

Clasificación de la calidad de semen de ganado vacuno criogenizado de acuerdo a sus características de movilidad, con fines reproductivos usando técnicas de procesamiento de imágenes.

Ing. Ángel Itzcóatl Huizar Bretado^a, Dr. Rubén Guerrero Rivera^b, Dr. Francisco Javier Godínez García^c, MC. Aurelio Castillo Liñán^d, MC. Antonio Martínez Rivera^e, Dr. Eduardo Gamero Inda.^f

^aTecnológico Nacional de México / IT Durango, Maestría en Ingeniería, Durango, Durango, México, 150403456@itdurango.edu.mx

^bAutor de correspondencia. Tecnológico Nacional de México / IT Durango, Maestría en Ingeniería, Durango, Durango, México, rubenguerrero@itdurango.edu.mx

^cTecnológico Nacional de México / IT Durango, Maestría en Ingeniería, Durango, Durango, México, jgodinez@itdurango.edu.mx

^dTecnológico Nacional de México / IT Durango, Maestría en Ingeniería, Durango, Durango, México, acastillo@itdurango.edu.mx

^eTecnológico Nacional de México / IT Durango, Maestría en Ingeniería, Durango, Durango, México, ja.martinez@itdurango.edu.mx

^fTecnológico Nacional de México / IT Durango, Maestría en Ingeniería, Durango, Durango, México, egamero@itdurango.edu.mx

Resumen

En la ganadería la inseminación artificial es uno de los métodos más efectivos al momento de reproducir su ganado, sin embargo, es un método costoso y que no es de una fácil realización por lo cual se busca garantizar que, los bovinos utilizados generen espermatozoides de calidad, con los cuales las probabilidades de fecundación sean mayores. Por lo tanto, se buscan métodos para que los productores tengan mejores herramientas para analizar muestras de semen de ganado bovino, e identificar si están cumpliendo con la calidad requerida para la inseminación, esto se traduce en beneficios tanto como para el productor, así como para la región.

En este artículo se presenta un sistema que, por medio de videos de imágenes microscópicas de muestras de semen de ganado bovino, se detecta a los espermatozoides presentes en la muestra para un posterior análisis del movimiento de cada uno de ellos, que permita determinar la calidad del semen, y en consecuencia sus probabilidades de fertilización. Este sistema está conformado por técnicas de visión artificial y máquinas de aprendizaje usando una red neuronal de tipo convolucional basada en una arquitectura U-Net, la cual segmenta los espermatozoides en las imágenes, tiene como propósito ofrecer alternativas a los sistemas CASA convencionales, que resultan poco accesibles para la mayoría de los productores especialmente a productores locales. también se busca comprobar que tan eficiente es la arquitectura U-Net trabajando con una cantidad limitada de imágenes de entrenamiento.

Palabras clave—Visión Artificial, Redes Neuronales, Calidad del Semen de Bovino, Inseminación

Abstract

In livestock farming, artificial insemination is one of the most effective methods for cattle breeding, however, in addition to

being expensive, artificial insemination is also difficult to implement, therefore, it is extremely important to identify and preserve the sperm of the best breeds of cattle method to increase the probabilities of breeding. Hence, a lot of research is carried out to find better methods to analyze samples of semen obtained from the best breeds, to determine the quality of the samples and whether they meet the standards for artificial insemination. This means more benefit for both the farmer as well as for the local economy.

This article presents a system that, through videos, individual sperm cells are detected, so further motility analysis can be applied so both the quality of the samples of sperm and their probabilities of breeding can be determined. This system gathers artificial vision techniques and machine learning algorithms using a convolutional neural network (with a U-net architecture), for segmentation of sperm cells in images. We aim to offer alternatives to conventional CASA systems which in most cases are not affordable to most cattle breeders. This project is also aiming to determine the efficiency of the U-net architecture to segment sperm cells under a limited number of training images.

