las cámaras IP disponibles en el mercado. La opción adquirida fue una cámara D-Link modelo DCS-931L que ofrece las siguientes características presentes en la mayoría de cámaras IP.

- Conectividad inalámbrica 802.11n.
- Conectividad Ethernet estándar.
- Angulo de visión: Horizontal 45.3° y Vertical 34.5°
- Resolución de Video: 640x480, 320x240 y 160x112
- Tasa de imagen: 10fps, 20fps y 30fps
- Formato de pixel: RGB24
- Compresión de video: H.264 y MJPEG
- Formato de video: .avi
- Protocolos de red: IPv4, ARP, TCP, UDP, ICMP, DHCP client, HTTP server, entre otros.
- Seguridad: Autenticación por contraseña, Autenticación HTTP digest. (Dlink, n.d.)

Estas características de la cámara son básicamente las que direccionan el diseño de los demás elementos del prototipo.

El hecho de requerir una cámara IP en lugar de una cámara tradicional que se conecte directamente a la PC vía USB, es para dar la función de grabación inalámbrica, estableciendo una conexión de red Ad-hoc. Con esta función se puede aislar el lugar de la prueba de cualquier perturbación producida por la presencia humana, que pueda alterar el comportamiento del ratón durante la prueba. Sin mencionar las múltiples ventajas que ofrece el protocolo IP en la transmisión de los datos del origen al destino.

3.11.1 Elementos de Integración

Un esquema general de los elementos utilizados en el prototipo se pueden observar en la Figura 1-3.

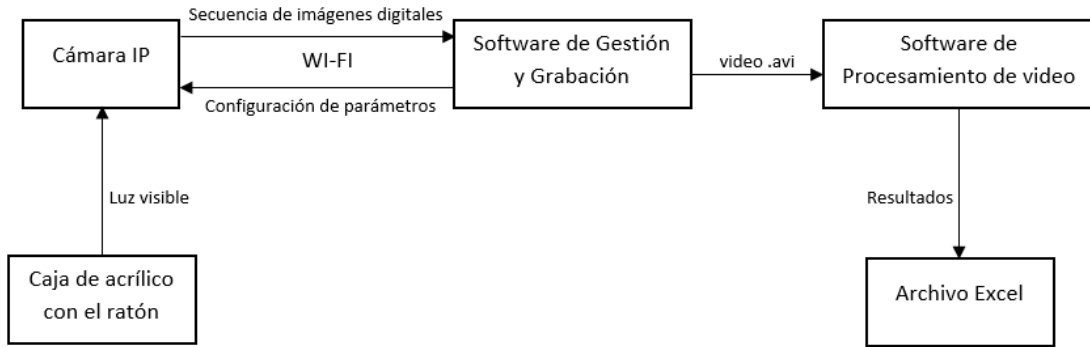


Figura 1-3 Esquema general del prototipo
Realizado por: PAZMIÑO, Juan, 2018

El sensor de la cámara adquiere las imágenes del comportamiento del ratón en la caja, las comprime y las envía, a través de red IP, al computador con el software de grabación, previa autenticación y petición del usuario.

En el software de gestión se puede generar un archivo de video, del momento y duración exacto en el que se desarrolló la prueba, el archivo de video posee una extensión AVI (Audio Video Interleave).

El software de análisis de video desarrollado, puede estar instalado en la misma PC que el software de gestión de la cámara. Este software, denominado EMIS, abre un explorador para buscar el archivo de video que se desea cargar y lo analiza.

3.11.2 *Integración del Hardware*

3.11.2.1 *Infraestructura de grabación*

Se toma en cuenta el ángulo de apertura menor de la cámara (vertical $34,5^\circ$) para saber la altura mínima necesaria, a la que se debería ubicar la cámara, para que grabe la base de la caja completamente, sabiendo que esta mide 68x68cm. Figura 2-3.

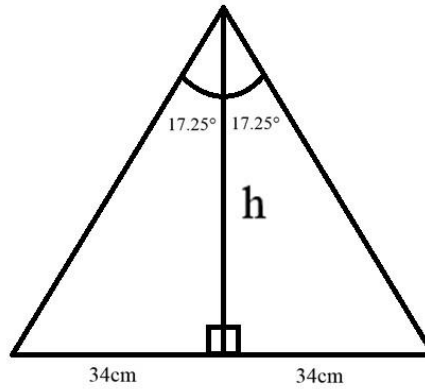


Figura 2-3 Altura mínima para la grabación
 Realizado por: PAZMIÑO, Juan, 2018

Aplicando las propiedades trigonométricas se obtiene la Ec. 2-3. Obteniendo una altura mínima necesaria de 1,095 metros.

$$\operatorname{tg}(17,25^\circ) = \frac{34\text{cm}}{h} \quad \text{Ec. 2-3.}$$

En las pruebas iniciales, se pudo constatar que la base de la caja reflejaba luces verticales, las mismas que a simple vista afectaban la discriminación del ratón. Por lo que se diseñó la base de la cámara, de tal manera, que impida la entrada de rayos de luz con ángulos verticales directamente a la base de la caja de acrílico.

En la Figura 3-3 se puede observar el equipo de grabación. El equipo consta de una estructura de aluminio con altura regulable (1,40 – 2,10 metros), en la parte superior se encuentra una tapa de madera (1 x 1 metro), que sirve como base para la cámara, así como para bloquear la luz excesiva que puede ser reflejada en la caja con la ayuda de unas cortinas que cuelgan desde la base.



Figura 3-3 Sistema de grabación
Realizado por: PAZMIÑO, Juan, 2018

3.11.2.2 Propiedades de grabación

Una vez hecha la configuración para establecer la conectividad entre la cámara y la PC con el software de gestión, siguiendo los pasos del fabricante. Se obtuvieron videos de prueba, con parámetros de grabación diferentes, que sirvieron para aplicar las distintas técnicas de procesamiento que se utilizaron.

Posterior a las pruebas se optó por los siguientes parámetros de video que proporcionan la calidad de video necesaria para aplicar las técnicas de procesamiento de imagen, así como para obtener un tamaño de archivo mínimo para no sobrecargar al programa de análisis de videos.

- Frame Rate: 10fps
- Resolución: 680x480
- Formato de video: AVI

3.11.3 Software de Procesamiento de video

El software se implementó en el entorno de desarrollo GUIDE de Matlab, con el fin de proporcionar a los usuarios finales una interfaz gráfica e intuitiva.

3.11.3.1 Ingreso de videos y pre-procesamiento.

Para la lectura se colocó en el GUI un botón que abre un explorador, donde el usuario debe buscar el archivo de video que va a ser cargado. Cuando se escoge el video, se utilizan las funciones propias de Matlab: *VideoReader* y *read* que leen los datos del video y los almacenan en una variable de cuatro dimensiones respectivamente. La variable posee los siguientes parámetros: pixeles verticales (alto), pixeles horizontales (ancho), colores primarios (3) y número de imágenes (Ni). Dentro de cada intersección de dimensiones se encuentra el valor de intensidad de pixel, que son de tipo *uint8*, es decir números formados con 8 bits (0 a 255).

El video contiene información sobre la frecuencia de muestreo (fs) de las imágenes, se puede calcular la duración del video dividiendo el número de imágenes para la frecuencia de muestreo. La aplicación permite seleccionar el tiempo máximo de duración que se quiere analizar del video. Si la duración del video es mayor a la del tiempo seleccionado, el programa calcula el número de imágenes que se debe analizar para obtener el tiempo seleccionado.

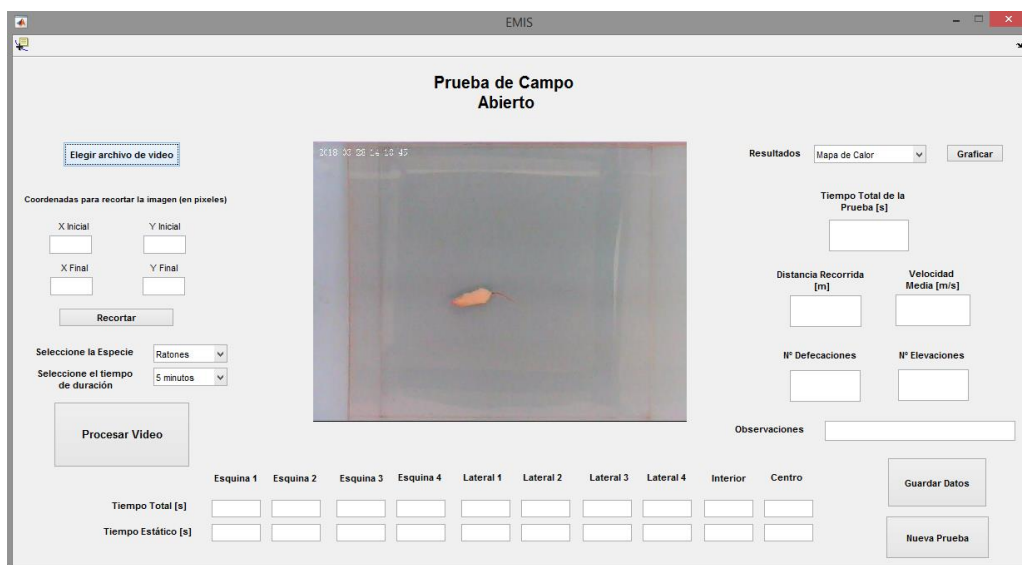


Figura 4-3 Visualización de la primera imagen cuando el programa lee el video.
Realizado por: PAZMIÑO, Juan, 2018

Una vez leídos los datos, la aplicación visualiza la primera imagen del video como se observa en la Figura 4-3. Posterior a eso, se debe seleccionar el área del fondo de la caja donde se encuentra el ratón; para esto, se debe seleccionar con el cursor la esquina superior izquierda y la esquina inferior derecha de la base de la caja. Una vez conocida la ubicación de los pixeles se deben ingresar sus coordenadas en los *edit text* que se muestran en la parte izquierda de la aplicación.

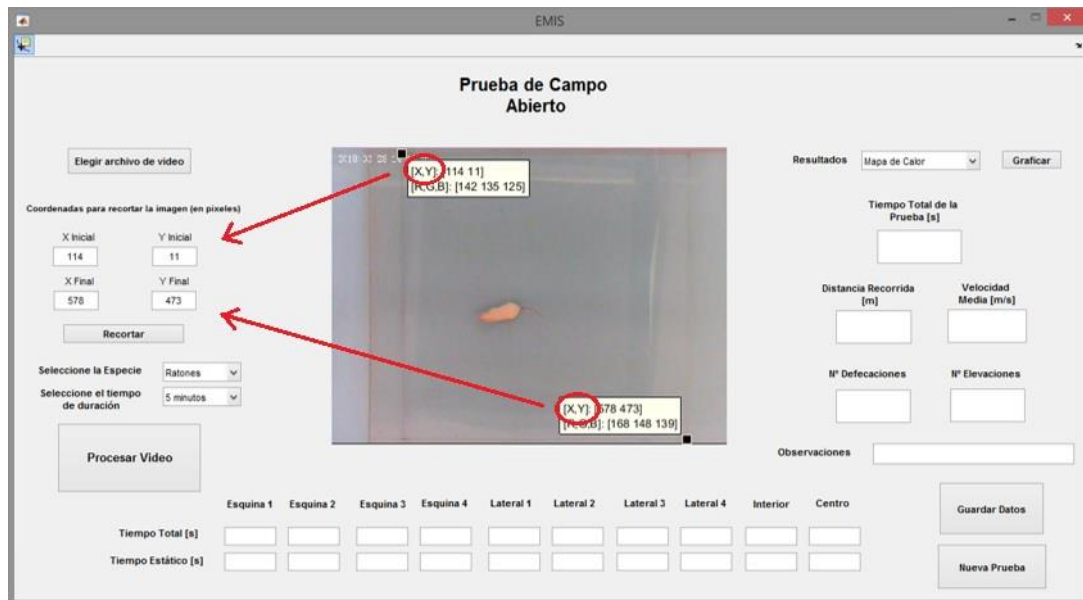


Figura 5-3 Selección de la base de la caja e ingreso de las coordenadas
Realizado por: PAZMIÑO, Juan, 2018

La aplicación posee un menú para escoger el tipo de especie: ratón o rata, ya que el procesamiento requiere una especificación detallada de las dimensiones del animal que se va a analizar. Posterior a esto, el botón *Procesar Video* da la instrucción de comenzar el procesamiento de las imágenes del video.

Para la discriminación del ratón del resto de la imagen, el programa utiliza el contraste que existe entre el tono blanco del ratón, que posee un mayor valor de intensidad; y el tono celeste del fondo de la caja, con un menor valor de intensidad. La operación de binarización transforma las intensidades mayores a determinado umbral en un valor de 1 lógico; y las intensidades menores, en un 0 lógico.

Sin embargo, para conocer este valor de umbral, es necesario saber la intensidad que posee el tono de blanco del ratón, para que pueda ser discriminado del resto de la imagen. Para conocer este valor, se utilizaron otras técnicas de procesamiento de imágenes, analizadas en la unidad anterior. Estas técnicas son utilizadas en secuencia, como se muestra en la Figura 6-3.

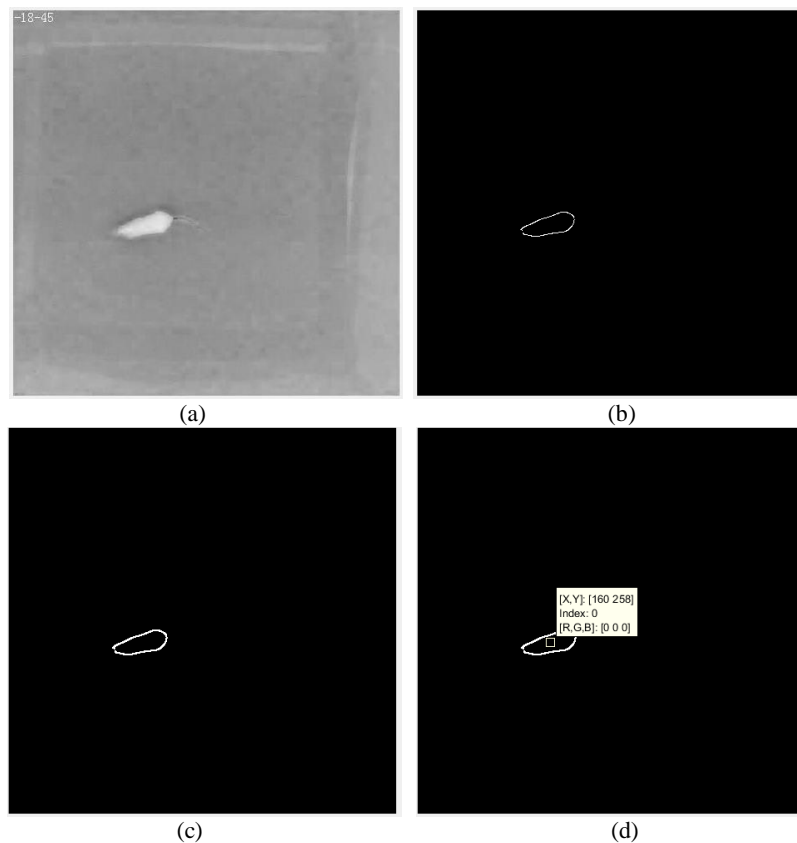


Figura 6-3 a) Componente rojo en escala de grises, b) Detección de contornos Canny, c) Dilatación, d) Ubicación o centro de masa
Realizado por: PAZMIÑO, Juan, 2018

Se utiliza la componente roja de la imagen porque es la que mayor contraste ofrece, a esta componente se le aplica la técnica de detección de contornos Canny, cuyos parámetros fueron configurados de tal manera que se obtengan solo los contornos más evidentes, que son los que corresponden al ratón. Sin embargo, esto resulta en líneas de borde muy delgadas y en ciertos casos entrecortadas. Para dar mayor definición a estas líneas se aplicó la dilatación, con un elemento estructurante de similares medidas al ancho de las líneas deseadas.

Posterior a esto, se aplica la operación de centro de masa para determinar la ubicación del ratón; y así, saber cuál es el valor de intensidad de los píxeles cercanos al centro de masa del ratón en la imagen original. Cuando se ha obtenido un valor de intensidad promedio de los píxeles que dan forma al ratón, es necesario obtener también el valor de intensidad del fondo de la caja, para esto se obtiene el valor de intensidad más recurrente en la imagen recortada, con la función estadística *mode* (moda).

Una vez obtenidos ambos valores, se puede establecer como umbral al valor de intensidad medio entre el fondo de la caja y el ratón.

$$umbral = \frac{P_{raton} + P_{fondo}}{2 * 255} \quad \text{Ec. 3-3}$$

Una vez obtenido el umbral adecuado para discriminar al ratón, se puede comenzar el procesamiento para obtener los parámetros fundamentales.

3.11.3.2 *Procesamiento para la ubicación y distancia recorrida*

Como se mencionó en el punto anterior, para ubicar al ratón es necesario discriminar su figura en la imagen. Para esto, se binariza la imagen con el umbral obtenido previamente. Como resultado se obtiene una imagen con el área correspondiente al cuerpo del ratón en blanco, y el fondo de color negro.



Figura 7-3 Imagen binarizada
Realizado por: PAZMIÑO, Juan, 2018

Como se observa en la Figura 7-3 existen pixeles ajenos al ratón, que también se muestran en blanco. Para eliminar estos pixeles se aplicó un filtro de mediana con un vecindario de 6x6. Que elimina la mayor parte de pixeles fuera del ratón, como se observa en la Figura 8-3.

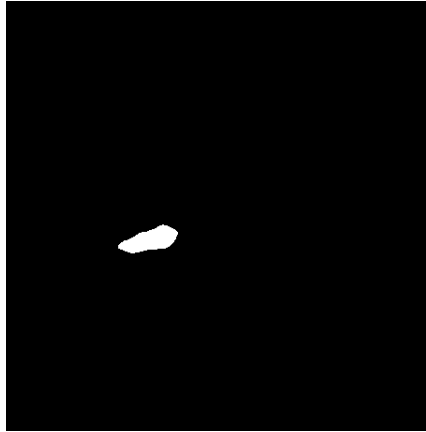


Figura 8-3 Figura 7-3 con Filtro de mediana de 6x6
Fuente: PAZMIÑO, Juan, 2018

Con el ratón discriminado se aplica la función *regionprops*. Esta función de Matlab utiliza varias funciones matemáticas como: centro de masa, área, etc., para dar información acerca de las figuras presentes en la imagen. Existe la posibilidad de tener pixeles en blanco fuera del área del ratón, a pesar de haber aplicado el filtro de mediana. Para evitar confusiones se hace un control, que consiste en verificar que el área del objeto este de dentro de un rango definido para saber que corresponde al ratón.

Area	Centroid	BoundingBox
10	[12.5000 45...	[10.5000 449.500...
2	[17.5000 442]	[16.5000 441.500...
16	[19.3125 45...	[16.5000 455.500...
1174	[161.7981 2...	[127.5000 241.50...
2	[442 456.50...	[441.5000 455.50...
76	[456.5132 4...	[452.5000 444.50...

Figura 9-3 Resultados de la función *regionprops*
Fuente: PAZMIÑO, Juan, 2018

Una vez obtenidas las coordenadas del ratón en cada imagen del video, es posible obtener la distancia que este recorre entre cada imagen. Al sumar las distancias entre el centro de masa en cada imagen, se puede obtener una distancia total recorrida. La distancia total esta contabilizada en pixeles, para tener la distancia en metros se debe hacer una relación entre el ancho y largo de la base en pixeles y las dimensiones de la base en metros.

$$d_t [\text{pixeles}] = \sum_{i=2}^{N_i} \sqrt{(y_i - y_{i-1})^2 + (x_i - x_{i-1})^2} \quad \text{Ec. 4-3}$$

$$d_t [m] = d_t [\text{pixeles}] * \frac{0.68 [m]}{\frac{\text{alto} + \text{ancho}}{2} [\text{pixeles}]} \quad \text{Ec. 5-3}$$

3.11.3.3 Procesamiento para la velocidad

Para calcular la velocidad se divide la distancia recorrida para el tiempo, este proceso se lo hace en cada interacción. El tiempo se lo puede calcular dividiendo el número total de muestras para la frecuencia de muestreo.

$$v [m/s] = \frac{d_t [m]*fs}{N_i} \quad \text{Ec. 6-3}$$

3.11.3.4 Procesamiento para las defecaciones

Las defecaciones del ratón, durante un estado de salud apto para la prueba, son de color oscuro y tienen formas y dimensiones semejantes. Para poder discriminar y contabilizar las defecaciones se utiliza la binarización con un bajo umbral de tal manera que todo lo que tenga un tono claro se transforme en blanco y solo los pixeles de las defecaciones sean transformados a negro. Como la función *regionprops* reconoce al negro como fondo y al blanco como objeto, es necesario primero obtener el negativo de la imagen antes de aplicar la función.

