

---

# Watershed: un algoritmo eficiente y flexible para segmentación de imágenes de geles 2-DE

---

*Watershed: an algorithm efficient and flexible segmentation of footage gels 2-OF*

Nora La Serna Palomino, Luzmila Pró Concepción

Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
Facultad de Ingeniería de Sistemas e Informática

nlasernap@unmsm.edu.pe, lproc2003@hotmail.com

---

## RESUMEN

El trabajo que se presenta en este artículo se desarrolla en el marco del procesamiento digital de imágenes. En particular, se hace una revisión bibliográfica del algoritmo watershed (en español: línea divisoria de aguas), el cual es una técnica de segmentación basada en morfología que permite encontrar regiones de una imagen. Es una técnica flexible y eficiente para segmentación de imágenes, aconsejable para imágenes con texturas homogéneas y con gradiente de intensidad débiles. Es ampliamente utilizada en procesamiento de imágenes médicas, en particular, es una técnica eficiente para el análisis de manchas (spots) de proteínas en imágenes de electroforesis en geles de dos dimensiones (2-DE).

**Palabras clave:** procesamiento digital de imágenes, segmentación, morfología, algoritmo watershed, geles 2-DE

## ABSTRACT

The work that is presented in this article has been developed in the area of The Digital Image Processing. Especially, a bibliographical review of the watershed algorithm is done, which is a technology of segmentation based on morphology that allows to find regions of an image. It is a flexible and efficient technology for segmentation of images, to be recommended for images with homogeneous textures and with gradient of intensity weak. It is widely used in processing of medical images, in particular, it is an efficient technology for the analysis of spots of proteins in images of electroforesis in gels of two dimensions (2-DE).

**Key words:** Digital image processing, segmentation, morphology, watershed algorithm, 2-DE gels

## 1. INTRODUCCIÓN

El trabajo que se presenta en este artículo se desarrolla en el marco del procesamiento digital de imágenes. En particular, se hace una revisión bibliográfica de la técnica watershed o en español: "línea de división de aguas". Esta es una técnica basada en morfología matemática, que permite extraer las fronteras de las regiones que hay en una imagen. A la vez, se considera una técnica de segmentación orientada a regiones, debido a que clasifica los píxeles según su proximidad espacial, el gradiente de sus niveles de gris, y la homogeneidad de sus texturas. Por ello, se toma como una técnica de detección de contornos y crecimiento de regiones al mismo tiempo.

Fue introducida por C. Latujeoul como transformación de watershed y más tarde mejorada por S. Beucher, y denominada watershed [6]. Es una técnica flexible y eficiente para segmentación de imágenes. Es ampliamente utilizada en procesamiento de imágenes médicas, en particular, es una técnica eficiente para el análisis de manchas (spots) de proteínas en imágenes de electroforesis en geles de dos dimensiones (2-DE) [11].

Una imagen puede ser definida como una función bidimensional de intensidad de luz  $f(x, y)$ , donde  $x$  e  $y$  representan las coordenadas espaciales y el valor de  $f$  en un punto cualquiera  $(x, y)$  es proporcional al brillo (o nivel de gris) de la imagen en ese punto. Una imagen digital es una imagen  $f(x, y)$  que se ha discretizado tanto en las coordenadas espaciales como en el brillo; y puede considerarse como una matriz cuyos índices de fila y de columna identifican un punto de la imagen y el valor del correspondiente elemento de la matriz indica el nivel de gris en ese punto. Los elementos de una distribución digital de este tipo se denominan elementos de la imagen o más comúnmente pixels, abreviatura de su denominación inglesa "picture elements" [4].

La imagen puede verse como una representación topo-

gráfica de un terreno, donde a cada pixel se le asocia como valor de "altura" su nivel de gris correspondiente. Se incorpora un proceso de inundación de esta superficie topográfica, desde los niveles más bajos de altura (valores mínimos locales, que constituyen cuencas o vasijas de inundación), hasta que las aguas de cuencas contiguas se unen. Las líneas de unión, que representan las fronteras de regiones homogéneas, constituyen el resultado de la segmentación [1].

