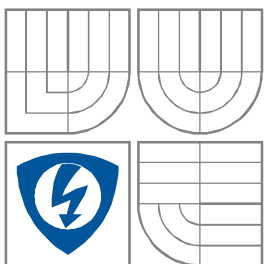


VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH  
TECHNOLOGIÍ

ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION  
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

SEGMENTACE V MIKROSKOPICKÝCH OBRAZECH  
Z ROSTLINNÝCH PREPARÁTŮ  
SEGMENTATION IN MICROSCOPIC IMAGES

DIPLOMOVÁ PRÁCE  
MASTER'S THESIS

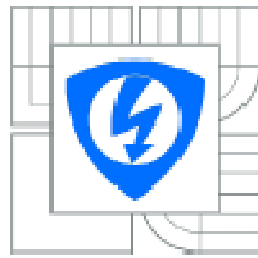
AUTOR PRÁCE  
AUTHOR

Bc. Matúš T.Kovács

VEDOUCÍ PRÁCE  
SUPERVISOR

doc. Ing. Radim KOLÁŘ, Ph.D.

BRNO, 2010



VYSOKÉ UČENÍ  
TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta elektrotechniky  
a komunikačních technologií

Ústav biomedicínského inženýrství

# Diplomová práce

magisterský navazující studijní obor  
Biomedicínské a ekologické inženýrství

**Student:** Bc. Matuš T. Kovács

**ID:** 78290

**Ročník:** 2

**Akademický rok:** 2009/2010

## NÁZEV TÉMATU:

**Segmentace v mikroskopických obrazech z rostlinných preparátů**

## POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

Seznamte se s vlastnostmi mikroskopických obrazů rostlinných preparátů. Dále prostudujte obecné metody pro segmentaci objektu v obraze. V prostředí Matlab (či jiném) realizujte metodu segmentace, která využívá barevné informace. Segmentované snímky dále analyzujte dle pokynů vedoucího.

Zahrňte se také možnostmi přetypování těchto snímků. Při řešení projektu využijte základních a pokročilých operací z oblasti zpracování obrazu.

Práce musí obsahovat: formulaci cíle, teoretický popis metodiky řešení problému a popis praktického řešení těchto problémů, včetně výsledku a dokumentace k realizovaným programovým modulům.

## DOPORUČENÁ LITERATURA:

- [1] Žára, J., Beneš, B., Felkel, P.: Moderní počítačová grafika. Computer Press, Praha, 2004
- [2] Nixon, M., Aguado, A.: Feature Extraction and Image Processing. Elsevier, 2005

**Termín zadání:** 12.10.2009

**Termín odevzdání:** 21.5.2010

**Vedoucí práce:** doc. Ing. Radim Kolář, Ph.D.

prof. Ing. Jiří Jan, CSc.  
Předseda oborní rady

## UPOZORNĚNÍ:

Autor diplomové práce nesmí při vytváření diplomové práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do ozvěn autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následku porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI, díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

# LICENČNÍ SMLOUVA

## POSKYTOVANÁ K VÝKONU PRÁVA UŽÍT ŠKOLNÍ DÍLO

uzavřená mezi smluvními stranami:

### 1. Pan/paní

Jméno a příjmení: Bc. Matúš T.Kovács  
Bytem: Páterova 86, Rožňava, 048 01, SLOVENSKO  
Narozen/a (datum a místo): 13. prosince 1985 v Rožňavě

(dále jen „autor“)

a

### 2. Vysoké učení technické v Brně

Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií  
se sídlem Údolní 53, Brno, 602 00  
jejímž jménem jedná na základě písemného pověření děkanem fakulty:  
prof. Ing. Jiří Jan, CSc, předseda rady oboru Biomedicínské a ekologické inženýrství  
(dále jen „nabyvatel“)

## Čl. 1

### Specifikace školního díla

1. Předmětem této smlouvy je vysokoškolská kvalifikační práce (VŠKP):

- disertační práce
  - diplomová práce
  - bakalářská práce
  - jiná práce, jejíž druh je specifikován jako .....
- (dále jen VŠKP nebo dílo)

Název VŠKP: Segmentace v mikroskopických obrazech z rostlinných preparátů

Vedoucí/ školitel VŠKP: doc. Ing. Radim KOLÁŘ, Ph.D.

Ústav: Ústav biomedicínského inženýrství

Datum obhajoby VŠKP: 7. nebo 8. června 2010 \*

VŠKP odevzdal autor nabyvateli\*:

- v tištěné formě – počet exemplářů: 2
- v elektronické formě – počet exemplářů: 2

2. Autor prohlašuje, že vytvořil samostatnou vlastní tvůrčí činností dílo shora popsané a specifikované. Autor dále prohlašuje, že při zpracovávání díla se sám nedostal do rozporu s autorským zákonem a předpisy souvisejícími a že je dílo dílem původním.
3. Dílo je chráněno jako dílo dle autorského zákona v platném znění.
4. Autor potvrzuje, že listinná a elektronická verze díla je identická.

---

\* hodící se zaškrtněte

## Článek 2

### Udělení licenčního oprávnění

1. Autor touto smlouvou poskytuje nabyvateli oprávnění (licenci) k výkonu práva uvedené dílo nevýdělečně užit, archivovat a zpřístupnit ke studijním, výukovým a výzkumným účelům včetně pořizování výpisů, opisů a rozmnoženin.
2. Licence je poskytována celosvětově, pro celou dobu trvání autorských a majetkových práv k dílu.
3. Autor souhlasí se zveřejněním díla v databázi přístupné v mezinárodní síti
  - ihned po uzavření této smlouvy
  - 1 rok po uzavření této smlouvy
  - 3 roky po uzavření této smlouvy
  - 5 let po uzavření této smlouvy
  - 10 let po uzavření této smlouvy(z důvodu utajení v něm obsažených informací)
4. Nevýdělečné zveřejňování díla nabyvatelem v souladu s ustanovením § 47b zákona č. 111/ 1998 Sb., v platném znění, nevyžaduje licenci a nabyvatel je k němu povinen a oprávněn ze zákona.

## Článek 3

### Závěrečná ustanovení

1. Smlouva je sepsána ve třech vyhotoveních s platností originálu, přičemž po jednom vyhotovení obdrží autor a nabyvatel, další vyhotovení je vloženo do VŠKP.
2. Vztahy mezi smluvními stranami vzniklé a neupravené touto smlouvou se řídí autorským zákonem, občanským zákoníkem, vysokoškolským zákonem, zákonem o archivnictví, v platném znění a popř. dalšími právními předpisy.
3. Licenční smlouva byla uzavřena na základě svobodné a pravé vůle smluvních stran, s plným porozuměním jejímu textu i důsledkům, nikoliv v tísní a za nápadně nevýhodných podmínek.
4. Licenční smlouva nabývá platnosti a účinnosti dnem jejího podpisu oběma smluvními stranami.