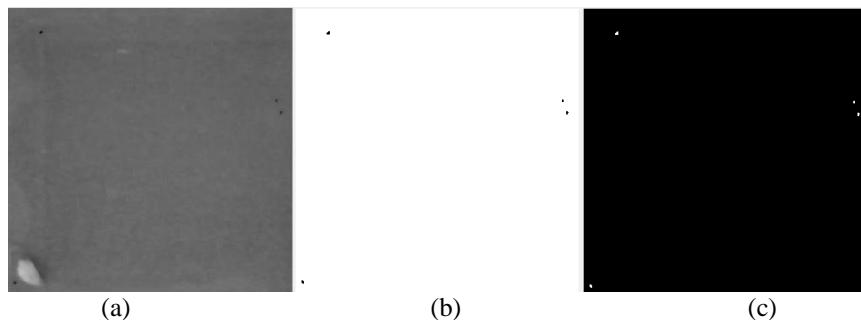


Figura 10-3 a) Componente roja en escala de grises, b) Umbralización de la imagen a, c) negativo de la imagen b.

Fuente: PAZMIÑO, Juan, 2018

Con la función *regionprops* aplicada al negativo de la imagen binarizada, se obtiene el área de las figuras en blanco presentes en la imagen y; si se encuentran en un determinado rango ($0,25 - 0,75 \text{ cm}^2$) se las considera defecaciones y se las cuenta, Figura 10-3. Es posible que ciertas sombras o partes oscuras del ratón, también aparezcan en la imagen umbralizada. Para que estos errores no alteren el resultado, se aplicó la función estadística *mode* (moda), para solamente considerar la cantidad de defecaciones más recurrente cada cierto intervalo de tiempo (20 segundos).

4x1 struct with 3 fields

Fields	Area	Centroid	BoundingBox
1	10	[9 328.5000]	[7.5000 326.5000 ...
2	13	[39.7692 29...	[37.5000 27.5000 ...
3	6	[320.5000 1...	[319.5000 109.50...
4	9	[325.6667 1...	[324.5000 123.50...

Figura 11-3 Resultados de la función *regionprops*
Fuente: PAZMIÑO, Juan, 2018

3.11.3.5 Procesamiento para las elevaciones

Para detectar las elevaciones que hace el ratón durante la prueba, se considera que en la perspectiva desde la que graba la cámara, el campo visual del ratón se reduce en cada elevación, es decir, su área en la imagen se reduce; y viceversa, cuando vuelve a postura natural, el área vuelve a un rango normal. En la pruebas de campo se observó que el ratón tarda en cambiar su postura (normal – elevado) entre 0,4 y 1,2 segundos y que la ubicación de su centro de masa no varía más de 1,5cm.

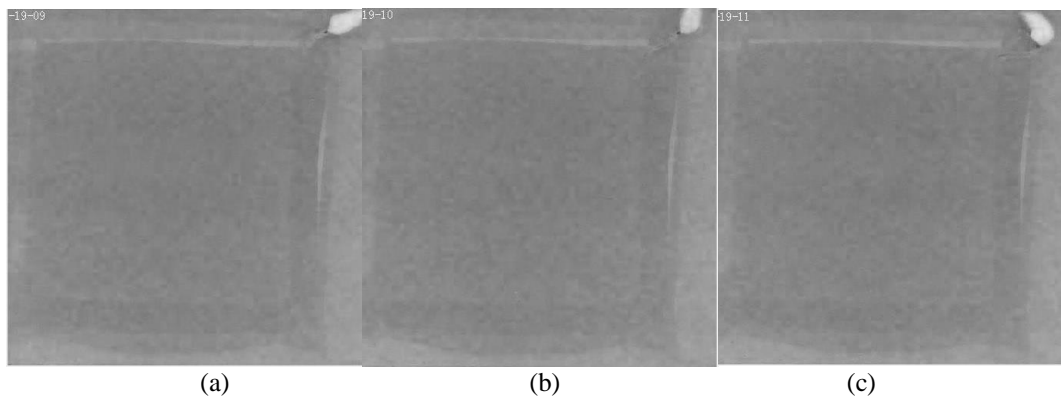


Figura 12-3 Componente roja en escala de grises. a) Imagen en 24,07s, b) imagen en 24,96s, c) imagen en 25,85s

Fuente: PAZMIÑO, Juan, 2018

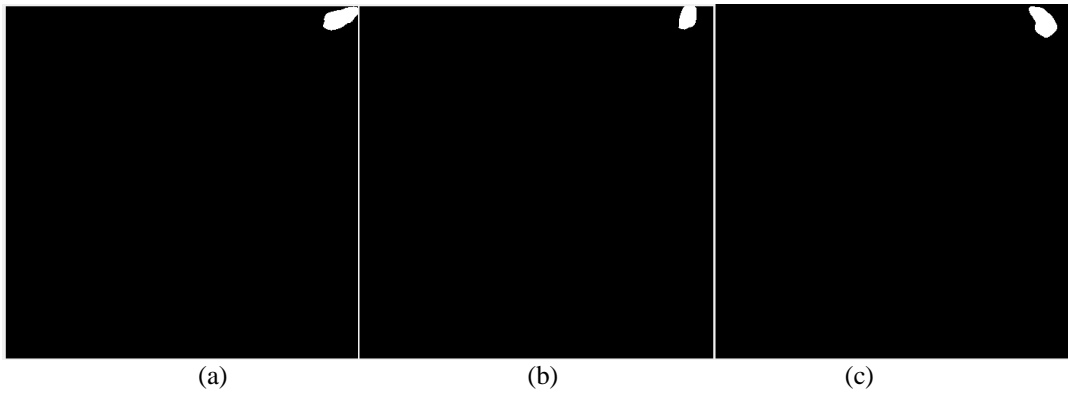


Figura 13-3 Componente binarizada y filtrada. a) Imagen en 24,07s b) imagen en 24,96s, c) imagen en 25,85s

Fuente: PAZMIÑO, Juan, 2018

El algoritmo de control de elevaciones compara el área del ratón en las imágenes dentro de un rango de tiempo (0,4 -1,2 segundos) para detectar las variaciones de área características de una elevación. También verifica que la ubicación del ratón haya variado menos de 1,5cm, dentro del tiempo analizado.

3.11.3.6 *Procesamiento para el tiempo en ubicaciones específicas*

Al saber la posición del ratón en cada imagen, se puede verificar si esa posición se encuentra dentro un área específica de la base de la imagen. Las áreas definidas se especificaron como se pueden observar en la Figura 14-3.

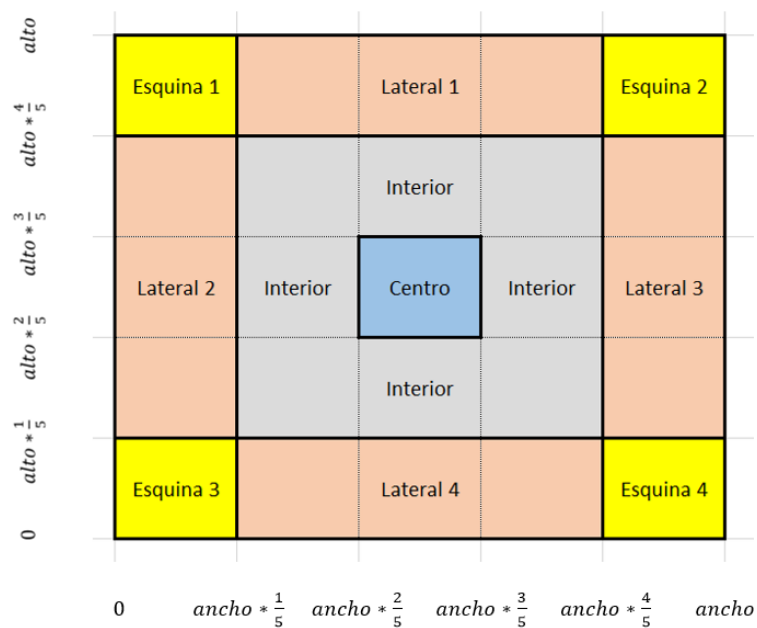


Figura 14-3 División de la base de la caja

Realizado por: PAZMIÑO, Juan, 2018

Cuando se determina que en ratón se encuentra dentro de alguna de las áreas, el contador de la variable tiempo en esa posición se incrementa en 1. Para obtener el tiempo se debe multiplicar dicha variable por el tiempo que dura cada imagen, es decir, el inverso del tiempo de muestreo.

3.11.4 Almacenamiento de la información

Para almacenar los datos se diseñó una hoja de cálculo en Excel con un encabezado que enlista las variables en un orden determinado para que el programa almacene la información en el mismo orden. El programa posee un botón que abre un explorador de archivos, una vez finalizado el análisis, se debe buscar y seleccionar el archivo de Excel diseñado, para almacenar todos los resultados obtenidos por la aplicación.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	AA	AB	AC
1																													
2	0	Nombre del Archivo	Fecha	Especie	Tiempo Total	Distancia recorrida	Velocidad Media	Deflexiones	Elevaciones	Tiempo Total	Tiempo Estático	Tiempo Total	Tiempo Estático	Tiempo Total	Tiempo Estático	Tiempo Total	Tiempo Estático	Tiempo Total	Tiempo Estático	Tiempo Total	Tiempo Estático	Tiempo Total	Tiempo Estático	Tiempo Total	Tiempo Estático	Tiempo Total	Tiempo Estático	Tiempo Total	Tiempo Estático
3	1	2018-03-28 14-18-46 K1 Azul.avi	05/08/2018 7:55	Raton	300,00	28,89	0,00	0,00	27,00	23,72	2,82	24,07	2,08	17,83	1,63	31,50	5,35	25,56	1,34	27,79	1,78	34,18	0,30	40,66	2,67	58,84	1,19	9,96	0,30
4	2	2018-03-28 14-24-30 K2.avi	05/08/2018 8:09	Raton	300,00	12,82	0,04	1,00	4,00	18,42	2,23	8,62	0,59	1,93	0,00	20,51	4,75	20,21	3,71	49,78	10,55	54,09	16,64	34,32	4,01	66,42	6,09	25,71	3,27
5	3	2018-03-28 14-31-43 K3.avi	05/08/2018 8:22	Raton	300,00	23,04	0,08	1,00	15,00	9,21	0,15	17,09	3,27	10,97	0,45	21,25	2,23	13,22	2,08	16,34	1,34	55,13	5,79	49,33	3,27	96,37	9,51	6,09	0,15
6	4	2018-03-28 14-40-07 K4.avi	05/08/2018 8:25	Raton	300,00	7,71	0,03	2,00	5,00	17,16	75,19	13,52	1,49	5,05	0,15	6,54	1,34	55,27	21,69	29,27	10,85	7,98	0,15	0,00	0,00	4,16	0,00	0,45	0,00
7	5	2018-03-28 15-10-50 K5.avi	05/08/2018 8:31	Raton	300,00	4,44	0,01	1,00	0,00	9,68	4,16	0,00	0,00	0,09	2,82	16,20	4,31	43,96	22,73	195,10	70,43	18,91	5,50	2,39	0,00	5,65	0,00	1,04	0,00
8	6	2018-03-28 14-12-28 K1.avi	05/08/2018 8:38	Raton	300,00	23,50	0,08	3,00	20,00	12,18	0,89	16,57	1,49	43,18	7,28	21,84	1,34	35,07	2,08	33,58	1,34	30,31	2,08	37,30	0,45	56,46	1,19	5,50	0,00
9	7	2018-03-28 14-24-36 K2.avi	05/08/2018 8:42	Raton	300,00	3,98	0,01	0,00	0,00	4,61	0,00	197,82	120,65	4,90	0,30	0,00	0,00	3,71	0,00	43,39	20,21	28,83	11,00	3,12	0,00	11,89	3,42	1,63	0,00
10	8	2018-03-28 14-31-41 K3.avi	05/08/2018 8:49	Raton	300,00	17,47	0,06	1,00	0,00	5,50	0,15	110,10	48,74	5,35	0,30	15,90	1,19	34,77	1,63	12,63	0,45	31,65	0,59	11,74	0,15	67,90	6,24	4,46	0,15
11	9	2018-03-28 14-45-36 K5.avi	05/08/2018 8:52	Raton	300,00	36,54	0,12	0,00	68,00	18,42	2,08	30,76	1,04	38,34	3,57	37,89	2,97	38,93	0,59	24,22	0,15	30,16	0,45	30,31	0,89	46,36	0,15	4,61	0,00
12	10	2018-03-30 13-23-25 K1.avi	05/08/2018 8:57	Raton	300,00	22,96	0,08	4,00	9,00	20,21	1,34	18,13	1,49	10,10	0,45	36,26	2,97	18,72	0,89	23,92	1,04	81,13	5,79	30,46	0,74	53,19	0,89	7,88	0,59

Figura 15-3 Hoja de cálculo diseñada con resultados almacenados por el programa. Realizado por: PAZMIÑO, Juan, 2018

3.11.5 Gráficas estadísticas.

Para una mejor interpretación del investigador de los resultados obtenidos, se diseñaron varias graficas estadísticas sobre el comportamiento del ratón y las variables obtenidas. En la figura 16-3 se puede observar el botón de la aplicación que permite visualizar las gráficas estadísticas.

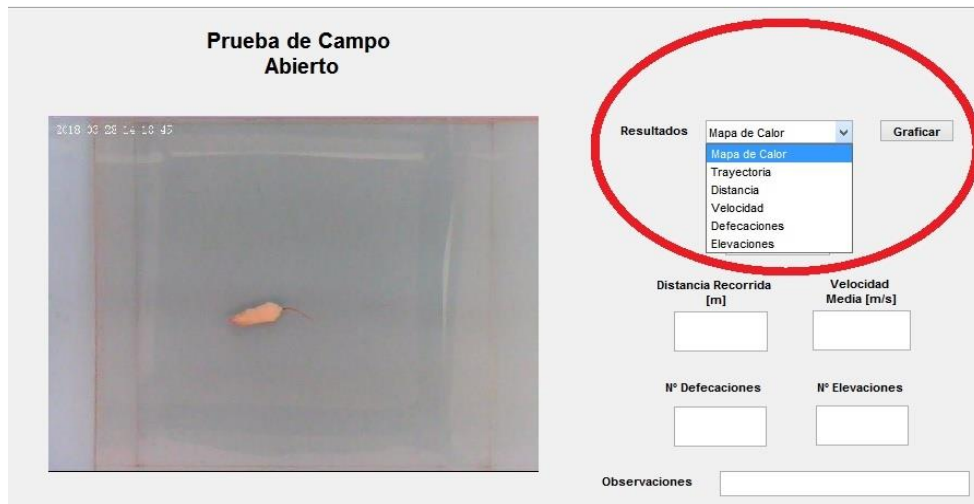


Figura 16-3 Área de opciones de visualización de gráficas estadísticas
 Realizado por: PAZMIÑO, Juan, 2018

3.11.5.1 Mapa de Color

La gráfica denominada “mapa de calor”, muestra en tonos fríos (azules) las zonas de la caja donde el ratón permaneció menos tiempo y en tonos cálidos (rojos) las zonas donde el ratón permaneció más tiempo, Figura 17-3. Con esto el investigador puede asociar zonas específicas de permanencia con comportamientos propios de estados de ansiedad.

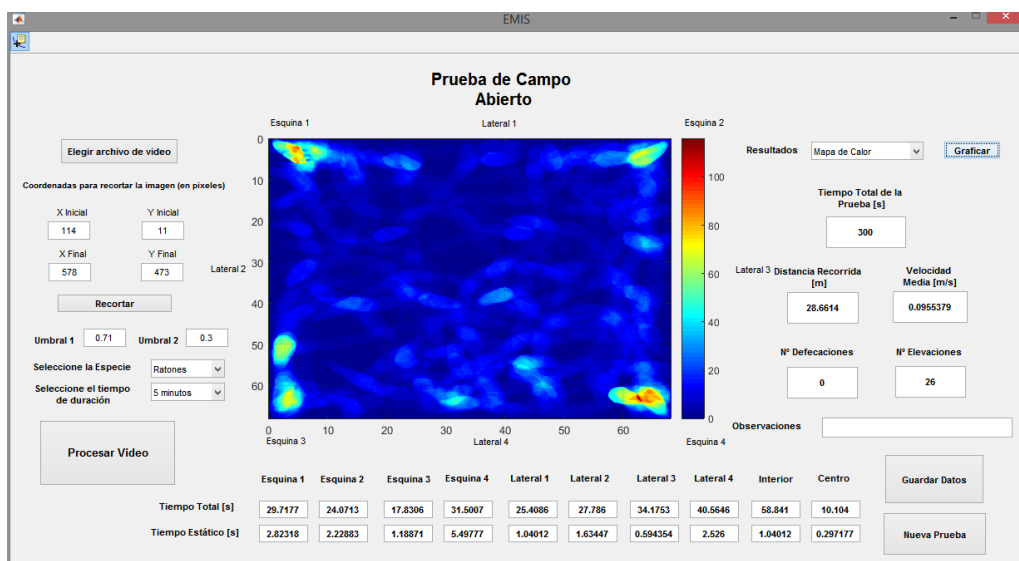


Figura 17-3 Mapa de Color
 Realizado por: PAZMIÑO, Juan, 2018

Para generar el mapa de calor se suman las imágenes binarizadas de cada frame (que tienen valores de cero o uno en cada pixel) en una variable de las mismas dimensiones. Al final, se grafica esta variable con la función de Matlab *imagesc* con parámetros que den un tono rojo a los pixeles con mayor valor, es decir, los pixeles donde el ratón estuvo más tiempo y dando un tono azul a los pixeles con menor valor, es decir, los pixeles donde el ratón estuvo menos tiempo.

3.11.5.2 Trayectoria

La grafica de trayectoria muestra con una línea continua el camino que recorrió el ratón durante la prueba, Figura 18-3.

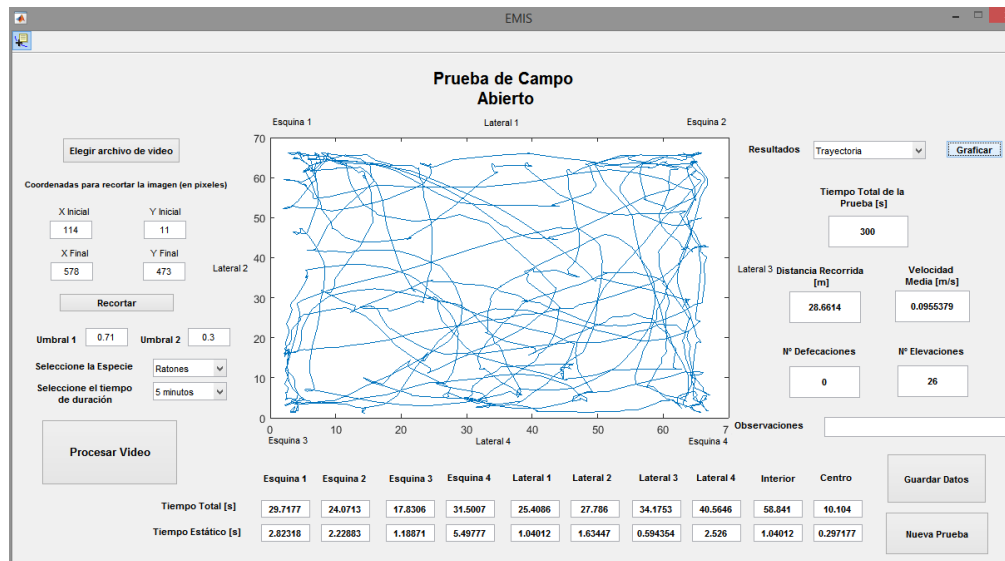


Figura 18-3 Trayectoria
Realizado por: PAZMIÑO, Juan, 2018

3.11.5.3 Distancia Recorrida

La gráfica distancia recorrida muestra la distancia total que ha recorrido el ratón en cada instante de tiempo, Figura 19-3.

