Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт космических и информационных технологий
институт
Информационные системы
кафедра

УТВЕРЖДАЮ
Зав. кафедрой ИС
_____ С. А. Виденин
подпись инициалы, фамилия
« ____» _____ 2016 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

09.03.02 Информационные системы и технологии

Разработка системы распознавания параметров биологических клеток дерева

Руководитель _____ П.П. Дьячук
подпись, дата

Выпускник _____ А.Е. Панфилов
подпись, дата

Нормоконтролер _____ Ю. В. Шмагрис
подпись, дата

СОДЕРЖАНИЕ

Введение 5
1 Теоретическая часть 7
1.1 Фильтрация изображения 7
1.2 Сегментация изображения 26
1.3 Расчёт параметров клеток 32
2 Практическая часть 39
2.1 Форма фильтрации 40
2.2 Ядро расчёта параметров клеток 41
2.3 Форма расчёта параметров клеток 44
Заключение 49
Список использованных источников 50

ВВЕДЕНИЕ

Бакалаврская работа посвящена разработке программного обеспечения в области автоматизации процесса расчёта параметров клеток дерева на основе анализа фотографий микроскопа.

Изучением клеток дерева занимается дендрохронология. Дендрохронология – научная дисциплина о методах датирования событий прошлого, природных явлений и изменений климатического состояния экосистемы опирающаяся на исследованиях годичных колец древесины.

По размеру годичных колец можно определить какие воздействия оказывались, как на древесное растение, так и на саму экосистему, будь то тепловое, радиационное, механическое или какое-либо другое воздействие.

Фактически любое внешнее воздействие на дерево приводит к изменению ширины годичного кольца.

Ухудшение условий роста приводит к уменьшению ширины годичного кольца. Наличие общих факторов, которые имеют воздействие на деревья, растущие на одном участке, вызывает синхронное изменение у биологических параметров, что позволяет получать усреднённые для данного участка хронологии ширины годичного кольца с малым содержанием шумов и максимальным извлечением полезной информации.

Извлекая информацию о параметрах клеток дерева можно не только узнать о прошлом, но и спрогнозировать будущее.

Что бы более детально оценить изменения за год, производят фото среза дерева под микроскопом, а затем вручную рассчитывают параметры клеток на срезе. Рассматриваемыми параметрами являются ширина и площадь люмена клетки внутри интересующего годичного кольца, а также ширина стенок между клетками. Существующие программные средства, позволяющие проводить расчеты в автоматическом режиме, биологами как правило не используются. Это связано с различными причинами, одной из

основных является качество фотоснимка, не позволяющее отделить структурные элементы друг от друга.

Актуальность данной работы заключается в реализации алгоритмов улучшения качества фотоснимков при помощи фильтрационных методов, а также в автоматизации подсчёта параметров клеток на отфильтрованных изображениях.

Цель работы посвящена созданию программного обеспечения по распознаванию структурных элементов клеток дерева в годичном кольце и расчёту их параметров.

Для осуществления поставленной цели решаются следующие задачи:

1. Изучение и реализация методов фильтрации улучшающих качество фотоснимков;
2. Изучение и выбор наилучшего метода сегментация изображения для фотоснимков клеток дерева;
3. Разработка автоматизированной системы распознавания и расчёта параметров клеток дерева на основе методов фильтрации и сегментации.

1 Теоретическая часть

1.1 Фильтрация изображения

Для реализации автоматического подсчета параметров клеток дерева, необходимо, чтобы качество изображения было приведено к уровню, при котором программный алгоритм сможет распознавать люмен клетки от её стенки. Этого можно достичь, исследуя и применяя различные методы фильтрации изображения.

На полученных фотоснимках всегда имеется шум, различного вида визуальные помехи, величина которого зависит от качества объектива снимаемого оборудования, чистоты пространства между объективом и объектом сьёмок, а также способа передачи полученных данных и их оцифровки.

Различные методы фильтрации изображения позволяет снизить степень шума или вовсе его убрать, выделить резкие перепады яркости, а также улучшить визуальное восприятие изображения человеческим глазом.

Фильтры можно разделить на несколько групп в зависимости от устройства алгоритмов фильтрации: пространственные, морфологические, частотные и составные.

Пространственные фильтры характеризуются применением специального оператора в виде прямоугольной матрицы, называемой маской, ядром, окном или матрицей свёрстки.

Общий алгоритм пространственной фильтрации:

1. Выбирается центральная точка окрестности, которая будет началом координат для маски;
2. Значения пикселей, находящиеся в области под маской, расположенной в начале координат, используются в операторе;
3. Результат применённого оператора, называемый “отклик”, записывается в центральную точку.

4. Повторение для каждого пикселя изображения.

Более конкретной разновидностью данного типа фильтрации является линейная и нелинейная пространственная фильтрация.

Линейные пространственные фильтры используют линейный оператор, применяемый на входном изображении. Их достоинством является простота в описании математических операций и широкий спектр полезного действия.

Отликом данного оператора является сумма произведения значений точек изображений в зоне покрытия маски с коэффициентом соответствующего элемента маски.

Общая формула отклика линейного фильтра, предназначенного для фильтрации изображения f имеет вид:

$$g(x, y) = \sum_{s=-a}^{a} \sum_{t=-b}^{b} w(s, t) f(x+s, y+t) \quad (1)$$

где g(x, y) – результирующий пиксель изображения в точке (x, y);

a – равен (m – 1) / 2;

m – ширина матрицы свёрстки;

b – равен (n – 1) / 2;

n – высота матрицы свёрстки;

w(s, t) – элемент матрицы свёрстки размера m x n;

f(x, y) – начальный пиксель изображения в точке (x, y).

Данная формула более наглядно представлена на рисунке 1.1.

Одной из разновидностью данного типа являются конволюционные фильтры. Их отлик равен среднеарифметическому числу от отлика линейных фильтров.

Наиболее известные фильтры данной категории можно разделить на следующие классы в зависимости от назначения:

1. Выделение границ;
2. Размытие изображения;
3. Улучшение чёткости.

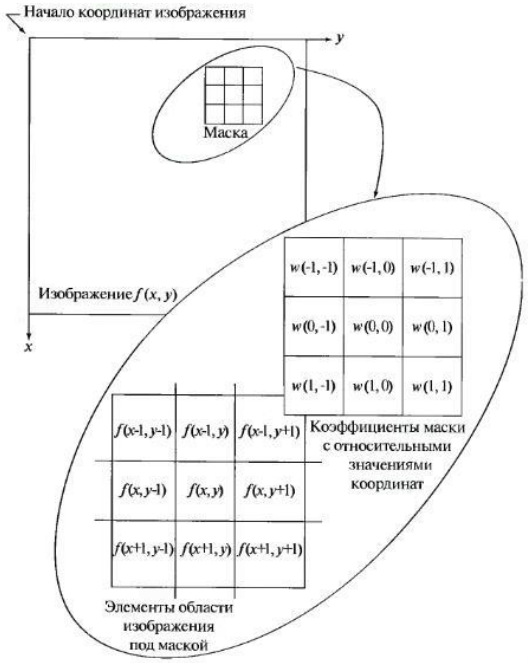

Рисунок 1.1 – Покрытие матрицей свёрстки участка изображения

Операторы выделения границ выделяют резкие перепады яркостей или других неоднородностей на изображении.

Наиболее известным оператором выделения границ является оператор Собеля, который использует две матрицы свёрстки размером 3x3 на изображении A. Первая матрица Gx для выделения горизонтальных границ, Вторая Gy для вертикальный:

$$\mathbf{G}_x = \begin{bmatrix} -1 & 0 & +1 \\ -2 & 0 & +2 \\ -1 & 0 & +1 \end{bmatrix} * \mathbf{A} \tag{2}$$

$$\mathbf{G}_y = \begin{bmatrix} -1 & -2 & -1 \\ 0 & 0 & 0 \\ +1 & +2 & +1 \end{bmatrix} * \mathbf{A} \tag{3}$$

Операторы выделения границ Собеля, Щарра, Превитта и Робертса имеют общий алгоритм, который рассмотрен далее, но разные маски.

После применения масок вычисляется градиент G общего результата, который присваивается значению пикселя, являющимся центральным для матрицы свёрстки:

$$\mathbf{G} = \sqrt{\mathbf{G}_x{}^2 + \mathbf{G}_y{}^2} \tag{4}$$

Так же можно вычислить направление градиента:

$$\mathbf{\Theta} = \arctan\left(\frac{\mathbf{G}_y}{\mathbf{G}_x}\right) \tag{5}$$

Угол $\mathbf{\Theta}$ равен 0 у вертикальной границы, если слева тёмная область.

Результат оператора Собеля представлен на рисунке 1.3, исходное изображение которого отображено на рисунке 1.2.

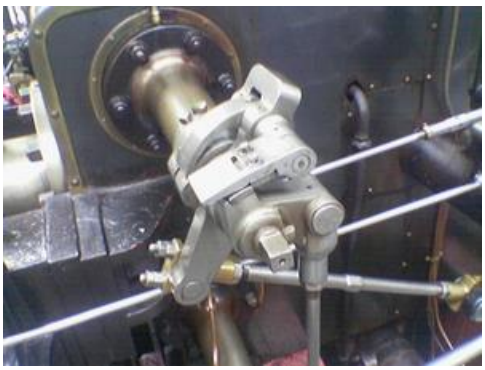

Рисунок 1.2 - Исходное изображение

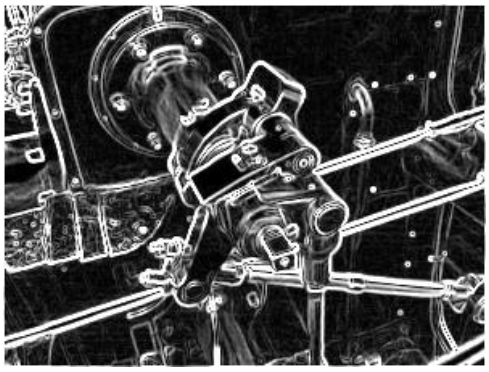

Рисунок 1.3 - Результат применения оператора Собеля

Минусом оператора Собеля является, то что он не реализует полную вращательную симметрию. Оператор Щарра позволил решить данную проблему.

Маски оператора Щарра применяемые к изображению A:

$$\mathbf{G}_x = \begin{bmatrix} +3 & 0 & -3 \\ +10 & 0 & -10 \\ +3 & 0 & -3 \end{bmatrix} * \mathbf{A} \tag{6}$$

$$\mathbf{G}_y = \begin{bmatrix} +3 & +10 & +3 \\ 0 & 0 & 0 \\ -3 & -10 & -3 \end{bmatrix} * \mathbf{A} \tag{7}$$

Результат представленного оператора изображён на рисунке 1.4, исходное изображение описано на рисунке 1.2.

Рисунок 1.4 – Результат работы оператора Щарра

В маске оператора Собеля и Щарра серединные пиксели имеют больший вес, чем крайние пиксели. С равными весовыми коэффициентами существует оператор Превитта, его матрицы свёрстки представлены в формуле (8) и (9).

$$\mathbf{G}_x = \begin{bmatrix} -1 & 0 & +1 \\ -1 & 0 & +1 \\ -1 & 0 & +1 \end{bmatrix} * \mathbf{A} \quad (8)$$

$$\mathbf{G}_y = \begin{bmatrix} -1 & -1 & -1 \\ 0 & 0 & 0 \\ +1 & +1 & +1 \end{bmatrix} * \mathbf{A} \quad (9)$$

Весовые коэффициенты данных матриц равномерно распределяют перепад значений на изображении.

Результат фильтрации оператором Превитта представлен на рисунке 1.5, исходное изображение иллюстрируется на рисунке 1.2.

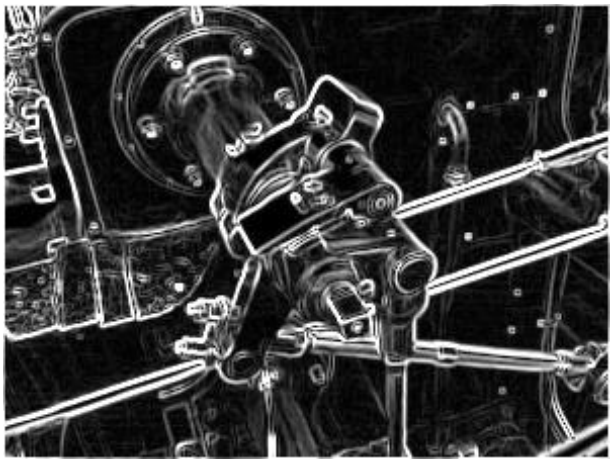

Рисунок 1.5 – Результат работы оператора Превитта

Перекрёстный оператор Робертса отличается от предыдущих трёх рассмотренных (Собеля, Щарра, Превитта) не только числовыми значениями матриц свёрстки применяемых к изображению A, но и их размером, а также направлением сравнения смежных элементов – здесь оно диагональное. В данном операторе размер ядра 2x2:

$$\mathbf{G}_x = \begin{bmatrix} -1 & 0 \\ 0 & +1 \end{bmatrix} * \mathbf{A} \quad (10)$$

$$\mathbf{G}_y = \begin{bmatrix} 0 & -1 \\ +1 & 0 \end{bmatrix} * \mathbf{A} \tag{11}$$

Оператор имеет более высокую скорость расчёт по сравнению с предыдущими операторами, за счёт уменьшенной матрицы ядра, но меньшее качество из-за чувствительности к шумам.