La estructura del presente artículo es la siguiente: en la sección 2 se bosqueja el marco conceptual que corresponde a la técnica watershed; en la sección 3 se presenta su implementación; en la sección 4 se describen las aplicaciones en detección de manchas de proteínas en imágenes de electroforesis en geles de dos dimensiones (2-DE); mientras que la sección 5 corresponde a las Conclusiones del trabajo realizado y se proponen tareas futuras para su implementación; y finalmente en 6 se presentan las referencias bibliográficas y bibliografía utilizada del trabajo desarrollado.

## 2. SEGMENTACIÓN DE IMÁGENES UTILIZANDO WATERSHED

La segmentación subdivide una imagen en sus partes constituyentes u objetos, con el fin de separar las partes de interés del resto de la imagen, por lo tanto el nivel al que se lleva a cabo esta subdivisión depende del problema a resolver. En el proceso de detectar las partes en una imagen se identifican bordes de la imagen, o se segmenta esta en regiones, líneas o curvas, etc. [4].

De otra manera, la segmentación orientada a regiones consiste en el crecimiento de regiones agrupando píxeles adyacentes que presentan características o propiedades similares. Se parte de un conjunto de puntos "semilla" y se hace crecer las regiones, añadiendo a los puntos semilla los puntos vecinos que tengan propiedades similares, como intensidad, textura, color, etc.

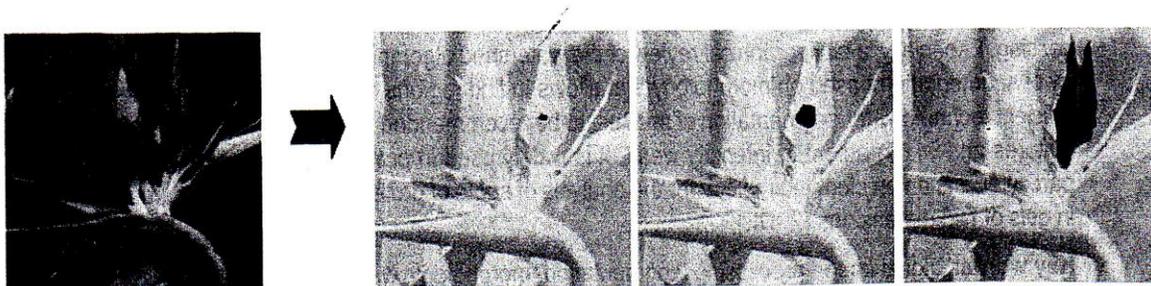


Figura N.º 1. Segmentación orientada a regiones.

Como por ejemplo en la Figura 1, la propiedad intensidad, un criterio utilizado para incluir un píxel en una región, puede ser que la diferencia absoluta entre la intensidad del píxel y la intensidad de la semilla sea menor que un umbral, por ejemplo  $T = 8$ . Los puntos semillas, pueden ser escogidos manualmente o de manera automática [16].

La imagen es dividida en regiones conexas, en donde cada región tiene propiedades distintas que las diferencian unas de otras, y que permiten ser procesadas de manera independiente. Varias técnicas orientadas a regiones han sido desarrolladas, en este trabajo nos dedicamos a la técnica de Watershed [4, 8].

La técnica de *Watershed* (en español: "línea de división de aguas") es una técnica de segmentación basada en morfología matemática, que permite extraer las fronteras de las regiones que hay en una imagen. A la vez, se considera una técnica de segmentación basada en regiones, debido a que clasifica los píxeles según su proximidad espacial, el gradiente de sus niveles de gris, y la homogeneidad de sus texturas. Por ello se toma como una técnica de detección de contornos y crecimiento de regiones al mismo tiempo.