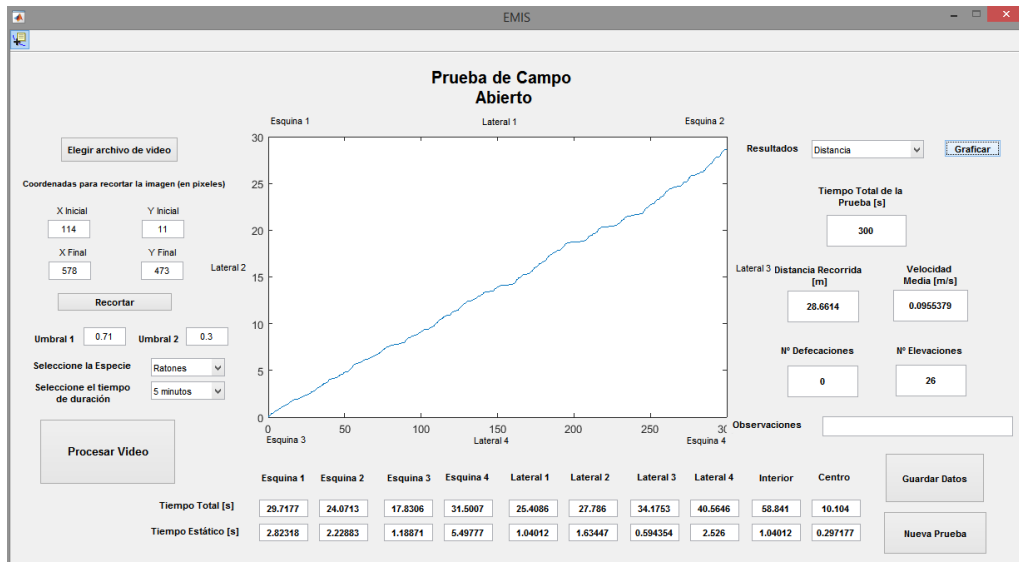


Figura 19-3 Distancia Recorrida
Realizado por: PAZMIÑO, Juan, 2018

3.11.5.4 Velocidad media.

La gráfica velocidad media muestra la velocidad media del ratón en cada instante de tiempo, Figura 20-3.

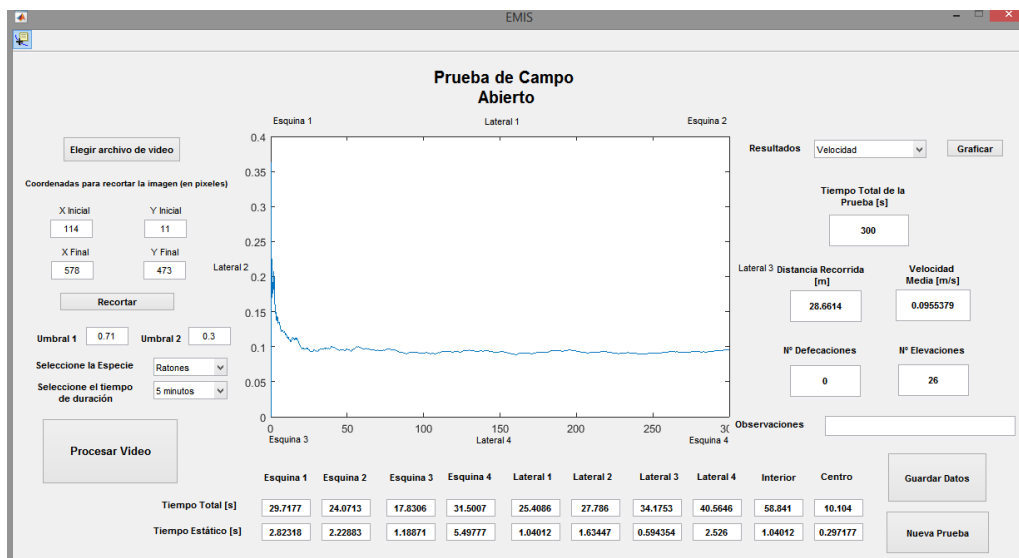


Figura 20-3 Velocidad media
Realizado por: PAZMIÑO, Juan, 2018

3.11.5.5 Defecaciones

La gráfica defecaciones muestra la cantidad de defecaciones registradas por el programa cada 20 segundos, Figura 21-3.

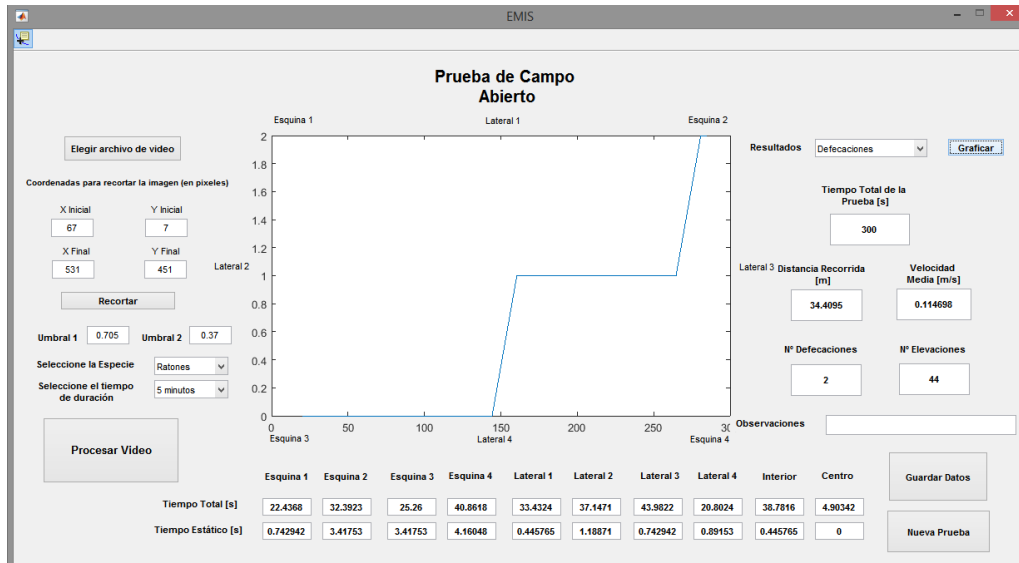


Figura 21-3 Defecaciones
Realizado por: PAZMIÑO, Juan, 2018

3.11.5.6 Elevaciones

La gráfica elevaciones muestra la cantidad de elevaciones registradas por el programa durante la prueba, Figura 22-3.

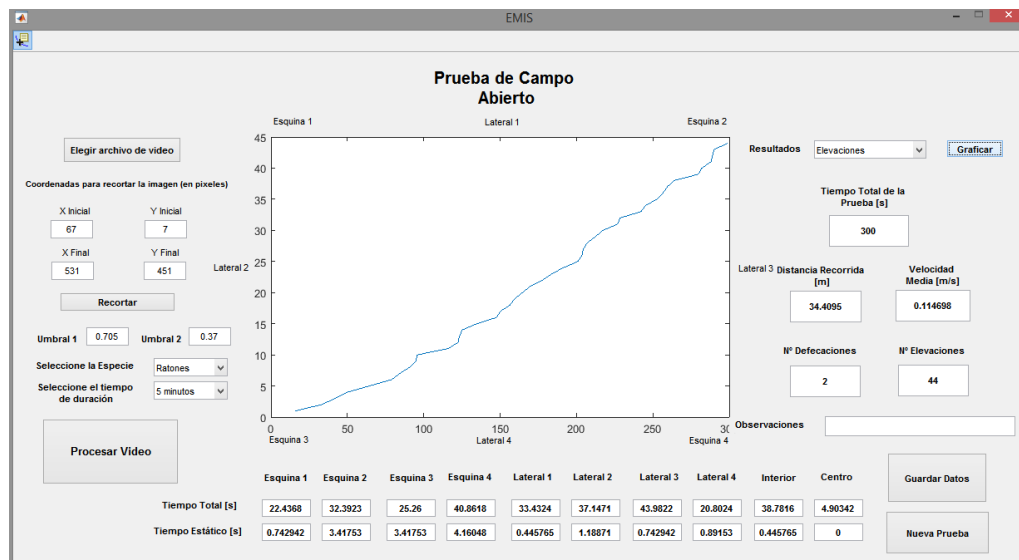


Figura 22-3 Elevaciones
Realizado por: PAZMIÑO, Juan, 2018

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS

Para la validación del sistema se realizó una prueba estadística en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH. Esta prueba de campo abierto fue realizada por la Bqf. Jessenia Zurita siguiendo los protocolos establecidos por la farmacología, teniendo una duración de tres semanas, con un período de adaptación previa del animal de 15 días. Los resultados del análisis se encuentran publicados en la tesis de grado titulada “Validación del equipo electrónico modelo de “Campo Abierto” para evaluar la actividad ansiolítica in vivo en ratas (*rattus norvegicus*) y ratones (*mus musculus*)”.

Los animales se dividieron en los siguientes grupos:

- **Grupo 1 Blanco:** los animales no estuvieron sometidos a ningún tipo de estrés ni tratamiento.
- **Grupo 2 Administración:** los animales no estuvieron sometidos a estrés, pero se les administró 1mL de Propilenglicol al 15% que fue el vehículo.
- **Grupo 3 Control negativo:** los animales estuvieron sometidos a estrés, pero no se administró ningún tipo de tratamiento.
- **Grupo 4 Control positivo:** los animales estuvieron sometidos a estrés y se administró como tratamiento 1mL de Clonazepam.
- **Grupo 5 No Manipulado:** los animales no fueron manipulación es decir sin estrés ni tratamiento, se sacaba al momento del análisis.

Como resultado se obtuvieron 75 videos que fueron analizados mediante la observación de cinco personas, la cuales dieron un valor a cada uno de los parámetros, con el fin de ser comparados con los datos obtenidos por la aplicación.

4.1 Datos Almacenados

Los datos obtenidos por el programa se almacenaron en un archivo de Excel desde Matlab.

En la Tabla 1-4 se presenta un cuadro resumen de los datos obtenidos por el sistema de los diez primeros videos almacenados en Excel.

Tabla 1-4 Resumen de parámetros obtenidos por el sistema de los diez primeros videos

0	Tiempo Total	Distancia recorrida	Velocidad Media	Defecaciones	Elevaciones	Esquina 1		Esquina 2		Esquina 3		Esquina 4		Lateral 1		Lateral 2		Lateral 3		Lateral 4		Interior		Centro	
						Tiempo Total	Tiempo Estático	Tiempo Total	Tiempo Estático	Tiempo Total	Tiempo Estático	Tiempo Total	Tiempo Estático	Tiempo Total	Tiempo Estático	Tiempo Total	Tiempo Estático	Tiempo Total	Tiempo Estático	Tiempo Total	Tiempo Estático	Tiempo Total	Tiempo Estático	Tiempo Total	Tiempo Estático
1	300	28,69	0,10	0	27	29,7	2,8	24,1	2,1	17,8	1,6	31,5	5,3	25,6	1,3	27,8	1,8	34,2	0,3	40,6	2,7	58,8	1,2	10,0	0,3
2	300	12,82	0,04	1	4	18,4	2,2	8,6	0,6	1,9	0,0	20,5	4,8	20,2	3,7	49,8	10,5	54,1	16,6	34,3	4,0	66,4	6,1	25,7	3,3
3	300	23,04	0,08	1	15	9,2	0,1	17,1	3,3	14,0	0,4	21,2	2,2	13,2	2,1	16,3	1,3	55,1	5,8	49,3	3,3	98,4	9,5	6,1	0,1
4	300	7,71	0,03	2	5	178,2	75,2	13,5	1,5	5,1	0,1	6,5	1,3	55,3	21,7	29,3	10,8	7,6	0,1	0,0	0,0	4,2	0,0	0,4	0,0
5	300	4,44	0,01	1	0	9,7	4,2	0,0	0,0	6,1	2,8	16,2	4,3	44,0	22,7	195,1	70,4	19,9	5,5	2,4	0,0	5,6	0,0	1,0	0,0
6	300	23,50	0,08	3	20	12,2	0,9	18,6	1,5	49,2	7,3	21,8	1,3	35,1	2,1	33,6	1,3	30,3	2,1	37,3	0,4	56,5	1,2	5,5	0,0
7	300	3,98	0,01	0	0	4,6	0,0	197,9	120,7	4,9	0,3	0,0	0,0	3,7	0,0	43,4	20,2	28,8	11,0	3,1	0,0	11,9	3,4	1,6	0,0
8	300	17,47	0,06	1	0	5,5	0,1	110,1	48,7	5,3	0,3	15,9	1,2	34,8	1,6	12,6	0,4	31,6	0,6	11,7	0,1	67,9	6,2	4,5	0,1
9	300	36,54	0,12	0	68	18,4	2,1	30,8	1,0	38,3	3,6	37,9	3,0	38,9	0,6	24,2	0,1	30,2	0,4	30,3	0,9	46,4	0,1	4,6	0,0
10	300	22,96	0,08	4	9	20,2	1,3	18,1	1,5	10,1	0,4	36,3	3,0	18,7	0,9	23,9	1,0	81,1	5,8	30,5	0,7	53,2	0,9	7,9	0,6

Realizado por: PAZMIÑO, Juan, 2018

4.2 Evaluación estadística de parámetros

4.2.1 *Número de defecaciones*

En la tabla 2-4 se puede apreciar que los valores obtenidos por los observadores y el sistema son iguales, por lo que no fue necesario realizar un análisis estadístico.

Tabla 2-4 Número de defecaciones

Software_S1	Observador_S1	Software_S2	Observador_S2	Software_S3	Observador_S3
K1	0	0	5	5	4
K2	1	1	3	3	0
K3	1	1	3	3	1
K4	2	2	0	0	1
K5	1	1	2	2	4
K1	3	3	2	2	0
K2	0	0	3	3	1
K3	1	1	2	2	1
K4	0	0	3	3	0
K5	0	0	0	0	0
K1	4	4	3	3	0
K2	3	3	1	1	0
K3	2	2	0	0	1
K4	2	2	1	1	0
K5	6	6	3	3	2
K1	1	1	2	2	3
K2	0	0	1	1	0
K3	0	0	3	3	4
K4	0	0	1	1	0
K5	0	0	1	1	1
K1	1	1	0	0	1
K2	1	1	1	1	0
K3	2	2	0	0	2
K4	1	1	1	1	1
K5	2	2	0	0	2

Fuente: (Zurita, 2018)

4.2.2 *Número de elevaciones*

En la tabla 3-4 se puede apreciar que los valores obtenidos por los observadores y el sistema son iguales, por lo que no fue necesario realizar un análisis estadístico.

Tabla 3-4 Número de elevaciones

	Software_S1	Observador_S1	Software_S2	Observador_S2	Software_S3	Observador_S3
K1	27	27	35	35	27	27
K2	4	4	24	24	44	44
K3	15	15	25	25	17	17
K4	5	5	4	4	0	0
K5	0	0	0	0	5	5
K1	20	20	25	25	24	24
K2	0	0	6	6	2	2
K3	0	0	2	2	37	37
K4	0	0	11	11	1	1
K5	28	28	56	56	28	28
K1	9	9	15	15	9	9
K2	24	24	2	2	23	23
K3	21	21	16	16	11	11
K4	7	7	0	0	0	0
K5	10	10	44	44	36	36
K1	18	18	1	1	1	1
K2	17	17	8	8	17	17
K3	35	35	4	4	4	4
K4	0	0	0	0	33	33
K5	8	8	17	17	0	0
K1	13	13	25	25	9	9
K2	46	46	14	14	25	25
K3	1	1	31	31	31	31
K4	0	0	2	2	5	5
K5	32	32	5	5	16	16

Fuente: (Zurita, 2018)

4.2.3 *Tiempos de permanencia en lugares específicos*

Antes de comparar los resultados del sistema con los resultados de los observadores, se hizo una prueba de normalidad para la diferencia de tiempos de permanencia utilizando el estadístico Shapiro-Wilk. En las variables donde se obtuvo una probabilidad que indique que los datos no siguen una distribución normal, se aplicó la prueba de rangos con signos de Wilcoxon. Por otro lado, en las variables donde se obtuvo una probabilidad que indique que los datos siguen una distribución normal, se aplicó la prueba t-Students para medias de dos muestras emparejadas. Los resultados de ambas pruebas obtuvieron valores mayores al nivel de significancia, permitiendo comprobar la validez de los datos.

CONCLUSIONES

- El sistema identifica la posición del ratón en cada frame, dando la coordenada exacta del centro de masa de su figura en dos dimensiones, medición muy exacta en comparación de métodos tradicionales de ubicación como la observación.
- Se utilizó la binarización mediante umbrales como técnica de procesamiento digital de imágenes de dominio espacial, ya que permitía obtener la ubicación del ratón, así como la información de su área en la imagen, dos parámetros fundamentales para determinar los resultados finales de la prueba.
- El sistema brinda la posibilidad de tener un sistema automático de obtención de parámetros de la prueba de campo abierto. Teniendo un número de parámetros mayor en comparación con otros sistemas automáticos y manuales ya implementados. Su funcionalidad de grabación inalámbrica, permite un ambiente aislado y libre de cualquier perturbación que pueda alterar el comportamiento de los ratones durante la prueba.
- La cantidad de información presente en los videos es muy alta y hace que durante el procesamiento de la información se requieran muchos recursos de procesamiento y almacenamiento, restringiendo su uso a computadores actuales y de buenas características de procesamiento.
- El prototipo trabaja óptimamente bajo las especificaciones detalladas en el Manual de Usuario (Anexo 1). Cualquier alteración a los parámetros de la prueba puede alterar el resultado de la misma.
- El funcionamiento del sistema ha sido validado con una prueba estadística realizada por la Bqf. Jessenia Zurita, obteniendo 99% de nivel de confianza.

RECOMENDACIONES

- El color del ratón debe ser uniforme para que sea reconocido por el programa. En el caso de existir manchas oscuras en el cuerpo o cola del ratón, pueden ser confundidas con defecaciones. Así también, una correcta iluminación es importante para que las intensidades de colores sean reconocidas por el programa.
- Asegurarse que la caja de acrílico donde se desarrolla la prueba se encuentre completamente limpia y alineada con la cámara, para evitar incluir zonas no deseadas.
- En lo posible utilizar grabaciones con una resolución de 640x480 pixeles y una tasa de muestreo de 10fps, que es la suficiente para identificar las variables de la prueba sin sobrecargar el programa con información innecesaria.
- Verificar que el computador donde está instalado el software de adquisición de videos exista espacio de almacenamiento suficiente, caso contrario, se eliminarán videos antiguos para escribir los nuevos, pudiendo tener una pérdida de información importante.
- El procesamiento de los videos utiliza gran parte de los recursos del computador, por lo que es recomendable finalizar procesos o programas en segundo plano. En el caso de no tener espacio suficiente en memoria RAM, el programa no se ejecutará.

