

Dokumentace mikroskopických preparátů

Možnosti dokumentace

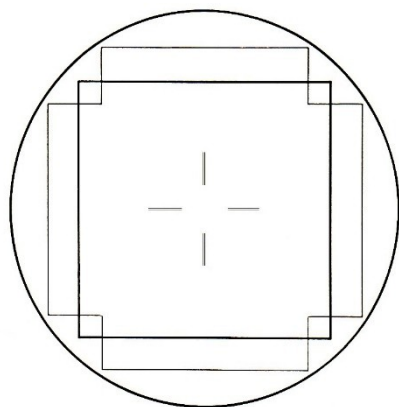
- **kresba, perokresba** - ruční nebo s pomocí kreslicího přístroje
- **mikrofotografie** = fotografický záznam obrazu v mikroskopu
- **mikrokinematografie** = záznam pohybu nebo vývoje, sběrný film
- **rekonstrukce** - tvorba prostorových modelů, digitální 3D rekonstrukce

Možné způsoby propojení kamery s mikroskopem

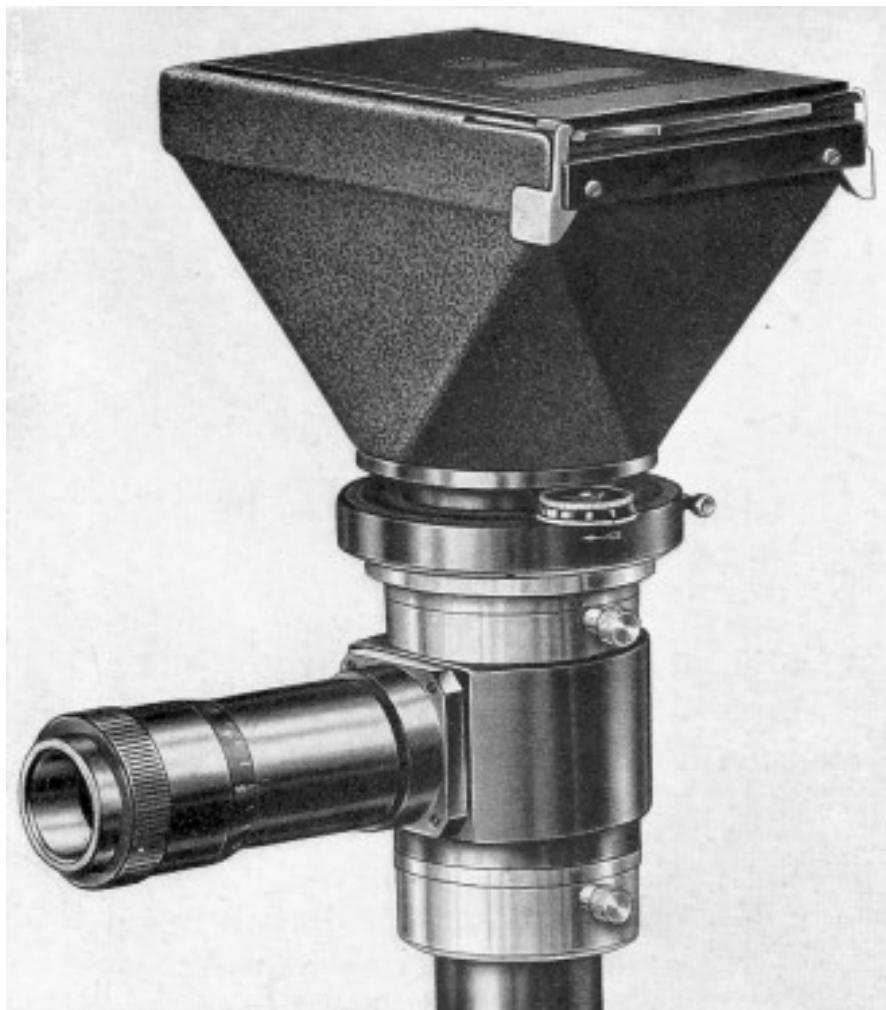
- propojení těla fotoaparátu (bez objektivu) s mikroskopem přes spojovací tubus s projektivem
- mikrofotokamera (pro velký nebo malý formát), tubus a vložený projektiv (speciální okulár s korigovanými vadami zkreslení) + postranní okulár
- kombinace mikroskop + fotografický přístroj - objektiv fotoaparátu nastaven na nekonečno a clona zcela otevřená
- kombinace mikroskop + CCD kamera + počítač