Keywords Artificial vision, neural networks, bovine semen, quality

1. INTRODUCCIÓN

La ganadería es una de las principales actividades económicas de México, lo que lo lleva a posicionarse en los primeros lugares de producción ganadera a nivel mundial [1]. El estado de Durango se encuentra en los primeros cinco lugares de producción de cabezas de ganado según el INEGI [2], y se encuentra en tercer lugar nacional de exportación de ganado a los Estados Unidos [3]. Por tales motivos se trabaja en técnicas que favorezcan la reproducción del ganado de alta calidad. Para esto, es necesario involucrar diferentes disciplinas en el ámbito de la ciencia, las cuales aplican distintos métodos para lograr una mejor calidad al momento de la reproducción, de los vacunos.

La inseminación artificial es uno de los métodos más utilizados para la reproducción de bovinos con la finalidad de mejorar la calidad y asegurar la fertilización, sin embargo, presenta el inconveniente de que es una técnica muy costosa, que requiere condiciones específicas de recolección y almacenamiento del semen [4]. Por estos motivos la inseminación artificial se limita a cierto sector de ganaderos, siendo principalmente para grandes empresas ganaderas en las que usen estas herramientas, restringiendo el uso a los pequeños productores ganaderos regionales, reduciéndoles la posibilidad de mejorar la calidad en sus bovinos.

Se ha observado que los parámetros de evaluación de los espermatozoides usados en los centros de IA (inseminación artificial) para la evaluación del semen crio-conservado generalmente se limitan a examinar la motilidad y morfología posteriores a la descongelación [5]. Sin embargo, para maximizar la precisión en el control de calidad, los

investigadores se han dado cuenta de los beneficios de un enfoque multiparamétrico y han aumentado el rigor de sus pruebas de semen, pasando de una evaluación subjetiva básica que requiere mucho tiempo de unos pocos cientos de espermatozoides para determinar la concentración, motilidad y morfología mediante microscopía, al uso de seguimiento asistido por computadora para evaluar la motilidad [6].

La determinación de la calidad de los espermatozoides involucra los siguientes aspectos: motilidad, morfología y concentración, los cuales tienen que ser medidos y analizados para identificar la calidad del semen de los bovinos, con el propósito de aumentar las probabilidades de éxito en la inseminación. posteriormente llevar a cabo el procesamiento de imágenes y las técnicas de máquinas de aprendizaje utilizando software de computadora para desarrollarlos.

En este sentido, las herramientas digitales tales como los programas de Análisis de Espermatozoides Asistido por Computadora (CASA - por sus siglas en inglés) se utilizan para medir estos aspectos de calidad. Los software CASA permiten evaluar la motilidad y son frecuentemente utilizados para determinar la calidad del semen. Estos además requieren el uso de un microscopio, una cámara digital y desde luego una equipo de computo [6].

Sin embargo, los sistemas CASA requieren una gran inversión volviéndose inaccesibles para los pequeños y medianos productores. En este documento se presenta una aplicación para detectar espermatozoides en videos capturados mediante cámara acoplada a un microscopio utilizando técnicas de visión artificial, específicamente el procesamiento de imágenes complementándola con el uso de redes neuronales convolucionales.

El uso de la visión artificial presenta varias ventajas para este tipo de problemas, una de ellas es la localización de objetos (en este caso los espermatozoides), los cuales una vez detectados es posible realizar mayores análisis que permitan determinar sus características de morfología, motilidad y concentración[7].

Por medio del procesamiento de imágenes se logran desarrollar algoritmos que permiten optimizar las imágenes para mejorar la detección de los espermatozoides, es decir, un pre-procesamiento de imágenes para incrementar el contraste, etiquetado de imágenes, entrenamiento de redes neuronales, la comprobación de los entrenamientos y finalmente el análisis de resultados. Existen trabajos donde se han utilizado tras técnicas visión artificial, como el algoritmo YOLO para la detección de objetos [7]. Se pueden encontrar otros proyectos donde se aplican algoritmos de máquinas de aprendizaje, sin embargo, el más utilizado es el algoritmo YOLO, y existen comparativas entre distintas versiones del algoritmo [8]. Estos estudios no sólo se están realizando para uso en bovinos,

también, existen otros enfocados en el humano aplicando los métodos de máquinas de aprendizaje para el análisis de esperma.[9]