BIBLIOGRAFÍA

- Balseca Chávez, G. C., & Vinueza, D. (2016). Evaluación comparativa de la actividad ansiolítica de los extractos de hojas y flores de *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta* por administración oral en ratones *Mus musculus*. *Tesis de Grado, Facultad de Ciencias, ESPOCH, Riobamba, Ecuador*, pp. 12-13. Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/5771>.
- Benavides, F. J., & Guénet, J. L. (2003). Biología y manejo reproductivo del ratón. *Manual de Genética de Roedores de Laboratorio. Principios Básicos y Aplicaciones*. [En línea:] [Consulta: 15 de Junio del 2018] Obtenido de <https://secal.es/wp-content/uploads/2014/10/00-GENETICA-indice.pdf>
- Colmenar, A., & Castro, M. (n.d.). *Tecnología multimedia VÍDEO DIGITAL*. [En línea:] [Consulta: 15 de Enero del 2018] Obtenido de https://ocw.innova.uned.es/mm2/tm/contenidos/pdf/tema4/tmm_tema4_video_digital.pdf
- Cruz-Morales, S. E., González-Reyes, M. R., Gómez-Romero, J. G., & Arriaga Ramírez, J. C. P. (2003). Modelos de ansiedad. *Revista Mexicana de Análisis de La Conducta*, vol. 39, n°1, pp. 94-102. [En línea:] [Consulta: 1 de Febrero del 2018] Obtenido de <https://doi.org/10.5514/rmac.v29.i1.23518>
- Dlink. (n.d.). DCS-931L – D-Link Latinoamerica. [En línea:] [Consulta: 15 de Febrero del 2018] Obtenido de <http://la.dlink.com/camaras/dcs-931l/#Especificaciones>
- Fernández, E. (1998). La medición del impacto social de la ciencia y tecnología, pp. 1–30. [En línea:] [Consulta: 21 de Enero del 2018] Obtenido de http://www.ricyt.org/manuales/doc_view/62-la-medicion-del-impacto-social-de-la-ciencia-y-tecnologia
- García, J., Rodríguez, J., & Vidal, J. (2005). Aprenda Matlab 7.0 como si estuviera en primero. *Universidad Politécnica de Madrid, España*, pp. 1–128. [En línea:] [Consulta: 15 de Junio del 2018] Obtenido de <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Aprenda+Matlab+7+.+0+como+si+estuviera+en+primero#0>
- García Luna, V. M. (2001). Introducción al procesamiento digital de señales. *Elai-Upm*. [En línea:] [Consulta: 1 de Febrero del 2018] Obtenido de http://www.elai.upm.es/webantigua/spain/Publicaciones/pub01/intro_procsdig.pdf

- Geréz, P. F. G., & Gullace, F. A. (2011). Reproducción en Animales de Laboratorio. *Técnicas Para Bioterio IV, Universidad de Buenos Aires, Argentina*, pp. 2-10. [En línea:] [Consulta: 3 de Febrero del 2018] Obtenido de <http://dpd.fvet.uba.ar/cartelera/00010199.pdf>
- Gómez, C., Saldívar, A., & Rodríguez, R. (2002). Modelos animales para el estudio de la ansiedad: Una aproximación crítica. *Salud Mental*, vol. 25, n° 1, 14–24. [En línea:] [Consulta: 13 de Febrero del 2018] Obtenido de http://www.revistasaludmental.mx/index.php/salud_mental/article/view/887
- Gonzalez, R., & Woods, R. (2006). *Digital Image Processing*. Third Edition. Saddle River, NJ, USA: Prentice-Hall.
- Mendoza, M. A. (2009). Procesamiento y análisis digital de imágenes mediante dispositivos lógicos programables, *Tesis de Grado, Uni. Tec. De la Mixteca, Huajuapán de León, México*. [En línea:] [Consulta: 1 de Abril del 2018] Obtenido de http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/10726.pdf.
- Molina, M., Téllez, N., & Denes, J. (2005, May). El estudio experimental de la ansiedad. *La Ciencia y El Hombre*. vol. 8, n° 2, pp. 4. [En línea:] [Consulta: 08 de Marzo del 2018] Obtenido de <https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol18num2/articulos/ansiedad/index.htm>
- Muñoz Serrano, R. X. (2013). Diseño e Implementación de un Sistema de Video Vigilancia con una cámara IP para el laboratorio LTI de la Escuela Politécnica Nacional. *Esc.de Tecnólogos, EP Nacional, Quito, Ecuador* pp. 7-36. [En línea:] [Consulta: 28 de Marzo del 2018] Obtenido de <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/6224>
- Nikodijevic, O., Sarges, R., Daly, J. W., & Jacobson, K. A. (1991). Behavioral effects of A1- and A2-selective adenosine agonists and antagonists: Evidence for synergism and antagonism. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. vol. 259, n° 1, pp.286-294.
- Pérez, C. (n.d.). Compresión De Video, *UNICAN*, pp. 10–35 [En línea:] [Consulta: 29 de Marzo del 2018] Obtenido de <https://personales.unican.es/perezvr/pdf/Compresion%20de%20video.pdf>
- Platero, C. (2012). Procesamiento Morfológico. *Elai Upm*, Madrid, España, pp. 171-198. [En línea:] [Consulta: 31 de Marzo del 2018] Obtenido de <http://www.elai.upm.es/webantigua/spain/Asignaturas/Robotica/ApuntesVA/cap6VAProcMorf.pdf>

- Polanco, L. A., Vargas-Irwin, C., & Góngora, M. E. (2012). Modelos animales: Una revisión desde tres pruebas utilizadas en ansiedad. *Suma Psicológica*, vol. 18, n°2. pp. 142-146. [En línea:] [Consulta: 22 de Marzo del 2018] Obtenido de <http://publicaciones.konradlorenz.edu.co/index.php/sumapsi/article/view/987/670>
- Prut, L., & Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: A review. *European Journal of Pharmacology*. vol. 463, n° 1-3, pp. 34-32.
- Reyes-Ticas, J. (2005). Trastornos De Ansiedad Guia Practica Para Diagnostico Y Tratamiento. *Biblioteca Virtual En Salud. Honduras*. pp. 10. [En línea:] [Consulta: 21 de Febrero del 2018] Obtenido de <http://www.bvs.hn/Honduras/pdf/TrastornoAnsiedad.pdf>
- Roncagliolo, P. (2008). Procesamiento Digital de Imágenes. *Universidad Técnica Federico Santa María*. [En línea:] [Consulta: 30 de Febrero del 2018] Obtenido de <http://www2.elo.utfsm.cl/~elo328/>
- Ströhle, A., Jahn, H., Montkowski, A., Liebsch, G., Boll, E., Landgraf, R., ... Wiedemann, K. (1997). Central and peripheral administration of atriopeptin is anxiolytic in rats. *Neuroendocrinology*. vol. 65, n° 1, pp. 210-215.
- Vogel, H. G., Maas, J., Hock, F. J., & Mayer, D. (2013). *Drug Discovery and evaluation: Pharmacological Assays*, Third Edition. New York: Springer, 2008, pp. 573-574.
- Vorhees, C. V., Acuff-Smith, K. D., Minck, D. R., & Butcher, R. E. (1992). A method for measuring locomotor behavior in rodents: Contrast-sensitive computer-controlled video tracking activity assessment in rats. *Neurotoxicology and Teratology*. vol. 14, n° 1, pp. 43-49.
- Walsh, R. N., & Cummins, R. A. (1976). The Open-Field. *Psychological Bulletin*, vol. 83, n°3, pp. 482-504.
- Zavala-Dávalos, L. Á. (2017). Desarrollo de un Sistema de Adquisición y Procesamiento de Señales Electromiográficas con Matlab para la Identificación de Los Movimientos Extensión, Flexión, Pronación Y Supinación de un Brazo Humano. Tesis de Maestría, IPEC, ESPOCH, Riobamba, Ecuador, pp. 35-36.
- Zurita Jines, J. (2018). Validación del equipo electrónico modelo de “Campo Abierto” para evaluar la actividad ansiolítica in vivo en ratas (*Rattus norvegicus*) y ratones (*Mus musculus*). Tesis de Grado, Facultad de Ciencias, ESPOCH, Riobamba, Ecuador.

ANEXOS

ANEXO #1 Manual de Usuario



MANUAL DE USUARIO EMIS

“HERRAMIENTA DE OBTENCIÓN DE
PARÁMETROS DE LA PRUEBA DE CAMPO
ABIERTO”

Contenido

<u>1.</u>	<u>Introducción</u>	3
<u>2.</u>	<u>Objetivos</u>	4
<u>3.</u>	<u>Requerimientos</u>	5
<u>4.</u>	<u>Descripción general del prototipo</u>	6
<u>5.</u>	<u>Configuración de los elementos del prototipo</u>	9
<u>5.1.</u>	<u>Configuración inicial de la cámara.</u>	9
<u>5.2.</u>	<u>Conexión del PC a la cámara.</u>	13
<u>5.3.</u>	<u>Conexión del software D-ViewCam a la cámara.</u>	15
<u>5.3.1.</u>	<u>Instalación del controlador de la cámara y software D-ViewCam</u>	15
<u>5.3.2.</u>	<u>Contraseña del programa</u>	19
<u>5.3.3.</u>	<u>Búsqueda y conexión a la cámara.</u>	19
<u>5.4.</u>	<u>Grabación de videos</u>	20
<u>5.4.1.</u>	<u>Parámetros de grabación</u>	21
<u>5.4.2.</u>	<u>Preparación del lugar de grabación.</u>	21
<u>5.4.3.</u>	<u>Grabación.</u>	22
<u>5.5.</u>	<u>Extracción de videos.</u>	24
<u>5.6.</u>	<u>Aplicación EMIS</u>	27
<u>5.6.1.</u>	<u>Instalación de EMIS</u>	27
<u>5.6.2.</u>	<u>Ingreso de Video</u>	29
<u>5.6.3.</u>	<u>Selección del Área de Análisis.</u>	30
<u>5.6.4.</u>	<u>Ingreso de Umbrales.</u>	31
<u>5.6.5.</u>	<u>Selección del Tipo de Especie.</u>	31
<u>5.6.6.</u>	<u>Selección del Tiempo de Duración.</u>	32
<u>5.6.7.</u>	<u>Procesamiento de información</u>	32
<u>5.6.8.</u>	<u>Gráficas y Estadísticas</u>	33
<u>5.6.9.</u>	<u>Almacenamiento de Resultados</u>	34
<u>5.6.10.</u>	<u>Nueva Prueba.</u>	35

1. Introducción

El sistema EMIS permite detectar y medir las variables indicativas de la prueba de campo abierto, que es utilizada para evaluar la actividad ansiolítica en ratones y ratas de laboratorio. Esta prueba se la realiza con frecuencia en muchos laboratorios o centros de investigación, para estudiar el impacto de ciertos fármacos y sustancias para su posterior administración a seres humanos.

EMIS está diseñado para dotar al investigador de una herramienta tecnológica que permita el análisis de una manera automática, precisa y confiable. Su interfaz es sencilla e intuitiva para facilitar su uso, el cual está orientado a los investigadores de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

EMIS fue desarrollado en Matlab y está basado en el ingreso de videos recolectados y el procesamiento de las imágenes contenidas, brindando datos en tiempo real y gráficas estadísticas para una mejor interpretación.

2. Objetivos

- Brindar una descripción de la correcta adquisición de los videos que deben ser ingresados a la aplicación.
- Guiar al usuario de una forma clara y detallada sobre el uso de los elementos que posee el software, los procedimientos necesarios para el correcto procesamiento de los datos y la visualización de los resultados.
- Describir los pasos necesarios para el almacenamiento de los datos obtenidos por el programa para su posterior análisis.

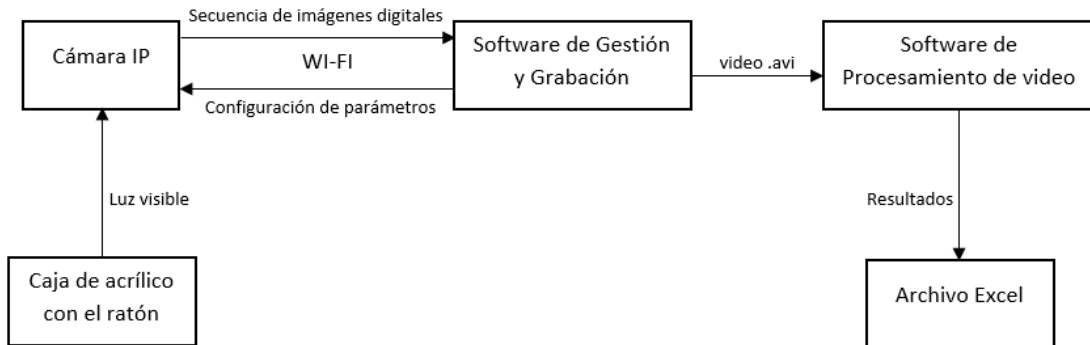
3. Requerimientos

Las aplicaciones y utilidades que conforman el sistema pueden ejecutarse bajo sistemas operativos Windows 7, 8, 8.1 y 10 con las siguientes características mínimas de hardware:

- **Procesador.** Procesador Intel core i3 cuarta generación
- **RAM.** 4 GB
- **Espacio libre en disco duro.** 50 GB

4. Descripción general del prototipo

El sistema de obtención de parámetros de la prueba de campo abierto basado en procesamiento de imágenes posee varios elementos que interactúan como se observa en la figura.



La caja de acrílico donde se ubica el ratón/rata para el análisis mide $68 \times 68 \text{ cm}$ en su base (de color celeste), con paredes de 45 cm de altura (de color transparente).

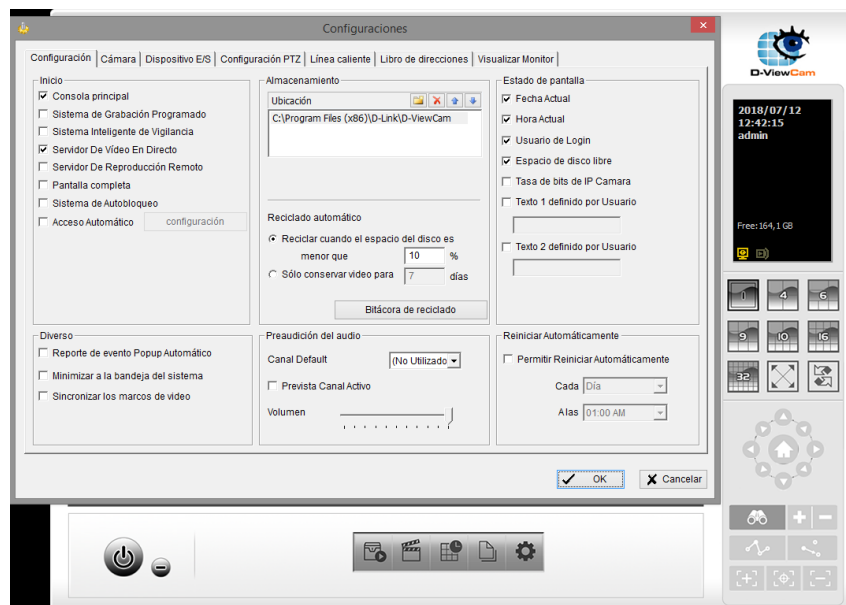
La cámara de adquisición de imágenes es de marca D-Link modelo DCS-931L que posee las siguientes características de grabación:

- Conectividad inalámbrica 802.11n.
- Conectividad Ethernet estándar.
- Angulo de visión: Horizontal 45.3° y Vertical 34.5°
- Resolución de Video: 640×480 , 320×240 y 160×112
- Tasa de imagen: 10fps, 20fps y 30fps
- Formato de pixel: RGB24
- Compresión de video: H.264 y MJPEG
- Formato de video: .avi
- Protocolos de red: IPv4, ARP, TCP, UDP, ICMP, DHCP client, HTTP server, entre otros.
- Seguridad: Autenticación por contraseña, Autenticación HTTP digest. (Dlink, n.d.)

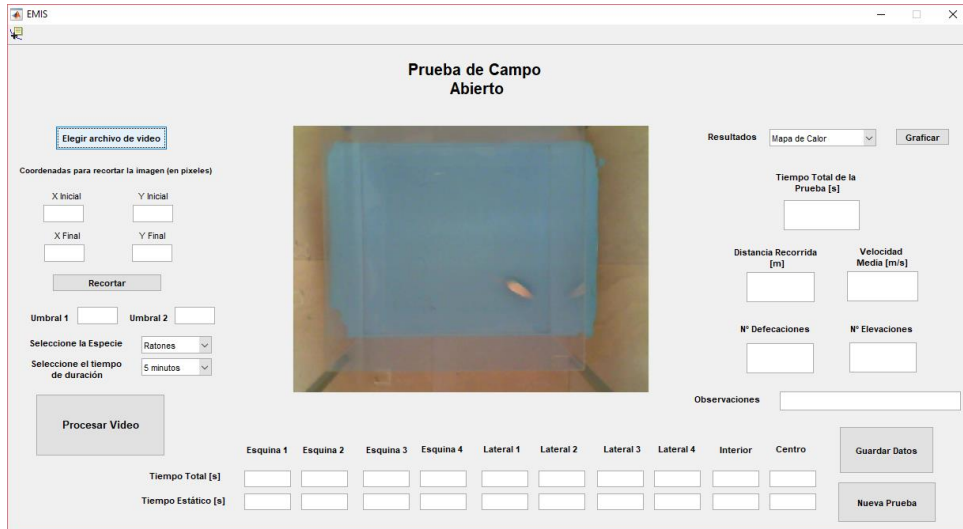
El sistema consta de una estructura de aluminio con altura regulable (1,40 – 2,10 metros), en la parte superior se encuentra una tapa de madera (1 x 1 metro), que sirve como base para la cámara, así como para bloquear la luz excesiva que puede ser reflejada en la caja con la ayuda de unas cortinas que cuelgan desde la base.



Otro elemento del sistema es el software de grabación y gestión de la cámara, denominado D-ViewCam de D-LINK, este programa se encarga de comunicarse con la cámara y administrar las opciones de grabación, adquiere la secuencia de imágenes y las almacena en la Pc donde este instalada, para que posteriormente el usuario extraiga los videos para su análisis.



Una vez obtenidos los videos, se deben ingresar en el software desarrollado específicamente para el análisis de los mismos, llamado EMIS, este software analiza cuadro por cuadro para determinar los valores de los parámetros resultantes de la prueba.



Finalizado el análisis, EMIS tiene la opción de guardar los resultados en una hoja de cálculo .xlsx, esta hoja de cálculo fue diseñada con una cabecera que indica el nombre del parámetro para que EMIS ingrese el valor de ese parámetro obtenido en su respectiva columna.

5. Configuración de los elementos del prototipo

A continuación se describirán los pasos necesarios y la configuración de cada uno de los elementos del sistema para su funcionamiento:

5.1. Configuración inicial de la cámara.

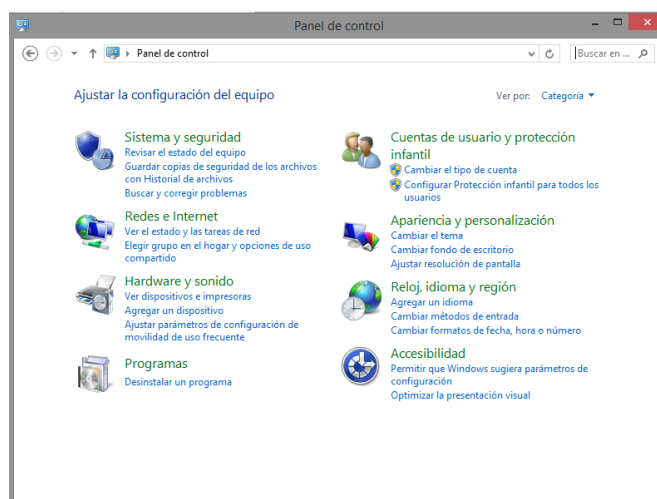
La configuración inicial se la realiza solo cuando la cámara es nueva o cuando debido a algún problema se reseteó a configuración de fábrica. Para la configuración inicial de la cámara se deben seguir las siguientes instrucciones:

Conectar un extremo del cable de red en la cámara y el otro extremo en el computador donde se va configurar. Así también, conectar el cable de energía a la cámara.

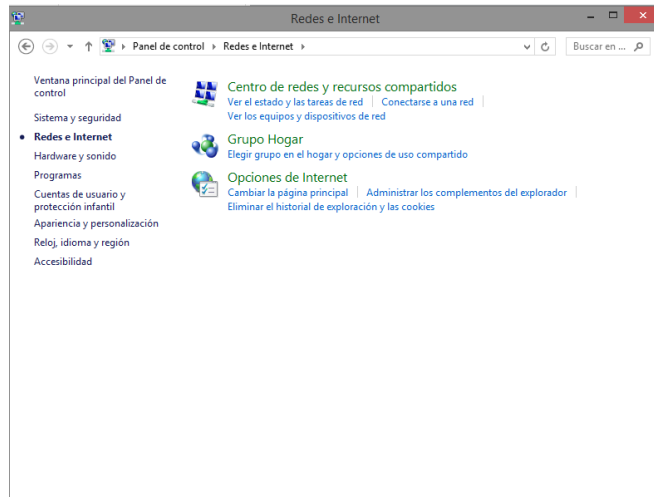


La cámara viene de fábrica con la dirección IP 192.168.0.20 y máscara 255.255.255.0, así que para tener conectividad entre ambos dispositivos se debe configurar la interfaz Ethernet de la PC con una dirección IP dentro del mismo segmento de red, por ejemplo la dirección IP 192.168.0.1 con máscara 255.255.255.0 para esto se pueden seguir los siguientes pasos:

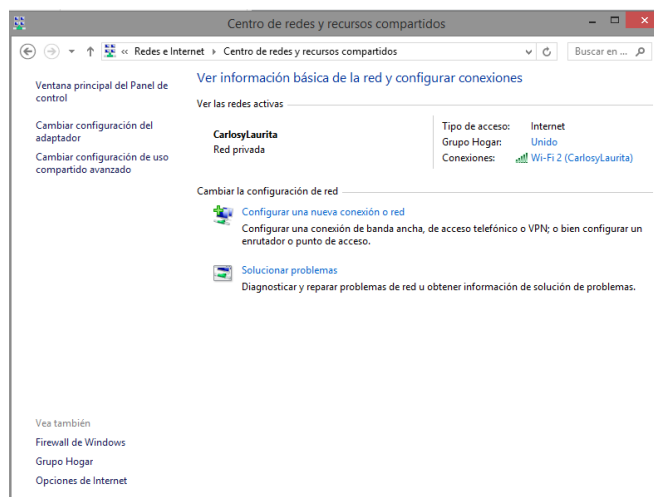
Ingresar al panel de control de Windows y seleccionar la opción *Redes e internet*.



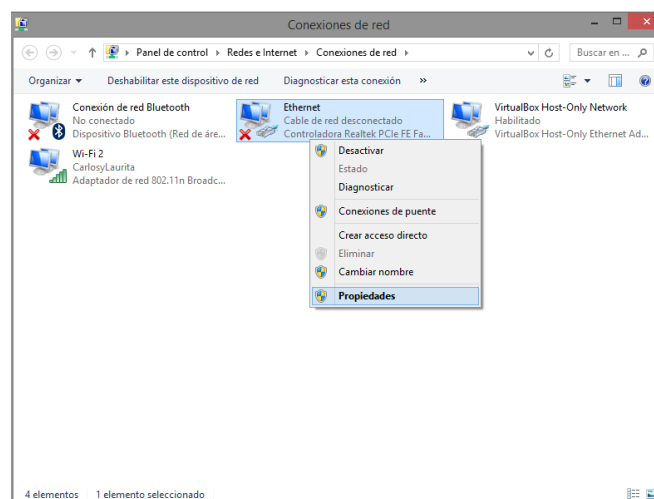
Dar clic en la opción *Centro de redes y recursos compartidos*



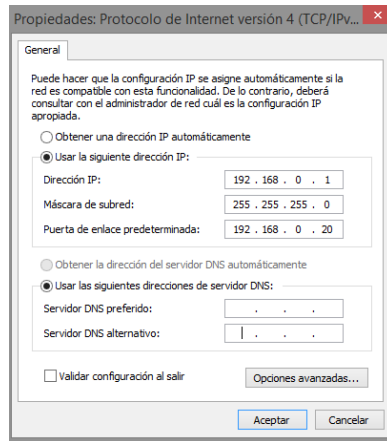
Dar clic en la opción *Cambiar la configuración del adaptador*



Dar clic derecho en la interfaz *Ethernet*, que es en la que se conectó el cable de red y seleccionar la opción propiedades.