Результат работы выше изложенного оператора показан на рисунке 1.6, исходное изображение хранится на рисунке 1.2.

Рисунок 1.6 – Результат работы оператора Робертса

Рассмотренные фильтры выделения границ основываются на применение масок к значениям по x и по y в отдельности, но также имеется и способ применения единой маски, дающей тот же результат.

Фильтр верхних частот Лапласса имеет тоже назначение что и фильтры границ, но пользуется одной матрицей свёрстки различных размеров и позволяет определять перепады яркостей разной частоты.

Маска, учитывающая горизонтальные и вертикальные перепады:

$$G = \begin{bmatrix} 0 & -1 & 0 \\ -1 & 4 & -1 \\ 0 & -1 & 0 \end{bmatrix} * A \tag{12}$$

Маска, по всем направлениям:

$$G = \begin{bmatrix} -1 & -1 & -1 \\ -1 & 8 & -1 \\ -1 & -1 & -1 \end{bmatrix} * A \quad (13)$$

Маска размера 5x5, выделяющая более большие области перепадов:

$$G = \begin{bmatrix} 0 & 0 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & -1 & -2 & -1 & 0 \\ -1 & -2 & 16 & -2 & -1 \\ 0 & -1 & -2 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & -1 & 0 & 0 \end{bmatrix} * A \quad (14)$$

Полученные изображения в ходе фильтрации данными масками представлены на рисунке 1.7, 1.8 и 1.9 в соответствии с применением к исходному изображению на рисунке 1.2 формул (12), (13) и (14).

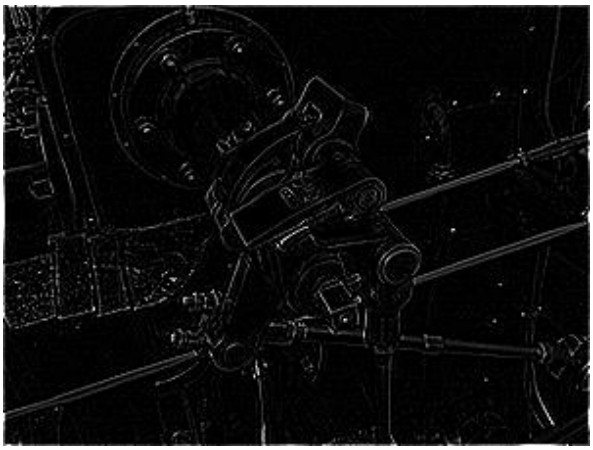

Рисунок 1.7 – Результат работы высокочастотного фильтра Лапласса с маской представленной в формуле (12)

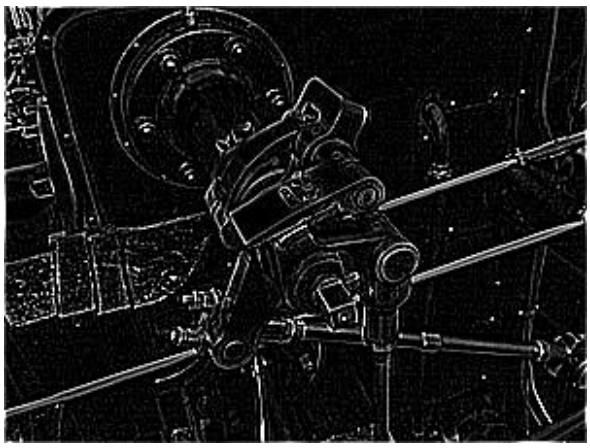

Рисунок 1.8 – Результат работы высокочастотного фильтра Лапласса с маской представленной в формуле (13)

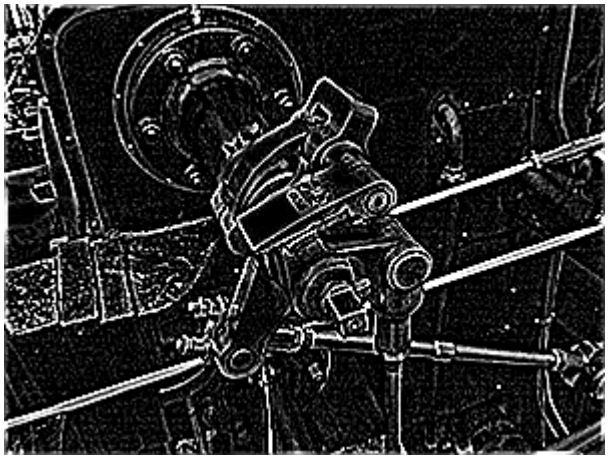

Рисунок 1.9 – Результат работы высокочастотного фильтра Лапласса с маской, представленной в формуле (14)

Вторым типом пространственных фильтров являются фильтры размытия. Они используются для избавления от шумов, удаления зубчатых поверхностей. Чем больше размер маски ядра фильтра, тем больше размытие.

Одним из представителей данного вида являются фильтры с масками, составленными по нормальному распределению (Гауссовскому закону). Их размер может быть любым.

Ниже данный фильтр представлен размером 5x5, применяемый к исходному изображению A.

$$G=\begin{bmatrix} 0{,}000789 & 0{,}006581 & 0{,}013347 & 0{,}006581 & 0{,}000789 \\ 0{,}006581 & 0{,}054901 & 0{,}111345 & 0{,}054901 & 0{,}006581 \\ 0{,}013347 & 0{,}111345 & 0{,}225821 & 0{,}111345 & 0{,}013347 \\ 0{,}006581 & 0{,}054901 & 0{,}111345 & 0{,}054901 & 0{,}006581 \\ 0{,}000789 & 0{,}006581 & 0{,}013347 & 0{,}006581 & 0{,}000789 \end{bmatrix} * A \quad (15)$$

Ядро Гаусса обладает двумя свойствами:

1. Сглаживание малой матрицей свёрстки несколько раз равно сглаживанию большим ядром.

2. Фильтрация 2 раза с σ (стандартное отклонение распределения Гаусса), даёт тот же результат, что и свёрстка с фильтром радиуса $\sigma\sqrt{2}$.

Для подсчёта значений маски используется следующая формула:

$$G(r) = \frac{1}{(2\pi\sigma^2)^{N/2}} e^{-r^2/(2\sigma^2)} \quad (16)$$

где r – радиус размытия;

σ – стандартное отклонение распределения Гаусса;

N – количество измерений.

Результат данного размытия представлен на рисунке 1.10.

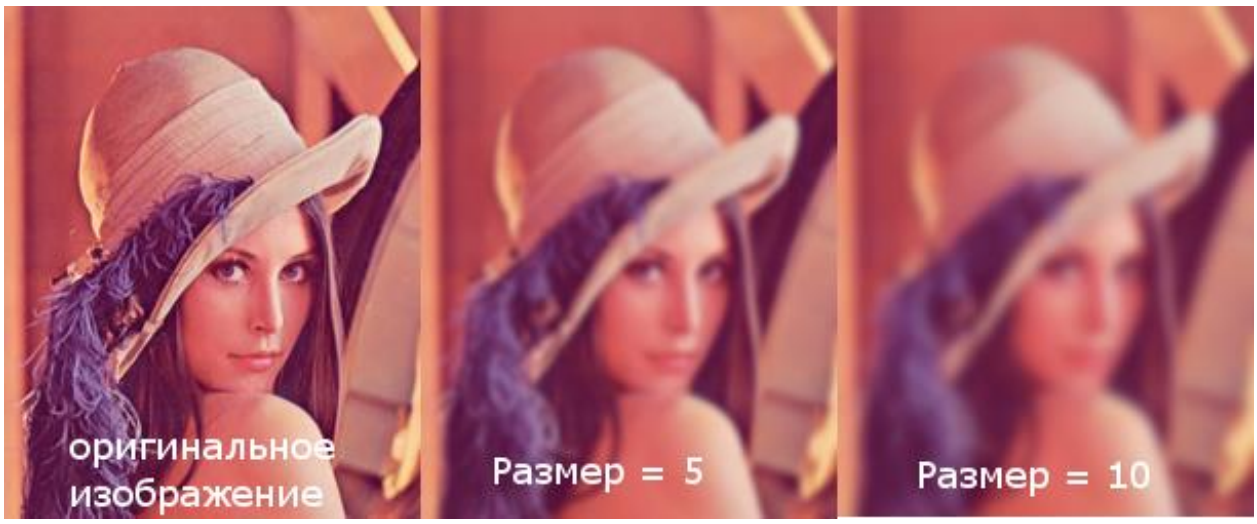

Рисунок 1.10 – Результат работы маски, составленной по Гауссовскому закону

Конволюционным типом данного фильтра является фильтр, чья маска приближена к первой производной Гауссианы (σ = 1.4). Размер маски 5x5:

$$\mathbf{B} = \frac{1}{159}\begin{bmatrix} 2 & 4 & 5 & 4 & 2 \\ 4 & 9 & 12 & 9 & 4 \\ 5 & 12 & 15 & 12 & 5 \\ 4 & 9 & 12 & 9 & 4 \\ 2 & 4 & 5 & 4 & 2 \end{bmatrix} * \mathbf{A}. \tag{17}$$

Результат работы представленного фильтра отображён на рисунке 1.11.

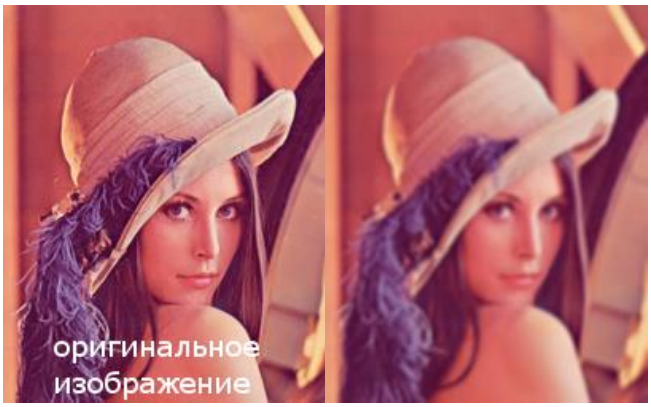

Рисунок 1.11 – Справа изображён результат работы фильтра, приближённого к первой производной гауссиана

Третьим типом пространственных фильтров являются фильтры увеличения чёткости. Полезность данных фильтров заключается в более наглядном отображении мелких деталей, расфокусированных и размытых областей. А также в увеличении перепада яркости, что позволяет лучше разграничивать объекты на изображении.

Одним из представителей данного типа фильтров являются составные маски Лапласиана. На рисунках 1.12 и 1.13 представлены матрицы свёрстки, составленные по дискретному оператору Лапласиана.

0	-1	0
-1	5	-1
0	-1	0

Рисунок 1.12 – Составная матрица свёрстки Лапласиана

-1	-1	-1
-1	9	-1
-1	-1	-1

Рисунок 1.13 – Составная матрица свёрстки Лапласиана, учитывающая диагональные элементы

Работу данных фильтров можно увидеть на рисунке 1.14:

Рисунок 1.14 – Слева на право: Исходное изображение, результат первой маски, результат второй

Как можно видеть, вторая маска даёт более резкий результат, но если увеличить число в центре маски, то результат будет более плавным.

Нелинейные пространственные фильтры, подобны линейным в том, что они так же учитывают те значения точек, которые попадают под область покрытия скользящего окна, но алгоритм дальнейшей работы с этими числами уже использует нелинейные преобразования. Примером методов нелинейной фильтрации является медианный фильтр.

Медианный фильтр это эвристический методом преобразования, его алгоритм не является математическим решением строго сформулированной задачи.

Матрица свёрстки обычно представляет собой крест или квадрат и её размер различен в зависимости от поставленной задачи и характеристики обрабатываемого изображения.

Смысл фильтра, как показано на рисунке 1.15, состоит в замене пикселя исходного изображения на медианный элемент среди тех точек изображения, что попали в зону покрытия скользящего окна.

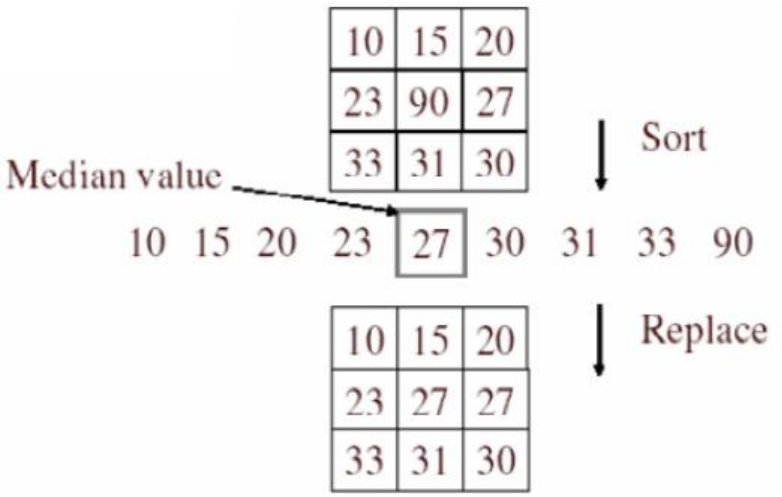

Рисунок 1.15 – Выбор медианного элемента из скользящего окна размером 3x3

Формула медианного фильтра представлена выражением:

$$G_{i,j} = med[E_{i+s,j+t}; (s,t) \in W] \quad (18)$$

где $G_{i,j}$ – элемент матрицы изображения после фильтрации;

med – функция находящая медианный элемент среди выборки;

$E_{i,j}$ – элемент матрицы исходного изображения;

W – скользящее окно.