Intuitivamente la técnica, puede considerar una imagen en escala de gris como la imagen topográfica de un relieve terrestre; en donde a cada píxel se le asocia como valor de "altura" su nivel de gris correspondiente. En este sentido, se puede pensar que las intensidades de gris de mayor amplitud se corresponden con llanuras o montañas mientras que las intensidades de menor valor se corresponden con valles y ríos.

La técnica además incorpora un proceso de inundación de los valles, desde los niveles más bajos de altura (valores mínimos locales, que constituyen cuencas de inundación rodeadas por cadenas montañosas), hasta los niveles más altos de altura [3].

Las zonas de baja intensidad de gris también se conocen como vasijas (basins en Inglés), por donde fluiría el agua e inundará toda la topografía de la imagen; es decir, el agua fluiría en cada una de las vasijas identificadas. El proceso de inundación continúa hasta que las aguas de cuencas o vasijas contiguas se unen, formando líneas de unión que representarán las fronteras de regiones homogéneas, y constituyen el resultado de la segmentación [11]. Los elementos del proceso se ilustran gráficamente en la Figura 2.

Las líneas divisorias de aguas forman los contornos de los objetos de la imagen que se quiere analizar, que darán lugar a la segmentación de la imagen, y que corresponden además a zonas de elevada intensidad de gris.

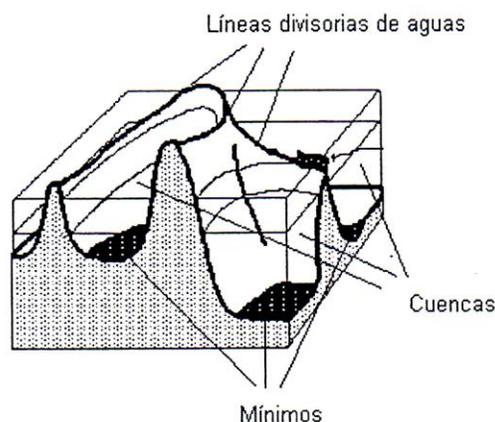


Figura N.º 2. Líneas divisorias, cuencas y mínimos [6].

Sin embargo, en imágenes no homogéneas y/o embebidas en ruido se genera un gran número de mínimos locales, produciéndose sobresegmentación en pequeñas regiones, en donde muchas de las regiones generadas no son importantes dentro de la imagen, o no representan objetos existentes en la imagen original, como se observa en la Figura 3.

La sobresegmentación se puede disminuir utilizando métodos de mejora como filtros morfológicos. Si estos métodos no mejoran, además de ellas se podrían aplicar otras formas para evitar la sobresegmentación, una de las más conocidas es definir marcadores unívocos para cada uno de los objetos de interés. En la Figura 4, se muestra un conjunto de marcadores seleccionados para la imagen izquierda de la Figura 3 [6].

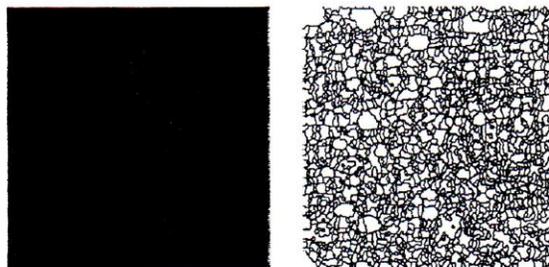


Figura N.º 3. Imagen de proteínas en gel-2D (Izquierda), y una sobresegmentación de la imagen (Derecha) [6].

Los marcadores o semillas reemplazan a los mínimos locales e inician los algoritmos de inundación indicando los sectores que darán lugar a las vasijas o basins [3]. En este caso, el éxito de la técnica Watershed, depende principalmente de una adecuada selección de marcadores. Dependiendo del problema que se trate, se tendrá que definir una heurística diferente para elegir los marcadores con los que se tendrá que empezar el proceso.