Kamerový nástavec - velký formát

6 x 6 nebo 6 x 9 cm



zaostřovací kříž
postranního
okuláru



Kamerový nástavec - velký formát schéma optiky

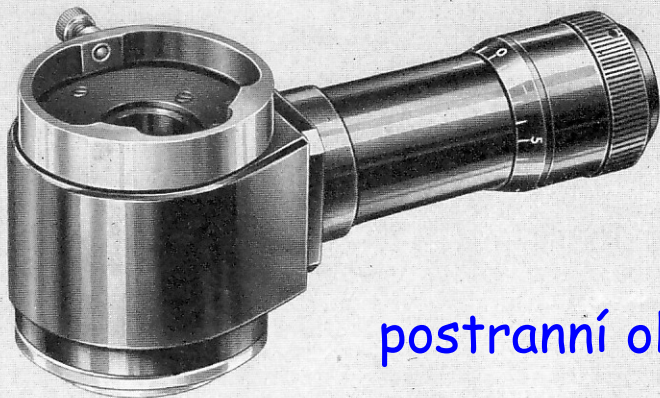
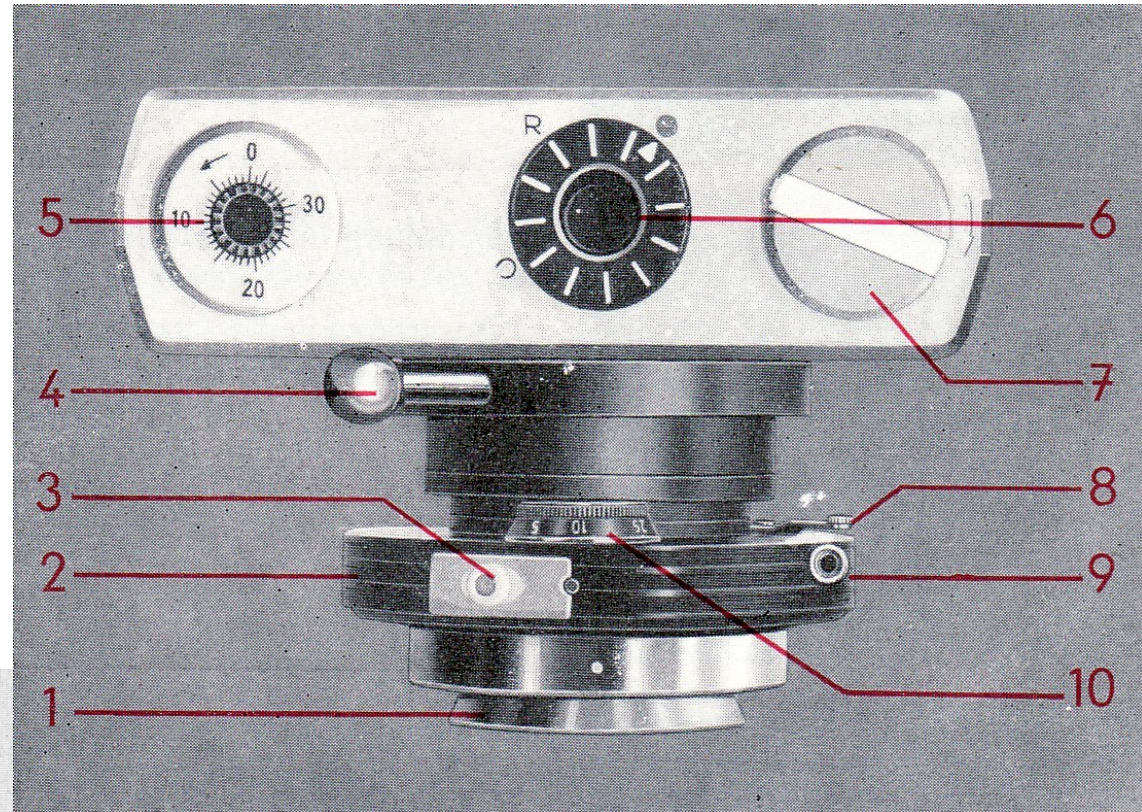