2. METODOLOGÍA

2.1 Herramientas computacionales

Para el trabajo con imágenes se requiere equipo de alta potencia computacional, y preferentemente se recomienda utilizar equipos con unidades de procesamiento gráfico incorporadas (GPU). En este estudio se utilizó una computadora de memoria RAM de 8 GB y almacenamiento en disco de 512 GB con la limitante que al no contar con GPU se optó por utilizar un entorno de programación en la nube que proporciona el uso de GPU, para obtener mejor resultados en tiempos de entrenamiento.

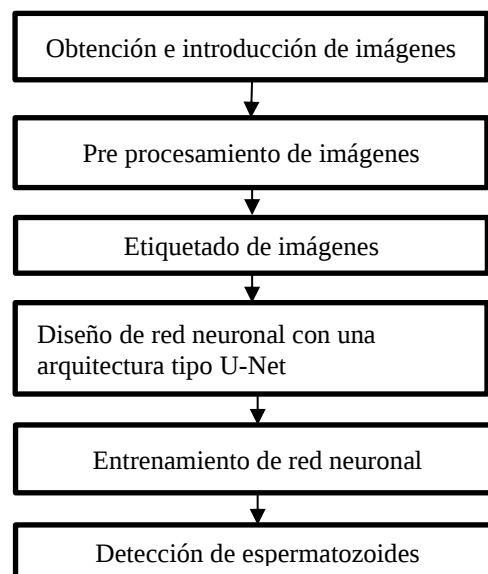
Los videos fueron proporcionados por el Centro de Mejoramiento Genético Ganadero de Durango, en formato MP4, con una duración de 20 segundos aproximadamente cada uno. Cada video consiste en 5 segmentos de 4 segundos de duración, en los cuales se puede observar la presencia y el desplazamiento de los espermatozoides contenidos en las muestras.

El lenguaje de programación utilizado fue Python versión 3.7, empleando principalmente las librerías especializadas en visión artificial (OpenCV) y para la implementación de redes neuronales se utilizó TensorFlow [10], [11], [12].

2.2 Procesamiento de imágenes

Para poder desarrollar este proyecto se aplicó la siguiente metodología (figura 1):

Fig. 1. Diagrama de flujo del la metodología aplicada.

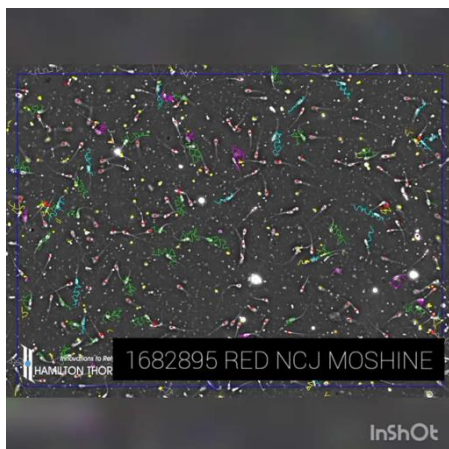


Fuente: Elaboración propia

2.3 Obtención e introducción de imágenes

Las imágenes utilizadas en el desarrollo de este trabajo fueron obtenidas a través de microscopio al que se le adaptó una cámara que captura los videos para posteriormente ingresarlos al equipo de cómputo y ser utilizarlos en las pruebas. La figura 2 muestra un cuadro de uno de los videos.

Fig. 2. Imagen microscopica de espermatozoides.



Fuente: Imagen extraída de video captura obtenida en el centro de mejoramiento Genético Ganadero de Durango, cortesía de M.V.Z Daniel Ayón Nogueira.

