

Biologická technika

Zpracování a analýza obrazu

- Klasická a digitální mikrofotografie
- Příklad zpracování (= úprav) digitální (mikro)fotografie
- Příklady analýzy obrazu

Mikrofotografie

- mikroskop + projektiv + kamera
- 35mm kinofilm, střední a velké formáty
 - poměrně drahý materiál (provoz), nejsou bezprostřední výsledky, obtížná editace, nepohodlná archivace
- videokamery + digitalizace analogového signálu + PC
- digitální kamery
 - minimální provozní náklady, ihned k dispozici, snadná a efektivní editace, snadná archivace
 - low-end řešení: založené na komerčních modelech
 - hi-end řešení: live zobrazování ve vysokém rozlišení, chlazení Peltierovým článkem...

co to je digitální fotografie...

- soubor binárních dat (1 a 0)
- pixel (picture element); 3-20 Mpx
- barevný prostor RGB, barevná hloubka 8 bitů na každou barvu
 - kolik úrovní jedné barvy tedy v 8bitové barevné hloubce rozlišujeme?
 - kolik barev je možné tímto způsobem zachytit (zobrazit)
- Barevný prostor CMYK, aditivní a subtraktivní míchání barev, gamut, sRGB, AdobeRGB

Doplňte k RGB hodnotám daného pixelu jeho barvu:

Red	Green	Blue	barva
0	0	0	
255	255	255	
128	128	128	
255	0	0	Red
0	255	0	Green
0	0	255	Blue
0	255	255	Cyan
255	0	255	Magenta
255	255	0	Yellow
0	0	0	black

model RGB

model CMYK

Formáty digitální fotografie...

- WWW
 - BMP, JPG, GIF, PNG
- digitály
 - JPG, TIF, RAW
- PC
 - BMP, JPG, JPG2000, GIF, TIF, PSD, PSP...
- Komprimované a nekomprimované soubory, ztrátová a bezztrátová komprese

Formáty digitální fotografie...

- nekomprimované soubory: RAW, BMP (bitmap), TIF
 - 3 Mpx – jak velký bude soubor BMP při 8bitové barevné hloubce RGB?
- komprimované bezztrátově: varianty TIF, GIF, PSP, PSD, JPG2000
 - vždy z dat zrekonstruují originální obrázek (bitmapu)
 - vhodné pro ukládání dílčích výsledků grafických úprav
- komprimované ztrátově: **JPG**
 - po uložení do tohoto formátu již není možné zrekonstruovat originální obrázek (bitmapu)
 - vícekrát opakované uložení a otevření souboru může obrazovou informaci výrazně poškodit
 - různé stupně komprese; vyšší komprese sníží objem dat, ale zvýší ztráty informací z obrazu a zvýší jeho degradaci
 - WWW: kompromis mezi velikostí a kvalitou obrázku; počet barev

Úpravy obrázků

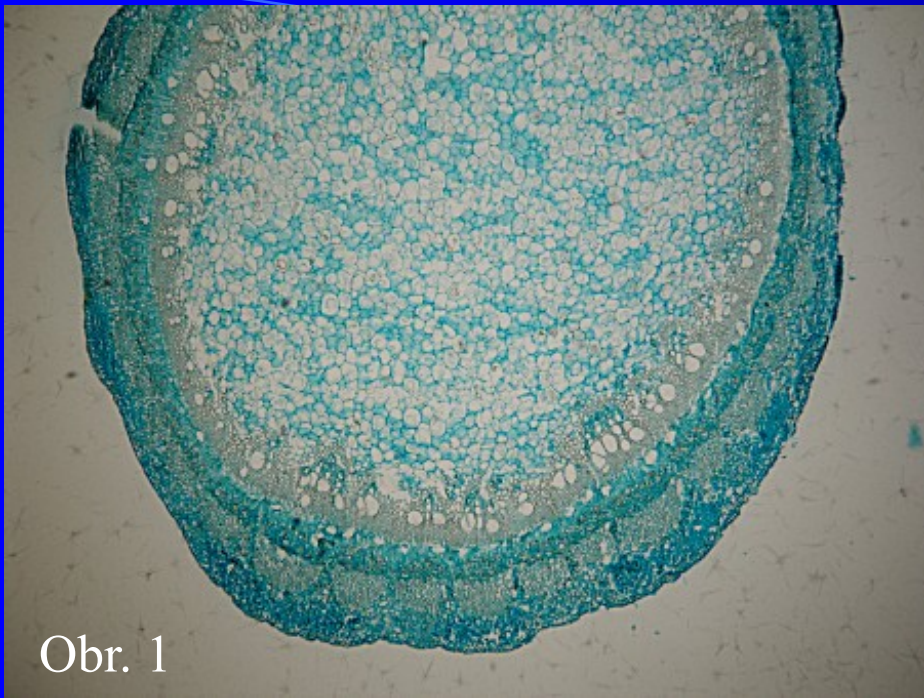
- Grafický SW
 - Adobe Photoshop, Corel PaintShop Pro, Paint.NET, GIMP...
 - vrstvy, úpravy histogramu, retušovací fce, speciální fce na úpravy fotek (red eye, fading...)
- Prohlížeče a katalogizace
 - ACDSsee, Zoner, IrfanView, Google Picasa
- Speciální SW
 - panoramata (PTGui, Photovista Panorama, Panorama Factory...)
 - HDR images (Corel PaintShop Pro X2, Photomatix)
 - noise reduction (Neat Image)