Bild 23

„MF“-Grundkörper für Belichtungszeitmessung

Kamerový nástavec pro malý formát na kinofilm (24 x 36 mm)

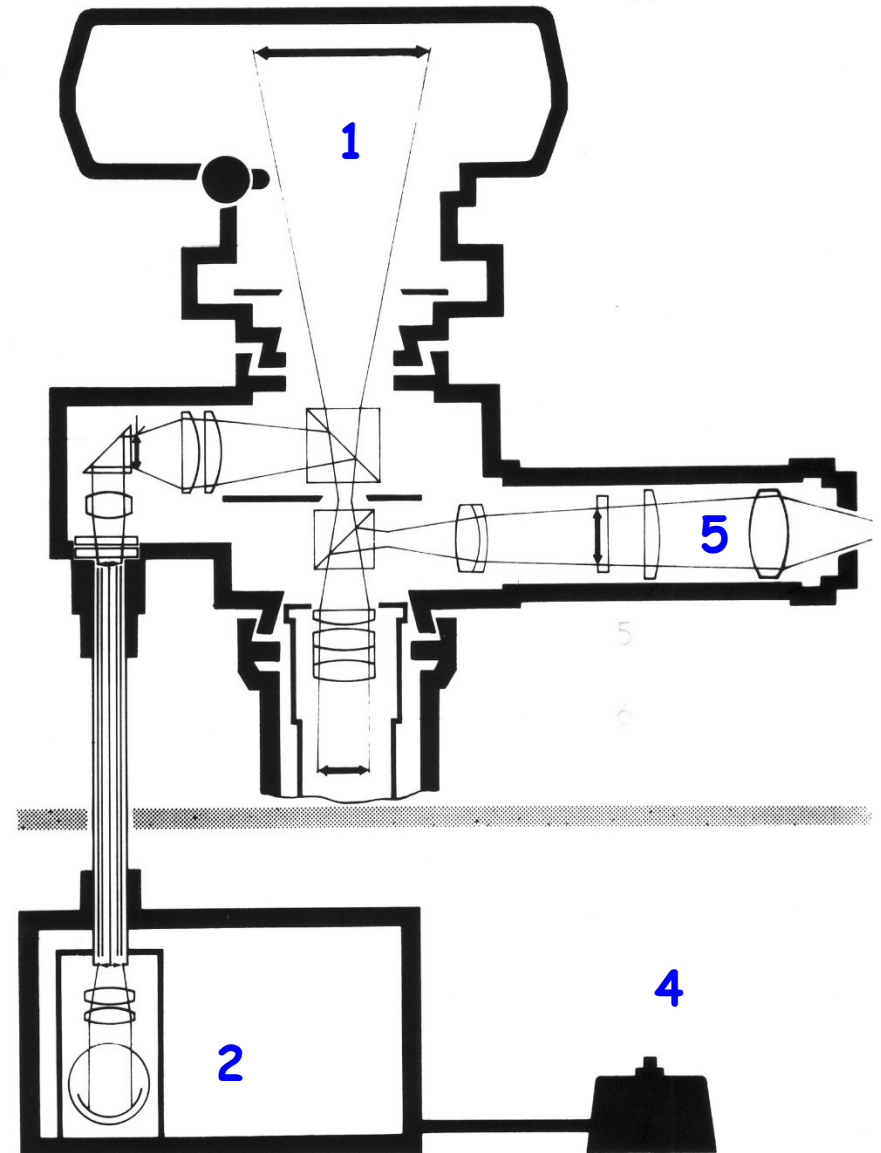
- 1 - kónické ukončení tubusu
- 4 - ruční posun filmu
- 5 - počítadlo snímků
- 6 - ovládání otvírání kamery
- 7 - zpětné přetáčení filmu
- 8 - uzávěrka
- 9 - připojení drátěné spoušti
- 10- nastavení doby expozice



postranní okulár

Automatická mikrofotografie Zeiss

- 1 - kamerový nástavec na kinofilm
- 2 - hodnocení intenzity osvětlení
- 3 - možnost volby hustoty filmu
- 4 - automatická expozice
- 5 - korekce optické vady postranním okulárem