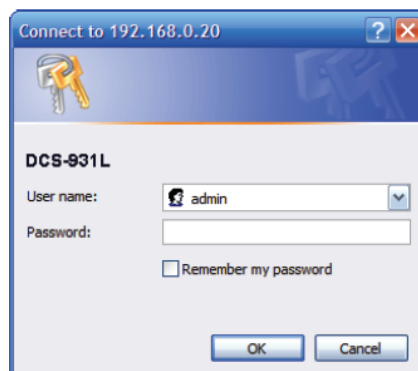


Seleccionar la opción *Protocolo de internet version 4 (TCP/IPv4)* e ingresar los datos en la ventana de la siguiente manera y dar clic en *Aceptar*

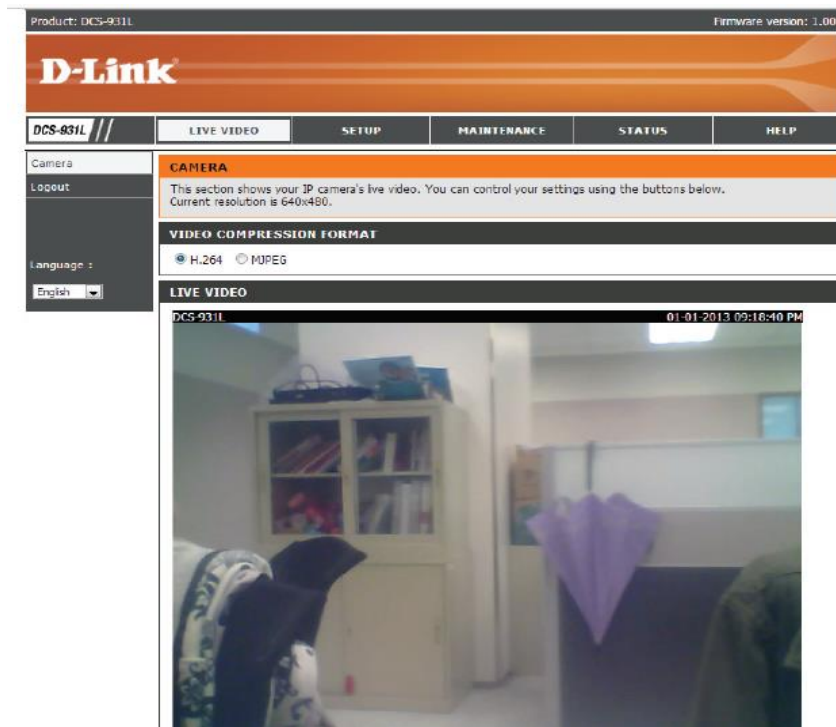


A continuación se puede abrir el navegador web de preferencia e ingresar la dirección de la cámara como se observa en la figura

Se abre una ventana emergente donde se debe ingresar el nombre de usuario y la contraseña



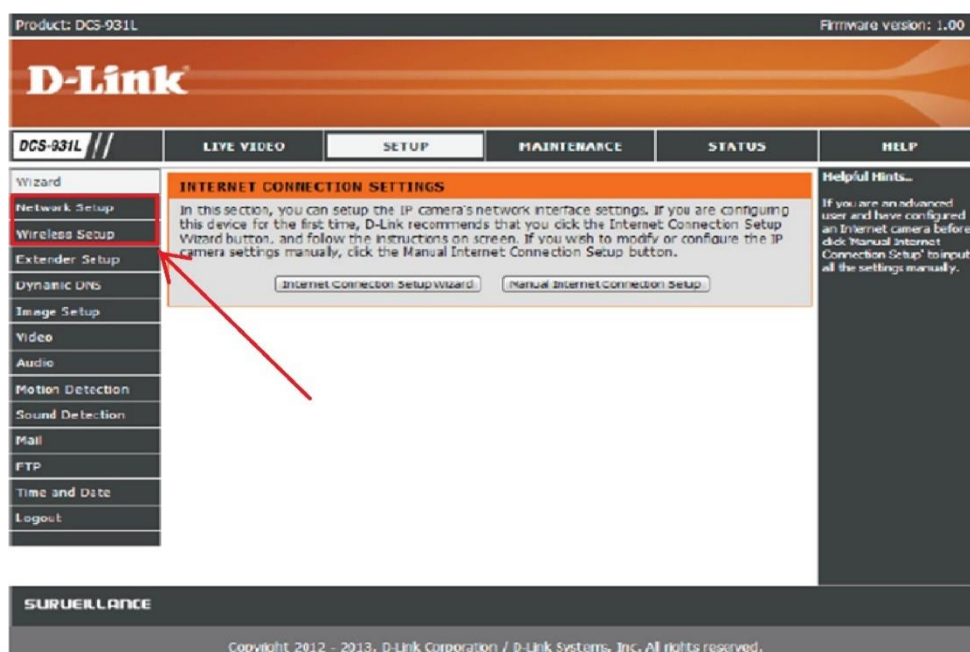
El usuario de fábrica es *admin* sin contraseña. Se abre la configuración de la cámara vía web donde se observan pestañas con opciones de configuración. En la parte inferior se muestra la imagen de la cámara en tiempo real



La cámara tiene múltiples opciones de configuración. Sin embargo, en el sistema de obtención de parámetros de la prueba de campo abierto solo es necesaria la configuración de una contraseña, el acceso WI-FI y la dirección de red, en ese orden.

Para cambiar el usuario y la contraseña se debe dar clic en la pestaña *MAINTENANCE*. Se define la contraseña *camara* que es con la que se debe autenticar cuando se conecte la aplicación D-ViewCam a la cámara.

Para configurar la red se selecciona la pestaña *SETUP*, donde se despliegan las opciones en la parte izquierda.



Se selecciona la pestaña *Wireless Setup* y se configuran los parámetros como en la figura.

The screenshot shows the D-Link DCS-931L web interface. The top navigation bar includes 'DCS-931L', 'LIVE VIDEO', 'SETUP', 'MAINTENANCE', 'STATUS', and 'HELP'. The left sidebar lists various configuration options, with 'Wireless Setup' selected. The main content area is titled 'WIRELESS SETUP' and contains the following sections:

- WIRELESS SETTINGS:** Includes 'Enable Wireless' (checked), 'SSID' (sid0), 'Channel' (10), and 'Connection Mode' (Infrastructure selected, Ad-Hoc unselected).
- WIRELESS SECURITY MODE:** Includes 'Security Mode' (WPA-PSK / WPA2-PSK selected, None and WEP unselected).
- WPA-PSK / WPA2-PSK SETTINGS:** Includes 'Pre-Shared Key' (12345678) and a note '(8-63 ASCII or 64 HEX characters)'. The 'Save Settings' button is highlighted.

Helpful Hints on the right side provide additional information about wireless setup and security modes.

En la línea final donde se encuentra la opción *Pre-Shared Key* se debe colocar la clave: *12345678*. A continuación se da clic en la opción *Save Settings* para guardar la configuración.

Después de configurar el acceso WI-FI, se debe configurar una dirección de red, para esto se da clic en la pestaña *Network Setup* y se configura como se observa en la figura.

The screenshot shows the D-Link DCS-931L web interface. The top navigation bar includes 'DCS-931L', 'LIVE VIDEO', 'SETUP', 'MAINTENANCE', 'STATUS', and 'HELP'. The left sidebar lists various configuration options, with 'Network Setup' selected. The main content area is titled 'NETWORK SETUP' and contains the following sections:

- LAN SETTINGS:** Includes 'DHCP Connection' (unselected), 'Static IP Address' (selected), and 'PPPoE' (unselected). Fields for 'IP Address' (192.168.137.20), 'Subnet Mask' (255.255.255.0), 'Default Gateway' (192.168.137.1), 'User ID', and 'Password' are visible. 'Primary DNS' is 8.8.8.8.
- PORT SETTINGS:** Includes 'HTTP Port' (80).
- UPnP SETTINGS:** Includes 'UPnP' (Enable selected, Disable unselected) and 'UPnP Port Forwarding' (Enable selected, Disable unselected).
- BONJOUR SETTINGS:** Includes 'Bonjour' (Enable selected, Disable unselected) and 'Bonjour Name' (DCS-931L).

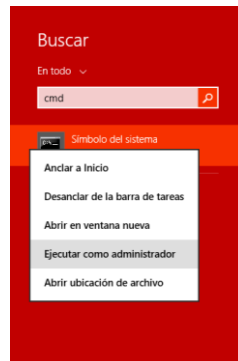
Helpful Hints on the right side provide additional information about network setup and DNS.

A continuación se da clic en la opción *Save Settings*.

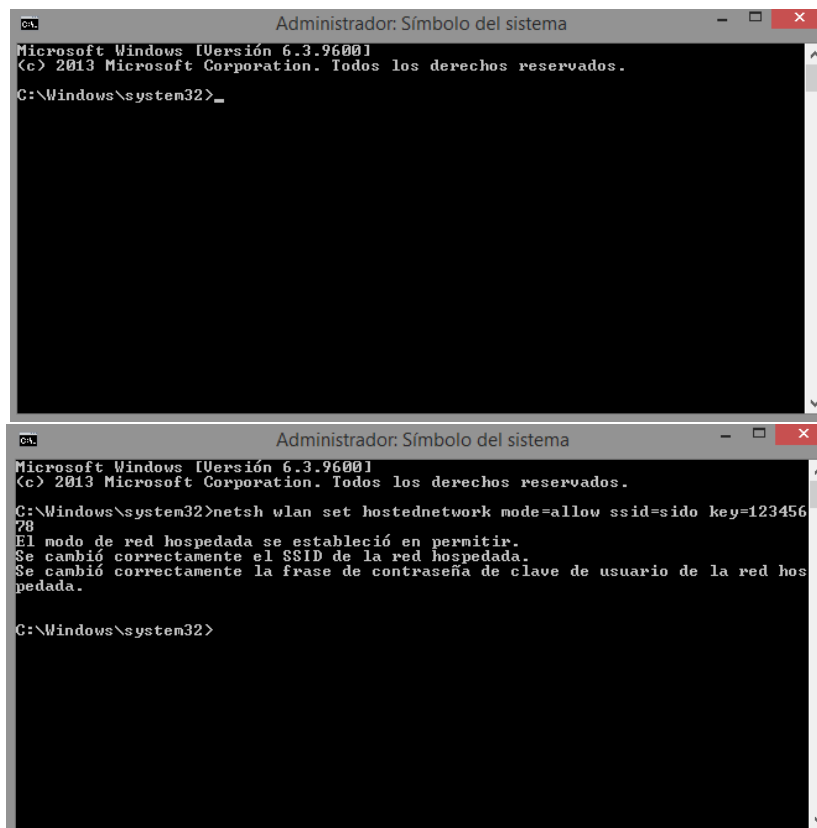
5.2. Conexión del PC a la cámara.

Una vez hecha la configuración básica de la cámara, se debe configurar la PC para que genere una red WI-FI con los datos ingresados en la cámara y que esta se pueda conectar inalámbricamente a la PC.

En el buscador de la barra inicio escriba las letras CMD y se despliega el programa *Símbolo del Sistema*, se da clic derecho en el programa y se selecciona la opción *Ejecutar como administrador*.



Se observa la ventana de símbolo del sistema, donde se debe escribir la instrucción `netsh wlan set hostednetwork mode=allow ssid=sido key=12345678` y pulsar *ENTER*, esta instrucción habilita una Red WI-FI llamada *sido* con contraseña *12345678*, que es la red que se configuró previamente en la opción de WI-FI en la cámara D-Link.



A continuación se debe ingresar la línea de comando `netsh wlan start hostednetwork` y se presiona *ENTER* para encender la red WI-FI llamada *sido*.

```
Administrador: Símbolo del sistema
Microsoft Windows [Versión 10.0.17134.523]
(c) 2018 Microsoft Corporation. Todos los derechos reservados.

C:\Windows\system32>netsh wlan set hostednetwork mode=allow ssid=sido key=12345678
El modo de red hospedada se estableció en permitin.
Se cambió correctamente el SSID de la red hospedada.
Se cambió correctamente la frase de contraseña de clave de usuario de la red hospedada.

C:\Windows\system32>netsh wlan start hostednetwork
Se inició la red hospedada.

C:\Windows\system32>
```

Cuando se han ingresado estos comandos, la cámara reconoce en poco tiempo la red creada y se conecta a ella. La PC automáticamente se configura con la dirección IP 192.168.137.1 que tendrá conectividad con la dirección IP 192.168.137.20 que es la que se configuró inicialmente en la cámara.

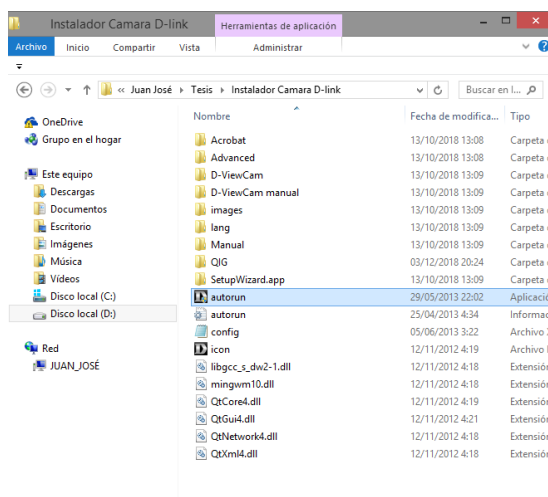
La red *sido* permanecerá activa hasta que se reinicie o se suspenda la PC, en ese caso, si se desea activar la red nuevamente para conectarse a la cámara, se debe ingresar el comando *netsh wlan start hostednetwork*.

5.3. Conexión del software D-ViewCam a la cámara.

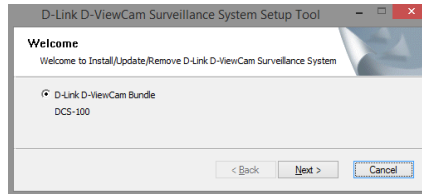
Lo primero que se debe realizar es la instalación del software D-ViewCam en la PC donde se va a trabajar

5.3.1. Instalación del controlador de la cámara y software D-ViewCam

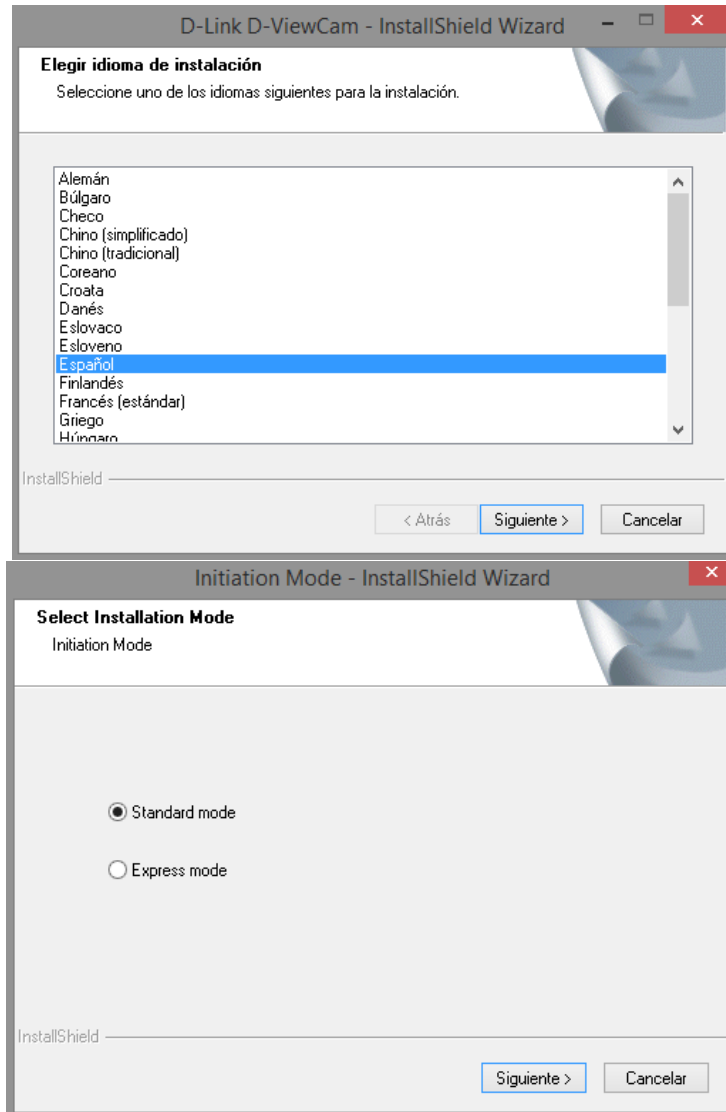
Se busca la ubicación del archivo de instalación y se da doble clic para ejecutarlo.



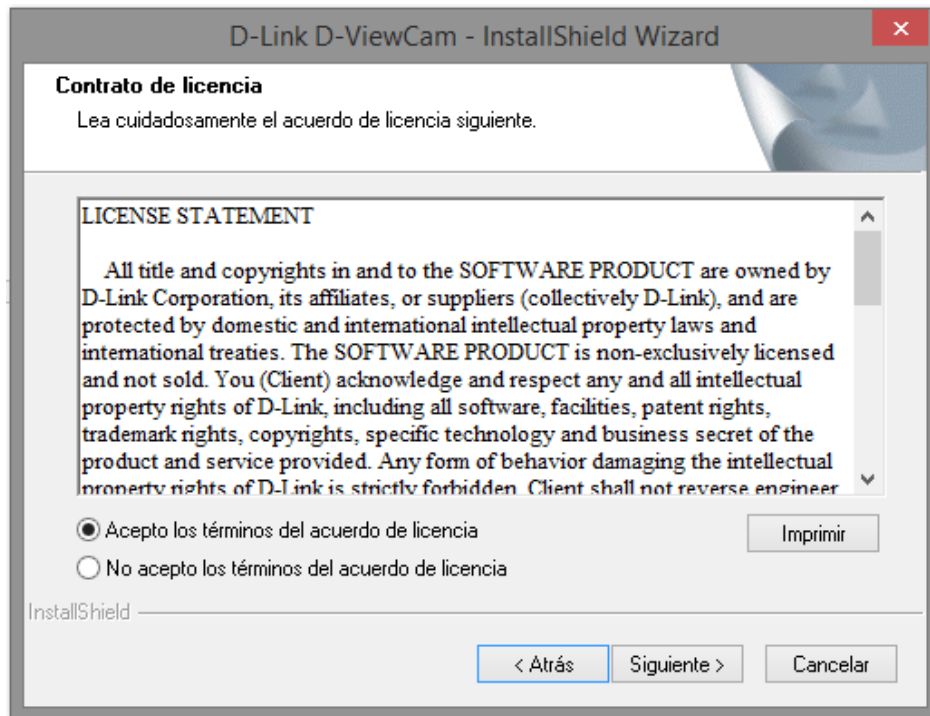
A continuación se despliega una ventana de instalación. Se da clic en la opción *NEXT* para continuar.



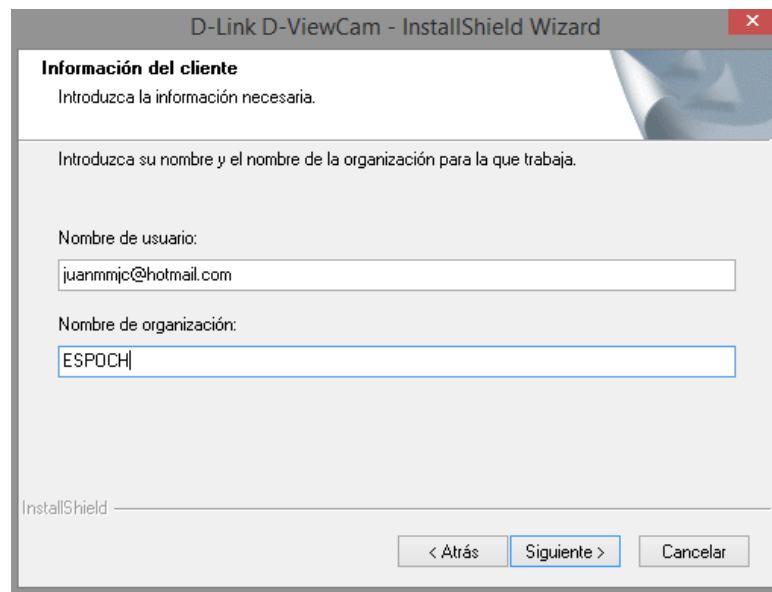
Se selecciona el idioma de trabajo y la instalación en modo estándar.