Медианный фильтр более успешно убирает шумы, чем обычный способ усреднения. Результат данного фильтра можно увидеть на рисунке 1.16.

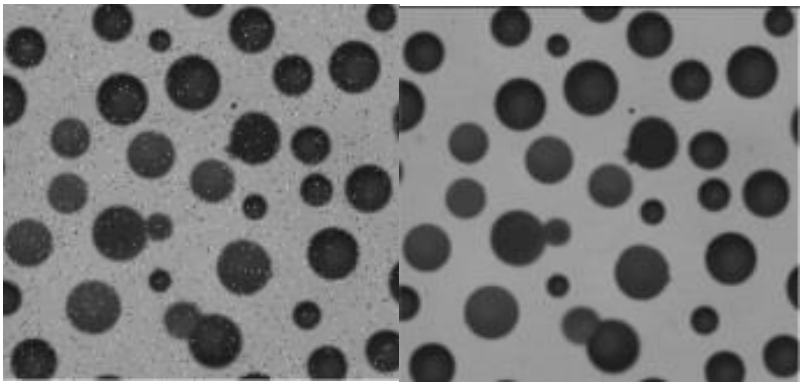

Рисунок 1.16 - Слева исходное изображение, справа – результат работы медианного фильтра

Для работы с бинарными изображениями существует математическая морфология, она занимается описанием, анализом и обработкой геометрических структур. Используется для извлечения свойств (контуров, остовов, выпуклых областей…) бинарного изображения.

Морфологические операторы так же являются пространственными фильтрами и используют маски, называемые в морфологии структурным элементом, которые могут быть любой формы и размера, и которые применяются к каждому пикселю исходного изображения.

Основные морфологические операции:

1. Эрозия (сужение);
2. Дилатация (расширение);
3. Открытие (размыкания);
4. Закрытие (замыкание);
5. Условное наращивание;
6. Выделение границ.

При выполнении операции Эрозии (сужения) для каждого пикселя изображения смотрится совпадение каждого единичного пикселя

структурного элемента с единичным пикселем исходного изображения, если совпадают, то на место рассматриваемого пикселя записывается логическое сложение его значения с центральным элементом маски.

Эрозия изображения A структурным элементом B изображается $A \ominus B$ и записывается в виде:

$$A \ominus B = \{z \in A | B_z \subseteq A\} \quad (19)$$

Результатом применения данной операции будет удаление всех объектов, меньше структурного элемента, уменьшение остальных и как следствие, разрыв объектов, соединённых тонкими линиями, что и можно увидеть на рисунке 1.17.

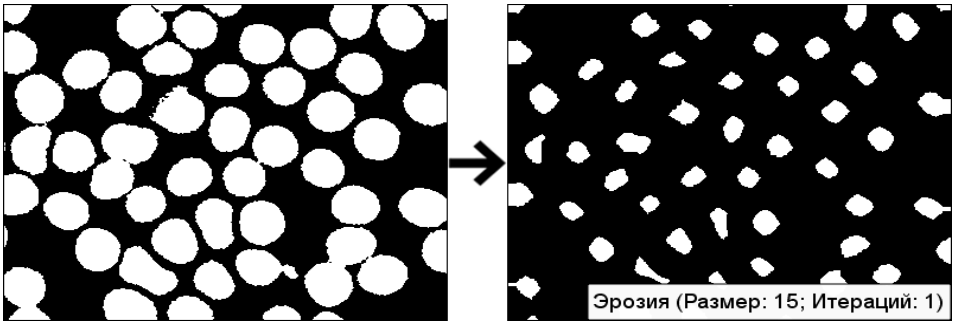

Рисунок 1.17 – Слева исходное изображение, справа результат операции эрозии

Второй морфологической операцией является Дилатация (расширение), при ней для каждого пикселя изображения, проверяется совпадение единичного пикселя структурного элемента с текущим пикселем исходного изображения, если они равны, то ко всем пикселям структурного элемента применяется логическое сложение с соответствующими пикселями бинарного изображения.

Наращивание изображения A структурным элементом B обозначается $A \oplus B$ и задается выражением (20).

$$A \oplus B = \bigcup_{b \in B} A_b \tag{20}$$

Результатом является увеличение размеров всех объектов, что и можно наблюдать на рисунке 1.18.

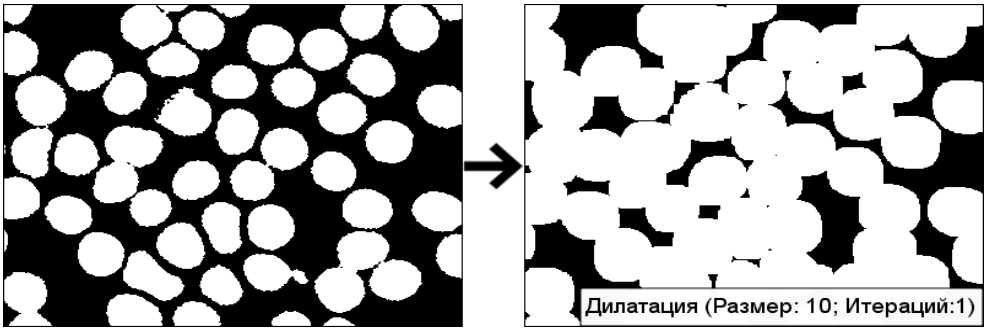

Рисунок 1.18 – Слева исходное изображение, справа результат работы оператора дилатации

Операция эрозии полезна для удаления шумов, но у неё имеется существенный недостаток – она уменьшает все объекты. Что бы устранить появившеюся проблему надо после данной операции применить операцию расширения с тем же структурным элементом. Применённые две операции в указанной последовательности называются операцией Открытия (размыкания).

Открытие изображения A структурным элементом B пишется $A \circ B$ и выражается формулой:

$$A \circ B = (A \ominus B) \oplus B \tag{21}$$

После применения этого оператора, края у объектов становятся более ровными, а также исчезают все линии и другие объекты меньшие чем структурный элемент, что и наблюдается на рисунке 1.19.

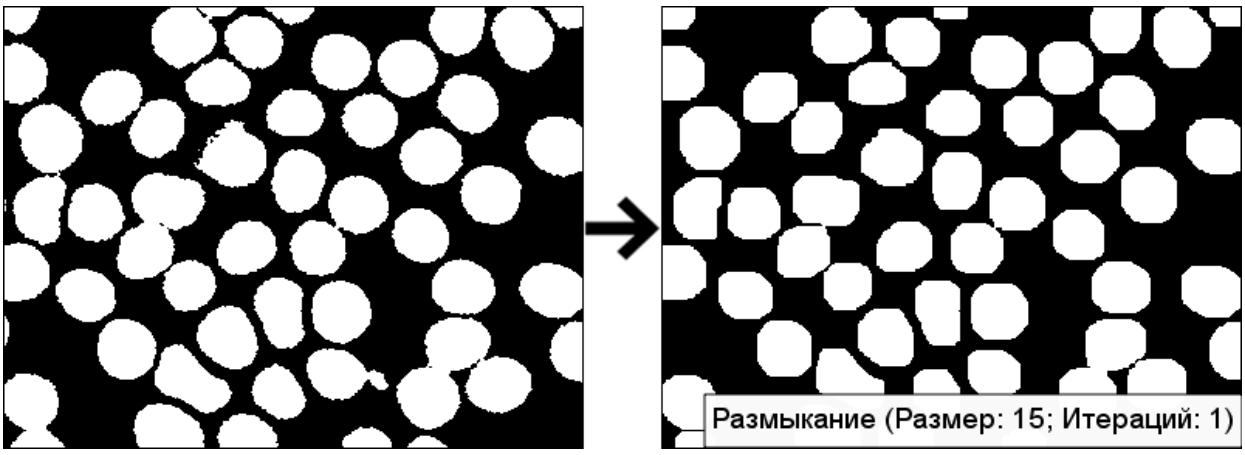

Рисунок 1.19 – Слева исходное изображение, справа результат работы оператора открытия

При применении наращивания закрываются все дыры и щели меньшие чем структурный элемент, но все объекты увеличиваются, чтобы избежать этого, можно сразу после данной операции применить операцию эрозии с тем же структурным элементом. Эти две операции в заданной последовательности называются Закрытием (замыканием).

Закрытие изображения A структурным элементом B представляется как $A \bullet B$ и выражается формулой:

$$A \bullet B = (A \oplus B) \ominus B \tag{22}$$

Результат данного оператора можно увидеть на рисунке 1.20.

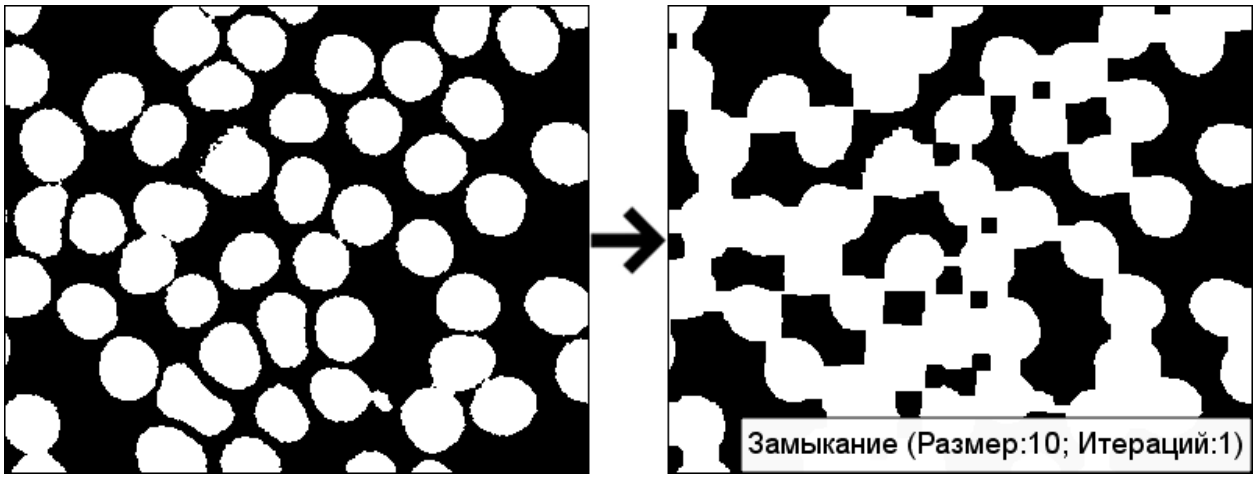

Рисунок 1.20 – Слева исходное изображение, справа результат оператора закрытия

Обычной операцией бинарной морфологии является выделение на изображении компонентов, у которых форма и размер удовлетворяют заданным условиям. В таких операциях структурным элементом удаляются все объекты, не подходящие под условия и оставляются единичные пиксели на местах объектов, удовлетворяющих ограничения. Что бы восстановить компоненты единичные пиксели которых остались на изображении, была создана операция условного наращивания.

Все оставшиеся единичные пиксели циклически наращиваются структурным элементом S. Пояснения представлены на рисунках 1.21, 1.22, 1.23 и 1.24. На рисунке 1.23 представлен результат применения вертикального структурного элемента V высотой в 3 пикселя, который можно увидеть на рисунке 1.21, для эрозии изображения показанного на рисунке 1.22. Два элемента подходящих под условие структурного элемента V, условно наращиваются структурным элементом D относительно исходного бинарного изображения B. Результатом данного наращивания является полностью восстановленные 2 компонента, что и можно наблюдать на рисунке 1.24.

Рисунок 1.21 – Структурные элементы V и D, соответственно слева на право

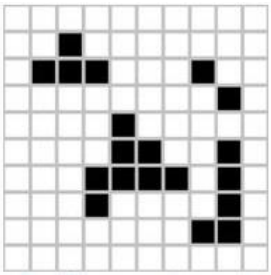

Рисунок 1.22 – Исходное изображение B

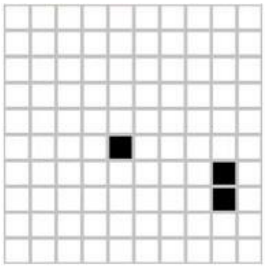

Рисунок 1.23 – Эрозия изображения B структурным элементом V

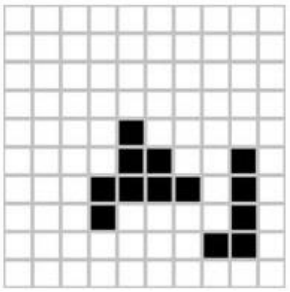

Рисунок 1.24 – Условное наращивание изображения структурным элементом D

Для выделения границ на бинарном изображении, можно так же использовать математическую морфологию. Границы очень важны для описания свойств объекта. Что бы выделить их необходимо применить операцию эрозии структурным элементом, содержащий все соседние элементы. Тем самым мы удалим все граничные элементы. Применяем операцию разности между исходным изображением и полученным, в результате создаётся изображение, на котором остаются только граничные элементы компонентов.