Automatická mikrofotografická sestava Olympus

automatické
navíjení i převíjení
filmu

nastavení citlivosti
filmu

měření intenzity
světla v různě velké
ploše pole

automatická
expozice

možnost korekce
optické vady

Digitální mikrofotografie

Digitální mikrofotografie

- CCD/CMOS/... kamery - obvykle součástí dražších mikroskopických systémů („na klíč“)
- digitální fotoaparáty (CMOS snímače)
 - Olympus
 - Nikon
 - Canon
- digitální zrcadlovky - SONY

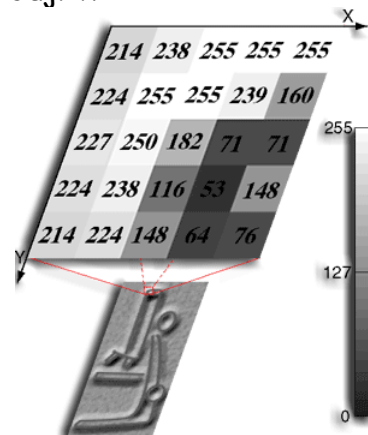
Digitální obraz

- **Analogový obraz** je "kontinuální" prezentací okolního světa. Není u něj jednoznačně dáno množství informace kterou obsahuje. Rozlišení detailů, barevných odstínů, nebo tvaru je závislé na způsobu pohledu nebo zvětšení. Představuje relativně neomezený soubor informací. (kontinuální = nekonečně velké množství přechodů mezi odstíny, detaily...)
- **Digitální obraz** je obrazová informace zapsaná ve formě čísel uspořádaných podle určitého systému (formátu) do počítačového souboru. Protože je tento soubor konečný (má definovanou velikost a obsah dat) rozlišíme v něm pouze informaci v těchto datech obsaženou.
 - *Vektorová grafika* - obraz je definován matematickou funkcí, použití např. pro definici obrysů písma v PC, čárovou grafiku kreslicích programů
 - *Rastrová grafika* - Obraz je ve formě matice, ve které jsou jednotlivým **obrazovým bodům (pixelům)** přiřazeny hodnoty jasu (brightness). Každý obrazový bod tedy určují tři čísla: **souřadnice X, Y a úroveň jasu**).

Rozsah informace uložené v digitálním obraze určují dva základní parametry:

prostorové rozlišení (spatial resolution) - počet obrazových bodů ze kterých je obraz složený udává jak jemné detaily obrazu můžeme rozlišit.

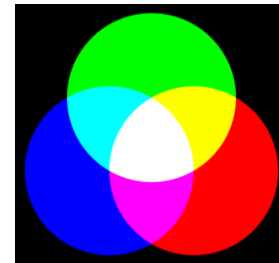
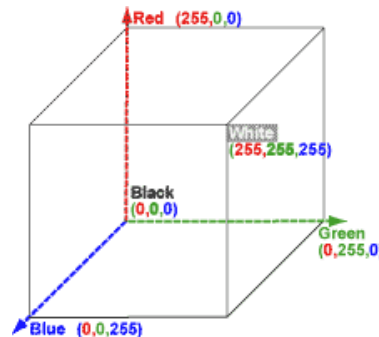
bitová hloubka (bit depth) - udává počet bitů kódujících úroveň jasu pro jeden pixel. **Bit** je nejmenší datová jednotka, která může nabývat pouze dvou hodnot 1 nebo 0 (černá nebo bílá; vypnuto zapnuto). Využití vyššího počtu bitů pro kódování informace jednoho pixelu umožní rozlišení většího množství úrovní, ale zároveň nám začne narůstat objem datového souboru (viz. tabulka)



co to je digitální fotografie...

- soubor binárních dat (1 a 0)
- **pixel (picture element)** - nejmenší (bezrozměrná) jednotka digitální rastrové (bitmapové) grafiky. Představuje jeden svítící bod na monitoru, resp. jeden bod obrázku, charakterizovaný jasem a barvou, např. ve formátu RGB či CMYK.

- **RGB** - aditivní míchání barev (monitor)



- **CMYK** - subtraktivní míchání barev (barevné složky odpovídají míchání inkoustu, vhodné pro tisk)



Formáty digitální fotografie...