Základy zpracování a analýzy obrazu

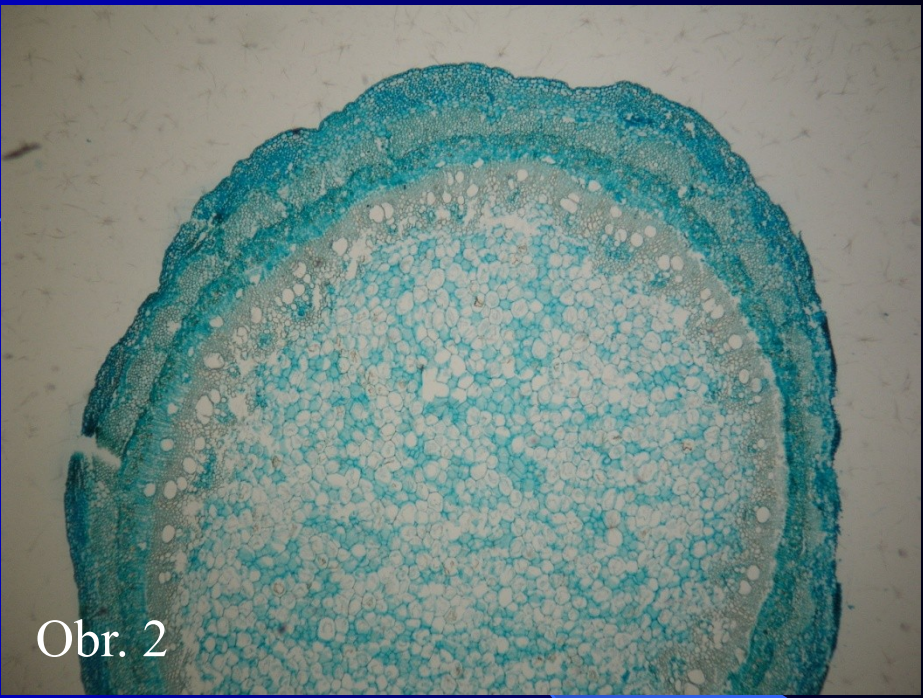
- interaktivní vs. automatizovaná měření
- některé jednoduché úlohy: stačí grafický software (Photoshop, Paintshop Pro, GIMP...)
- Image J
- Image tool:
<http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>
- Lucia: <http://www.lim.cz/>

Úloha 1: mikrofotodokumentace

- připravte si potřebné mikroskopické snímky (pozn.: originální snímky jsou dostupné na http://www.sci.muni.cz/kfar/html/biologicka_technika_navody.htm)
 1. vlastní mikroskopické snímky (obr. 1, 2) – trochu podexponované (-1 EV)
 2. “prázdný” snímek – vyfocen se stejným nastavením jako byl vyfocen vlastní mikroskopický snímek, vč. korekce expozice -1 EV (přepaly) – (obr. 3)
 3. snímek mikrometrojektu – podložního skla s nakalibrovaným 1mm měřítkem děleným po 10 a 100 μm (obr. 4)



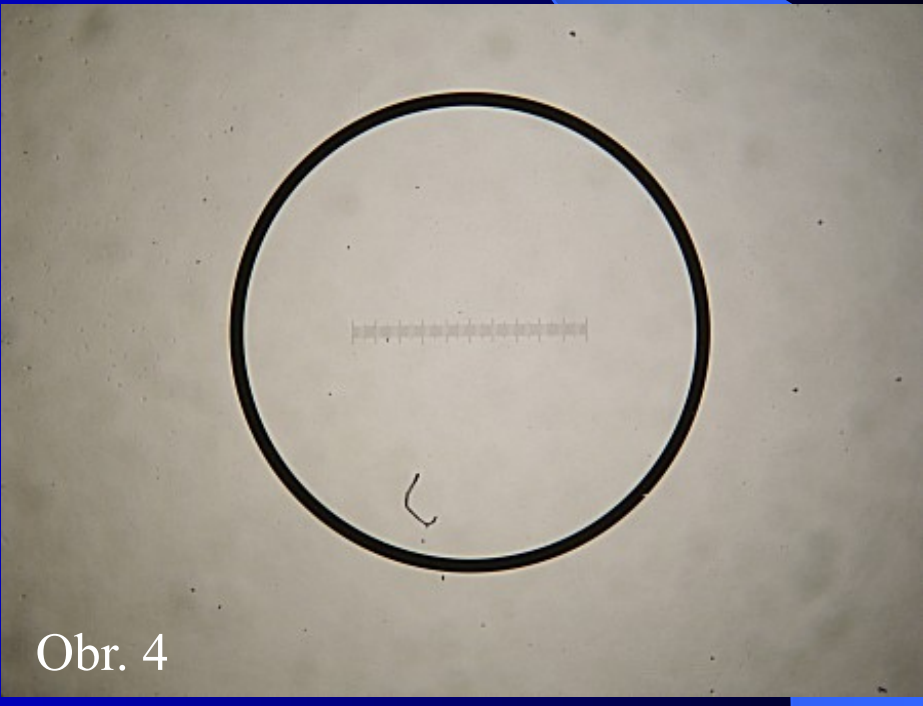
Obr. 1



Obr. 2



Obr. 3



Obr. 4

1)

Z obr. 3 odstraňte obrazový šum: např. mediánovým filtrem, apertura alespoň 9.