Una imagen se puede definir como una función bidimensional $f(x, y)$ donde x y y son coordenada espaciales (planas), y la amplitud de f cualquier par de coordenadas (x, y) es llamada la intensidad o niveles de grises de la imagen en un punto. Cuando x, y y el valor de intensidad de f son todas cantidades finitas discretas, las llamamos a la imagen como una imagen digital [13]. Los videos se componen de conjunto de imágenes capturadas por la cámara en una cantidad de tiempo y que puede ser interpretado como cuadros por segundo.

En el procesamiento de los videos, éstos se tienen que procesar cuadro por cuadro, lo que significa que se tiene que considerar cada imagen por separado para trabajar sobre ellas, en este sentido, un solo video no nada más proporciona información espacial, sino también información temporal. Cada segundo de video proporciona 30 imágenes útiles para el entrenamiento y validación de la red neuronal, lo que representa una gran cantidad de información que no necesariamente implica una mayor necesidad de recursos computacionales, además cada fotograma contiene información diferente a pesar de proceder del mismo video, lo cual ofrece una ventaja para el entrenamiento de la red neuronal.

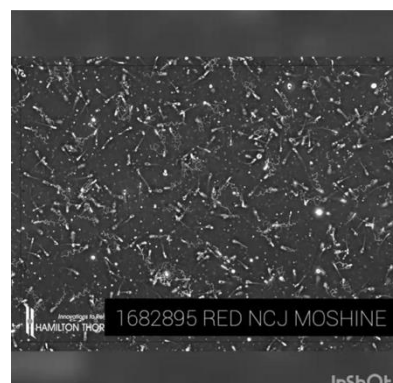
En total se extrajeron 40 imágenes de todos los videos, destinadas a ser utilizadas para el entrenamiento y la validación de la red neuronal. Las imágenes recopiladas no fueron fotogramas consecutivos, sino que fueron seleccionados aleatoriamente para evitar un posible sesgo en el entrenamiento de la red neuronal.

2.4 Pre-procesamiento de imágenes

Al analizar las imágenes individualmente, se observó la necesidad de mejorar la calidad de éstas, para lo cual, se utilizaron filtros para reducir el ruido en las imágenes, además de filtros de operaciones morfológicas para eliminar elementos innecesarios y mejorar la identificación de los espermatozoides. También se estandarizó el tamaño de las imágenes a un tamaño de 520 x 520 pixeles.

Finalmente, como último tratamiento de preprocesamiento, las imágenes fueron convertida a escala de grises, ya que, al observarlas en su conjunto, se determina que las características propias de los espermatozoides que las distinguen del resto de los elementos en las imágenes, vienen codificadas en tonos de grises.

Fig. 3. Imagen preprocesada.



Fuente: elaboración propia

2.5 Enmascarado de imágenes.

Para crear las etiquetas de las imágenes microscópicas con los espermatozoides a identificar para cada imagen, se generaron máscaras binarias para cada una de las imágenes de entrenamiento y validación. Todos los espermatozoides fueron codificados en blanco en tanto que el resto de elementos fueron codificados en negro. Este proceso se realizó usando una herramienta de segmentación semánticas. Este tipo de software facilita la delimitación e identificación de los objeto a través de la creación de polígonos en donde cada objeto es segmentado y etiquetado colocándolo en alguna categoría, en este caso como espermatozoide o fondo.

Fig. 4. Máscara etiquetada



fuelle: Elaboración propia

El etiquetado se realiza dibujando un polígono que encierre al objeto de interés, tratando de ser los más precisos al delimitar su forma, apegándose a la forma original del objeto, ya que de una buena delimitación dependerá el resultado del entrenamiento.

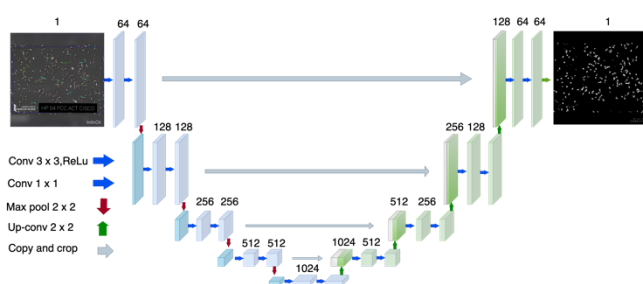
En total se crearon diez máscaras para entrenamiento de las cuales, fueron etiquetados 1718 espermatozoides, es decir diez imágenes y sus respectivas máscaras debidamente segmentadas fueron utilizadas en el entrenamiento de la red neuronal convolucional.