- nekomprimované soubory: RAW, BMP (bitmap), TIF
- komprimované bezztrátově: varianty TIF, GIF, PSP, PSD, JPG2000
 - vždy z dat zrekonstruuji 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

Zpracování digitálního obrazu

- **úpravy snímků**
 - úprava kontrastu, jasu
 - balance barev
 - ostření
 - odstranění šumu
 - vkládání měřítká, popisů
- **automatická analýza obrazu** - různé programy pro zhotovení snímků a jejich úpravu, vyhodnocení, archivování apod.
- Image Tool, ImageJ, Lucia (Laboratory Universal Computer Image Analysis), analySIS[®], NIS-Elements, cell[^]P, QuickPHOTO Micro, aj.

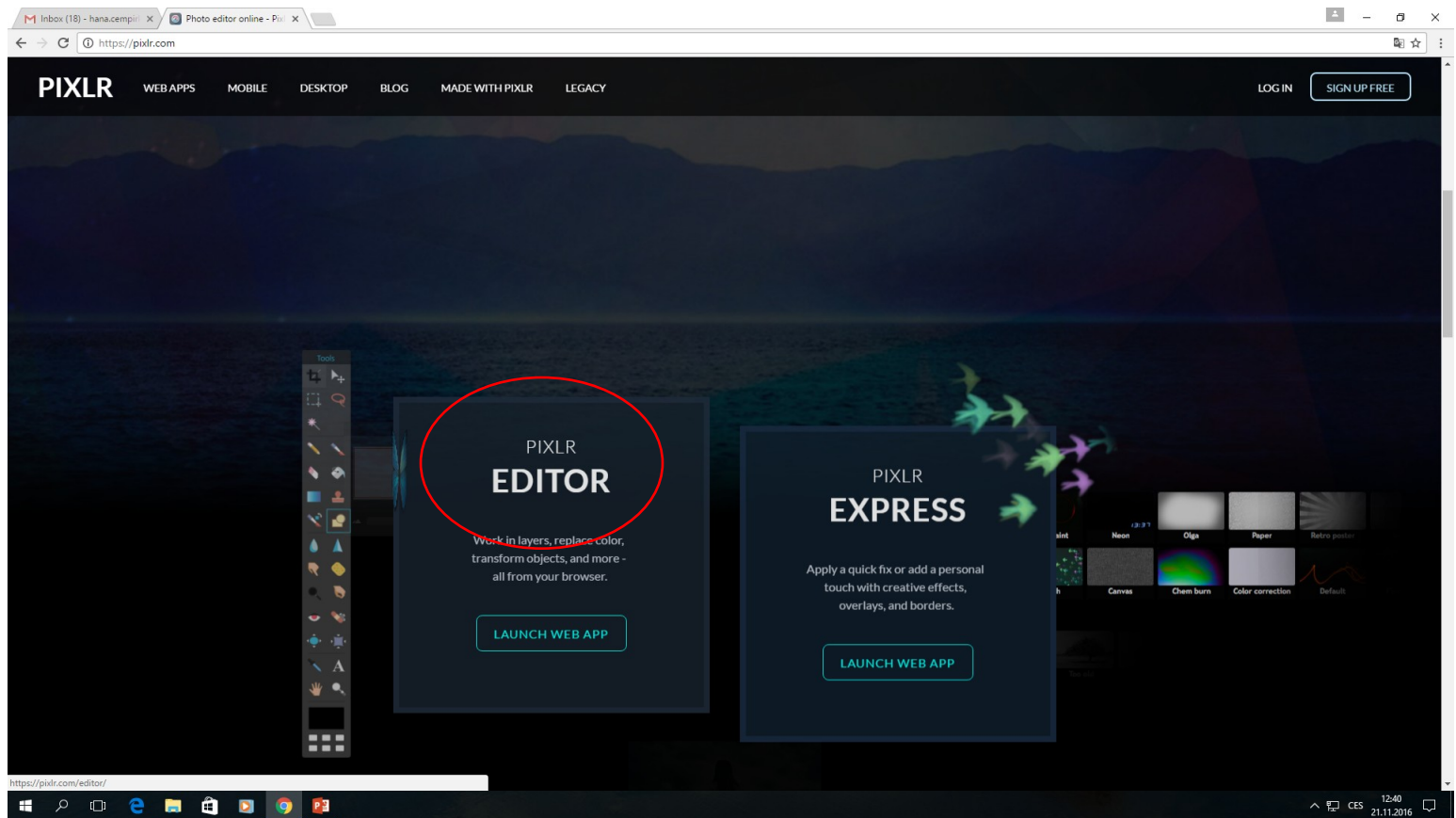
Úpravy obrázků

- **Grafický SW**
 - Adobe Photoshop, Corel PaintShop Pro, Paint.NET, GIMP...
 - vrstvy, úpravy histogramu, retušovací fce, speciální fce na úpravy fotek (red eye, fading...)
 - On-line editory: polarr.co, pixlr.com
- **Prohlížeče a katalogizace**
 - ACDSee, Zoner, IrfanView, Google Picasa
- **Speciální SW**
 - panoramata (PTGui, Photovista Panorama, Panorama Factory, Hugin, Panorama Maker,...)
 - HDR (High Dynamic Range) images (Corel PaintShop Pro, Photomatix)
 - noise reduction (Neat Image)

Základy zpracování a analýzy obrazu

- interaktivní vs. automatizovaná měření
+ skládání X0-X00 fotografií s různou hloubkou ostrosti
- některé jednoduché úlohy: stačí grafický software (Photoshop, Paintshop Pro, GIMP...)
- Image J (open source)
- Lucia: <http://www.lim.cz/>

Úprava fotek a vložení měřítka pixlr.com



Pixlr.com

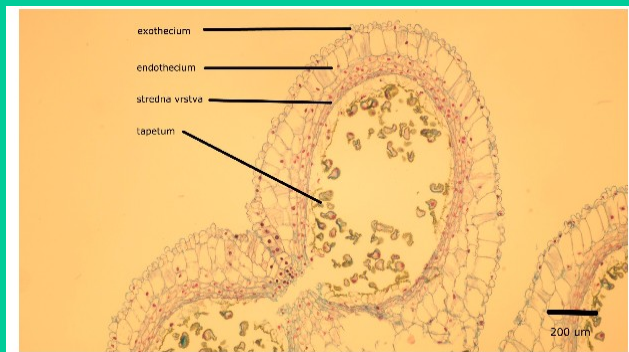
- Otevřete obrázek z počítače