Наглядно увидеть данный процесс можно на рисунках 1.25, 1.26, 1.27 и 1.28.

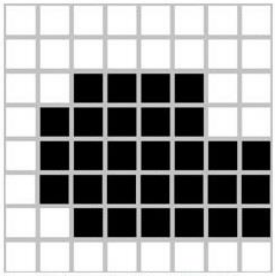

Рисунок 1.25 – Исходное изображение

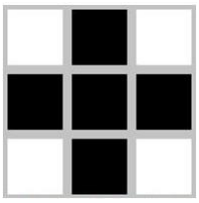

Рисунок 1.26 – Структурный элемент

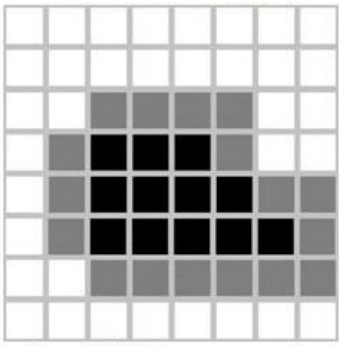

Рисунок 1.27 – Результат эрозии исходного изображения

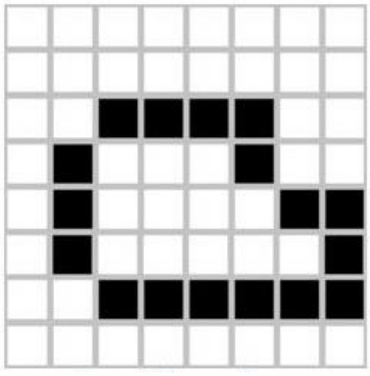

Рисунок 1.28 – Результат применения операции выделения границ

1.2 Сегментация изображения

Для распознавания параметров клеток дерева необходимо чётко разграничивать люмен клетки от её стенки. Для решения поставленной задачи необходимо прибегнуть к сегментации изображения.

Сегментация – это разбиение чего-либо на сегменты – части целого, которые отличаются друг от друга по определённому признаку. Если рассматривать изображение, то с помощью сегментации обычно разделяют фон от объектов, либо разные объекты друг от друга.

В зависимости от стоящей задачи, выбираются конкретные признаки, по которым сегментируется изображение. Нет универсального алгоритма, который подходил бы для всех типов задач и изображений. Каждый метод обладает своими достоинствами и недостатками.

Цель сегментации состоит в упрощении представления изображения, а также в выделении объектов и их контуров.

Методы сегментации делятся на разные типы:

1 Пороговая;

2 С использованием гистограмм;

3 Кластеризация;

4 Разрастания областей;

5 Разрез графа;

6 Водоразделы.

Сегментация на основе пороговых методов – один из простых и основных способов сегментации. Порог – признак, помогающий разделить пиксели изображения на классы.

Если изображение можно разделить на объекты и фон, то может применяться метод определения порога на основе градиента яркости изображения, состоящий из двух шагов:

1. Определение модуля градиента яркости для каждого пикселя изображения f:

$$G(m, n) = \max\{|Gm(m, n)|, |Gk(m, n)|\} \quad (23)$$

$$Gm(m, n) = f(m + 1, n) – f(m – 1, n) \quad (24)$$

$$Gk(m, n) = f(m, n + 1) – f(m, n - 1) \quad (25)$$

2. Вычисление порога:

$$t = \frac{\sum_{m=0}^{M-1}\sum_{n=0}^{N-1} f(m,n)*G(m,n)}{\sum_{m=0}^{M-1}\sum_{n=0}^{N-1} G(m,n)} \quad (26)$$

Результат представленного метода можно наблюдать на рисунке 1.30, исходное изображении показано на рисунке 1.29.

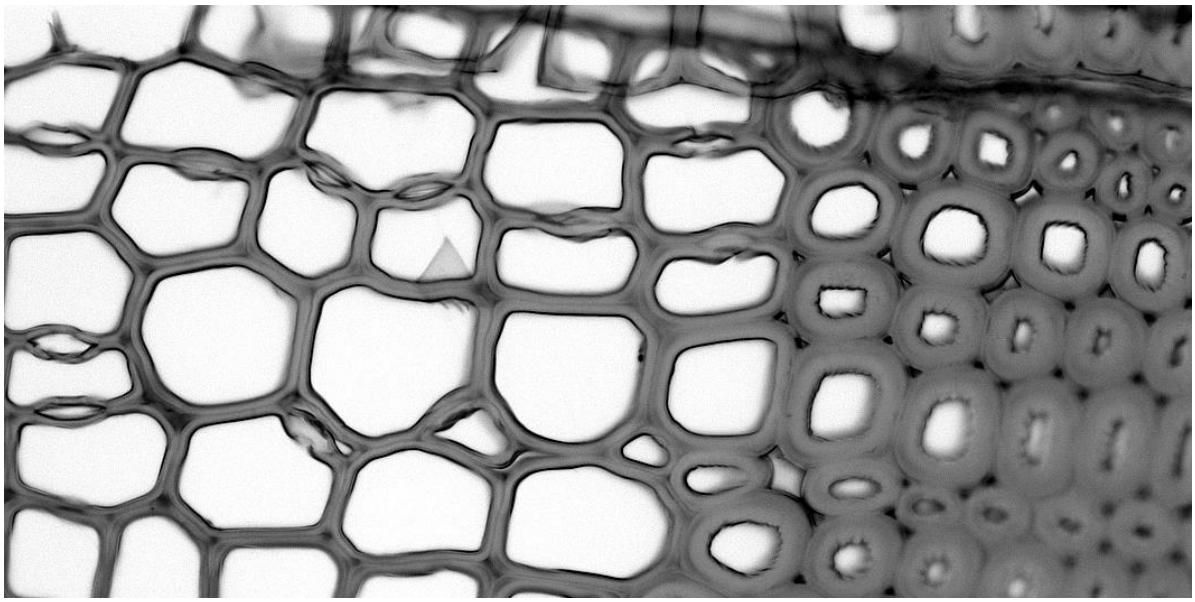

Рисунок 1.29 – Изображение клеток хвойного дерева

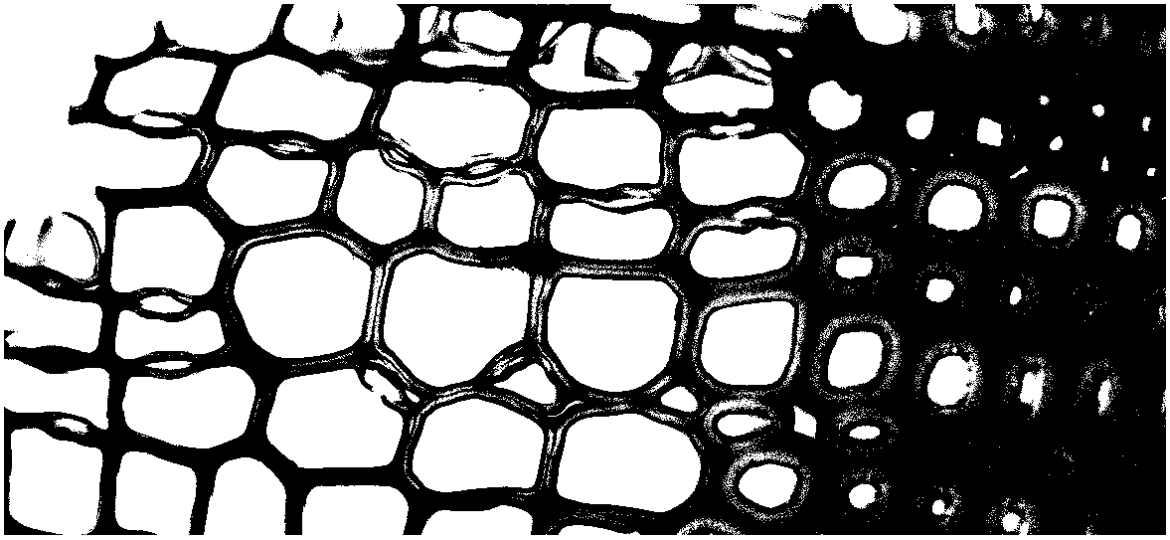

Рисунок 1.30 – Результат бинаризации методом определения градиента яркости

Как видно из рисунка 1.30, стенки клеток хвойного дерева сегментировались неверно (часть стенок причислены к люменам).

Методом сегментации, использующей гистограмму изображения, является метод Оцу. Он определяет пороговое значение по гистограмме изображения, оптимально разделяя два ярко выраженных скопления пикселей. Метод не будет правильно определять порог при наличии более двух таких скоплений.

Алгоритм метода Оцу:

1. По полученному изображению необходимо построить гистограмму – где по оси x представлены интенсивности пикселей, а по y их количество по всему изображению.

2. Вычисляется вероятность появления пикселей по гистограмме:

$$Pi = \frac{\mathrm{H[i]}}{\sum_{\mathrm{i}} \mathrm{H[i]}} \tag{27}$$

где H – гистограмма;

Pi – вероятность появления пикселя с интенсивностью i.

3. Для всех t принадлежащих интенсивностям в гистограмме, вычисляется дисперсия группы пикселей со значением меньшим и равным t и группы точек изображения со значением пикселей больше t. Наилучшим пороговым значением по методу Оцу считается тот, что равен t, при котором взвешенная сумма внутригрупповых дисперсий меньше всего.

Формулы метода, данного метода представлены ниже.

Суммарная вероятность первой группы (пикселы с интенсивностью меньшей или равной t):

$$q1(t) = \sum_{\mathrm{i}=0}^{\mathrm{t}} P_i \tag{28}$$

Суммарная вероятность второй группы (пикселы с вероятностью большей t):

$$q2(t) = \sum_{i=t+1}^{Imax} P_i \quad (29)$$

Среднее значение первой и второй группы обозначаются соответственно:

$$\mu1(t) = \sum_{i=0}^{t} \frac{i*P_i}{q1(t)} \quad (30)$$

$$\mu2(t) = \sum_{i=t+1}^{Imax} \frac{i*P_i}{q2(t)} \quad (31)$$

Дисперсия первой группы вычисляется по следующей формуле:

$$\sigma1^2 = \sum_{i=0}^{t}[i - \mu1\ (t)]^2 * \frac{P_i}{q1(t)} \quad (32)$$

Дисперсия второй группы:

$$\sigma2^2 = \sum_{i=t+1}^{Imax} [i - \mu2\ (t)]^2 * \frac{P_i}{q2(t)} \quad (33)$$

Общая внутригрупповая дисперсия вычисляется следующим образом:

$$\sigma w^2\ (t) = q1\ (t) * \sigma1^2\ (t) + q2\ (t) * \sigma2^2\ (t) \quad (34)$$

Для поиска оптимального порога достаточно перебрать все значения t. Гистограмма исходного изображения на рисунке 1.29 представлена на рисунке 1.31, а результат бинаризации на рисунке 1.32.