2.6 Implementación de la red neuronal

Para la segmentación de los espermatozoides en cada cuadro de los videos, se implementó una red neuronal de tipo convolucional, con arquitectura U-Net, utilizando en lenguaje de programación Python. Además, se empleó la librería Tensorflow para la implementación de la red neuronal convolucional. Es importante destacar que se tomó como referencia esta arquitectura U-Net (figura 4), cuya eficiencia ya ha sido comprobada en la detección de células en el campo de la biomédica [14].

Esta arquitectura consiste en una etapa de contracción que corresponde a la arquitectura de una red neuronal convolucional típica, y una etapa de expansión, que se encarga de decodificar y asignar a cada píxel su correspondiente categoría.

Fig. 5. Diagrama arquitectura U-net



Fuente: Adaptada de Ronneberger, Fischer, and Brox [14].

La entrada de la red consta de una imagen a color de 512 x 512 píxeles por 3 canales (R,G,B), la cual es inicialmente procesada por la etapa de contracción, la cual consta de cinco etapas de doble convolución seguida de una capa de Max-Pooling que se encargan de extraer los patrones propios de los objetos enmascarados, los cuales permiten la identificación de éstos. Posteriormente se pasa a un proceso de expansión que también consiste de cinco etapas

de convolución transpuesta – doble convolución que se encargan de codificar la imagen y asignar su respectiva clasificación [14].

2.7 Entrenamiento de red neuronal

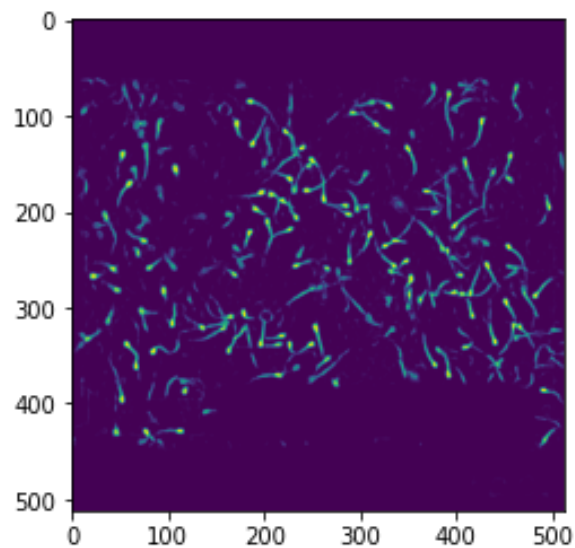
La excepcional capacidad de las redes neuronales convolucionales para segmentar objetos la convierte en un candidato natural para este tipo de tareas. Sin embargo, su desempeño depende mucho de un buen entrenamiento y etiquetado. En este proyecto, para el entrenamiento de la red neuronal se utilizó un set de datos de 10 imágenes y 10 máscaras, no obstante, a pesar que en estudios anteriores de segmentación se han usado set de datos de 30 o más imágenes con sus respectivas máscaras [14], en el caso de este proyecto, dada la uniformidad de los espermatozoides a lo largo de todas las imágenes, se observa que este número de imágenes de entrenamiento fue suficiente para la eficiente detección de los espermatozoides en todas las imágenes.

En esta etapa de entrenamiento, se requirieron 100 épocas de entrenamiento, resultando en un 97 por ciento de precisión en la detección.