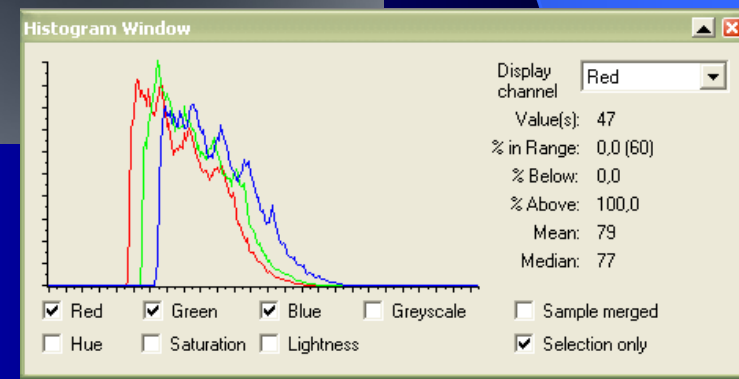
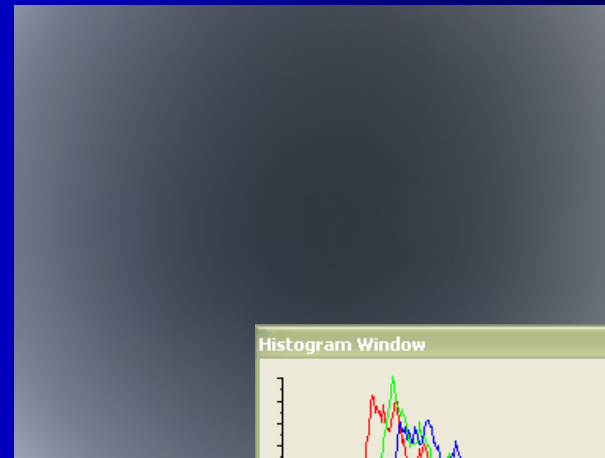
výřez z obr. 2, před aplikací mediánového filtru



výřez z obr. 2, po aplikaci mediánového filtru

2)

Převeďte takto upravený obr. 3 do negativu a zobrazte si jeho histogram; zjistěte nejnižší hodnotu R, G nebo B, která se v obrázku již nachází (x; zde Red = 47, má ji 60 pixelů).

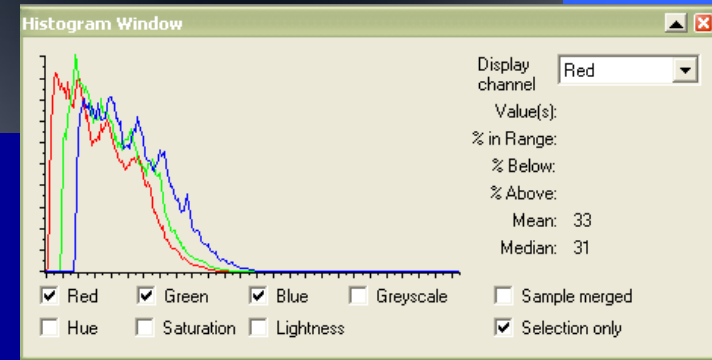


3)

Připravte si prázdný snímek se stejným rozlišením jako má obr. 3 (ten má v originále rozlišení 2560 × 1920 pixelů); tento obrázek vylijte barvou $R=n$, $G=n$, $B=n$ kde $n=x-1$ zde tedy barvou RGB 46, 46, 46.

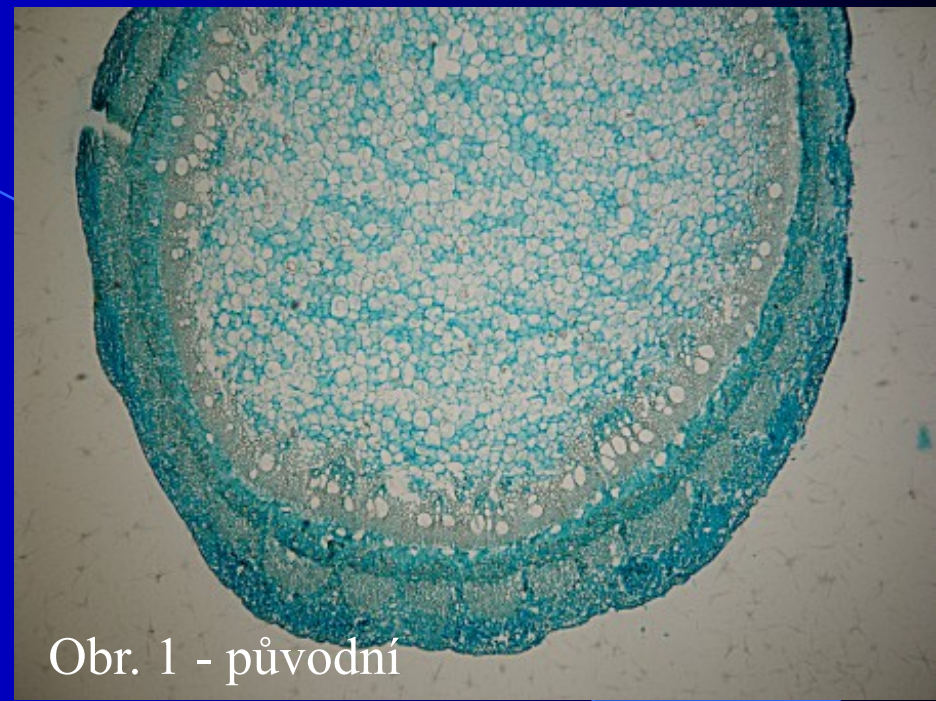
4)