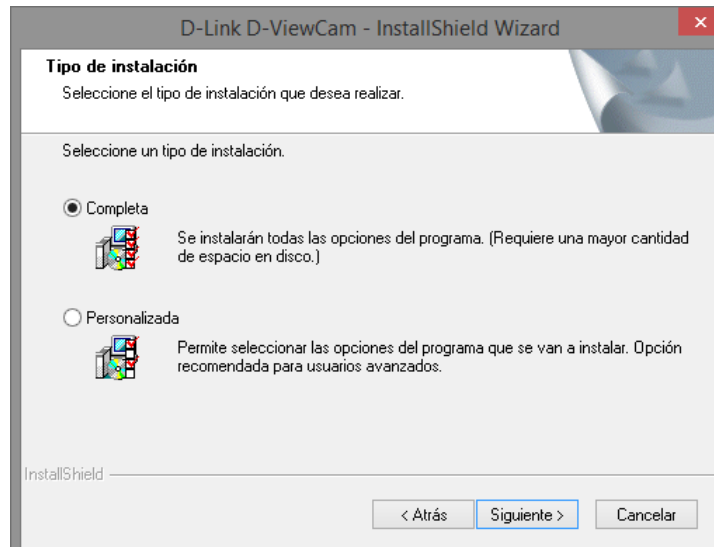
Se aceptan los términos y condiciones de software y se da clic en siguiente.



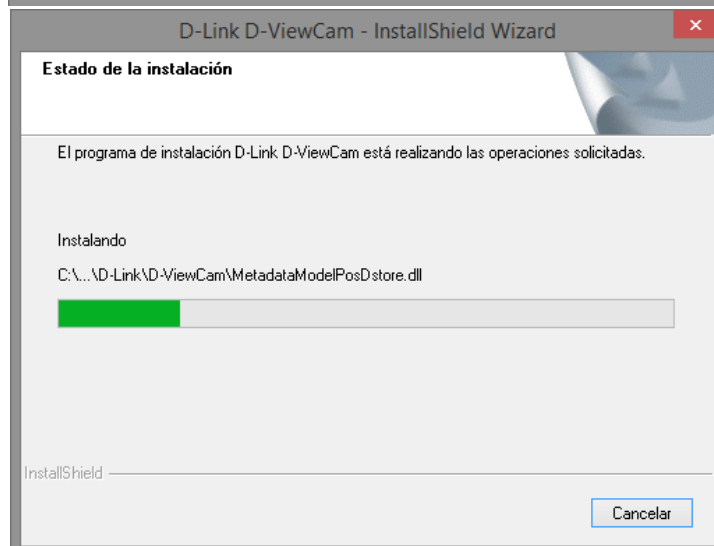
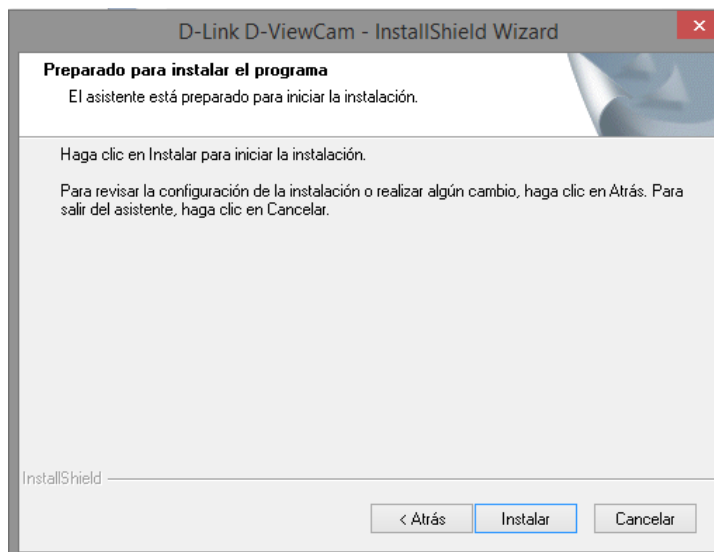
Se ingresa un nombre de usuario y nombre de organización y se da clic en *Siguiete*.



Se selecciona la instalación completa y se da clic en *Siguiete*.



Se selecciona la opción *Instalar* para dar inicio a la instalación.



Una vez instalado se puede hacer uso del programa cada vez que se desee.

5.3.2. Contraseña del programa

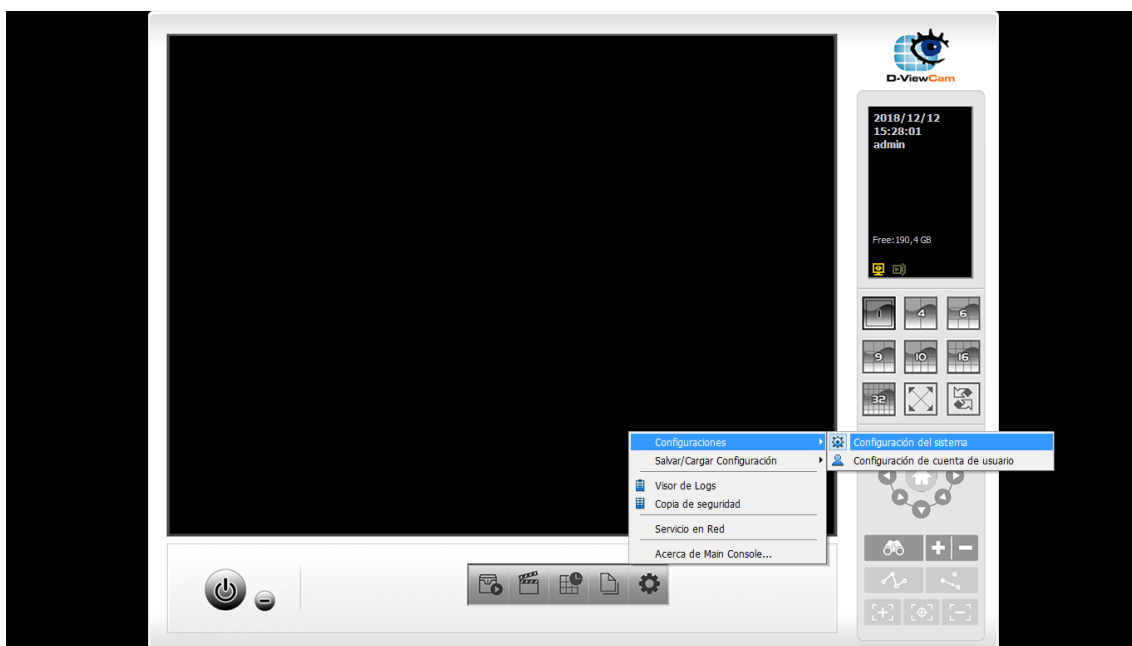
Cuando se inicia el programa por primera vez, solicita al usuario ingresar una contraseña para autenticarse cada vez que se desee ingresar al programa. Se recomienda anotar la clave del programa para evitar perder el acceso.



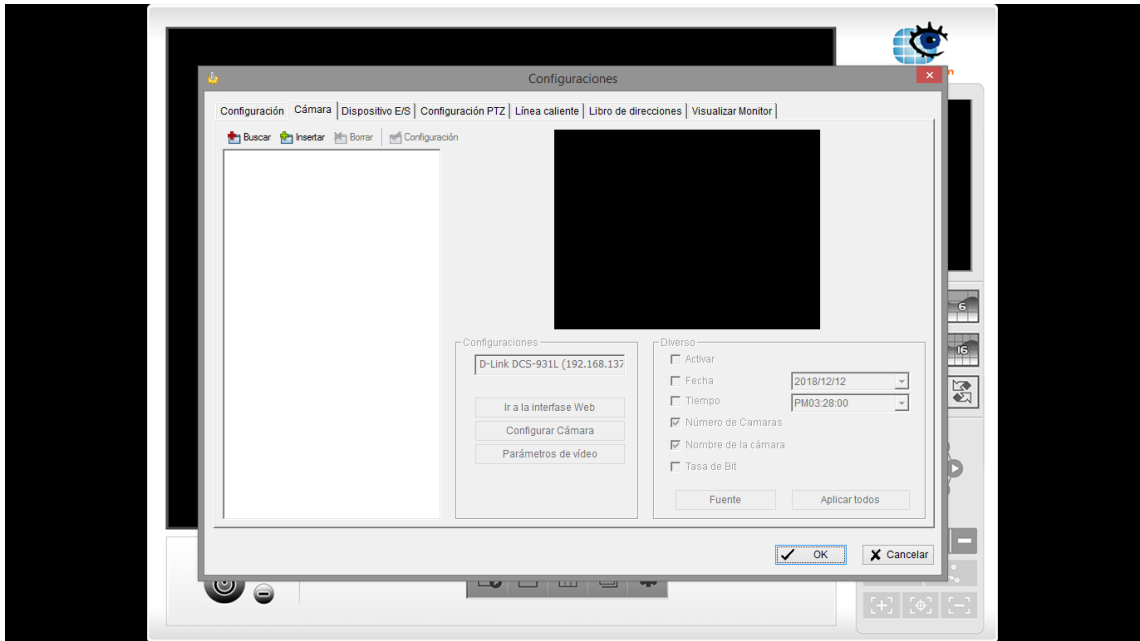
Se debe confirmar la contraseña y dar clic en *Ok*.

5.3.3. Búsqueda y conexión a la cámara

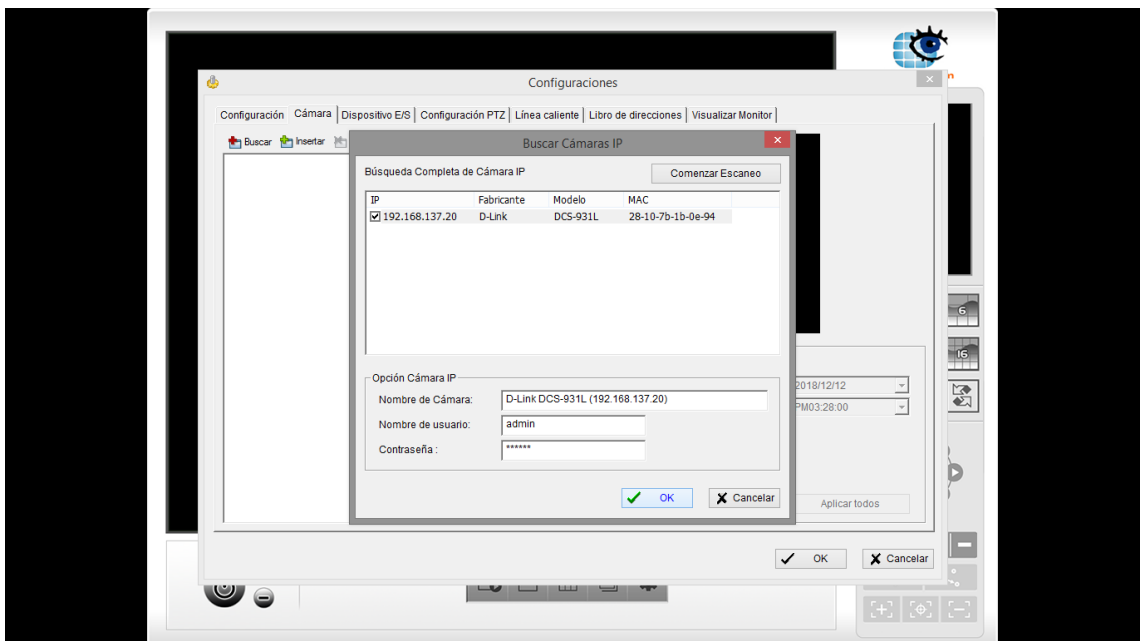
Para buscar la cámara se da clic en el botón de configuraciones y escoger las opciones que se muestran en la figura.



A continuación se despliega una ventana con varias pestañas de configuración, se da clic en la pestaña *Cámara*, donde se despliega la siguiente pantalla.



Dar clic en la opción *Buscar* para que el programa busque una cámara conectada a la misma red que la PC, después de unos segundos el programa encontrará a la cámara que tendrá la dirección IP: 192.168.137.20, se selecciona la cámara y se ingresa el usuario *admin* y la contraseña *camara*. A continuación se da clic en *Ok*.

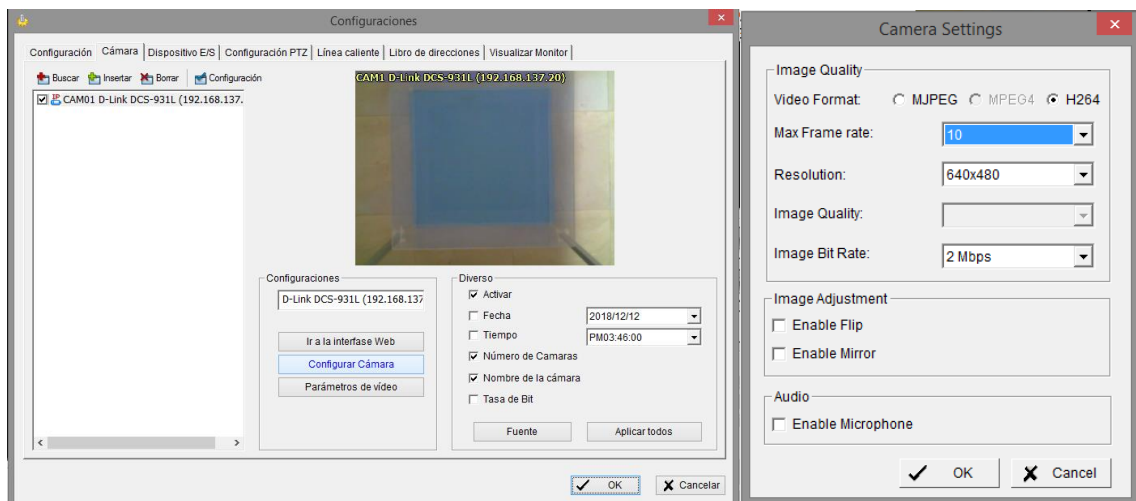


En el caso de que el programa no haya encontrado a la cámara, verificar que se haya realizado de manera correcta el punto **5.2. Conexión del PC a la cámara.**

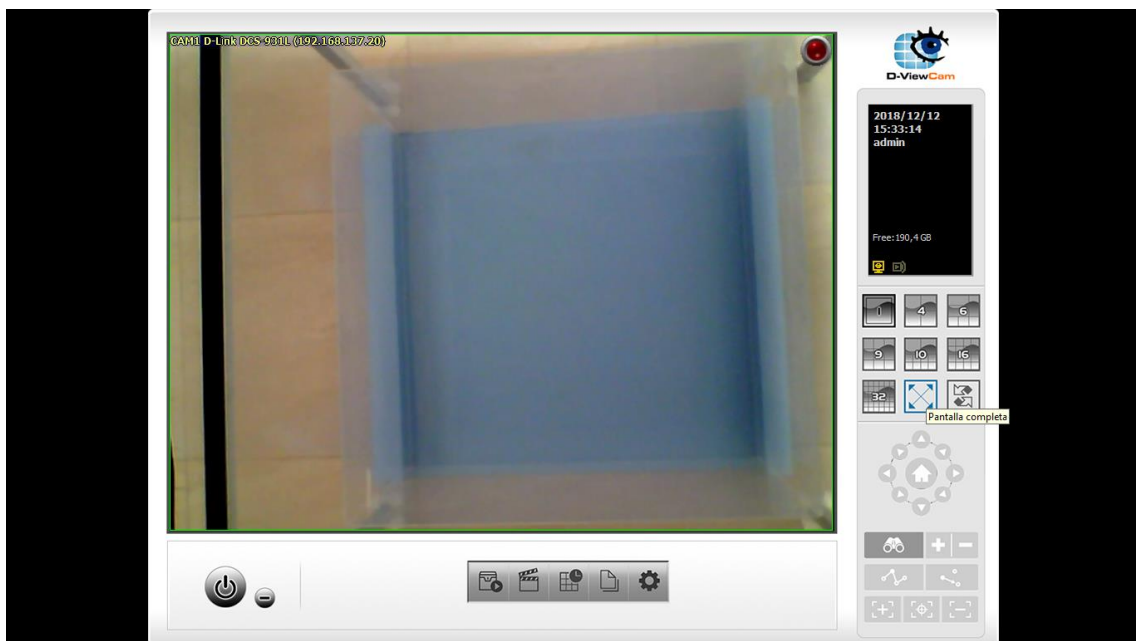
5.4. Grabación de videos

5.4.1. Parámetros de grabación

Antes de comenzar a grabar es necesario configurar la cámara con los parámetros óptimos de grabación para el sistema desarrollado, para esto se da clic en el botón *Configurar Cámara* y se establecen los parámetros como se muestra en la ventana de la derecha.



Se da clic en *Ok* en ambas ventanas y se puede visualizar en pantalla completa las imágenes de la cámara.



5.4.2. Preparación del lugar de grabación.

Es indispensable tener un ambiente de grabación adecuado para la correcta adquisición de videos que posteriormente serán analizados. Dentro de las consideraciones a tener en cuenta antes de iniciar la grabación se pueden enlistar:

- **Altura de la cámara:** De acuerdo al ángulo de apertura de la cámara adquirida, la altura óptima para la correcta grabación de los videos es de 1,7 metros (± 10 cm).
- **Ubicación:** La caja de acrílico se debe ubicar alineada con la cámara y se debe visualizar completamente el fondo de la caja.
- **Iluminación y color:** El lugar posee poca iluminación natural, por lo que la luz artificial debe estar encendida, se debe verificar que no existan reflejos de luz, sombras o manchas en la caja que alteren los resultados de la prueba. Del mismo modo verificar que el color del fondo de la caja sea regular y de color celeste.

Incorrecto

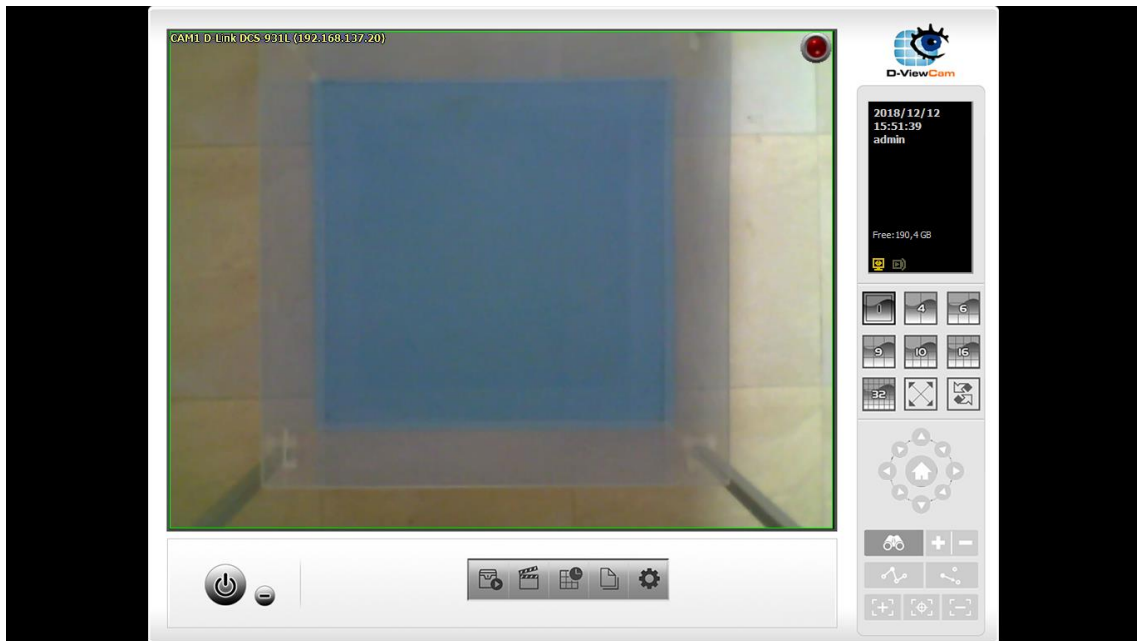


Correcto

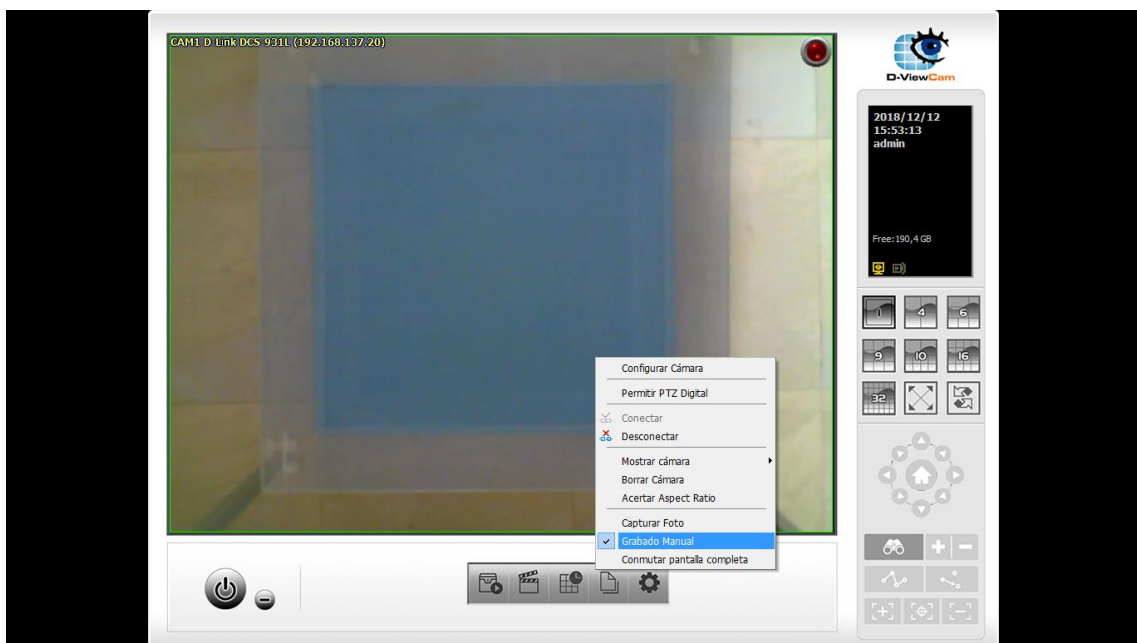


5.4.3. Grabación

Para grabar se da clic derecho en la pantalla y se da clic en la opción *Grabado manual*.