2.8 Resultados de la segmentación de los espermatozoides

Después del entrenamiento y validación de la red neuronal, el resto de las imágenes fueron utilizadas en lo que se conoce como producción, es decir, en la detección directa. La figura 6 muestra el resultado arrojado por la red neuronal ante una imagen nueva, y como se puede observar, en este caso, la red neuronal solo detectó espermatozoides, por lo que se pudo comprobar que la red neuronal implementada, efectivamente detecta los espermatozoides en las imágenes.

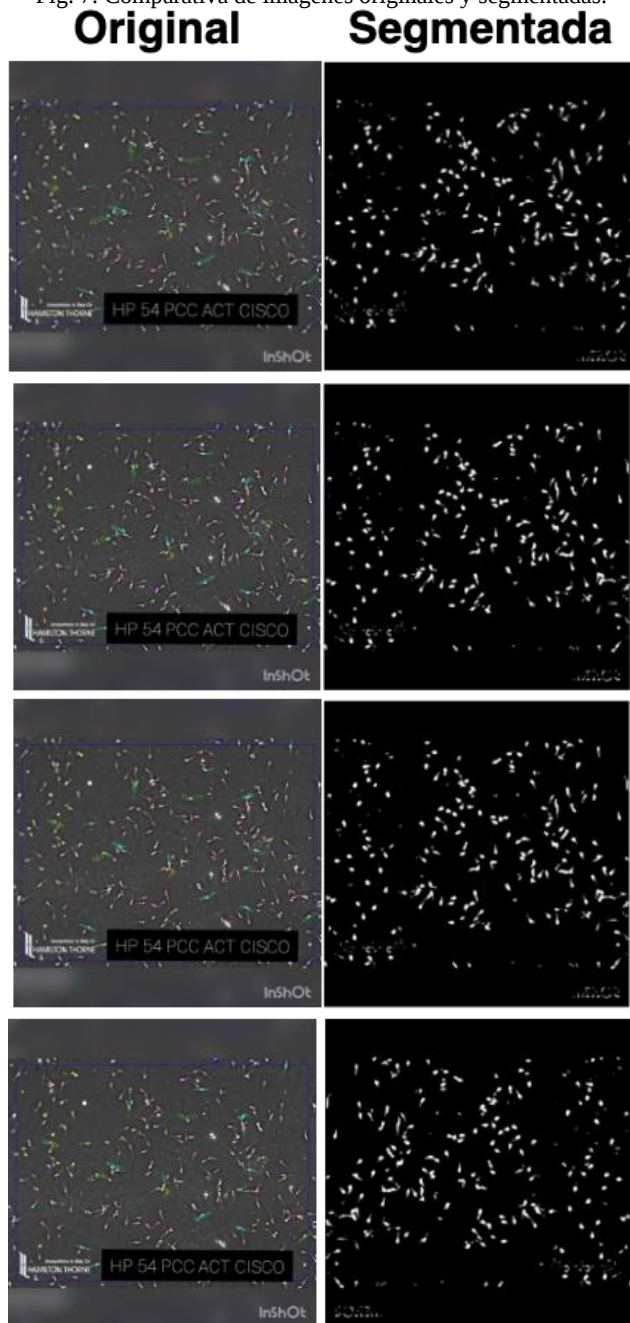
Fig. 6. Resultados de la predicción de la red neuronal.



Fuente: Elaboración propia

Para obtener una mejor noción del funcionamiento de la red neuronal, se realizaron pruebas adicionales sobre más imágenes; en la figuras 7 se observan a la izquierda, los fotogramas originales, extraídos de varios videos, y a la derecha, el resultado de la segmentación arrojado por la red neuronal. Los resultados muestran una buena detección de los espermatozoides en todos los casos, lo cual confirma la utilidad de esta arquitectura de redes neuronales convolucionales en la segmentación de objetos.

Fig. 7. Comparativa de imágenes originales y segmentadas.

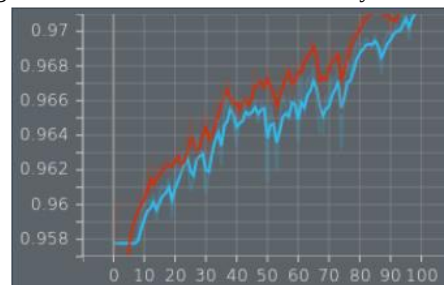


Fuente: Elaboración propia.