V Brně dne: 20. května 2010

.....  
Nabyvatel

.....  
Autor

## **ABSTRAKT**

Diplomová práca sa zaoberá segmentáciou v mikroskopických obrazoch z rastlinných preparátov. Popisuje význam histogramu pre získavanie informácií o obrázku, využitie vlnkovej transformácie na predspracovanie obrazu. Rozdeľuje segmentačné metódy a charakterizuje ich. Využíva programové prostredie MATLAB na praktické overenie teoretických predpokladov a na navrhovanie softwareovej aplikácie. Realizuje program, ktorý plne automaticky analyzuje a vyhodnocuje mikroskopické obrázky.

## **KLÚČOVÉ SLOVÁ**

mikroskopický obraz, histogram, vlnková transformácia, segmentačné techniky, prahovanie, MATLAB

## **ABSTRACT**

This thesis deals with the segmentation of microscopic images from plant sections. It describes the importance of the histogram for obtaining information from the image, and the utilization of the wavelet transformation for the preprocessing of the images. The thesis describes and categorizes different segmentation methods. In the thesis we use MATLAB for the validation of the presented theories and as the interface for creating a software model. The created software application automatically analyzes and evaluates microscopic images.

## **KEYWORDS**

microscopic images, histogram, wavelet transform, segmentation techniques, thresholding, MATLAB

T.KOVÁCS, M. *Segmentace v mikroskopických obrazech z rostlinných preparátů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2010. 61 s. Vedoucí diplomové práce doc. Ing. Radim Kolář, Ph.D.

## **PREHLÁSENIE**

Prehlasujem, že svoju diplomovú prácu na tému Segmentácia v mikroskopických obrazoch z rastlinných preparátov som vypracoval samostatne pod vedením vedúceho diplomovej práce a s použitím odbornej literatúry a ďalších informačných zdrojov, ktoré sú všetky citované v práci a uvedené v zozname literatúry na konci práce.

Ako autor uvedenej diplomovej práce ďalej prehlasujem, že v súvislosti s vytvorením tohto projektu som neporušil autorské práva tretích osôb, najmä som nezasiahol nedovoleným spôsobom do cudzích autorských práv osobnostných a som si plne vedomý následkov porušenia ustanovenia § 11 a nasledujúcich autorského zákona c. 121/2000 Sb., vrátane možných trestnoprávných dôsledkov vyplývajúcich z ustanovenia § 152 trestného zákona c. 140/1961 Sb.

V Brne dňa 20. mája 2010

.....

(podpis autora)

## **POĎAKOVANIE**

Ďakujem vedúcemu diplomovej práce doc. Ing. Radimovi Kolářovi, Ph.D. za účinnú metodickú, pedagogickú a odbornú pomoc a ďalšie cenné rady pri spracovaní mojej diplomovej práce.

V Brne dňa 20. mája 2010

.....

(podpis autora)

# OBSAH

<b>Obsah</b>	<b>viii</b>
<b>Zoznam obrázkov</b>	<b>x</b>
<b>Zoznam tabuliek</b>	<b>xii</b>
<b>Úvod</b>	<b>13</b>
<b>1 Mikroskopický obraz</b>	<b>14</b>
1.1 Snímanie obrazu .....	14
1.2 Načítanie snímkov .....	15
1.3 Histogram.....	16
1.3.1 Ekvalizácia histogramu.....	17
<b>2 Predspracovanie obrazu</b>	<b>20</b>
2.1 Vlnková transformácia.....	20
2.1.1 Materské vlnky .....	20
2.1.2 Typy materských vlniek.....	21
2.1.3 Druhy vlnkových transformácií .....	23
<i>Spojité vlnková transformácia (CWT)</i> .....	23
<i>Diskrétna vlnková transformácia (DWT)</i> .....	24
<i>Diskrétna vlnková transformácia s diskrétnym časom (DTWT)</i> .....	25
2.1.4 Vlnková transformácia dvojrozmerného signálu .....	25
2.2 Wavelet Toolbox.....	26
2.3 Výsledný predspracovaný obraz .....	27
<b>3 Segmentácia</b>	<b>29</b>
3.1 Obecná definícia segmentácie .....	29
3.2 Segmentačné metódy .....	29
3.2.1 Štrukturálne techniky .....	29
<i>Technika detekcie hrán</i> .....	30
<i>Morfologické techniky</i> .....	31
<i>Deformovateľné modely</i> .....	31
<i>Izoplochy</i> .....	31
3.2.2 Stochastické techniky .....	32
<i>Prahovanie</i> .....	32
<i>Klasifikačné metódy</i> .....	34
<i>Zhluková analýza</i> .....	34
<i>Markovské náhodné polia</i> .....	34



3.2.3	Hybridné techniky.....	35
	<i>Metóda šírenia oblasti</i> .....	35
	<i>Metóda delenia a spájania</i> .....	35
	<i>Watershed</i> .....	36
	<i>Znalostné metódy</i> .....	36
	<i>Umelé neurónové siete</i> .....	36
3.3	Implementácia segmentácie.....	37
3.3.1	Segmentácia rastliny ako celku.....	37
3.3.2	Artefakty .....	39
	<i>Connected Component Labeling</i> .....	39
	<i>Mediánové filtre</i> .....	41
3.3.3	Výsledný vysegmentovaný rastlinný preparát.....	42
3.3.4	Segmentácia kontrastnej látky .....	43
3.3.5	Výsledná vysegmentovaná kontrastná látka .....	44
<b>4</b>	<b>Programová realizácia</b>	<b>46</b>
4.1	Blokové rozdelenie modulov .....	46
4.2	Programové moduly.....	47
	<i>Hlavný modul (main)</i> .....	47
	<i>Modul rozdeľujúci obrázok na časti (splitter)</i> .....	47
	<i>Modul vlnkovej transformácie (mask)</i> .....	47
	<i>Modul na vysegmentovanie jednotlivých rastlinných preparátov (cropper)</i> .....	47
	<i>Modul na určenie kontrastnej látky (cropper2)</i> .....	47
	<i>Modul realizujúci výpočet (counter)</i> .....	47
<b>5</b>	<b>Dosiahnuté výsledky</b>	<b>48</b>
<b>6</b>	<b>Záver</b>	<b>49</b>
	<b>Literatúra</b>	<b>50</b>
	<b>Zoznam symbolov, veličín a skratiek</b>	<b>52</b>
	<b>Zoznam príloh</b>	<b>53</b>