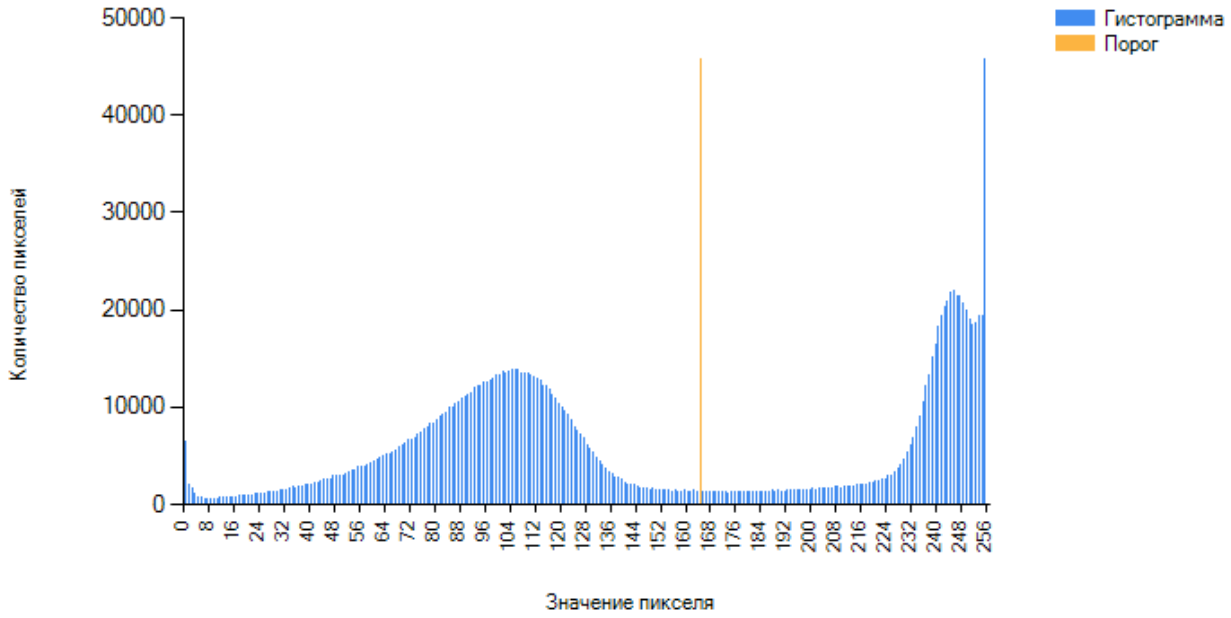

Рисунок 1.31 – Гистограмма изображения на рисунке 1.29

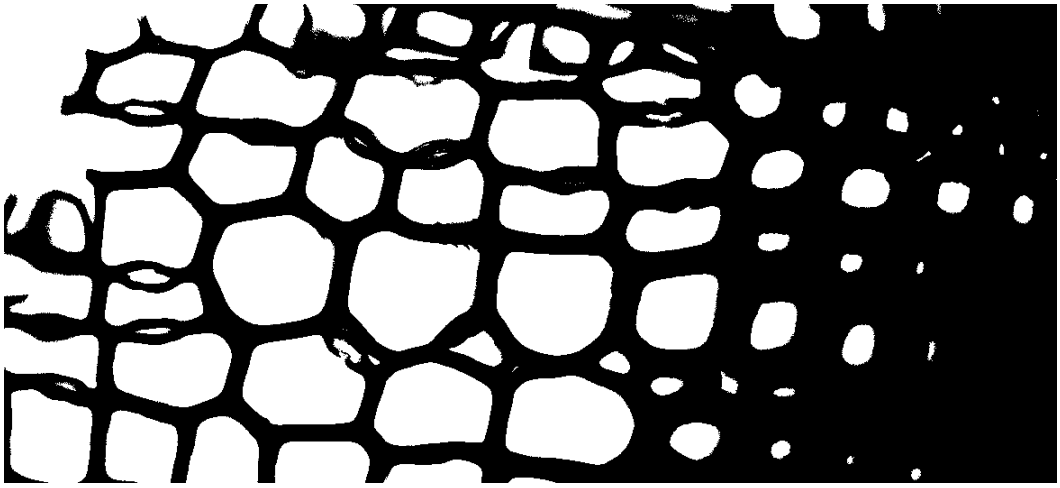

Рисунок 1.32 – Изображение бинаризированное методом Оцу

Результат данного метода оказался весьма положительным: тени внутри клетки были причислены к люмену, что является верным. Так же все стенки однозначно и правильно бинаризованы.

1.3 Расчёт параметров клеток

После сегментации у нас имеются объекты, которые необходимо проверить на принадлежность к соответствующим люменам клеток дерева. И при положительном результате рассчитать параметры найденных объектов.

Основными измеряемыми параметрами являются:

– Радиальный размер люмена (Lu);
– Площадь люмена;
– Радиальный размер клетки (D);
– Тангентальный размер клетки (T);
– Толщина клеточной стенки (W);
– Толщина двойной клеточной стенки (WW);
– Расположение клетки в выделенном ряде.

Данные параметры представлены на рисунке 1.33:

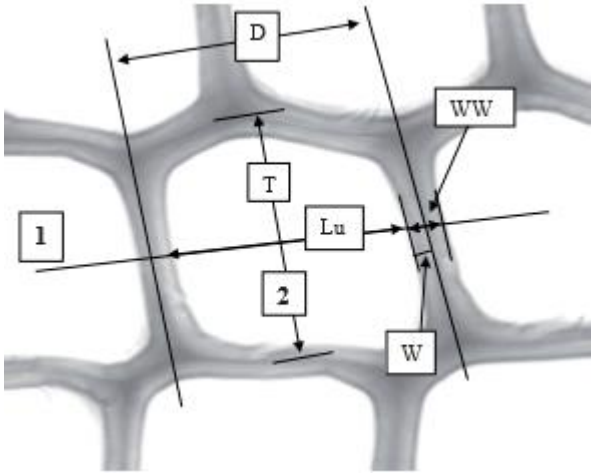

Рисунок 1.33 – Основные структурные параметры клетки дерева

Для корректного использования данных параметров необходимо соблюдать следующие основы:

1. Измерение D и Lu проводятся вдоль радиальной линии 1 (рис. 1.3.1), перпендикулярной клеточным стенкам. Точки пересечения линии с

клеточными стенками должны проходить в средней по высоте части клеточных стенок;

2. W измеряется в средней части клеточных стенок по линии 1. Главное условие – перпендикулярность линии измерения клеточным стенкам;

3. T измеряется вдоль линии 2 (рис. 1.3.1), перпендикулярной линии 1 и делящей её пополам.

Общий порядок расчёта параметров следующий:

1. Все сегменты, являющиеся белыми областями на изображении, считаются люменами. По каждой из них рассчитывается площадь – все пиксели, принадлежащие данному участку изображения.

2. На основе площади, рассчитывается центр массы люмена по следующей формуле:

$$Z = \frac{\sum z_i * m_i}{\sum m_i} \quad (35)$$

где Z – местоположение центра массы по оси z;

z_i – расположение i-ого пикселя, принадлежащего рассматриваемому объекту по оси z;

m – масса i-го пикселя (в нашем случае m = 1).

Формула (35) используется по осям x и y – ширина и высота изображения соответственно.

3. Относительно центра массы проводится горизонтальная линия внутри люмена (выравнивание изображения проводится в автоматизированном режиме), которая считается радиальным размером люмена.

4. На последнем этапе считается ширина стенки клеток относительно других найденных люменов.

Проблема расчёта ширины стенки клетки упирается в вопрос места разграничения клеток, так как после сегментации, стенки являются единым объектом.

Анализируя профиль пикселей исходного изображения, принадлежащих стенкам клетки, была обнаружена одна из зависимостей, соответствующая определённому типу изображения, представленному на рисунке 1.29.

На рисунке 1.34 изображён график распределения значений пикселей стенки вдоль прямой проходящей по центру массы левого и правого люмена, показанного на рисунке 1.35. Для наглядности, все значения на графике занижены на 100 единиц.

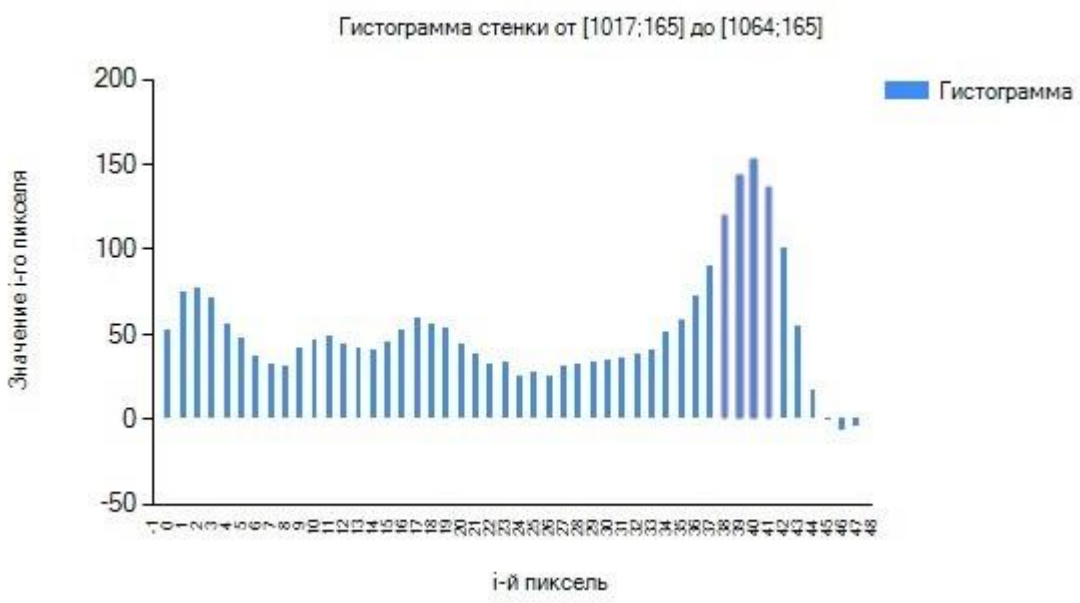

Рисунок 1.34 – Профиль пикселей стенки клеток, изображенных на рисунке 1.35

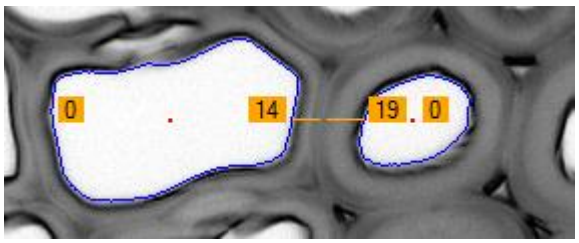

Рисунок 1.35 – Две клетки хвойного дерева с визуализацией результата работы программы

На рисунке 1.35, красной точкой внутри каждого люмена помечен центр массы, синяя изогнутая линия внутри клетки – граница раздела между стенкой и люменом, жёлтая линия – центральная линия по которой смотрится профиль пикселей, для определения места раздела стенок.

Обнаруженная зависимость представляет собой наличие у каждой стороны клетки своего углубления близкого к краю люмена в профиле стенки. Первый пик обозначает начало углубления, на рисунке 1.34, у левой клетки он находится на пикселе с i = 2, а у правой стенки с i = 40. Второй пик – окончание углубления, у левой клетки он располагается на пикселе с i = 11, а у правой на i = 17. Маленькие пики, отличающиеся от соседних пикселей на размер меньший 5 пикселей – игнорируются. Пространство между углублениями левой и правой стороны считается полосой разделения, и как правило его середина и есть место разделения клеток.

Так же существует второй тип изображения, на котором данная зависимость не прослеживается. Но если ввести второй порог, то снова появляется возможность отслеживать границу между клетками.

Второе пороговое значение вычисляется так же по методу Оцу, но его началом считается не значение пикселей равное 0 на гистограмме, а значение равное первому порогу. Гистограмма изображения рисунка 1.36, с красными столбцами обозначающие пиксели выше второго порога, изображена на рисунке 1.37.

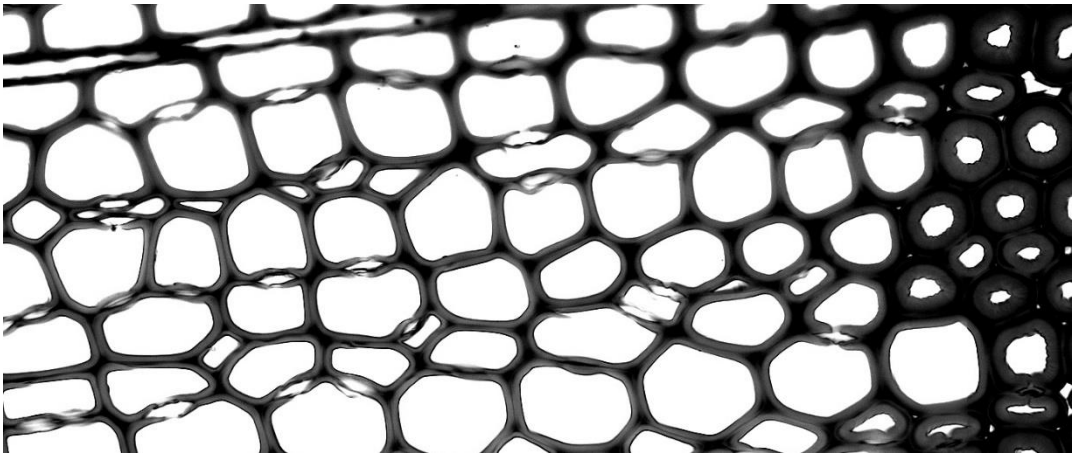

Рисунок 1.36 – Исходное изображение второго типа снимков микроскопа

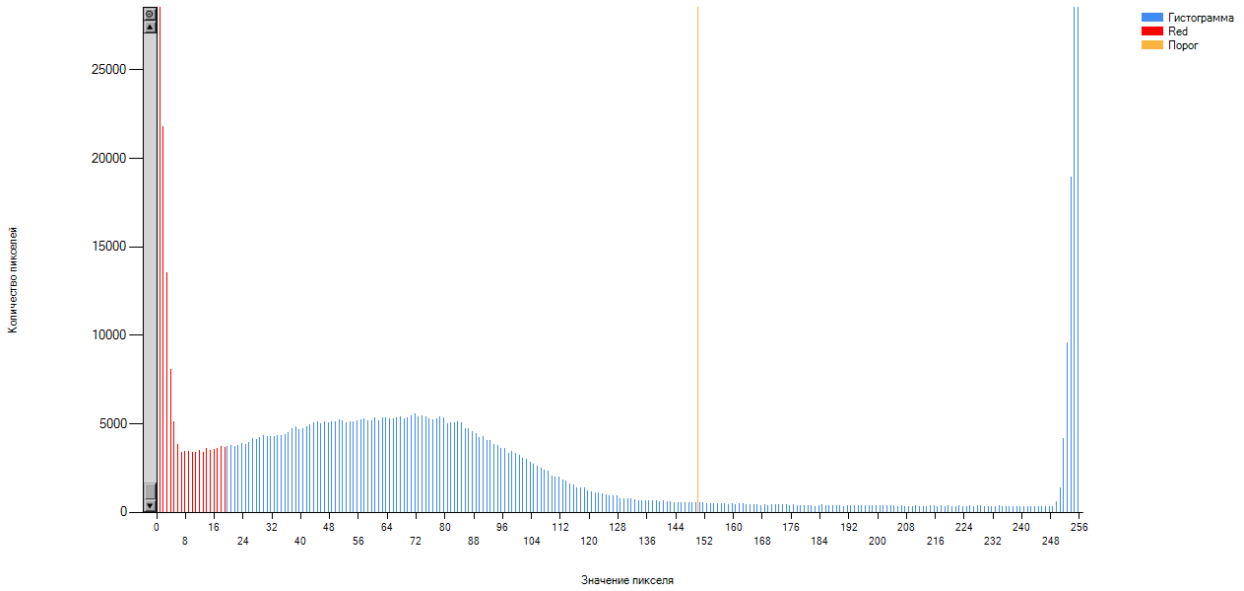

Рисунок 1.37 – Гистограмма изображения 1.36, жёлтый столбец – первый порог, красные столбцы – пиксели значения которых выше второго порога, рассчитанного по методу Оцу относительно первого