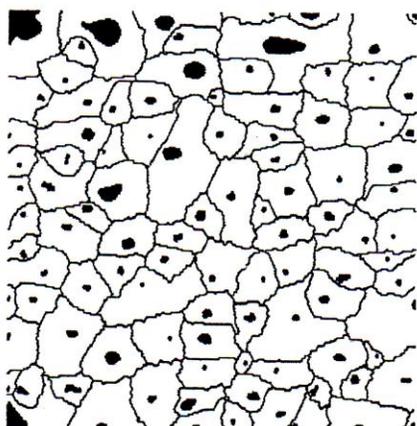


Figura N.º 4. Conjunto de marcadores seleccionados para la imagen izquierda de la Figura 3 [6].

Esta técnica de segmentación está aconsejada para imágenes con texturas homogéneas y con gradiente de intensidad débiles. Finalmente, los objetos resultantes de la segmentación se corresponden con los mínimos del gradiente morfológico y con los contornos de las líneas de división de aguas del gradiente.

### 3. EL ALGORITMO WATERSHED [1, 6]

Existen varias implementaciones del algoritmo Watershed, en este estudio se presenta la propuesta de Vincent y Soille (1991), debido a la eficiencia en el proceso de inundación y su menor costo computacional con respecto a otros que implementan la técnica.

#### 3.1. Definiciones básicas

El algoritmo que se presenta en esta sección, primero ordena los píxeles según el nivel de gris, para luego acceder a ellos mediante una estructura de datos tipo pila FIFO (First Input First Output) para iniciar el proceso de inundación de las vasijas o basins de la imagen.

A cada uno de los mínimos locales se le asigna una etiqueta diferente, la cual se propaga a todos los píxeles

adyacentes en un nivel dado  $h$ . Se comienza analizando la imagen binarizada con un umbral  $h$  igual al mínimo valor de gris de la imagen hasta la imagen binarizada con un umbral igual al máximo valor de gris. En cada paso se analizan los componentes conectadas entre la binarización en  $h$  y  $h+1$ . Al final de la inundación, todos los píxeles menos las líneas Watershed poseen una etiqueta que indica a que basin o región pertenecen. El negativo de las basins inundadas forma las líneas Watershed que separan las distintas regiones de la imagen que crecieron a partir de los mínimos regionales.

El proceso de inundación en las vasijas o basin se realiza comparando la imagen  $f$ , binarizada con un umbral  $i$ , que se denota  $Z_i(f)$ , y la imagen en un nivel superior  $Z_{i+1}(f)$ , desde  $i=0$  hasta  $i=N$ , donde  $N$  es el máximo nivel de gris con que se representa la imagen.

En cada nivel  $i$  de la imagen  $f$  se tienen mínimos regionales  $m_i(f)$ .

La vasija o basin de la imagen  $f$  en el nivel de  $i$ , se denota  $W_i(f)$ , que inicialmente son los mínimos regionales.  $W_{i+1}(f)$  es el resultado de la inundación de la basin  $W_i(f)$ .

Durante el proceso de inundación, se producen hasta tres casos posibles:

Crecimiento de un basin ya existente en  $Z_i(f)$ . En este caso, si el valor del píxel de las imágenes que se comparan, es decir  $Z_{i+1}(f)$  es mayor que  $Z_i(f)$ , se produce el crecimiento (inundación) del basin  $W_i(f)$ , es decir se genera  $W_{i+1}(f)$ , si son iguales el basin permanece con igual tamaño.

Aparición de una nueva basin, si el valor del píxel de las imágenes que se comparan, es decir  $Z_{i+1}(f)$  es menor que  $Z_i(f)$ , aparecen nuevas regiones de inundación, es decir, nuevas basin.

Determinación de zonas de influencia, si la inundación del nivel  $i+1$  una basins inundadas del nivel  $i$ , se deben separar las regiones utilizando las zonas de influencia de cada componente conectada. En este caso, la basin de  $i+1$ , es decir  $W_{i+1}$  son zonas de influencia de la basin  $W_i$ .

#### 3.2. Implementación del algoritmo

En esta subsección se presenta el pseudocódigo de una implementación, así como se explican primero las variables y estructura de datos utilizado para el análisis de cada píxel de la imagen [1].