- Horní lišta: rozbalte „Seřízení“ a pomocí podúrovní (Jas a kontrast, Tón a sytost a další...) upravte obrázek (pohrajte si s „šoupátky“)

Vložení měřítka

- Horní lišta: Vrstva – Otevřít obrázek jako vrstvu (otevřete obrázek mikroobjektivového měřítka – pozor na správný objektiv)
- Horní lišta: Vrstva – Nová vrstva (v ní budete kreslit)
- Pomocí Kreslicího nástroje nakreslete úsečku vhodné délky (Nástroj čára, Velikost 20)
- Vypněte (nebo smažte) vrstvu, kde je fotka měřítka (Vrstva 1)
- Přesuňte úsečku měřítka na požadované místo (v pravo dole nebo nahore)
- Buď dejte sloučit vrstvy nebo uložte a případně ořežte obrázek (Ořezávací nástroj)
- V obrázku pomocí Kreslicího nástroje a Textového pole vytvořte popisky (nejlépe zkratky nebo čísla – jejich vysvětlení bude v popisu obrázku)
- Nezapomeňte v popisu obrázku v protokolu uvést, co znázorňuje úsečka (tj. kolik mikrometrů)... Obj. měřítko je velké 1 mm a rozděleno na 100 dílků.

Protokol Příprava trvalého preparátu

- Návody v ISu, případně upravit dle skutečnosti
- Výsledky: Fotografie s popisky a měřítkem + legenda obrázku
- Závěr: Zhodnocení metod řezání a barvení



Řez prašníkem lilie, tloušťka řezu 10 μm , barveno alciánovou modří a pravou jadernou červení.

Doplnění k protokolům:

- Do Výsledků stačí jedna fotografie, ale můžete použít víc, pokud chcete třeba dát detail...
- Popište:
 - Prašník (doporučuji zvětšení 10x10): exodermis, endodermis, mezofyl, tapetum nebo zbytky mezofylu a tapeta *v případě zralého prašníku*, pylová zrna
 - Semeník: vajíčko, vaječné obaly, zárodečný vak, jádro (jádra) (*v zárodečném vaku*), vakuola