La figura 8 muestra la evolución de la precisión de la red neuronal durante el entrenamiento (línea roja) y durante la

validación (línea azul). Como se puede observar, se registra un incremento sostenido de la precisión durante ambas etapas, lo cual sugiere que la red neuronal no presenta síntomas de sobre entrenamiento, y en escenarios reales, se tendrá una precisión similar a la registrada en la validación

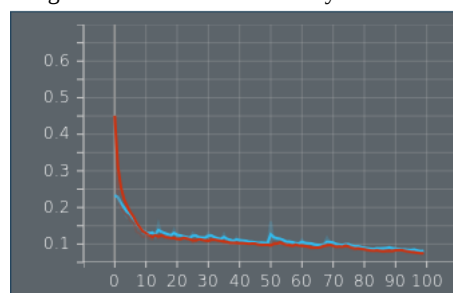
Fig. 8. Precisión durante entrenamiento y validación.



Fuente: Elaboración por medio de Tensorboard.

Lo anterior se confirma con los resultados de los errores registrados durante las etapas de entrenamiento y validación, tal como se observa en la figura 9. En ambas etapas, el error disminuye a medida que se aplican más épocas de entrenamiento, al término de éste, el error tanto de validación (línea azul), como de entrenamiento (línea roja), se acerca asintóticamente a un valor mínimo, por lo que un mayor número de épocas de entrenamiento no necesariamente producirá mejor desempeño en la detección de los espermatozoides.

Fig. 9. Error de entrenamiento y validación.



Fuente: Elaboración por medio de Tensorboard.

3. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La cantidad de imágenes que se utilizan para el entrenamiento determinan la precisión en la detección de los objetos, así que la elección de la arquitectura es determinante para los resultados que se quieren obtener, en este caso se observa que la segmentación semántica bajo la arquitectura U-Net produce resultados satisfactorios para la detección de espermatozoides. Sin embargo, en el caso de la detección de espermatozoides, dadas sus características morfológicas similares, no se requirió de una cantidad muy grande de imágenes para el entrenamiento.

No obstante, una parte de suma importancia para el entrenamiento de la red neuronal radica en una impecable elaboración de las máscaras de entrenamiento, las cuales

deben delimitar lo más exacto posible a cada espermatozoide, de tal forma que la red neuronal pueda ‘aprender’ los patrones comunes entre todos y cada uno de los espermatozoides, ya que estos patrones son utilizados en su detección. En particular, si se cuenta con una gran cantidad de objetos en las imágenes de entrenamiento, y si todos enmascaran de manera correcta se aumentará la eficiencia de la segmentación.

La segmentación de los espermatozoides en las imágenes permite aislarlos, para poder realizar un detallado análisis tanto de sus características morfológicas, como de su motilidad, variables esenciales en la determinación de la calidad de las muestras de semen del ganado bovino, por lo que se pueden tener mejores elementos para evaluar las probabilidades de éxito en el proceso de inseminación.

3.1 Trabajo futuro.

El uso de mayor cantidad de imágenes podría mejorar la eficiencia en la detección de espermatozoides de la red neuronal convolucional U-Net, sin embargo, a pesar del reducido número de imágenes utilizadas para el entrenamiento, la detección de los espermatozoides fue satisfactoria.

Actualmente se está trabajando en el desarrollo del seguimiento multiobjeto con el uso de la segmentación obtenida en este estudio.

Opcionalmente, se puede emplear una técnica de aumento de datos, que consiste en modificar el set de datos mediante la transformación geométrica de las imágenes de entrenamiento, para aumentar el número de imágenes del conjunto de entrenamiento, sin embargo, en esta ocasión no fue necesario emplear esta técnica, gracias a las características de forma de los espermatozoides.