# ZOZNAM OBRÁZKOV

Obr. 1.1:	Časť mikroskopického obrazu (jeden rastlinný preparát).....	14
Obr. 1.2:	Mikroskop Olympus VS110 s pracovnou stanicou .....	15
Obr. 1.3:	Rozdelenie mikroskopického obrazu na 24 rovnakých častí a prípadné rozšírenie obrazovými bodmi s hodnotou nula.....	16
Obr. 1.4:	Histogramy obrazu 1.1 pre červenú (R) a zelenú (G) zložku .....	16
Obr. 1.5:	Histogramy obrazu 1.1 pre modrú (B) zložku .....	17
Obr. 1.6:	Originálny obraz a jeho RGB zložky.....	17
Obr. 1.7:	Ekvalizovaný histogram.....	18
Obr. 1.8:	Obraz po ekvalizácii jeho histogramu.....	18
Obr. 2.1:	Porovnanie rozlíšiteľnosti WT a STFT.....	20
Obr. 2.2:	Materské vlnky typu db2 a coif2 [16].....	22
Obr. 2.3:	Materské vlnky typu bior1.3 [16] .....	22
Obr. 2.4:	Materská vlnka typu sym8 [16] .....	22
Obr. 2.5:	Materská vlnka typu Meyer [16].....	22
Obr. 2.6:	Materská vlnka typu Haar [16] .....	23
Obr. 2.7:	Frekvenčný pohľad na diskretnú vlnkovú transformáciu [8].....	24
Obr. 2.8:	Trojstupňová dyadická DTWT a frekvenčné charakteristiky ideálnych oktávových filtrov [5] .....	25
Obr. 2.9:	Dekompozičný krok 2D DWT pre prvú úroveň rozkladu [9].....	26
Obr. 2.10:	Porovnanie dosiahnutých výsledkov vlnkovou transformáciou s využitím Haarových vlniek a s využitím Coifletsových vlniek .....	27
Obr. 2.11:	Výsledný predspracovaný obraz aplikovaním 2D DWT.....	27
Obr. 3.1:	Histogram s dvomi prahovacími hodnotami T1 a T2 [6] .....	33
Obr. 3.2:	Hľadanie optimálneho prahu [12].....	33
Obr. 3.3:	Príklad zhlukovania v 2D priestore [10].....	34
Obr. 3.4:	Princíp hierarchie metódy delenia a spájania [10].....	35
Obr. 3.5:	Prahovanie po častiach s využitím funkcie graythresh .....	37
Obr. 3.6:	Prahovanie po častiach s manuálnym nastavením prahu pre každú jednu časť .....	38
Obr. 3.7:	Globálne prahovanie s využitím funkcie graythresh .....	38
Obr. 3.8:	Globálne prahovanie s manuálnym nastavením prahu .....	39
Obr. 3.9:	Susednosť - 4 susediace pixely (vľavo, len spoločné hrany s centrálnym pixelom) a 8 susediacich pixelov (zdieľanie hrán a vrcholov) .....	40
Obr. 3.10:	Výsledok prahovania po odstránení nežiaducich artefaktov .....	41

Obr. 3.11: Najčastejšie používané okná, 3x3, 5x5 a 7x7 .....	42
Obr. 3.12: Porovnanie výsledkov. Obraz po filtrácii a obraz po použití metódy Connected Component Labeling.....	42
Obr. 3.13: Pôvodný obraz vynásobený s maskou .....	43
Obr. 3.14: Rozdiel minimálnych a maximálnych jednotlivých farebných zložiek v rastlinnom preparáte.....	44
Obr. 3.15: Výsledná vysegmentovaná kontrastná látka .....	45
Obr. 4.1: Blokové rozdelenie modulov .....	46

# ZOZNAM TABULIEK

Tab. 5.1: Výsledky pre jednotlivé mikroskopické obrazy .....	48
--	----

# ÚVOD

Diplomová práca bola vypracovaná na tému segmentácia v mikroskopických obrazoch z rastlinných preparátov. Cieľom diplomovej práce je oboznámiť sa s možnosťami segmentácie a navrhnúť efektívne programové riešenie na analýzu a vyhodnocovanie skúmaných mikroskopických obrazov.

Jedná sa o mikroskopické obrazy veľkého rozlíšenia, ktoré obsahujú viacero rastlinných preparátov. Jednotlivé rastlinné preparáty obsahujú určitú kontrastnú látku. Zmysel tejto práce spočíva v realizovaní softwareovej aplikácie, ktorá nahradzuje manuálne určovanie množstva kontrastnej látky plne automatickým spôsobom.

Diplomová práca postupne rozoberá teoretické predpoklady a vysvetľuje ich vhodnú a nevhodnú implementáciu pre vytváranie programu. Jej hlavnými časťami sú problematiky súvisiace s predspracovaním a segmentáciou obrazov. Ďalej sa zaoberá vysvetlením samotného programu a vyhodnotením dosiahnutých výsledkov.

Spracovávanie obrazov je realizované v programovom prostredí MATLAB. Jedná sa o programové prostredie a skriptovací programovací jazyk pre vedeckotechnické výpočty. Práca v ňom bola zvolená na základe jeho prehľadnosti, logickosti a z dôvodu lepšieho porozumenia používaných metód na spracovávanie obrazov.

# 1 MIKROSKOPICKÝ OBRAZ

Mikroskopické obrazy z rastlinných preparátov boli zhotovené pomocou vysokokvalitného digitálneho mikroskopu. Veľkosť jedného obrázku je zhruba 2 Gigabyty a jeho rozlíšenie je približne 55 000 x 15 000 pixelov. Jeden obrázok obsahuje približne 10 rastlinných preparátov (viď príloha A). Práca s takými veľkými obrazmi je časovo veľmi náročná a vyžaduje kvalitný počítač. Približné hardwareové požiadavky na takýto počítač sú: operačná pamäť 10 GB, dvojjadrový procesor s pracovnou frekvenciou 2,50 GHz a voľná pamäťová kapacita 20 GB.

Pre počítačové experimentovanie sa daný obraz manuálne, s využitím grafického softwera, rozsekal na jednotlivé časti a to spôsobom, že každá časť obsahovala jeden úplný rastlinný preparát (viď obr. 1.1). Pre rýchlejšiu prácu sa veľkosť týchto častí ďalej znižovala a to podvzorkovaním štyrikrát.



Obr. 1.1: Časť mikroskopického obrazu (jeden rastlinný preparát)

## 1.1 Snímanie obrazu

Zhotovenie mikroskopických obrazov uvedených parametrov si vyžaduje mimoriadne kvalitný mikroskop s dostatočne veľkým rozlíšením.

Dané snímky boli nasnímané mikroskopom VS110, ktorý vyrobila firma Olympus. Tento digitálny mikroskop je dodávaný s vlastnou pracovnou stanicou (viď obr. 1.2). Je vybavený vymeniteľnými objektívmi, ktoré sú schopné až 100x zväčšenia. Obsahuje veľmi citlivú 2/3“ CCD kameru s bodovým rozlíšením 6,45 $\mu$ m x 6,45 $\mu$ m. Snímaná plocha sa osvetľuje technikou Brightfield s využitím 100 W halogénovej žiarovky. Doba snímania sa pri vysokom rozlíšení rovná 3 min/ 10 mm<sup>2</sup>. Výsledný nasnímaný obraz sa ukladá na pracovnej stanici v digitálnom formáte, ide o vlastný formát zvaný VSI. Pomocou softwaru určeného pre daný typ mikroskopu sa formát VSI dá previesť na bežnejšie formáty ako BMP, JPEG či TIFF. Takýto prevod trvá niekoľko hodín. Ďalšie špecifiká a kľúčové vlastnosti sú uvedené v publikácii [20].