### 3.2.1. Variables y funciones

$G$  representa una malla digital,  $G \subset \mathbb{Z}^2 \times \mathbb{Z}^2$ , que puede ser de algún tipo, cuadrado con conectividad 4 u 8; hexadecimal con conectividad 6.

$N_G(p)$  el conjunto de los vecinos de un pixel  $p$  con respecto a  $G$ ,  $N_G(p) = \{p' \in \mathbb{Z}^2 \mid (p, p') \in G\}$ .

La estructura de datos *first-in-first-out* (fifo) que utiliza el algoritmo, y que contiene pixeles ordenados según su nivel de gris, permite realizar las siguientes tres operaciones:

- *fifo\_agregar* ( $p$ ), pone el (puntero a) pixel  $p$  en la pila.
- *fifo\_primerero* ( $p$ ), retorna el (puntero a) pixel que se encuentra en la cima de la pila, y lo remueve de la pila.
- *fifo\_vacio* ( $\phantom{p}$ ), retorna verdad si la pila está vacía, o falso si contiene al menos un elemento.

### 3.2.2. Pseudocódigo

```
# define MASK -2 /* valor inicial del nivel del Umbral */
# define WSHED 0 /* valor de los pixeles que pertenecen a los watersheds */
# define INIT -1 /* valor inicial de im0 */
-input:  $im_i$ , decimal image;
-output:  $im_o$ , image of the labeled watersheds;
* Inicializaciones:
-Value INIT que es asignado a cada pixel de  $im_o$ :
 $\forall p \in D_{im_o}, im_o(p) = INIT;$ 
-etiqueta_actual  $\leftarrow 0;$ 
-actual_dist: integer variable
- $im_d$ : imagen temporal (trabajo) de distancias inicializado a 0;
* Ordenar los pixeles de  $im_i$  de acuerdo al incremento de sus valores de gris.
 $h_{min}$  y  $h_{max}$  son designados como los valores de niveles de gris más bajo y más alto, respectivamente.
For  $h \leftarrow h_{min}$  to  $h_{max}$  {
    /* geodesic SKIZ de nivel  $h - 1$  dentro del nivel  $h$  */
    For every pixel  $p$  tal que  $im_i(p) = h$  {
```

```
        /* Estos pixeles son accedados directamente a través del arreglo ordenado */
         $im_o(p) \leftarrow MASK;$ 
        if existe  $p' \in N_G(p)$  tal que  $im_o(p') > 0$  or  $im_o(p') = WSHED$  {
             $im_o(p) \neg 1;$  fifo_agregar ( $p$ );
        }
    }
}
Actual_dist  $\leftarrow 1;$  fifo_agregar (ficticio_pixel);
repetir indefinidamente {
     $p \leftarrow fifo\_primerero ();$ 
    if  $p = ficticio\_pixel$  {
        if fifo_vacio () = true then BREAK;
        else { fifo_agregar (ficticio_pixel );
            actual_dist  $\leftarrow actual\_dist + 1;$ 
             $p \leftarrow fifo\_primerero ();$ 
        }
    }
}
For every pixel  $p' \in N_G(p)$  {
    if  $im_d(p') < actual\_dist$  and ( $im_o(p') > 0$  or  $im_o(p') = WSHED$ ) {
        /* i.e.,  $p'$  ya pertenece a un basin etiquetado o a el watersheds */
        if  $im_o(p') > 0$  {
            if  $im_o(p) = MASK$  or  $im_o(p) = WSHED$  then
                 $im_o(p) \leftarrow im_o(p');$ 
            else if  $im_o(p) \neq im_o(p')$  then
                 $im_o(p) \leftarrow WSHED;$ 
            }
        else if  $im_o(p) = MASK$  then  $im_o(p) \leftarrow WSHED$ 
    }
    else if  $im_o(p') = MASK$  and  $im_d(p') = 0$  {
         $im_d(p') \leftarrow actual\_dist + 1;$  fifo_agregar ( $p'$ );
    }
}
```

```

    }
}
/* chequear si nuevo mínimo ha sido descu-
bierto */
For every pixel p such that  $im_1(p) = h$  {
     $im_0(p) \leftarrow 0;$  /* la distancia asociada
con p is inicializado a 0 */
    if  $im_0(p) = MASK$  {
         $etiqueta\_actual \leftarrow etiqueta\_actual + 1;$ 
         $fifo\_agregar(p); im_0(p) \leftarrow etiqueta\_actual;$ 
        while  $fifo\_vacio() = false$  {
             $p' \leftarrow fifo\_primero();$ 
            For every pixel  $p'' \in N_c(p')$  {
                if  $im_0(p'') = MASK$  {  $fifo\_agregar(p'');$ 
                     $im_0(p'') \leftarrow eti$ 
                     $queta\_actual;$  }
            }
        }
    }
}
}