Od obrázku, který jste si připravili v kroku 2) odečtete obrázek připravený v kroku 3) (v PaintShop Pro operace Image – Arithmetic – Subtract). Výsledkem je tento obrázek s histogramem podobným tomu z kroku 2), ale „přisunutým“ k nulovým hodnotám. Toto je „maska“.



5)

Masku z kroku 4) přičtete k výchozím obr. 1 a 2 (v PaintShop Pro operace Image – Arithmetic – Add). Získáte obrázky s rovnoměrně osvětleným pozadím, tedy bez vinětače.

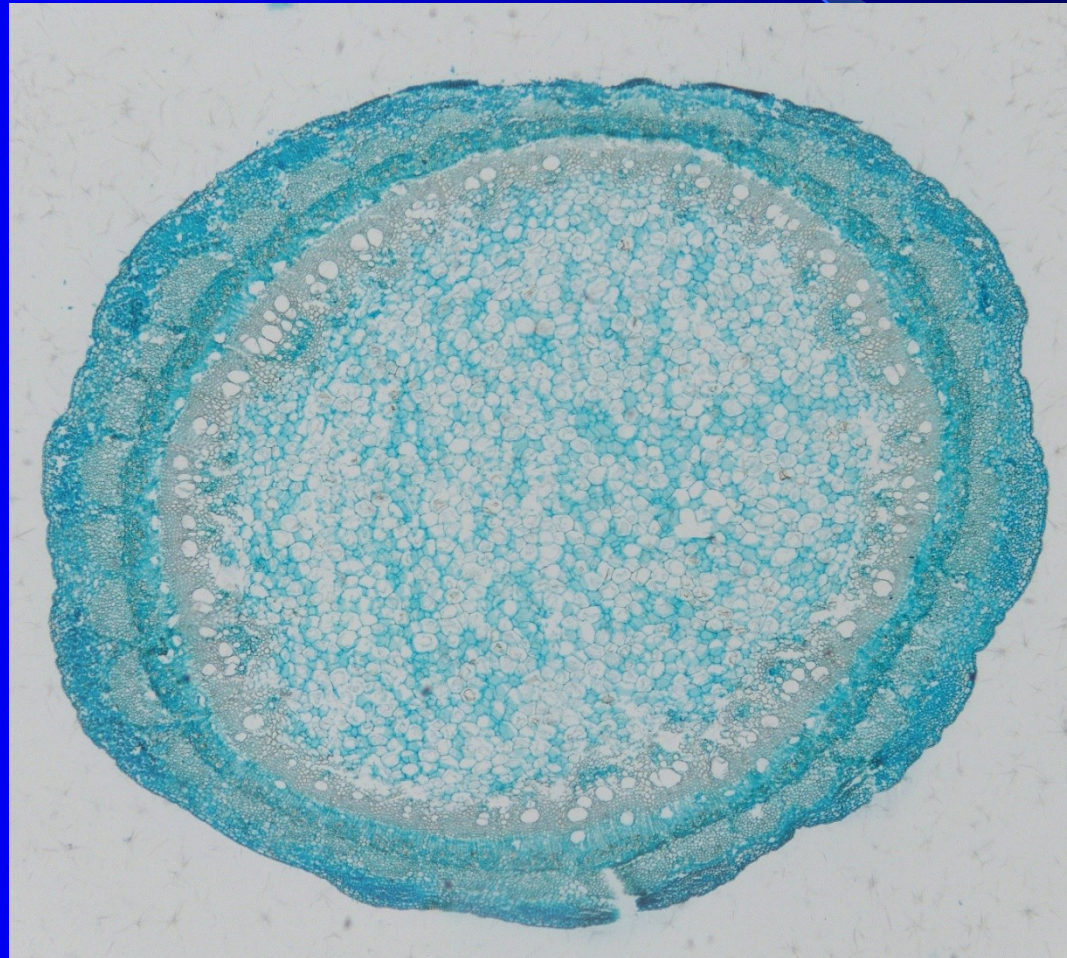


Obr. 1 - původní

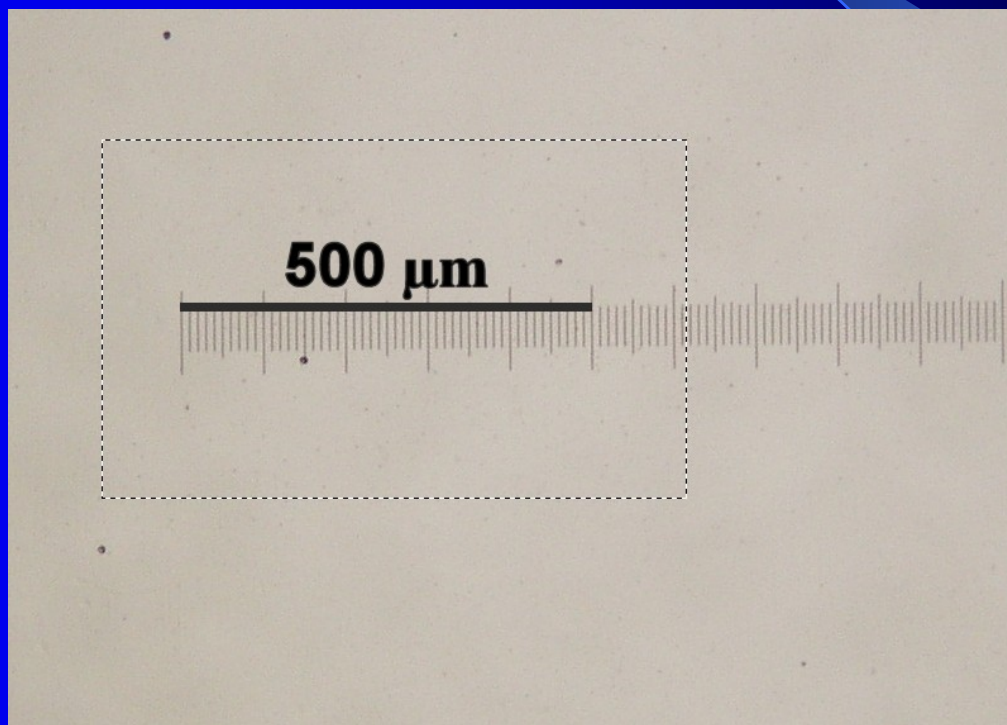


Obr. 1 - upravený

6) Upravené obrázky 1 a 2 s rovnoměrně osvětleným pozadím, tedy bez vinětaže, můžete spojit v jeden panoramatický (zde