Obr. 1.2: Mikroskop Olympus VS110 s pracovnou stanicou

Cena mikroskopu je pomerne vysoká a preto tento mikroskop nie bežne dostupný. Daným typom mikroskopu v Brne disponuje Ústav experimentálnej biológie Masarykovej univerzity, kde boli aj poskytnuté snímky nasnímané.

## 1.2 Načítanie snímok

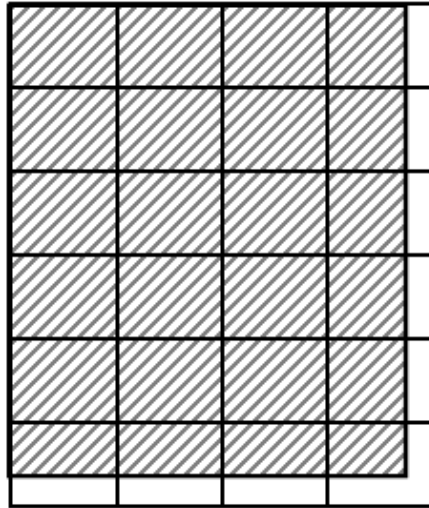
Jedným z hlavných cieľov realizovaného softwaru bolo vyriešiť načítania mikroskopických obrazov. Z dôvodu, že sa jedná o obrázky gigabytových veľkostí je ich akákoľvek editácia ako celku veľmi náročná až nemožná. Preto sa hľadalo riešenie, ktoré by dané snímky automaticky rozsekalo na časti.

Prvotné teoretické úvahy smerovali k použitiu externého programu, ktorý bol vytvorený na podobné účely. Takýto software sa ale ani po dôkladnom hľadaní nepodarilo nájsť. Ďalšou možnosťou bolo naprogramovanie vlastnej aplikácie.

Takáto aplikácia sa realizovala v programe MATLAB. Z hľadiska, že aj ďalšie spracovávanie obrazu sa uskutočňuje v tomto programovom prostredí sa program MATLAB javil ako najideálnejšie riešenie.

Daný program rozdelí pôvodný gigabytový obraz na 24 rovnakých častí. Jednotlivé časti sú usporiadané do matice 6 x 4. Rozmery uvedenej matice vychádzajú z originálnych rozmerov obrazu. V prípade, že rozmery obrazu nie sú násobkom čísla šesť respektíve čísla štyri je pôvodný obrázok rozšírený o nulové obrazové body. Znázornenie rozdelenia obrázku je uvedené na obr. 1.3.

Takto získané časti sa môžu spracovávať zvlášť. Sú jednoznačne definované a preto ľahko adresovateľné. Ich ďalší proces editácie si naďalej vyžaduje vysoko výkonný počítač.

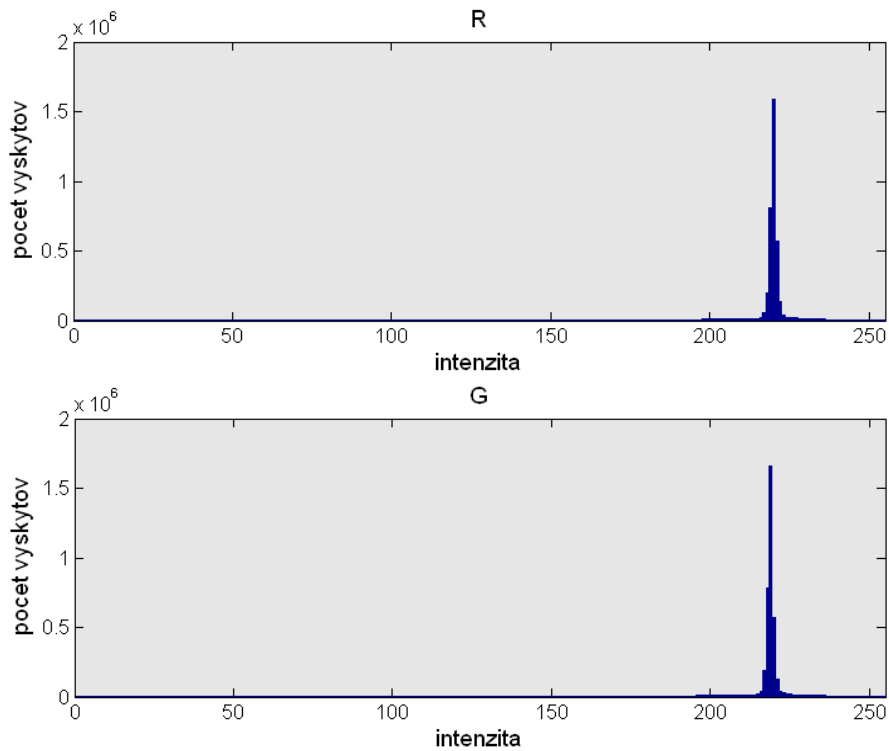


Obr. 1.3: Rozdelenie mikroskopického obrazu na 24 rovnakých častí a prípadné rozšírenie obrazovými bodmi s hodnotou nula

### 1.3 Histogram

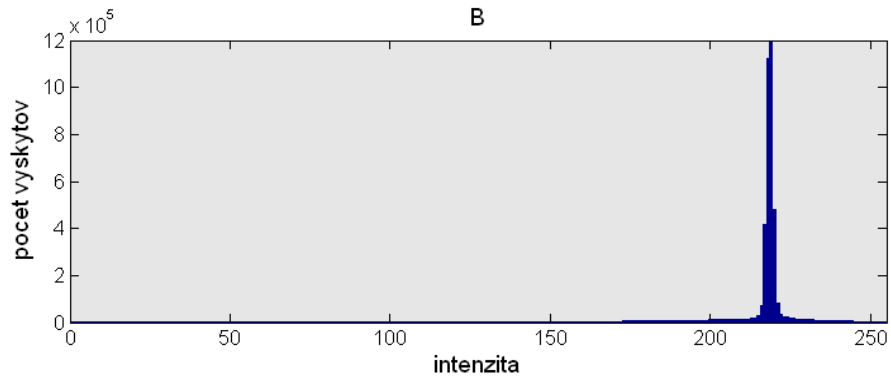
Histogram obrazu je funkcia, ktorá priradí každej úrovni jasnosti alebo farby zodpovedajúcu početnosť príslušného jasnosti alebo farby v obraze. Histogram je dôležitý z dôvodu získania globálnej informácie o obraze. Ďalej má veľký význam v určovaní prahovacej hodnoty.