```

#### 4. APLICACIONES EN DETECCIÓN DE MANCHAS DE PROTEÍNAS EN GELES 2-D [7, 11]

El algoritmo Watershed es ampliamente utilizado en procesamiento de imágenes médicas. En particular, es una técnica eficiente para el análisis de manchas (spots) de proteínas en imágenes de electroforesis en geles de dos dimensiones (2-DE). 2DE es una técnica importante en investigación de proteínas, permite separar diferentes clases de proteínas, basados en su peso molecular y el punto iso-eléctrico, cada mancha representa una proteína específica.

El proceso de análisis de imágenes de las manchas de proteínas comprende varios pasos. El primero es la segmentación de manchas, aquí el objetivo es extraer desde el gel tantas manchas como sean posibles. El segundo paso, consiste en la cuantificación de las manchas extraídas, a partir de sus rasgos de intensidad, tamaño y forma de la mancha. El tercer paso es un proceso de calibración, que se lleva a cabo debido

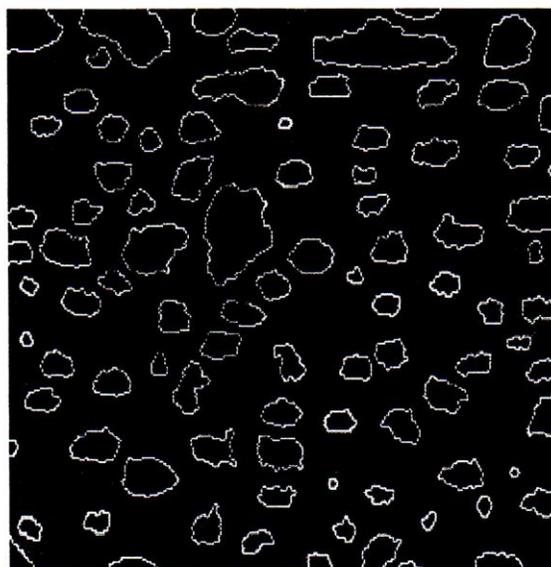


Figura N.º 5. Segmentación de un gel 2-D utilizando Watershed [6].

a la deformación del gel en el proceso 2DE. En el último paso, los patrones de proteínas son reconocidos y clasificados.

El algoritmo watershed permite una segmentación automática de la imagen, obteniéndose una región para cada mancha de proteína, el algoritmo es eficiente lo que permite cuantificar de manera correcta cada una de estas manchas. La Figura 5 muestra un ejemplo de segmentación de un gel 2-D mediante el algoritmo watershed.

#### 5. CONCLUSIONES

El trabajo desarrollado ha dado lugar a una revisión bibliográfica de los fundamentos teóricos y de implementación de la técnica de Procesamiento digital de imágenes watershed (en español, "línea divisoria de aguas"). Es ampliamente utilizada en procesamiento de imágenes médicas, en particular, es una técnica eficiente para el análisis de manchas (spots) de proteínas en imágenes de electroforesis en geles de dos dimensiones (2-DE). Watershed es una técnica de segmentación basada en morfología que permite encontrar regiones de una imagen. Es una técnica flexible y eficiente para segmentación de imágenes, aconsejable para imágenes con texturas homogéneas y con gradiente de intensidad débiles.