Для наглядности понимания назначения третьего порога, исходное изображении 1.36 было сегментировано по двум рассчитанным пороговым числам и представлено на рисунке 1.38:

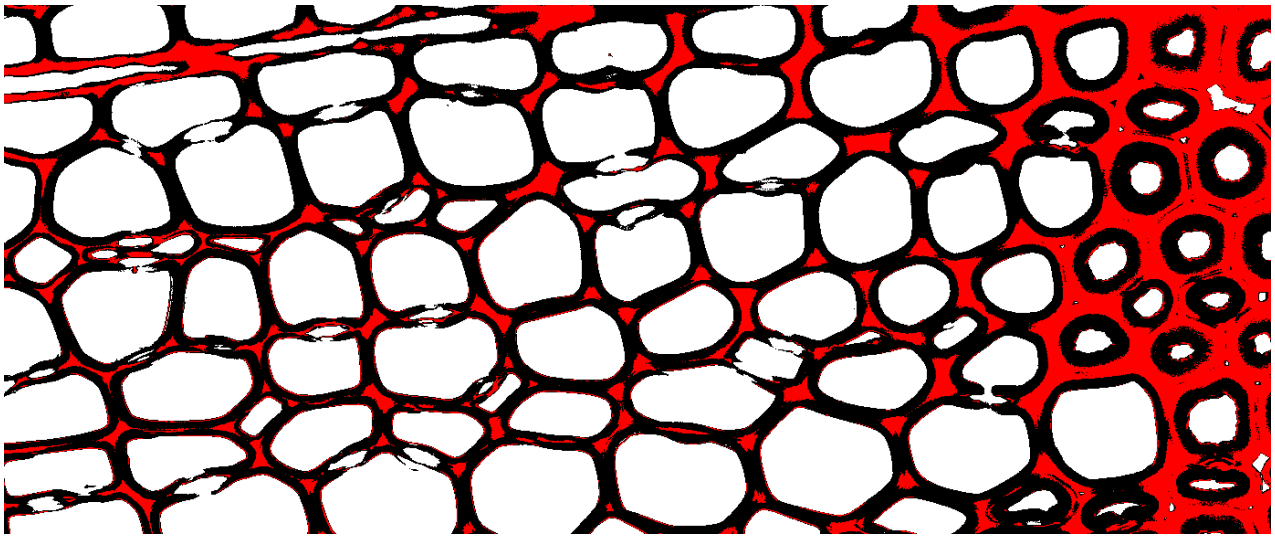

Рисунок 1.38 – Изображение 1.36 разбитое на 3 сегмента по пороговым значениям

Здесь и далее, красной областью будут называться пиксели, значение которых выше второго порога.

Как видно из рисунка 1.38, поздние клетки (клетки с толстой стенкой) имеют вокруг себя область чёрного цвета, прямо пропорциональную их ширине стенки, дальше идёт красного цвета пространство, середину которого можно считать за место примерного разъединения клеток (рисунок 1.39).

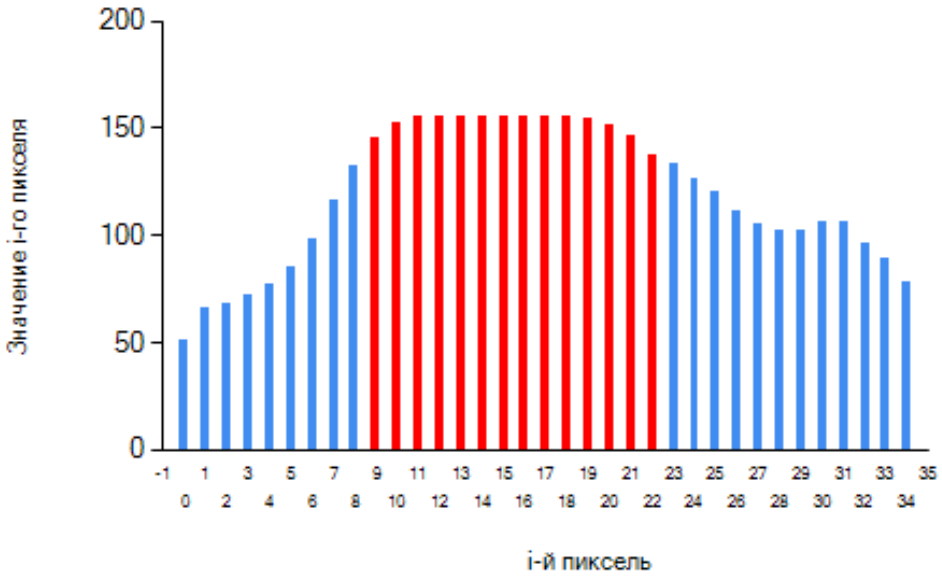

Рисунок 1.39 – Профиль значений пикселей принадлежащих стенке клеток второго типа снимков, изображенных на рисунке 1.40

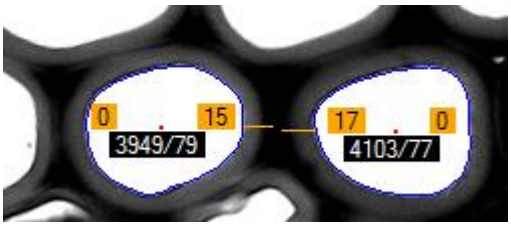

Рисунок 1.40 – Клетки второго типа снимков

Не всегда середина красной области является разделителем между клетками. Как видно на рисунке 1.42

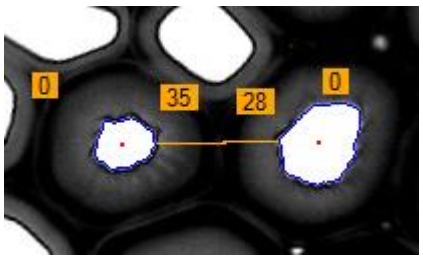

Рисунок 1.41 – Клетки второго типа снимков с разделительным пространством между клетками

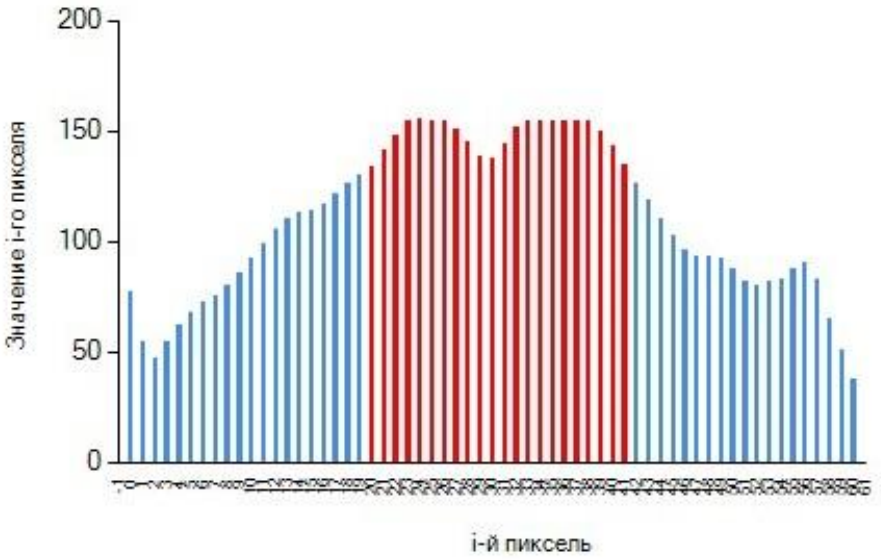

Рисунок 1.42 – Профиль пикселей стенки клеток рисунка 1.41

Как видно из рисунка 1.42, в красной области имеется углубление, которое и является разделением между клетками.

2 Практическая часть

Программный комплекс разработан на языке c# при помощи интегрированной среды разработки Visual Studio при поддержке .Net Framework в виде desktop-приложения реализующего все поставленные задачи бакалаврской работы. Состоит из четырёх модулей:

1. Форма фильтрации;
2. Ядро расчёта параметров клетки;
3. Форма расчёта параметров клеток;

На рисунке 2.1 представлена диаграмма последовательности разработанного программного обеспечения.

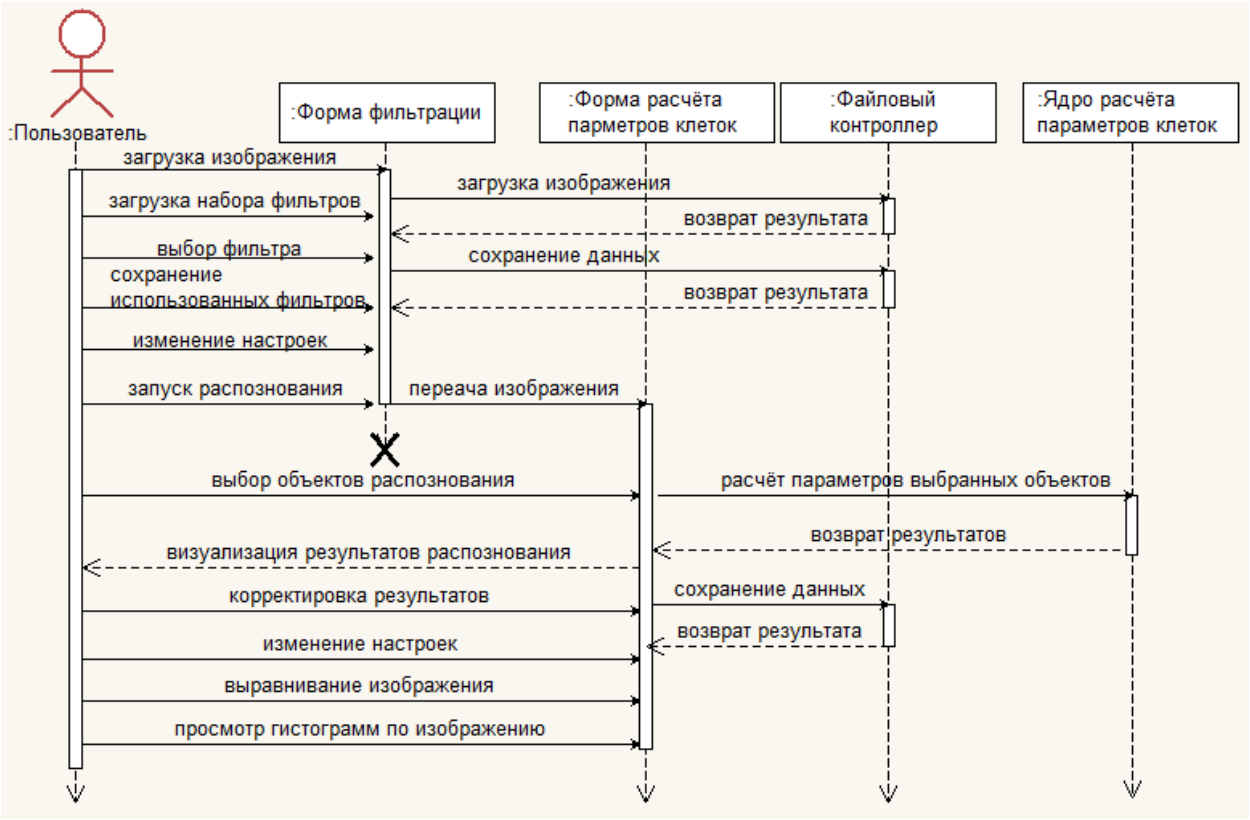

Рисунок 2.1 – Диаграмма последовательности разработанного ПО

2.1 Форма фильтрации

Данный модуль решает задачу фильтрации и содержит в себе все фильтры, описанные в разделе 1.1.

Внешний вид формы фильтрации представляет собой область, где располагается изображение и верхнее горизонтальное выпадающее меню (рис. 2.2).