pomocí PTGui, ohnisková vzdálenost použité optiky nastavena na 200 mm – EXIF data jsou v tomto případě k nepotřebě (roli hraje i optika mikroskopu)).



7) S pomocí obr. 4 zhotovte kalibrační úsečku. Nejprve zvolte její vhodnou délku (zde 500 μm). Do obr. 4 vložte novou průhlednou rastrovou vrstvu, do ní nakreslete úsečku zvolené délky a vhodné šíře, nad ni napište její hodnotu (500 μm). Zkopírujte úsečku s popisem do klipboardu...



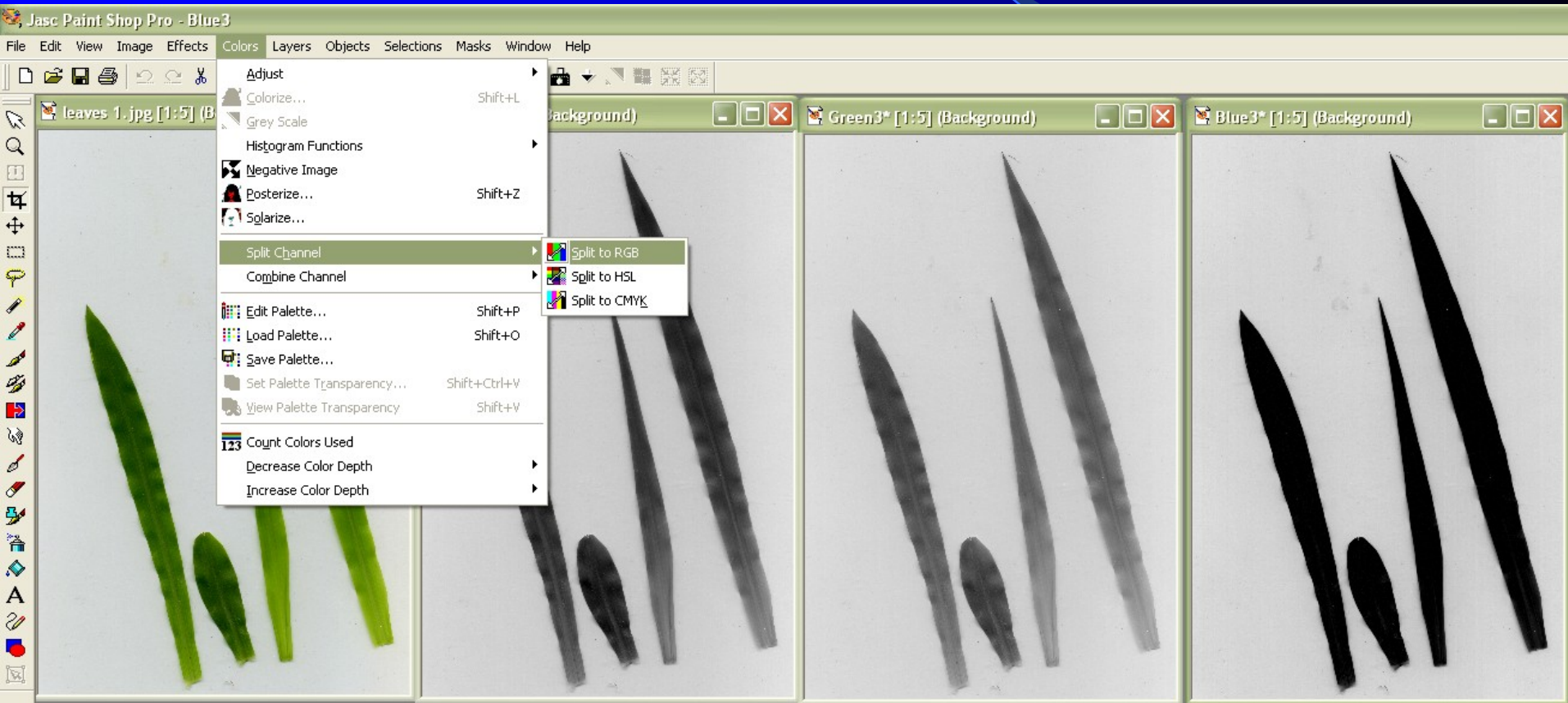
8) Do panoramatu z mikrosnímků 1a a2 (u něhož byl ještě upraven kontrast a jas posunem bílého bodu) vložte kalibrační úsečku z klipboardu (jako novou vrstvu, ať ji můžete vhodně umístit). **Finito.**