Intuitivamente, la imagen puede verse como una representación topográfica de un terreno, donde a cada

pixel se le asocia como valor de "altura" su nivel de gris correspondiente. Se asocia un proceso de inundación de esta superficie topográfica, desde los niveles más bajos de altura (valores mínimos locales, que constituyen cuencas o vasijas de inundación), hasta que las aguas de cuencas contiguas se unen. Las líneas de unión, que representan las fronteras de regiones homogéneas, constituyen el resultado de la segmentación.

Existen varias implementaciones del algoritmo Watershed, en este estudio se presenta la propuesta yseudocódigo de Vincent y Soille (1991), debido a la eficiencia en el proceso de inundación y su menor costo computacional con respecto a otros que implementan la técnica.

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se desarrolla en el marco del proyecto de investigación 2009 "Segmentación de imágenes para el análisis de proteínas en células de mamíferos", financiado parcialmente por el Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Vincent L., and Soille P. Watersheds in Digital Spaces: An efficient Algorithm Based on Immersion Simulations. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, Vol 13, Nro 6, 1991.
- [2] Castleman, K.R. "Digital Image Processing", Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey 07632, 1996.
- [3] Gonzalez M. "Segmentación morfológica watershed en imágenes médicas: métodos de selección de marcadores". Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Mar del Plata. 2008.
- [4] Gonzalez, R.C., Woods, R.E. Tratamiento Digital de Imágenes, Addison-Wesley Publishing Co, Reading, Washington, 1996.
- [5] Gonzalez, R.C., Woods, R.E., Steven Eddins: Digital Image using MatLab Processing, Perason-Prentice Hall, 2004.
- [6] Beucher, S. The Watershed Transformation Applied To Image Segmentation. Centre de Morphologie Mathematique, France, 1992.
- [7] M. Berth & Frank Michael Moser & Markus Kolbe & Jörg Bernhardt . The state of the art in the analysis of two-dimensional gel electrophoresis images. Appl Microbiol Biotechnol ,2007.
- [8] Mazo, Q. M. &Boquete, V.L. &Barea N.R. Visión Artificial. Publicaciones UAH. ISBN 84 8138 101 2, DL. M 1321 1996.
- [9] Mery Domingo. Inspección Visual Automática. Primer Congreso Internacional de Ingeniería Mecatrónica Lima 2002.
- [10]La Serna N., Román U. Técnicas de segmentación en Procesamiento digital de imágenes. Revista de Investigación de Sistemas e Informática (RISI) UNMSM. Vol 6 No 2 2009. ISSN: 1815 0268.
- [11] Bettens E., et al. Automatic Segmentation and Modelling of Two-Dimensional Electrophoresis Gels. RUCA University of Antwerp, Belgium. 2000.
- [12] Pistori, H.; Pereira, M. C.Utilizacao de Ferramentas Livres em um Curso de Visao Computacional. II Workshop sobre Computação Gráfica e Educação - SIBGRAPI'2006, Manaus, Octubre 8-2006
- [13]Pistori, H.; Computer Vision and Digital Inclusion of Persons with Special Needs: Overview and State of Art. CompIMAGE - Computational Modelling of Objects Represented in Images: Fundamentals, Methods and Applications, Coimbra, Outubro 20-2006
- [14] Melanie 2D Gel Analysis 7.0, Swiss Institute of Bioinformatics (SIB). Accesado Julio 2010. <http://www.expasy.ch/melanie/>
- [15] GELLAB-II 2D Gel Analysis Software. Accesado Julio 2010. [www.ccrnp.ncifcrf.gov/gellab/](http://www.ccrnp.ncifcrf.gov/gellab/)
- [16]Sonka M., Hlavac V., y Boyle R. Image Processing, Analysis, and Machine Vision. Thomson 2008.