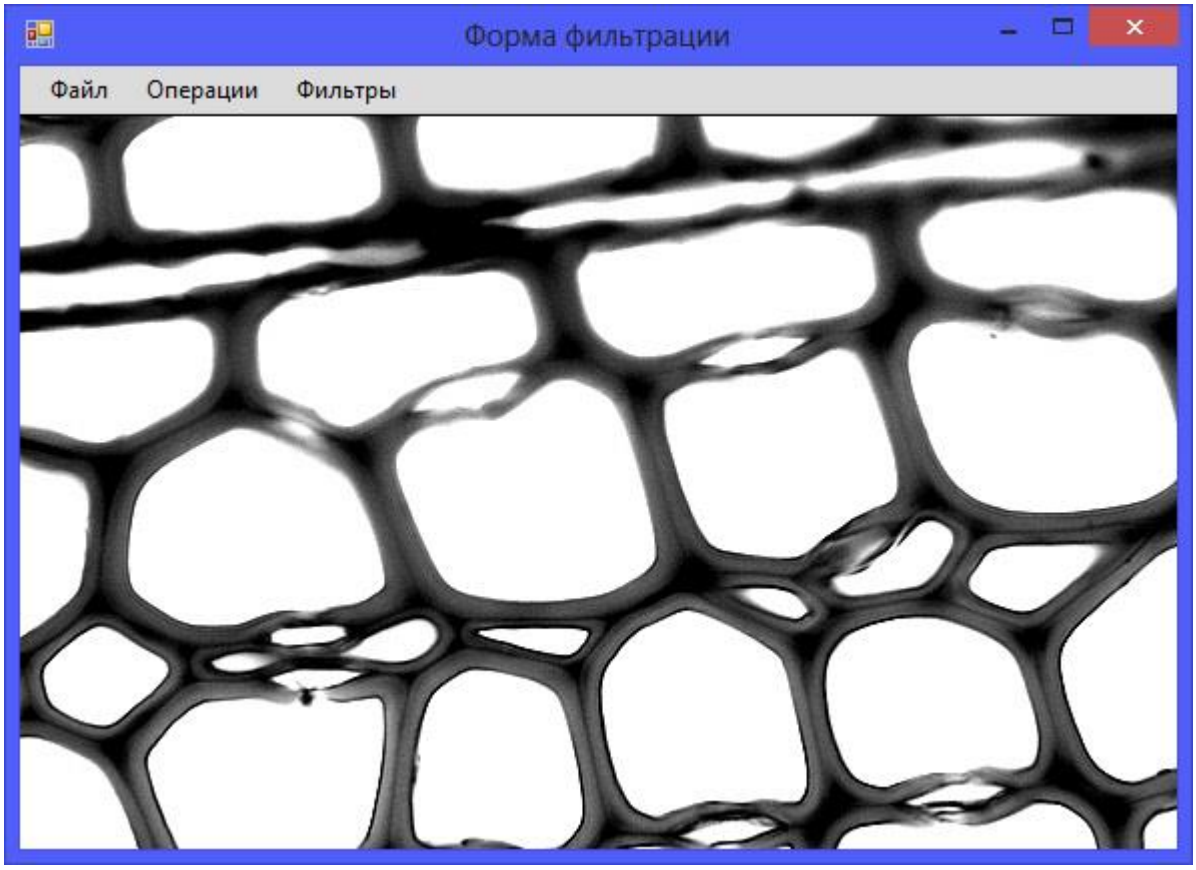

Рисунок 2.2 – Внешний вид формы фильтрации

Меню состоит из следующих пунктов:

– Файл – предназначен для работы с файлами, в том числе и переход к модулю расчёта параметров клеток. Содержит следующие подпункты:

1) Загрузка изображения – выбор и загрузка снимка с изображением биологических клеток дерева в любом графическом формате;

2) Загрузка операций – возможность загрузить и применить набор фильтров, который был ранее сохранён в текстовый файл;

3) Сохранить – сохранение отфильтрованного изображение и применённый набор фильтров в отдельный текстовый файл;

4) Расчёт параметров клеток – переход на форму расчёта параметров клеток.

– Операции – содержит в себе две операции:

1) Инвертация – изображение преобразуется в обратное по формуле:

$$v_i = 255 - v_i \quad (36)$$

где v_i – значение i-го пикселя.

2) Контрастность – каждый пиксель меняется по формуле:

$$v_i = ((v_i / 255 – 0.5) * c + 0.5) * 255 \quad (37)$$

где v_i - значение i-го пикселя;

c – прибавляемый коэффициент контрастности.

– Фильтры – содержит в себе все фильтры, описанные в разделе 1.1.

2.2 Ядро расчёта параметров клеток

Работа с данным модулем осуществляется только через форму расчёта параметров клеток, т.к. ядро не имеет собственного визуального представления для пользователя, благодаря чему он может быть при надобности перенесён на другую поддерживающую его платформу с

другими средствами визуализации данных. Например, на сервер для расчёта параметров клеток через веб сайт.

Данный модуль реализует сегментацию, описанную в разделе 1.2, а конкретнее – метод Оцу, который при работе со снимками биологических клеток хвойных деревьев показал себя лучше всех остальных рассмотренных методов. Также модуль имеет расчёт параметров клеток, разобранный в разделе 1.3. Помимо этого, для визуальной проверки правильности сегментации было добавлено определение границы люмена с помощью цепного кода Фримена.

Цепные коды используются для представления границы в виде последовательности пикселей с указанным направлением движения. В основе этого представления лежит 4- или 8- связная решётка (рисунок 2.3).

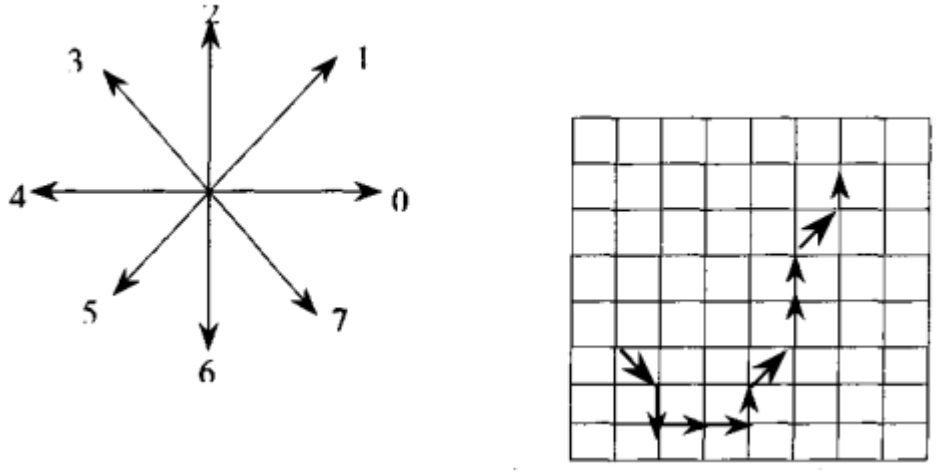

Рисунок 2.3 – Общий вид цепных кодов

В качестве линии, по которой идёт цепной код Фримена, является линия раздела бинарных объектов после сегментации по методу Оцу.

Ядро позволяет определять параметры клетки в выбранной точки на изображении, ряда клеток по проведённой линии из двух точек, и всех клеток на изображении.

На вход данному модулю подаётся матрица изображения.

Блок схема программы с режимом расчёта параметров всех клеток на изображении показан на рисунке 2.4. Сегментация проводится только при изменении матрицы изображения. Ограничение в виде размера границы проводиться для отсеивания шумов (дефекты сегментации) и объектов, не являющихся люменами. При расчёте площади люмена, вся область, принадлежащая данной клетке, обнуляется (всем значениям пикселей данной области присваивается единица) не позволяя в дальнейшем алгоритму снова попадать в данную область для повторного расчёта параметров.

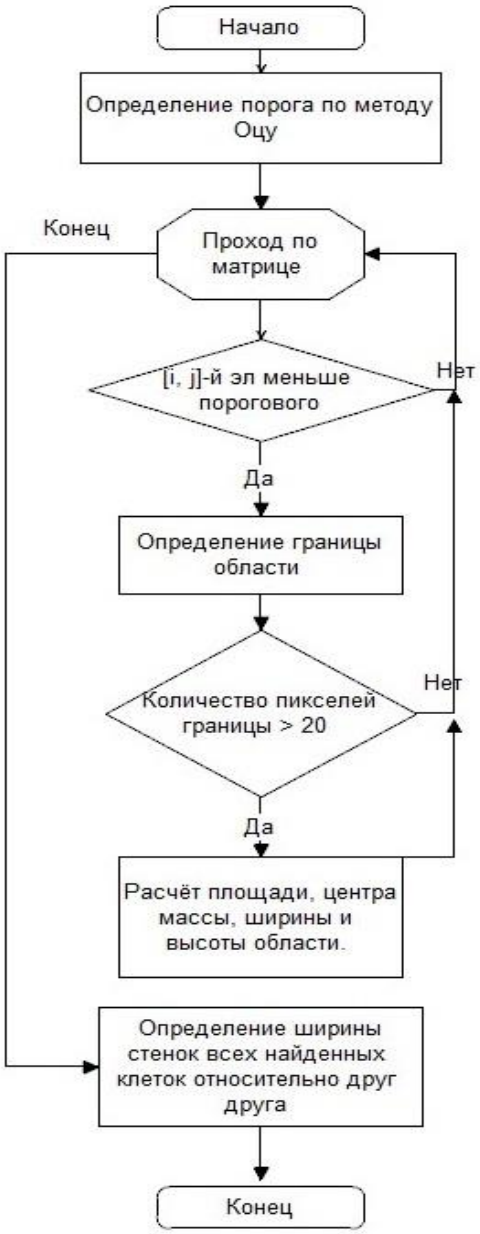

Рисунок 2.4 – Блок схема программы

Результатом работы данной программы является набор данных, который можно либо сохранить в файл, либо использовать через установленный доступ к данному модулю. Все собранные данные по одной клетке хранятся в классе Cell (Клетка), рисунок 2.5. Крайние точки люмена сохраняются, чтобы в графическом интерфейсе более быстро определять клетку, находящуюся на указанной пользователем точке.

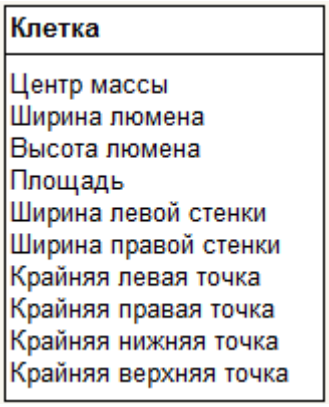

Рисунок 2.5 – Класс “Клетка”

2.3 Форма расчёта параметров клеток

Форма запускается при выборе пункта меню “Расчёт параметров клеток” на форме фильтрации. Основной задачей данного модуля является визуализация результатов работы ядра расчёта параметров клеток.

На вход данному модулю подаётся отфильтрованное изображение.

Внешний вид формы состоит из окна, в котором представлена текущая картинка и горизонтального выпадающего меню расположенного вверху окна (рисунок 2.6).

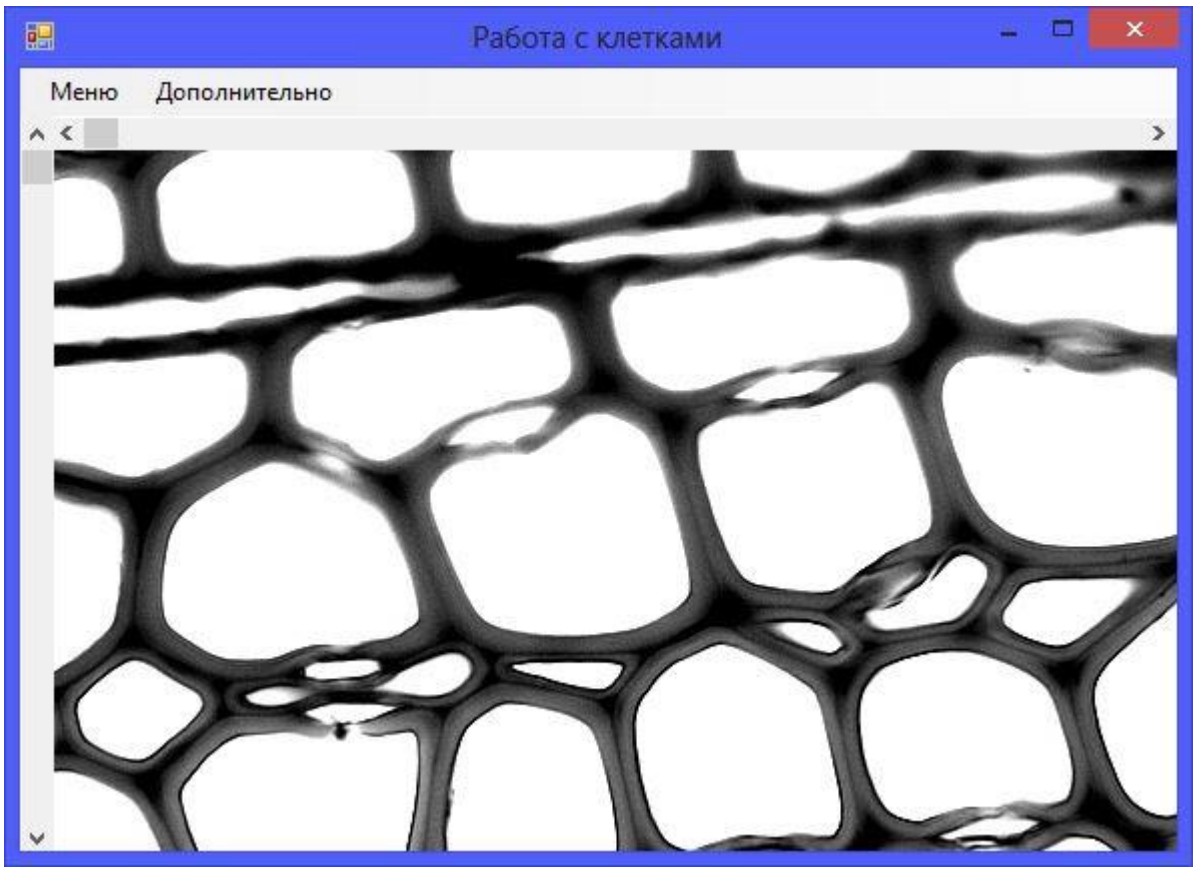

Рисунок 2.6 – Внешний вид формы расчёта параметров клеток

Верхнее меню имеет следующие пункты:

– Меню – в нём находится основной функционал:

1) Инфо – содержит информацию по использованию программы (рисунок 2.7);

2) Настройки – имеется возможность задать два порога, указать какое изображение показывать в окне формы и показывать ли размер стенок (рисунок 2.8);

3) Расчёт параметров всех клеток – вызывает ядро с режимом расчёта параметров для всех клеток изображения;

4) Очистить всё – удаляет все рассчитанные данные и восстанавливает исходную картинку в окне формы.