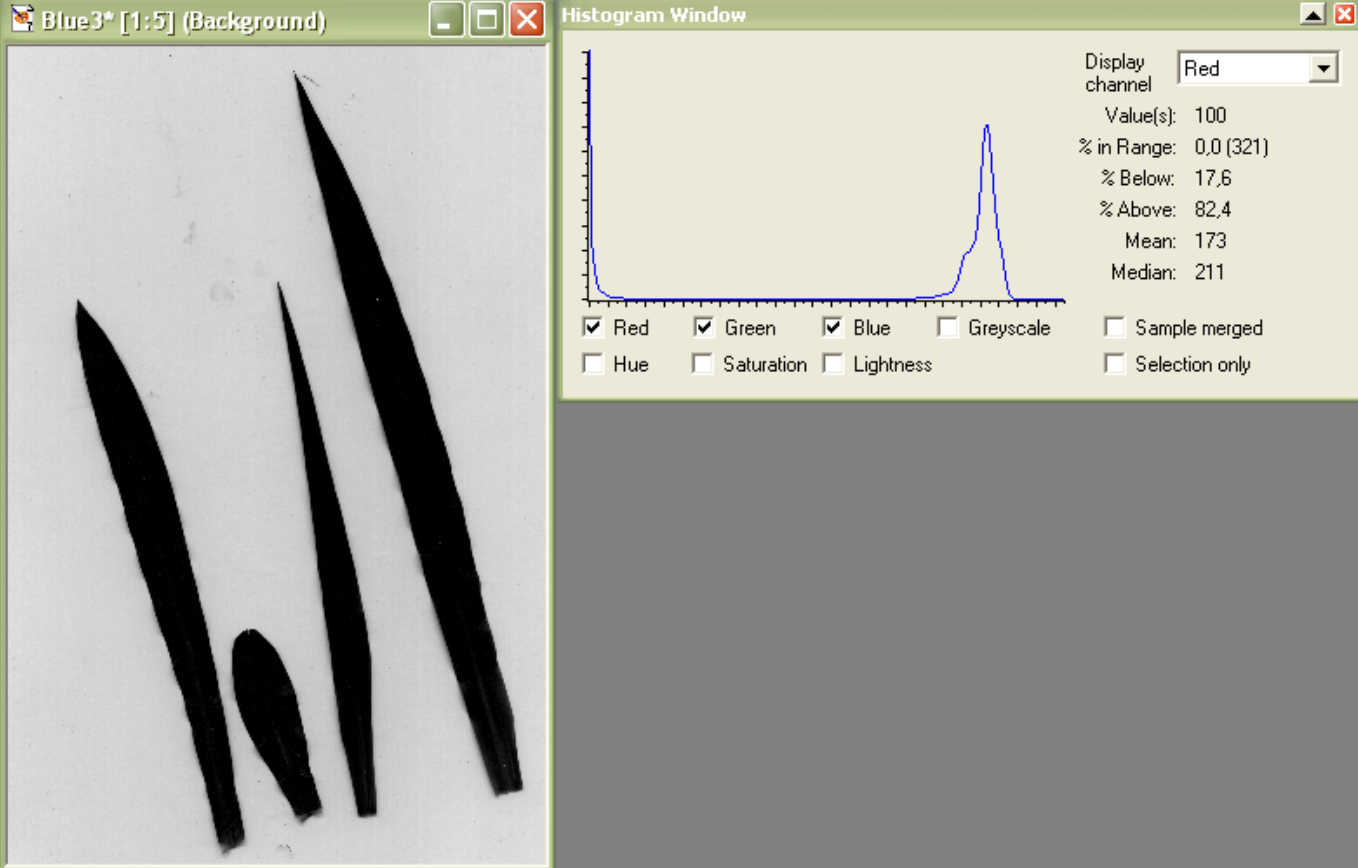
Úloha 2: stanovení listové plochy

- připravte si potřebné skeny listů (pozn.: originální snímky jsou dostupné na http://www.sci.muni.cz/kfar/html/biologicka_tehnika_navody)
 - skenujte na 300 DPI (dots per inch, body na palec), vyšší rozlišení je možné, ale je zbytečné
 - podle barvy listů zvolte vhodné pozadí (uvažujte RGB model!); zelené či červeně zbarvené listy – bílé pozadí; hodně chlorotické, bělavé listy – černé pozadí
 - vypočtete plochu jednoho pixelu při daném rozlišení (zde výpočet pro 300 DPI)
 - 1 in = 2,54 cm
 - $300 \times 300 \text{ pixelů} \approx 2,54 \cdot 2,54 \text{ cm}$
 - tj. $90\,000 \text{ pixelů} \approx 6,4516 \text{ cm}^2$
 - $1 \text{ pixel} \approx 7,17 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2$