3.1 Agradecimientos.

Los autores quieren agradecer a CONACYT por otorgar la beca de estudios al Ing. Angel Itzcoat Huizar Bretado. Además nuestro agradecimiento a TecNM por el apoyo al proyecto, gracias al cual, se se pudo llevar a cabo esta investigación. Finalmente, gracias a los revisores de este artículo cuyas observaciones ofrecieron valiosas contribuciones.

4. REFERENCIAS

- [1] Servicio de información agroalimentaria y pesquera, La ganadería símbolo de fortaleza del campo de México, gobierno de México (2018), obtenida de: <https://www.gob.mx/siap/articulos/la-ganaderia-simbolo-de-fortaleza-del-campo-mexicano>.
- [2] Cuentame de México-economía, Ganadería, INEGI (2019), obtenida de: <https://cuentame.inegi.org.mx/economia/primarias/gana/default.aspx?tema=e>
- [3] Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo rural, Durango tercer lugar nacional en exportación de ganado bovino en pie a USA, gobierno del estado de Durango (2021). obtenido de: <https://desarrollorural.durango.gob.mx/durango-tercer-lugar->

[nacional-en-exportacion-de-ganado-bovino-en-pie-a-usa-sagdr/](#).

- [4] Mayra Alejandra Marizancén Silva, Lucerina Artunduaga Pimentel Mejoramiento genético en bovinos a través de la inseminación artificial y la inseminación artificial a tiempo fijo, RIAA(2017), ISSN-e 2145-6453, Vol. 8, Nº. 2, 2017, págs. 247-259.

- [5] Muhammad Amjad Khan, Sarwat Jahan, Asmara Imtiaz, Naureen Naeem, Evaluation of Bull Semen Quality and Sperm DNA Integrity during Cryopreservation with Different Cryoprotectants, Food Science and Technology, (2019)

- [6] P. Vincent, S.L. Underwood, C. Dolbec, N. Bouchard, T. Kroetsch, P. Blondin, Bovine semen quality control in artificial insemination centers, Anim Reprod, (2012) v.9, n.3, p.153-165.

- [7] Priyanto Hidayatullah, Tati Mengko, Rinaldi Munir, Anggraini Barlian, Bull Sperm Tracking and Machine Learning- Based Motility Classification, IEEE Access, (2016), DOI 10.1109/ACCESS.2021.3074127

- [8] Priyanto Hidayatullah, Xueting wang, toshihiko Yamasaki, Tati L.E.R. Mengko, Rinaldi Munir, Anggraini Barlian, Eros Sukmawati, supratono supratano. DeepSperm: A robust and real-time Bull Sperm-cell detection in densely populated semen videos, Elsevier

, (2021). <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2021.106302>

- [9] Steven A. Hicks, Jorunn M. Andersen, Oliwia Witczak, Vajira Thambawita, pål Halvorsen, Hugo L. Hammer, Trine

B. Haugen·Michael A. Riegler, Machine Learning-Based Analysis of Sperm Videos and participant Data for Male fertility prediction, scientific reports nature (2019).

<https://doi.org/10.1038/s41598-019-53217-y>

- [10] Van Rossum G, Drake FL. Python 3 Reference Manual. Scotts Valley, CA: CreateSpace; 2009.

- [11] Ooms J, Wijffels J (2023). *opencv: Bindings to 'OpenCV' Computer Vision Library*. <https://docs.ropensci.org/opencv/> <https://github.com/ropensci/opencv>.

- [12] Martín Abadi, Ashish Agarwal, Paul Barham, Eugene Brevdo, Zhifeng Chen, et.al. TensorFlow: Large-scale machine learning on heterogeneous systems, 2015. Software available from tensorflow.org.

- [13] Rafael C. Gonzalez, Richard E. Woods, “Digital Image Processing”, Pearson Education, (2018), ISBN: 978-0-13-335672-4

- [14] Olaf Ronneberger, Philipp Fischer, and Thomas Brox, U-Net: Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation, Springer International Publishing Switzerland, (2015), DOI: 10.1007/978-3-319-24574-4_28