Obraz 1.1 bol rozdelený na RGB zložky. Pre každú jednu zložku bol znázornený histogram (viď obr. 1.4 a 1.5).



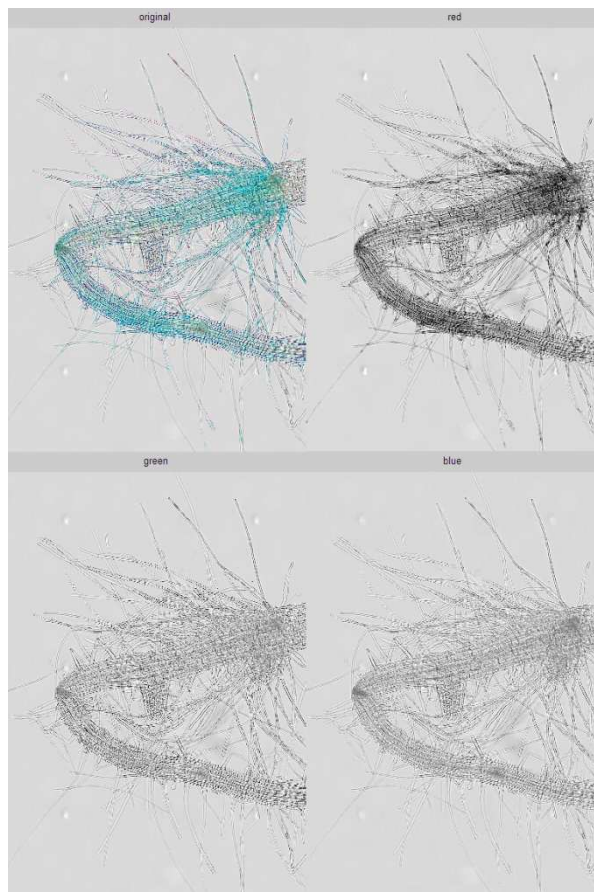
Obr. 1.4: Histogramy obrazu 1.1 pre červenú (R) a zelenú (G) zložku





Obr. 1.5: Histogramy obrazu 1.1 pre modrú (B) zložku

Na vodorovnej osi x jednotlivých histogramov sú hodnoty 256 bodov, ktoré zodpovedajú 256 odtieňom. Na zvislej osi y je počet pixelov. Histogramy potvrdzujú fakt, že spracovávaný obraz má výrazne sivé pozadie. Zelená a modrá zložka je dosť výrazná v obraze, kým červená chýba. To znamená, že pri zobrazení jednotlivých zložiek najvýraznejšie rozdiely odtieňov budú v červenej zložke. Na obr. 1.6 vidíme znázornené jednotlivé zložky.



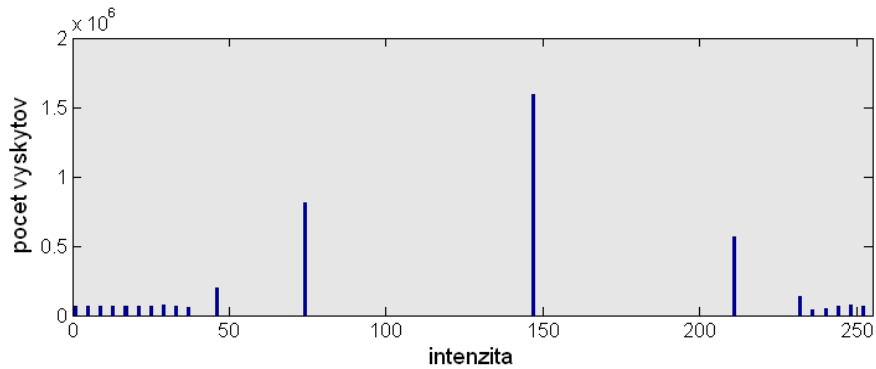
Obr. 1.6: Originálny obraz a jeho RGB zložky

### 1.3.1 Ekvalizácia histogramu

Jedna z možností na úpravu obrazu pred segmentáciou je vyrovnanie, ekvalizácia histogramu.

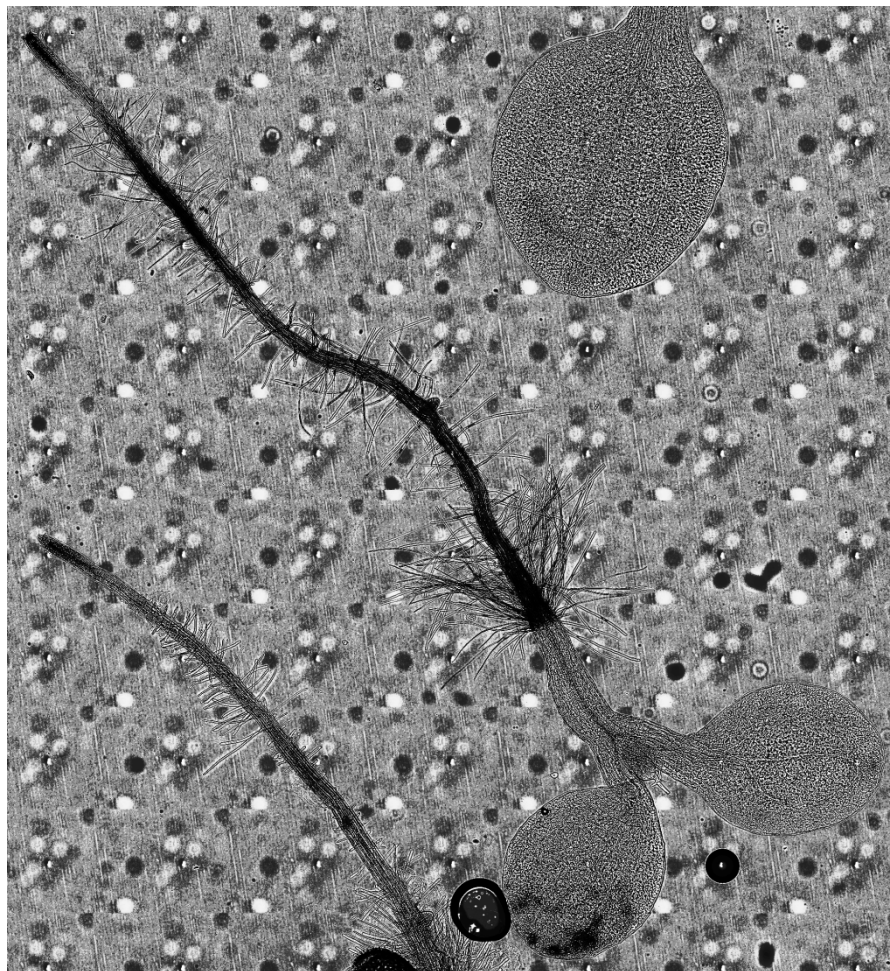
Cieľom ekvalizácie histogramu je vytvoriť obraz s rovnako rozloženými jasovými úrovňami v celej jasovej škále. Ekvalizácia je teda snaha o dosiahnutie ideálneho histogramu, ktorý obsahuje rovnaký počet z každej zastúpenej jasovej hodnoty.