1) Sken listů rozseparujte do jednotlivých složek RGB modelu (alternativně můžete vyzkoušet i CMYK model)(v PaintShop Pro Colors – Split Channel – Split to RGB); vyberte kanál s nejvyšším kontrastem (zde modrý)



2) Prohlédněte si histogram nejkонтastnějšího obrázku. Na jeho základě zvolíte prahovací hodnotu pro převod do binárního obrázku, popřípadě lze vhodnou prahovací hodnotu zjistit pomocí „kapátka“, popř. zkusmo (zde vhodná prahovací hodnota 100)



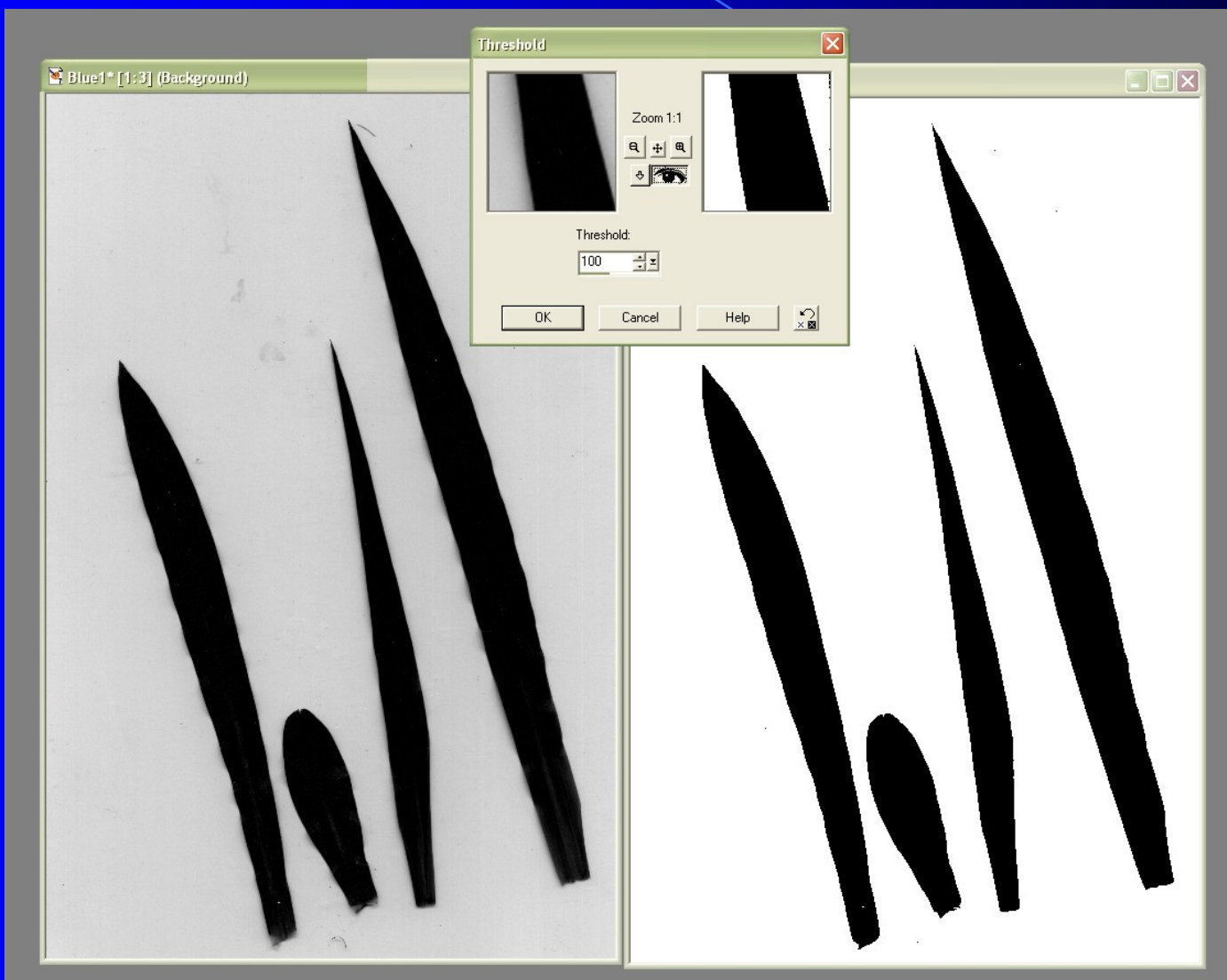
The screenshot displays a software interface with two main windows. The left window, titled "Blue3* [1:5] (Background)", shows a grayscale image of four dark, elongated, leaf-like objects against a light background. The right window, titled "Histogram Window", shows a histogram for the "Red" channel. The histogram has a single sharp peak at a value of 100. The following statistics are displayed:

- Display channel: Red
- Value(s): 100
- % in Range: 0,0 (321)
- % Below: 17,6
- % Above: 82,4
- Mean: 173
- Median: 211

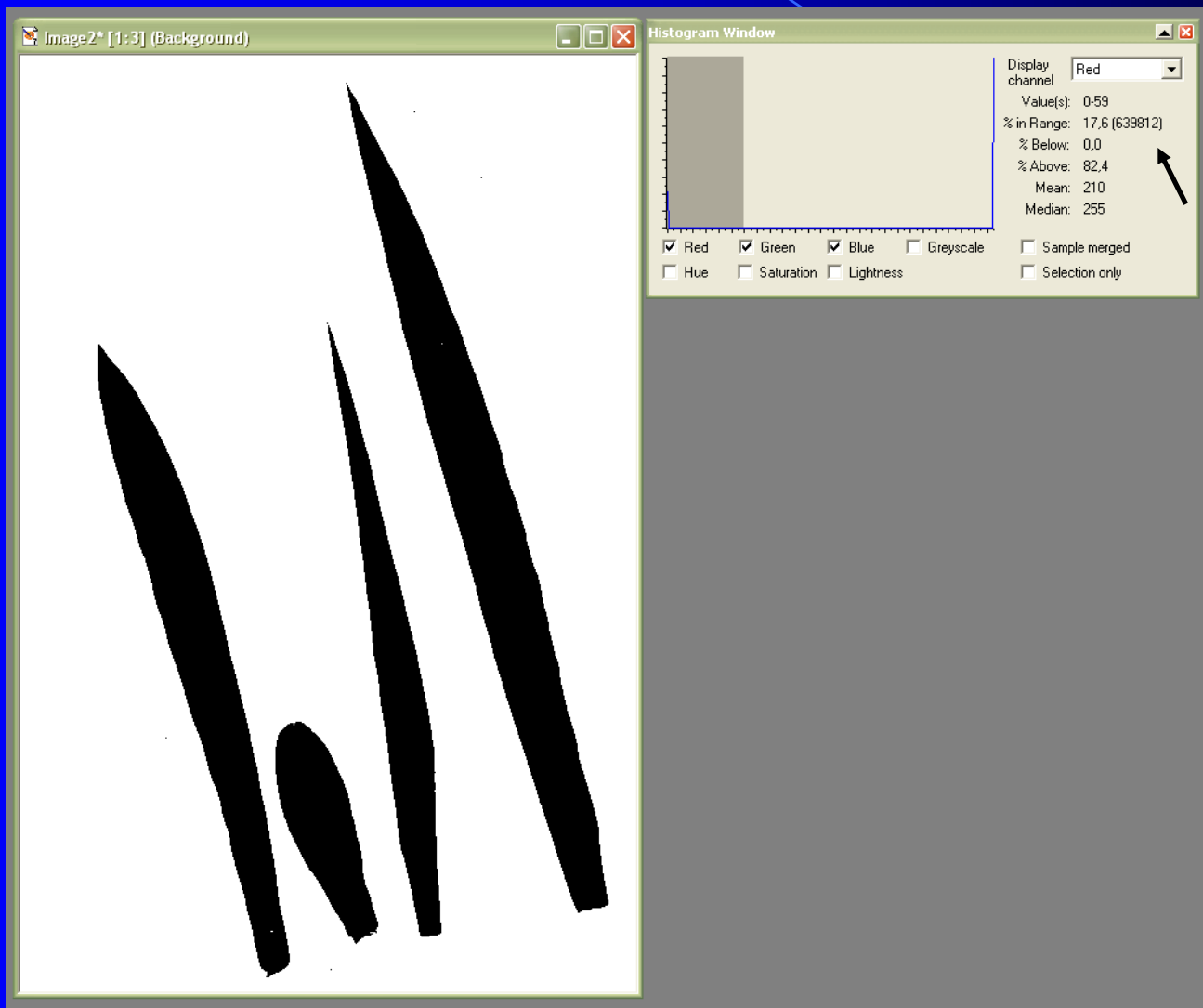
Below the histogram, there are several checkboxes for channel selection and display options:

- Red
- Green
- Blue
- Greyscale
- Hue
- Saturation
- Lightness
- Sample merged
- Selection only

3) Pomocí prahování vytvořte binární obrázek (v PaintShop Pro funkce Colors – Adjust – Threshold).



3) V takto vytvořeném binárním obrázku pomocí histogramu zjistěte, kolik pixelů má RGB 0,0,0, tedy kolik jich je černých (a jsou tedy objektem, tedy listem); zde 639 812 pixelů



3) $639\,812 \text{ pixelů} \times \text{plocha jednoho pixelu při daném rozlišení (zde 300 DPI)} = 45,86 \text{ cm}^2$