– Дополнительно – хранит в себе следующие пункты:

1) Гистограмма изображения (рисунок 1.37);

2) Профиль стенки между клетками – позволяет посмотреть профиль значений пикселей, принадлежащих стенке между указанными пользователем клетками (рисунок 1.39);

3) Выравнивание изображения – функция поворота изображения по выбранным двум клеткам, на угол находящийся между линией, соединяющей центры массы этих клеток и горизонтальной осью. Поворот осуществляется по часовой стрелке.

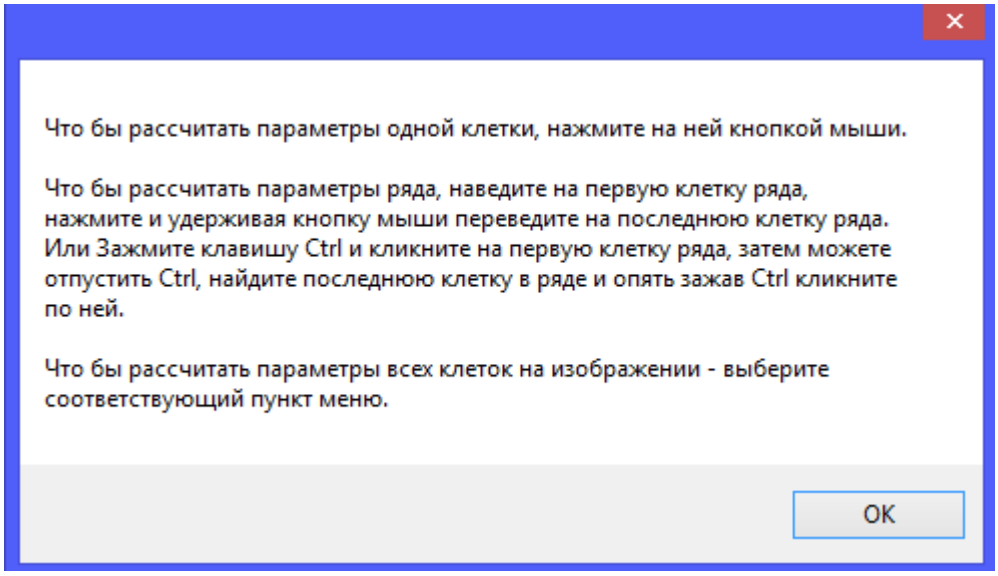

Рисунок 2.7 – Окно с информацией по использованию программы

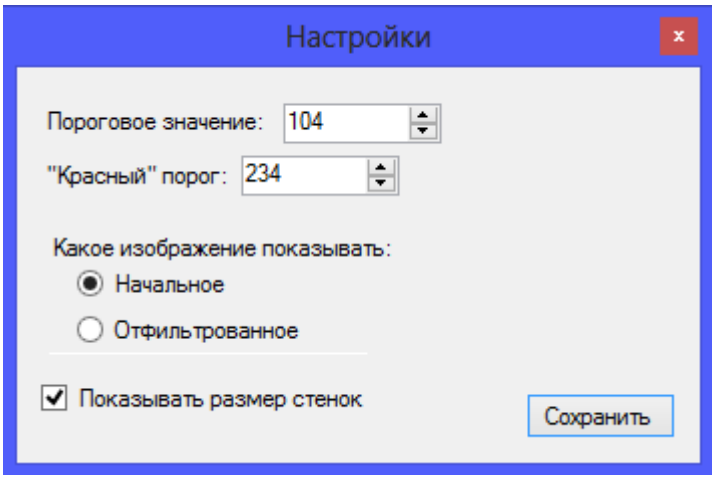

Рисунок 2.8 – Окно с настройками программы

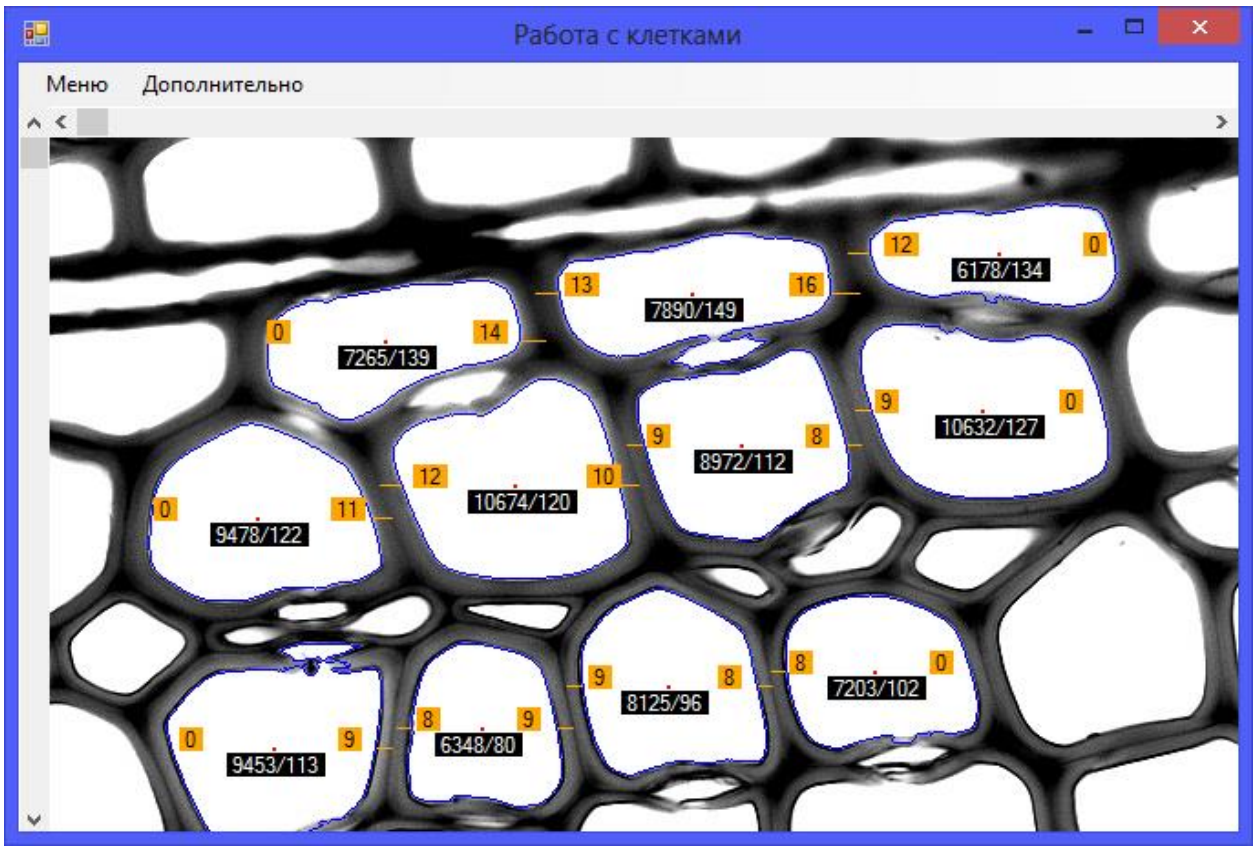

Рисунок 2.9 – Визуализация результатов работы ядра расчёта параметров клеток

На рисунке 2.9, красная точка внутри клетки изображает центр массы люмена. Синее кольцо – граница между люменом и стенкой клетки, показывающее результат сегментации по методу Оцу. Числа в чёрном прямоугольном окне ниже центра массы люмена показывают площадь и ширину люмена соответственно. Жёлтая горизонтальная линия является рассчитанной шириной стенки. Число в жёлтом прямоугольнике показывает ширину той стенки клетки, у которой он находится.

При клике правой кнопкой мыши по люмену, отмеченному синим кольцом, появляется контекстное меню со следующими пунктами:

– Данные клетки – при нажатии появляется окно со всеми открытыми свойствами класса Cell;

– Удалить клетку – из списка посчитанных клеток удаляется данная клетка и освобождается место под ней, благодаря чему, можно снова рассчитаться параметры этой области.

– Пересчитать с другим порогом – клетка удаляется, и рассчитывается заново с указанным пользователем порогом, который для данной клетки заменяет порог, полученный по методу Оцу.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработан программный комплекс, позволяющий распознавать структурные элементы клетки дерева, который включает в себя методы фильтрации для улучшения качества изображения, метод сегментации Оцу для определения пороговых значений, как самый оптимальны для снимков биологических клеток хвойного дерева и модуль расчёта параметров клеток. Программный комплекс позволяет наглядно оценить степень всех измерений, просмотреть характеристики изображения по гистограмме и профилям, а также самолично корректировать результаты. При необходимости ядра программы могут быть перенесены на любую другую поддерживающую их платформу и использованы любым другим графическим интерфейсом, благодаря чему область применения разработанного программного обеспечения существенно повышается.

Созданный программный комплекс значительно повышает скорость работы биологов, упрощает запись данных и повышает точность вычислений за счёт реализованных методов фильтрации и сегментации.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. СТО 4.2–07–2014 Система менеджмента качества. Общие требования к построению, изложению и оформлению документов учебной деятельности. – Введ. 30.12.2013. – Красноярск: СФУ, 2014. – 60 с.
2. Силкин, П. П. Методы многопараметрического анализа структуры годичных колец хвойных: монография / П. П. Силкин. – Красноярск: министерство образования и науки российской федерации сибирский федеральный университет, 2010. – 335 с.
3. Стругайло, В.В. Обзор методов фильтрации и сегментации цифровых изображений / Стругайло В.В. // Наука и образование: Научное издание МГТУ им. Н.Э. Баумана. – Москва: Изд-во МАГТУ, 2012. –с. 1-12.
4. Информационный портал хранящий научные материалы [Электронный ресурс] Режим доступа: http://www.studfiles.ru/preview/1874427/
5. Свободная общедоступная универсальная интернет-энциклопедия [Электронный ресурс] Статья об операторе Собеля. Режим доступа: https://ru.wikipedia.org/wiki/Оператор_Собеля
6. Информационный портал коллективного блога (специализированная пресса) [Электронный ресурс] Статья об алгоритмах выделения контуров изображений. Режим доступа: https://habrahabr.ru/post/114452/
7. Свободная общедоступная универсальная интернет-энциклопедия [Электронный ресурс] Статья об операторе Робертса. Режим доступа: https://ru.wikipedia.org/wiki/Перекрёстный_оператор_Робертса
8. Информационный портал коллективного блога (специализированная пресса) [Электронный ресурс] Статья о матричных фильтрах обработки изображений. Режим доступа: https://habrahabr.ru/post/142818/

9. Файловый архив для студентов [Электронный ресурс] Лекция о фильтрах повышения резкости. Режим доступа: http://www.studfiles.ru/preview/1874427/

10. Курс подготовленный при помощи Microsoft Research [Электронный ресурс] Лекция об обработки изображений. Режим доступа: http://courses.graphicon.ru/files/courses/vision/2011/lectures/cv2011_02_ip.pdf

11. Кафедра прикладной и компьютерной оптики [Электронный ресурс] Лекция о нелинейной фильтрации. Режим доступа: http://aco.ifmo.ru/el_books/image_processing/7_03.html

12. Свободная общедоступная универсальная интернет-энциклопедия [Электронный ресурс] Статья о математической морфологии. Режим доступа: https://ru.wikipedia.org/wiki/Математическая_морфология

13. Информационный портал коллективного блога (специализированная пресса) [Электронный ресурс] Статья о математической морфологии. Режим доступа: https://habrahabr.ru/post/113626/

14. Информационный портал коллективного блога (специализированная пресса) [Электронный ресурс] Статья о методах сегментации изображения. Режим доступа: https://habrahabr.ru/post/128768/