Obraz 1.7 ukazuje histogram mikroskopického obrazu (viď obr. 1.1) po ekvalizácii. Pôvodný, nezmenený histogram červenej zložky je na obr. 1.4.



Obr. 1.7: Ekvalizovaný histogram

Po ekvalizácii histogramu sa hodnoty jasu v originálnom obraze výrazne zmenili (viď obr. 1.8).



Obr. 1.8: Obraz po ekvalizácii jeho histogramu

Došlo k zvýrazneniu objektov na pozadí, ktoré nenesú užitočnú informáciu. Znížil sa jasový rozdiel medzi rastlinným preparátom a jeho pozadím. Hrany v obraze sa stali ťažšie definovateľnými. Segmentácia v takto modifikovanom obraze by bola náročnejšia a menej efektívna. Preto sa od využitia tejto metódy upustilo.

## 2 PREDSPRACOVANIE OBRAZU

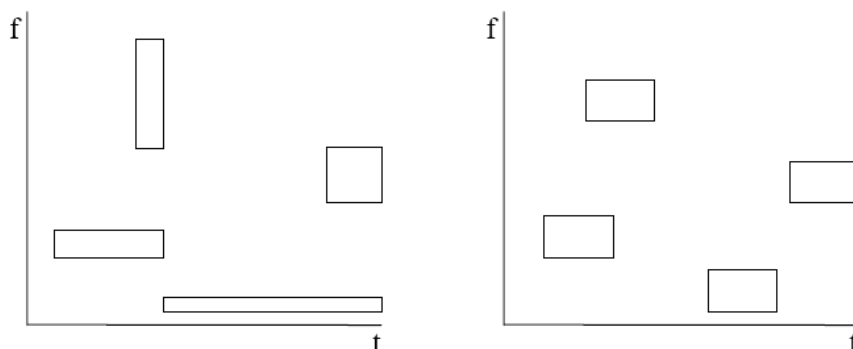
Obecným cieľom predspracovania obrazu je zlepšenie kvality obrazových dát, ktoré potlačí neželané deformácie, skreslenia a zlepši niektoré črty obrazu, ktoré sú dôležité z hľadiska ďalšieho spracovania.

Hlavnou požiadavkou u predspracovania mikroskopického obrazu bolo potlačenie šumu a zvýraznenie hrán v obraze. Na predspracovanie bola zvolená metóda vlnkovej transformácie, ktorej ďalšou výhodou je zmenšenie pôvodného obrazu.

### 2.1 Vlnková transformácia

Vlnková transformácia (WT) je transformácia umožňujúca analýzu nestacionárnych signálov.

Jednorozmerná vlnková transformácia môže byť popísaná v analógii k Fourierovej transformácii. Obidve transformácie sú reverzibilné. Hlavný rozdiel medzi vlnkovou transformáciou a Fourierovou transformáciou je ten, že vlnková transformácia nám dáva informácie o časovom rozmedzí, v ktorom sa v signáli daná frekvencia vyskytla a nie len o frekvenčnej oblasti. U stacionárnych signálov je táto informácia irelevantná. Preto na časovú lokalizáciu frekvenčných zložiek môžeme použiť krátkodobú Fourierovu transformáciu (STFT). WT sa rozvinula ako alternatíva STFT. Pri časovo-frekvenčnej lokalizácii signálu platí Heisenbergov princíp neurčitosti. Ten tvrdí, že nie je možné presne vedieť aká frekvencia existuje v danom časovom okamihu, teda aké frekvenčné zložky sa vyskytujú v danom časovom intervale. Vlnková transformácia umožňuje použiť pre lepšie spracovanie široké časové okienko na vysoké frekvencie a úzke časové okienko na nízke frekvencie (viď obr. 2.1) [11].



Obr. 2.1: Porovnanie rozlíšiteľnosti WT a STFT

#### 2.1.1 Materské vlnky

Vlnková transformácia, na rozdiel od Fourierovej transformácie, rozkladá transformovaný signál na modifikované verzie základnej funkcie, ktorá sa nazýva vlnka. Základná vlnka má názov materská vlnka a jedná sa o časovo obmedzený signál. Zmenou merítka a posúvaním materskej vlny sa z nej odvodzujú ďalšie vlnky podobného tvaru, ale roziahnuté prípadne stlačené.

Materská vlnka musí spĺňať nasledujúce vlastnosti [3]:

- Materská vlnka musí mať nulovú strednú hodnotu.
- Materská vlnka môže mať nenulovú hodnotu len na konečnom časovom intervale (alebo nenulové hodnoty musia byť zanedbateľné mimo tento konečný interval).

Modifikácia vlnky nesmie tieto podmienky porušiť.

Materská vlnka sa značí  $\psi(t) = \psi_{0,0}(t)$ . Vlnka  $\psi_{p,q}(t)$  je skrátaná alebo rozšírená  $p$ -krát a posunutá v čase  $t$  o  $q$  má tvar :

$$\psi_{p,q}(t) = \frac{1}{\sqrt{p}} \psi_0\left(\frac{t-q}{p}\right), \quad (2.1)$$

kde činiteľ  $\frac{1}{\sqrt{p}}$  zaručuje skutočnosť, že energia (plocha pod vlnkou), ktorá sa rozšíri alebo skráti, bude stále rovnaká [3].

Dôležitou vlastnosťou, ktorú by mali spĺňať bázy vlnkových funkcií je ortogonalita. Báza vlnkových funkcií bude ortogonálna vtedy, keď skalárny súčin medzi dvoma vlnkami z ortogonálnej báze bude nulový

$$\langle \psi_{p,q}(t), \psi_{r,s}(t) \rangle \geq \int_{-\infty}^{\infty} \psi_{p,q}(t) \psi_{r,s}^*(t) dt = 0, \quad (2.2)$$

pre všetky  $r, s, p, q \in \mathbb{R}$  spĺňujúce podmienky  $p \neq r$  a  $q \neq s$  [3].