Cuando el programa está grabando se muestra un botón rojo y redondo en la esquina superior derecha de la pantalla. Si se desea dejar de grabar se debe dar clic derecho en la pantalla y se da clic en *Grabado Manual*.



Cuando el programa deja de grabar, el botón rojo de la esquina superior derecha desaparece.

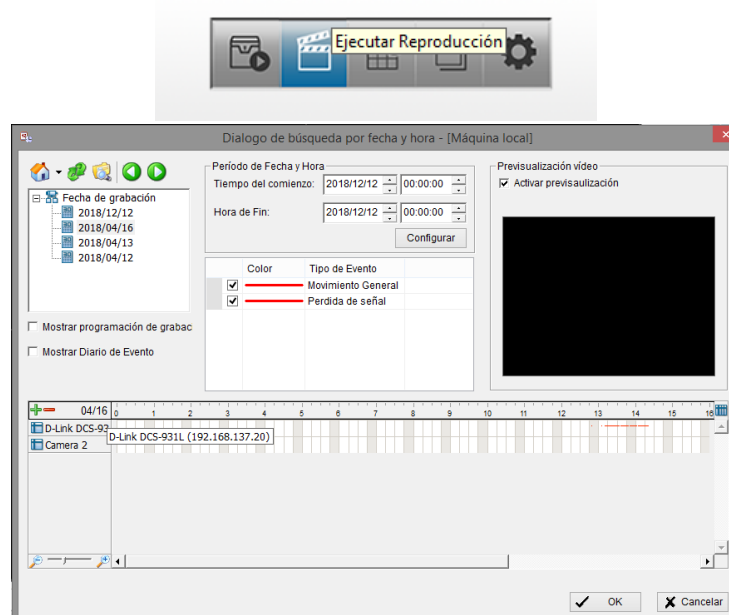
Cuando se graben los videos se debe verificar que tengan la duración necesaria, se puede dejar un excedente de tiempo en los videos el cual puede ser recortado cuando se extraigan los videos de la aplicación.

Otra consideración importante es la capacidad de almacenamiento de la PC, si no se tiene el suficiente espacio, se eliminaran las grabaciones más antiguas para dar espacio a las

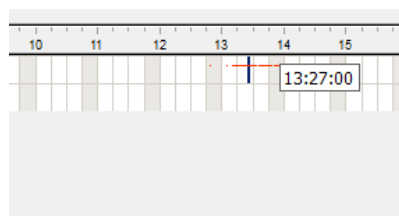
nuevas. Para evitar este inconveniente, se pueden extraer los videos diariamente para ser analizados por el programa EMIS o para ser almacenados en un disco duro externo o algún otro tipo de almacenamiento para su futuro análisis.

5.5. Extracción de videos

Para extraer los videos se da clic en el botón *Ejecutar Reproducción*, donde se abre una ventana donde se muestran todas las cámaras conectadas al programa, con las grabaciones realizadas, organizadas por fecha y hora.

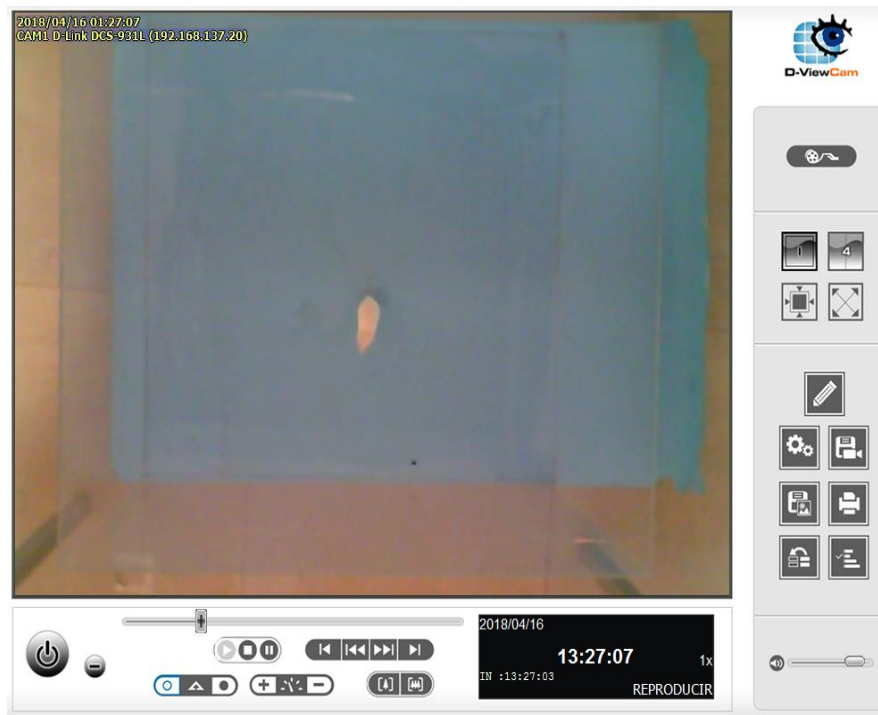


Se selecciona la cámara, después la fecha y finalmente el video en la línea de tiempo (de color rojo) que muestra los videos grabados en sus respectivas horas. Se da clic en *Ok* y se reproduce el video.



A medida que se reproduce el video se da clic en el botón de *inicio de tiempo* para seleccionar el tiempo de inicio del video que se va a extraer.





A continuación, cuando el video este en el tiempo en el que se desee finalizar el video, dar clic en el botón *fin de tiempo* para seleccionar el tiempo final del video que se va a extraer.

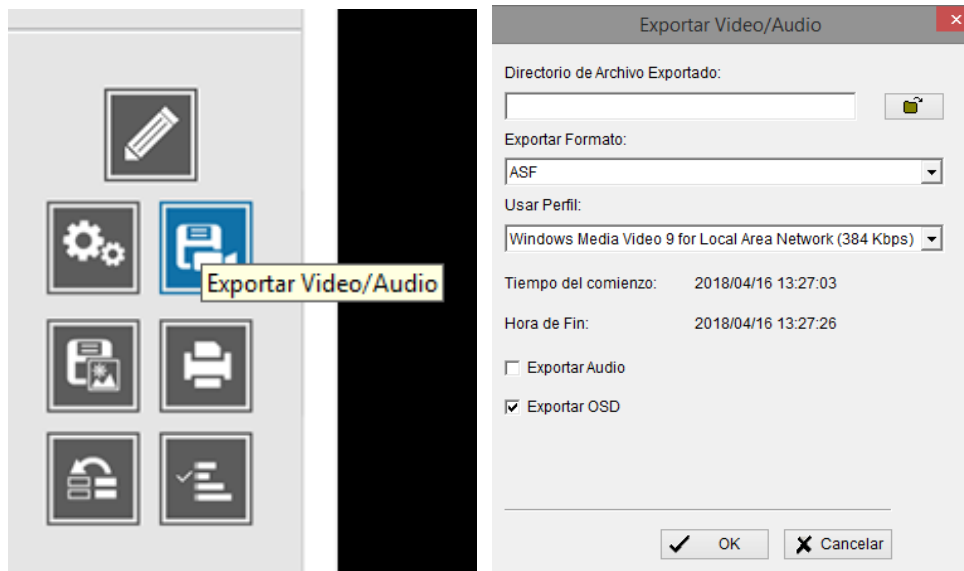


Botón de fin de tiempo

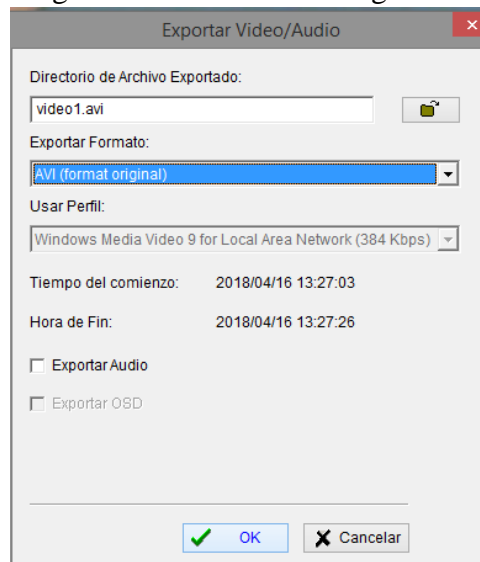


Antes de extraer el video se debe verificar que el tiempo de inicio y tiempo de fin estén correctos, dentro de este tiempo no debe haber ninguna perturbación que pueda alterar el resultado como sombras, reflejos de luz, manchas o la obstrucción momentánea de la caja por la mano del investigador cuando coloca el ratón en la caja.

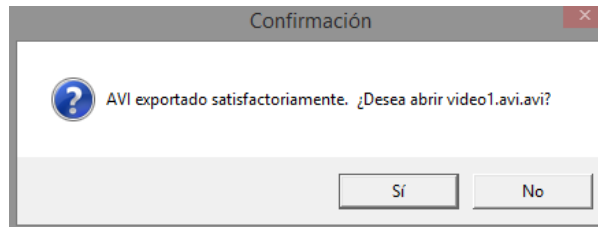
A continuación, dar clic en el botón exportar video donde se abre una ventana con las opciones de extracción.



Se configuran las opciones de extracción, el nombre y la ubicación de almacenamiento del video que va a ser extraído quedan a elección del usuario. Sin embargo, el resto de parámetros deben estar configurados tal como en la siguiente figura.



Cuando se ha extraído el video se muestra la siguiente ventana

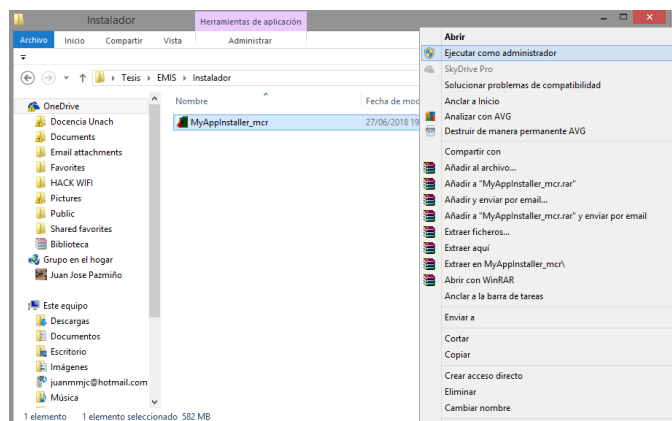


5.6. Aplicación EMIS

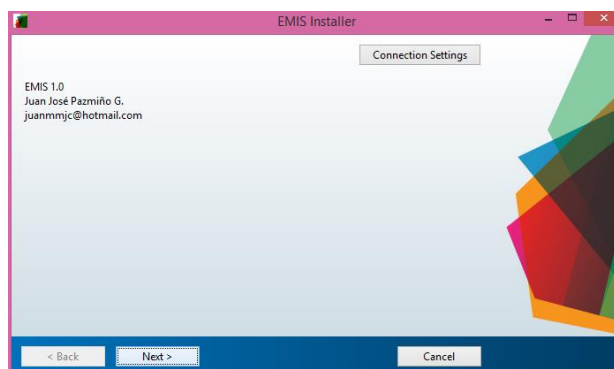
5.6.1. Instalación de EMIS

Se debe desactivar el antivirus durante la instalación y hay que verificar tener permisos de administrador para instalar este y otros programas.

Buscar la ubicación del instalador de la aplicación. Dar clic derecho en el archivo *MyAppInstaller_mcr.exe* y seleccione la opción *Ejecutar como administrador*.

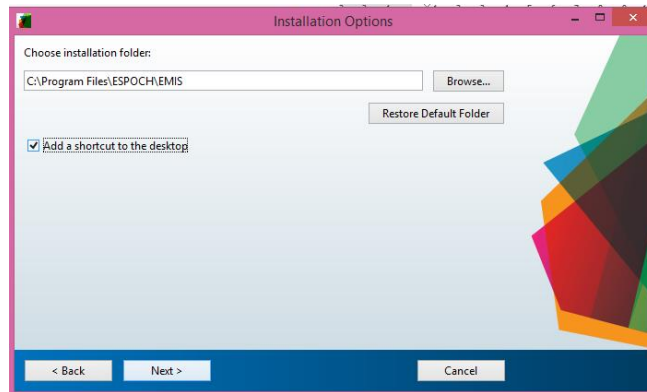


Esperar hasta que se despliegue la siguiente pantalla y a continuación dar clic en la opción *Next*.

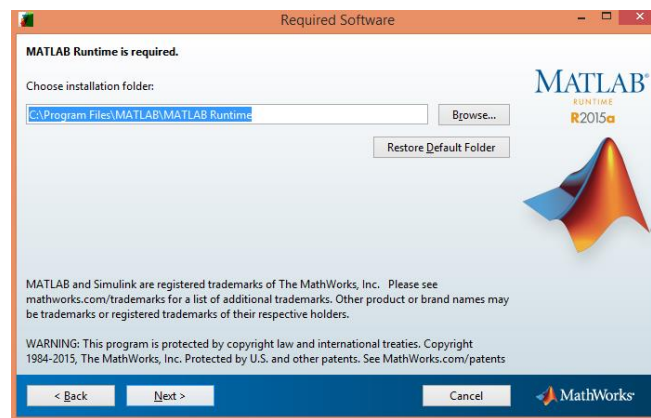


El programa de instalación verificará la conexión a internet, en el caso de ser correcta se abrirá la siguiente pantalla, donde se ve la ruta de instalación. Se debe seleccionar la

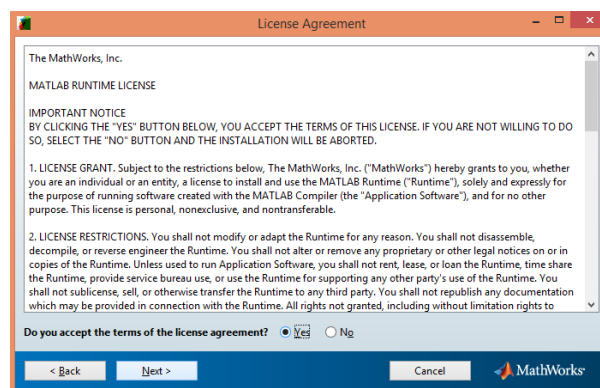
opción *Add a shortcut to the desktop* para crear un acceso directo en el escritorio y después dar clic en la opción *Next*.



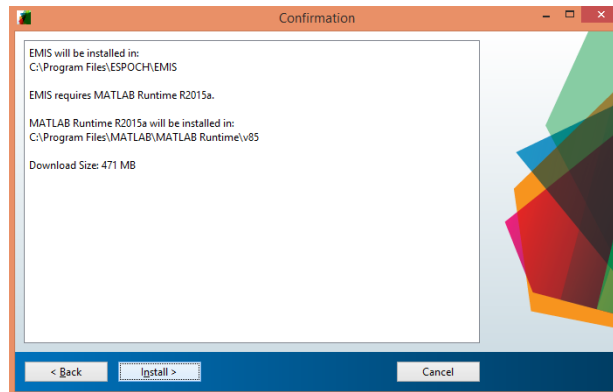
Se desplegará la siguiente pantalla que muestra el programa complementario necesario para el funcionamiento de la aplicación (Matlab Runtime), junto con los derechos de Copyright. En el caso de no tenerlo instalado, el programa de instalación lo instalará. Para lo cual se debe dar clic en la opción *Next*.



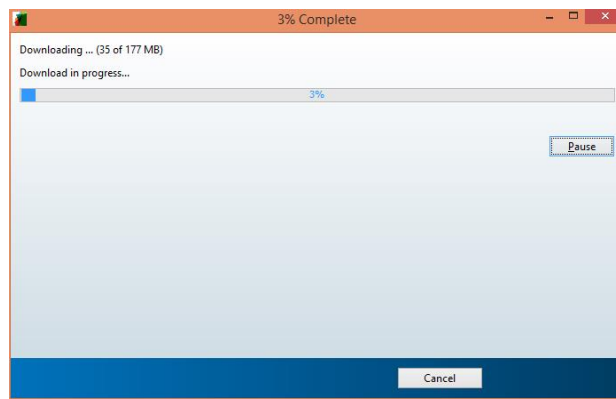
Dar clic en la opción *Yes* para aceptar los términos de licencia de software y a continuación dar clic en la opción *Next*.



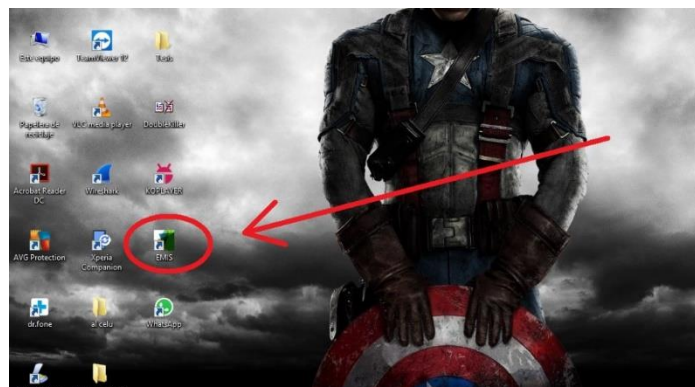
Se desplegará una pantalla con la información del programa, y el espacio necesario en disco. Dar clic en la opción *Install* para proceder con la instalación.



En una pantalla se mostrará el progreso de la instalación.

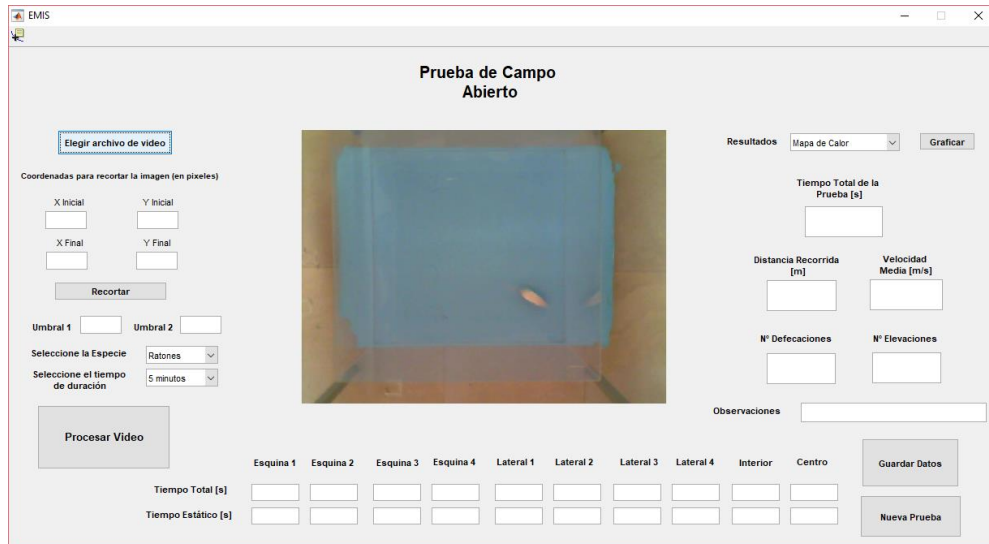


De clic en el botón *Finalizar* y ya estará la aplicación instalada. Se puede abrir el programa dando doble clic en el icono que se encuentra en el escritorio.