Obecne komplexnú funkciu  $s(t)$  je možné vytvoriť ako lineárnu kombináciu báзовých vlniek [3]:

$$s(t) = \sum_p \sum_q b_{p,q} \psi_{p,q}(t). \quad (2.3)$$

Koeficienty  $b_{p,q}$  udávajú veľkosť, s akou sa jednotlivé vlnky  $\psi_{p,q}(t)$  podieľajú na vytváraní signálu  $s(t)$ . Po vynásobení obidvoch strán rovnice (2.3) komplexne združenou vlnkou  $\psi_{r,s}^*(t)$  a následným integrovaním sú vplyvom ortogonalít všetky dielčie kombinácie nulové okrem prípadu, keď  $p = r$  a  $q = s$ . Koeficient  $b_{p,q}$  sa potom rovná podielu dvoch integrálov [3]:

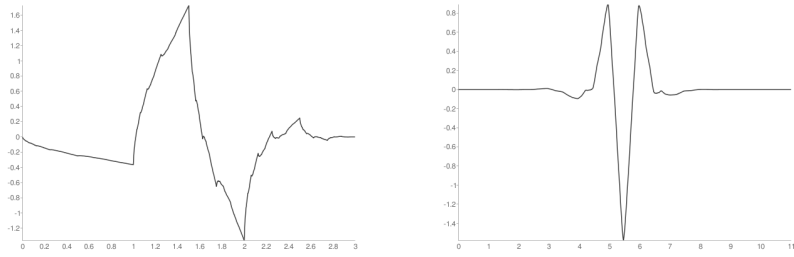
$$b_{p,q} = \frac{\int_{-\infty}^{\infty} s(t) \psi_{r,s}^*(t) dt}{\int_{-\infty}^{\infty} |\psi_{r,s}(t)|^2 dt}. \quad (2.4)$$

### 2.1.2 Typy materských vlniek

Historickým vývojom bolo vytvorených mnoho materských vlniek s tvarovo odlišným priebehom v čase.

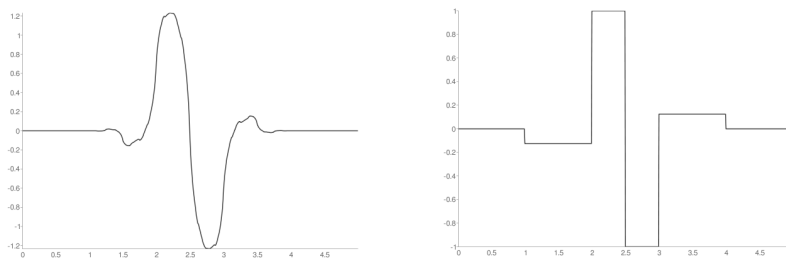
Najbežnejšie používané vlnky sú nasledujúce:

Daubechies a Coiflets - Autorom týchto materských vlniek je Ingrid Daubechies. Vlnky skupiny Daubechies sa označujú písmenami  $dbN$ , kde  $N$  je číslo bližšie určujúce vlnku. Vlnky sú spojité a ortonormálne (viď obr. 2.2). Vlnky Coiflets sú podobné. Boli pomenované R. Coifmana (viď obr. 2.2).



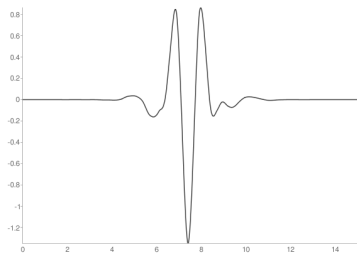
Obr. 2.2: Materské vlnky typu db2 a coif2 [16]

Biorthogonal - Skupina týchto vlniek umožňuje odvodzovať dôležité vlastnosti, ktoré sú potrebné pre rekonštrukciu signálu či obrazu. Miesto jednej jednoduchej vlnky používa dve vlnky, jednu pre rozklad a druhú pre rekonštrukciu signálu (viď obr. 2.3).



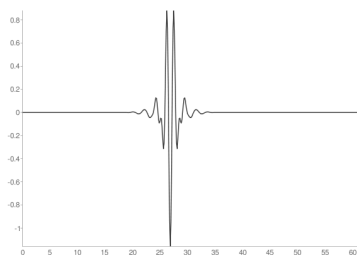
Obr. 2.3: Materské vlnky typu bior1.3 [16]

Symlets - Vlnky skupiny Symlets sú približne symetrické vlnky (viď obr. 2.4) a sú modifikáciami db skupiny. Vlastnosti týchto dvoch skupín sú podobné.



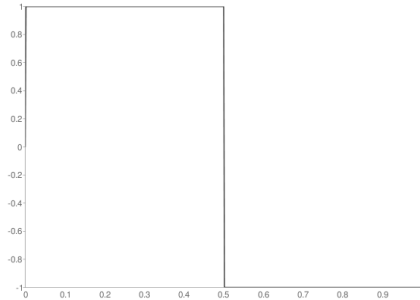
Obr. 2.4: Materská vlnka typu sym8 [16]

Meyer - Vlnková a škálovacia funkcia Meyerovej vlnky je definovaná v frekvenčnej oblasti. Priebeh vlnky je ukázaný na obr.2.5.



Obr. 2.5: Materská vlnka typu Meyer [16]

Haar – Autor tzv. Haarových vlniek ja maďarský matematik Haar Alfréd. K nemu sa viažu prvé zmienky o vlnkovej transformácii. Haarová vlnka je tvarovo najjednoduchšia (viď obr. 2.6). Je nespojitá a jej priebeh pripomína skokovú funkciu.



Obr. 2.6: Materská vlnka typu Haar [16]

### 2.1.3 Druhy vlnkových transformácií

Rozlišujeme tri druhy vlnkových transformácií [3]:

- Spojitá vlnková transformácia (CWT).
- Diskrétna vlnková transformácia (DWT).
- Diskrétna vlnková transformácia s diskrétnym časom (DTWT).

#### Spojitá vlnková transformácia (CWT)

Ide o transformáciu pri ktorej sú spojité ako zmena merítka a posunov tak aj vstupný signál a vlnky. Spojitá vlnková transformácia je definovaná ako [4]:

$$S_{CWT}(p, q) = \int_{-\infty}^{\infty} s(t) \frac{1}{\sqrt{p}} \psi\left(\frac{t}{p} - q\right) dt, p > 0, q \in R. \quad (2.5)$$

Spektrum  $S_{CWT}(p, q)$  je dvojrozmerná funkcia a jej hodnoty sú dané korelačným integrálom medzi analyzovaným signálom  $s(t)$  a bázovou funkciou  $\frac{1}{\sqrt{p}} \psi(\cdot)$ . Parameter  $p$  materskej vlnky  $\psi$  značí merítka a ovláda časovú dilatáciu funkcie (pre  $p > 1$  je vlnka natiahnutá  $p$  - krát). Parameter  $q$  ovplyvňuje časový posun funkcie pozdĺž časovej osy. Zmena tohto parametra umožňuje postupne pokryť vlnkami, ktoré majú určité konečné trvanie, celý časový rozsah signálu. Identifikácia časového umiestnenia spektrálnych hodnôt je možná s presnosťou zodpovedajúcou dĺžke konkrétnej vlnky [4].

Vlastnosti CWT [8]:

- Linearita:

$$(W(af_1 + bf_2))(p, q) = a(Wf_1)(p, q) + b(Wf_1)(p, q) \quad (2.6)$$

- Invariancia v čase:

$$W\hat{f}(q, s) = W\hat{f}(q - b, s) \quad \hat{f}(t + b) = f(t) \quad (2.7)$$

Invariancia v čase popisuje skutočnosť, že posun analyzovanej funkcie po časovej ose spôsobí rovnaký posun vlnkových koeficientov po ose polohy.