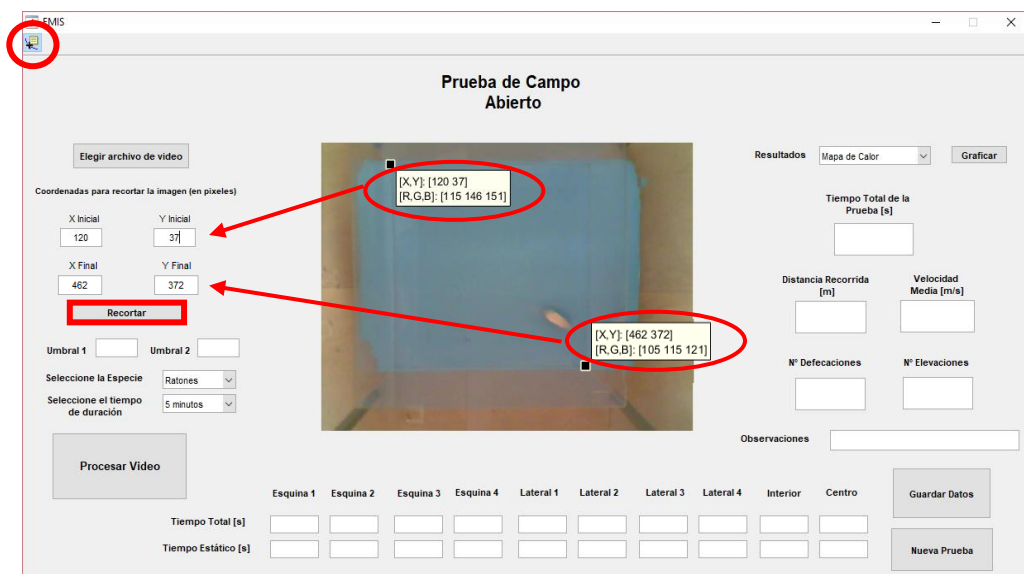
5.6.2. Ingreso de Video

Seleccionar el botón *Elegir archivo de video*, y se despliega un explorador de archivos en donde se debe buscar y seleccionar el video que va a ser procesado (Solo reconoce archivos *.avi*). Para verificar que el video haya cargado hay que esperar unos minutos hasta que se visualice una imagen del video en la pantalla. En caso de que el video no haya cargado puede ser debido a que el archivo es muy extenso y el computador no tiene la suficiente capacidad de procesamiento o memoria RAM para cargarlo.



5.6.3. Selección del Área de Análisis

En la parte superior izquierda de la pantalla se encuentra el botón cursor en donde se debe dar clic, después se debe ir a la imagen y se debe seleccionar la esquina superior izquierda de la caja y la esquina inferior derecha en donde se muestran las coordenadas (x,y) de cada uno de los puntos, esos valores se deben ingresar en los espacios correspondientes en la parte izquierda, posteriormente hacer clic en el botón recortar y la imagen debe solo mostrar la base de la caja. Como se puede observar en la siguiente figura el programa muestra las coordenadas iniciales $x=120$, $y=37$; y las coordenadas finales $x=462$, $y=372$.



5.6.4. Ingreso de Umbrales

El umbral es un parámetro que necesita el programa para poder identificar el ratón del fondo de la caja.

Umbral1.- Puede tomar valores entre 0.6 (si el lugar está bien iluminado) y 0.4 (si el lugar tiene poca iluminación).

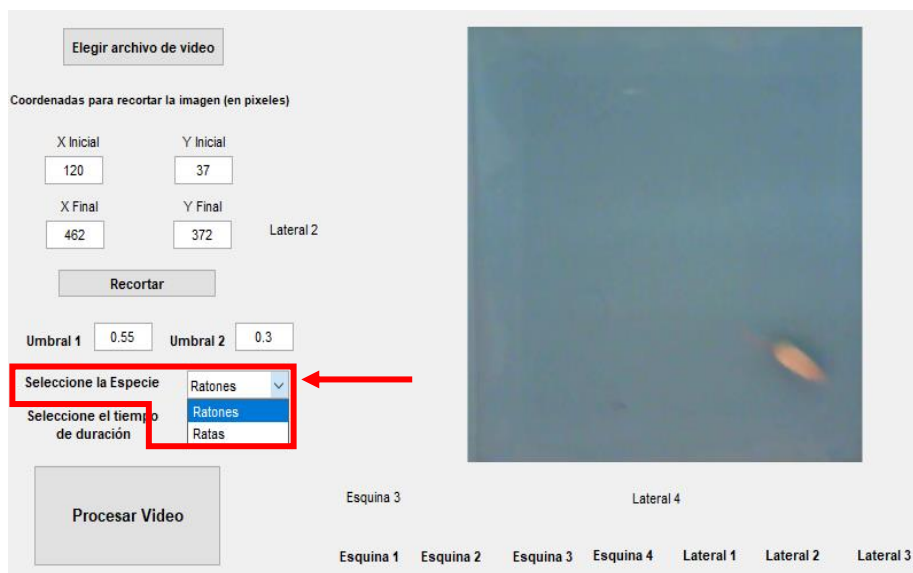
Umbral2.- Se debe ingresar valores de 0.25 (si el lugar tiene poca iluminación) a 0.35 (Si el lugar tiene mucha iluminación)

Como se puede observar en la siguiente figura el Umbral1 es de 0.55 y el umbral 2 es de 0.3

The screenshot shows a software interface for video processing. On the left, there are input fields for video coordinates: 'Elegir archivo de video', 'Coordenadas para recortar la imagen (en pixeles)', 'X Inicial' (120), 'Y Inicial' (37), 'X Final' (462), and 'Y Final' (372). Below these is a 'Recortar' button. The 'Umbral 1' field is set to 0.55 and the 'Umbral 2' field is set to 0.3, both highlighted with a red box and a red arrow pointing to them. Below the threshold fields are dropdown menus for 'Seleccione la Especie' (set to 'Ratones') and 'Seleccione el tiempo de duración' (set to '5 minutos'). At the bottom left is a 'Procesar Video' button. On the right, there is a video preview window showing a mouse on a blue background. Below the preview are labels for 'Esquina 3', 'Lateral 4', 'Esquina 1', 'Esquina 2', 'Esquina 3', 'Esquina 4', 'Lateral 1', 'Lateral 2', and 'Lateral 3'.

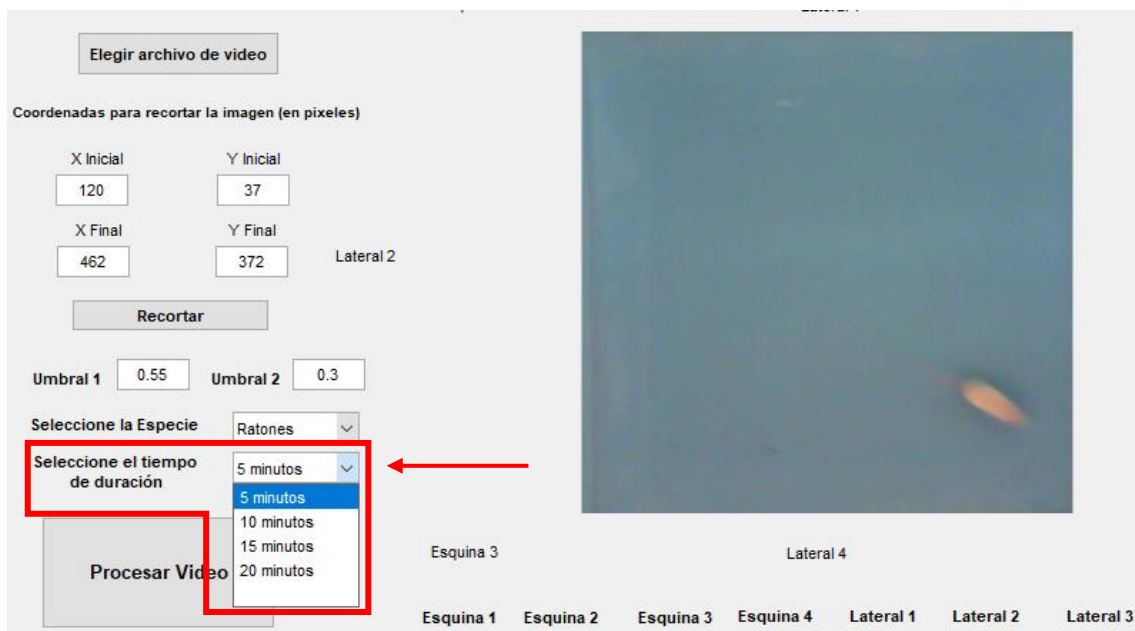
5.6.5. Selección del Tipo de Especie

Se despliega un menú en donde se debe seleccionar el tipo de especie (ratones, ratas) utilizado en el video. Dependiendo de la especie elegida se realizan los controles de área para obtener resultados más exactos, por lo que es importante seleccionar la especie correcta.



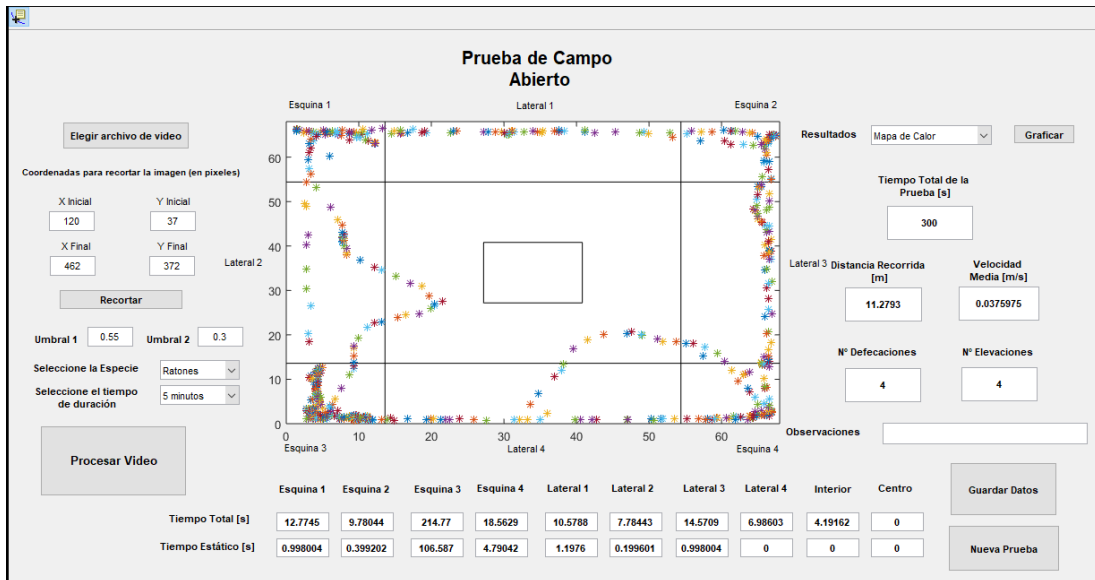
5.6.6. Selección del Tiempo de Duración

Se debe seleccionar el tiempo de duración exacto de la prueba en la menú *Tiempo de duración* en donde existen las opciones de 5,10 y 15 minutos, en el caso de que el video tenga un duración menor a los tiempos propuestos el programa solo analizará el tiempo de duración del video.



5.6.7. Procesamiento de información

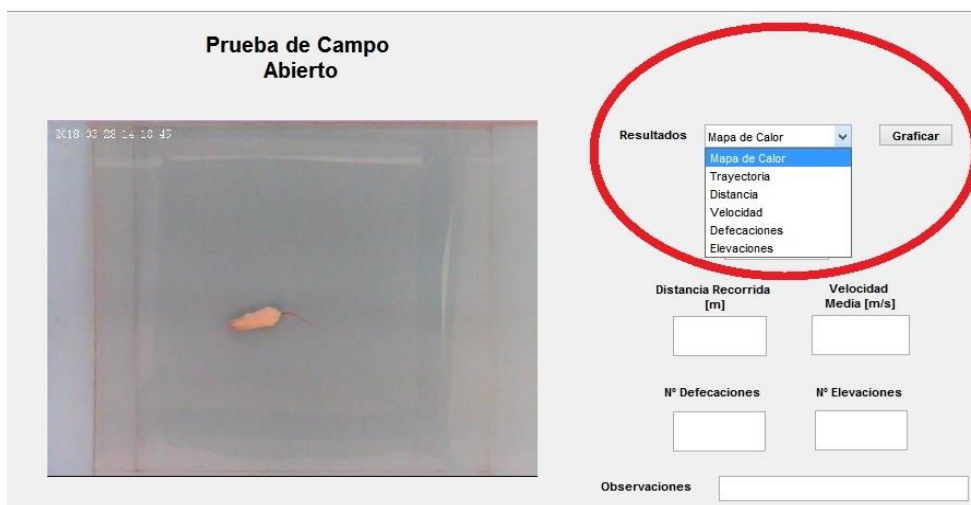
Una vez ingresados los datos previos se debe dar clic en el botón *Procesar Video* para que el programa inicie el análisis.



Durante el análisis el programa va recreado la trayectoria del ratón y los resultados comienzan a ser mostrados en la parte derecha del programa. En el caso de no mostrarse esta recreación de la trayectoria significa que alguno de los datos previos se ha ingresado de forma incorrecta o que el video posee errores.

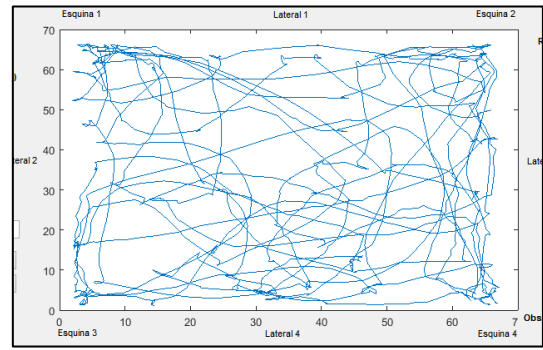
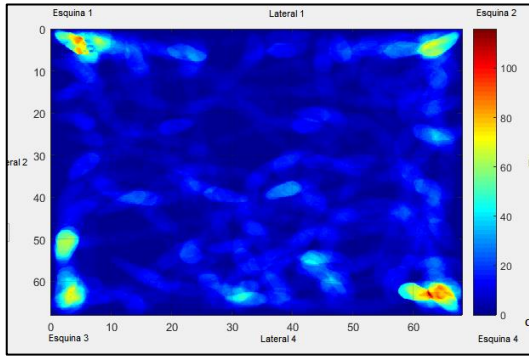
5.6.8. Gráficas y Estadísticas

En la parte superior derecha se observa una pestaña donde se encuentran varios parámetros, se escoge uno y se da clic en el botón Graficar, a continuación se realiza una gráfica estadística del parámetro escogido que muestra su evolución en el tiempo.

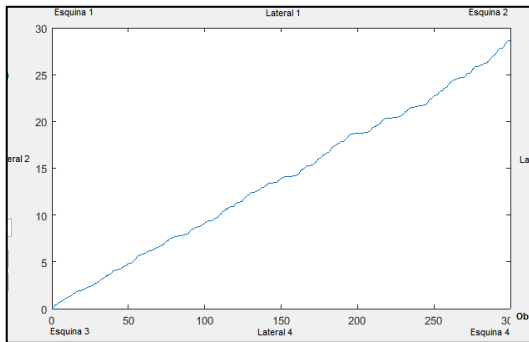


Mapa de Calor

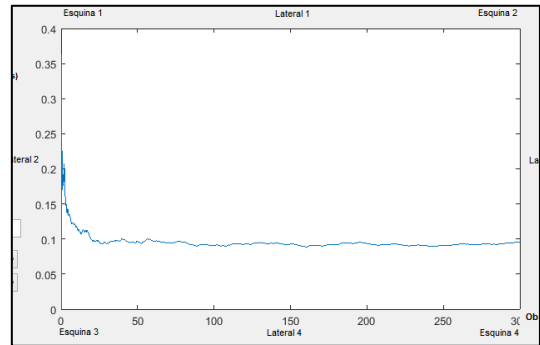
Trayectoria



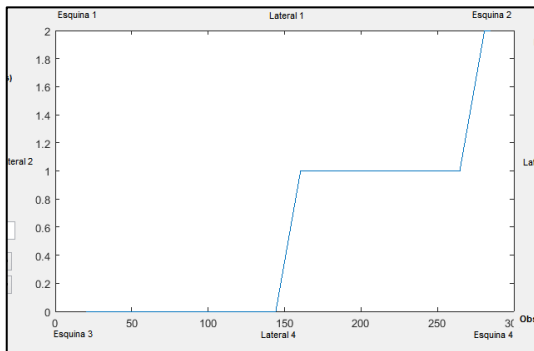
Distancia Recorrida



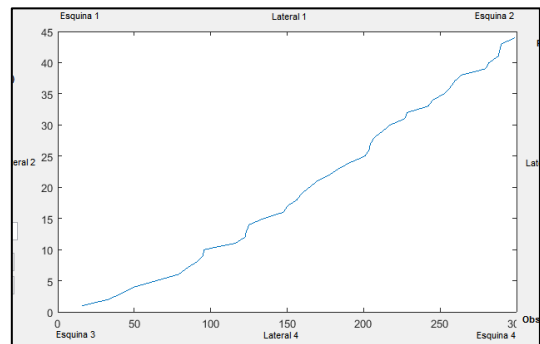
Velocidad Media



Defecaciones

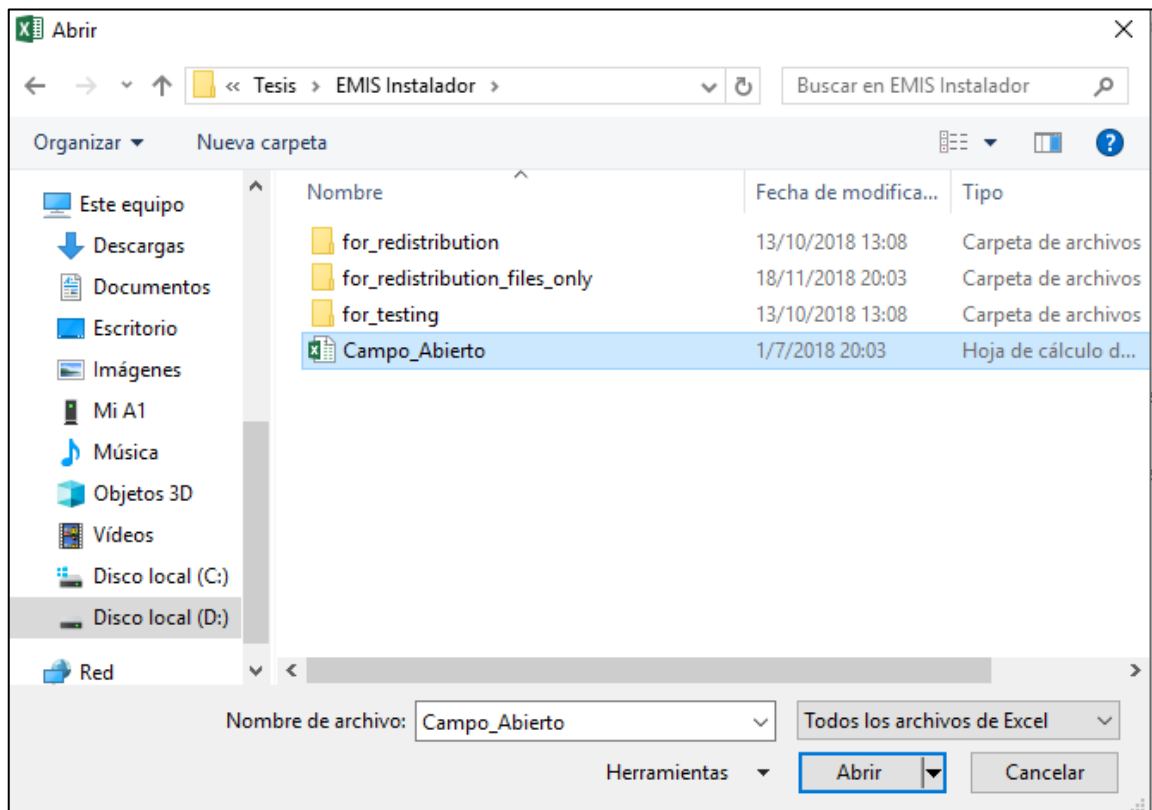


Elevaciones



5.6.9. Almacenamiento de Resultados

Para almacenar los resultados se debe dar clic en el botón *Guardar Datos*, a continuación se abre un buscador de archivos donde se debe buscar y abrir el archivo de Excel prediseñado para la aplicación.



Se debe esperar hasta que se abra una ventana emergente con el mensaje: *Los datos se han guardado exitosamente.*

5.6.10. Nueva Prueba

Para realizar una nueva prueba se deben borrar los datos dando clic en el botón *Nueva Prueba*. Se desplegará una ventana emergente con el mensaje: *Puede ingresar un nuevo video.*