- Dilatácia:

$$W\hat{f}(q, s) = (Wf)\left(aq, \frac{s}{a}\right) \quad \hat{f} = \sqrt{|a|}f(at) \quad a \neq 0 \quad (2.8)$$

Vzťah popisuje závislosť medzi CWT originálnej funkcie a jej rozťahnutou prípadne zúženou podobou. Vo vlnkových koeficientoch dôjde k adekvátnemu rozťahnutiu v osi polohy a k posunu v osi merítka.

### Diskrétna vlnková transformácia (DWT)

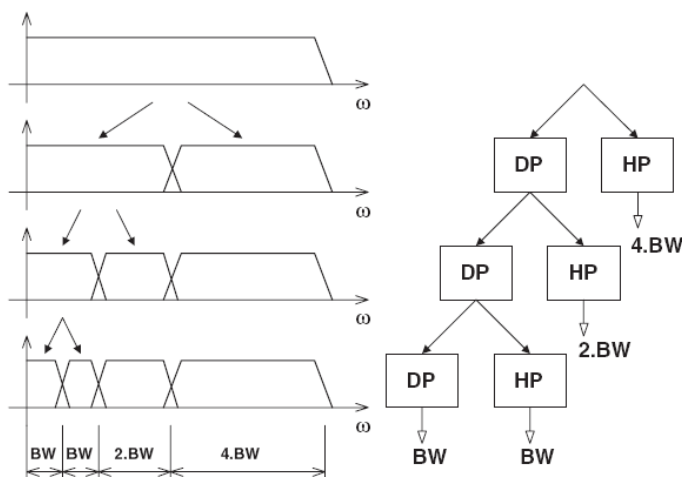
Diskrétna vlnková transformácia pri ktorej sú spojité zmeny merítka, vstupný signál a vlnkové funkcie a posuny uskutočňované diskkrétne po skokoch. Parametre  $p$  a  $q$  sa menia diskkrétne. V prípade, že  $p = 2^l$  a  $q = i2^lP$  sa jedná o dyadicú diskrétnu vlnkovú transformáciu. Ak dosadíme tieto diskkrétne parametre do definičného vzťahu vlnkovej funkcie (2.1) tak dostaneme [3]:

$$\psi_{p,q}(t) = \frac{1}{\sqrt{|p|}} \psi\left(\frac{t-q}{p}\right) = \frac{1}{\sqrt{2^l}} \psi\left(\frac{t-i2^lP}{2^l}\right) = \sqrt{2^{-l}} \psi(2^{-l}t - iP) \quad (2.9)$$

Definícia dyadickej diskkrétnej vlnkovej transformácie je [3]:

$$S_{DWT}(i, l) = \frac{1}{\sqrt{2^l}} \int_{-\infty}^{\infty} s(t) \psi(2^{-l}t - iP) dt. \quad (2.10)$$

kde  $l$  zodpovedá merítku a  $P$  polohe. Vlnka  $\psi$  umožňuje neredundantnú dekompozíciu signálu, tzv. analýzu s mnohými rozlíšeniami. Tento princíp je základom diskkrétnej vlnkovej transformácie. Vlnková funkcia  $\psi$  sa chová ako pásmová prepust' filtrujúca vstupný signál okolo stredného kmitočtu, ktorý je závislý na merítku mocninou dvoch, v nasledujúcom merítku je filtrovaná horná polovica pásma predošlej dolnofrekvenčnej časti signálu (viď obr. 2.7). S rastúcim kmitočtom rastie šírka pásma (BW) tohto filtra, činiteľ akosti  $Q$  je tak konštantný pre celú množinu merítkom odvodených filtrov. Pre zvolené minimálne merítko však zostáva nepokryté pásmo od nižších kmitočtov do nuly. Preto je od vlnky odvodená merítková funkcia, ktorá má charakter dolnej prepusti [8].



Obr. 2.7: Frekvenčný pohľad na diskrétnu vlnkovú transformáciu [8]



Diskrétna vlnková transformácia môže byť tiež definovaná ako špeciálne vzorkovaná CWT, ktorá spĺňa nasledujúce podmienky [8]:

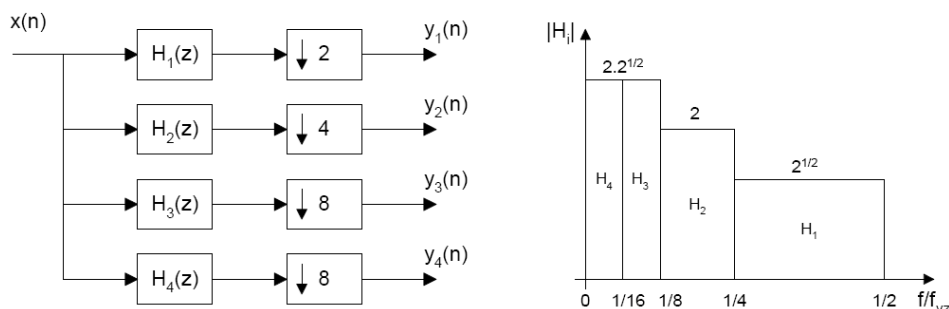
- vzorkovanie časovo-merítkového priestoru musí prebiehať na dvojkovej mriežke
- použitá vlnka musí vytvárať ortonormálnu bázu analyzovaného priestoru
- analyzujúca vlnka musí mať kompaktný nosič

### Diskrétna vlnková transformácia s diskretným časom (DTWT)

Jedná sa o transformáciu, pri ktorej vlnkové funkcie a vstupný signál sú diskkrétne signály a zmeny merítka a posuny sú uskutočňované tiež diskkrétne. Definícia danej transformácie je nasledovná [3]:

$$S_{DTWT}[i, l] = \frac{1}{\sqrt{2^l}} \sum_{n=-\infty}^{\infty} s[n] \psi^*[2^{-l}n - i]. \quad (2.11)$$

Diskrétna vlnková transformácia s diskretným časom je definovaná analogicky k DWT využitím rozkladu signálu bankou diskretných oktavových filtrov. Koefficienty dyadickej DTWT sú tvorené výstupnými vzorkami banky filtrov. Vzhľadom k tomu, že sú výstupy filtrov podvzorkované je počet koefficientov transformácie totožný s počtom vzoriek vstupného signálu. Na obr. 2.8 je znázornená realizácia trojstupňovej dyadickej DTWT bankou oktavových filtrov s podvzorkovaním výstupov. Výstupné postupnosti sú koefficienty dyadickej DTWT. Bloky so symbolom  $\downarrow 2^m$  zaisťujú podvzorkovanie (výber každej  $2^m$ -tej vzorky signálu) [5].



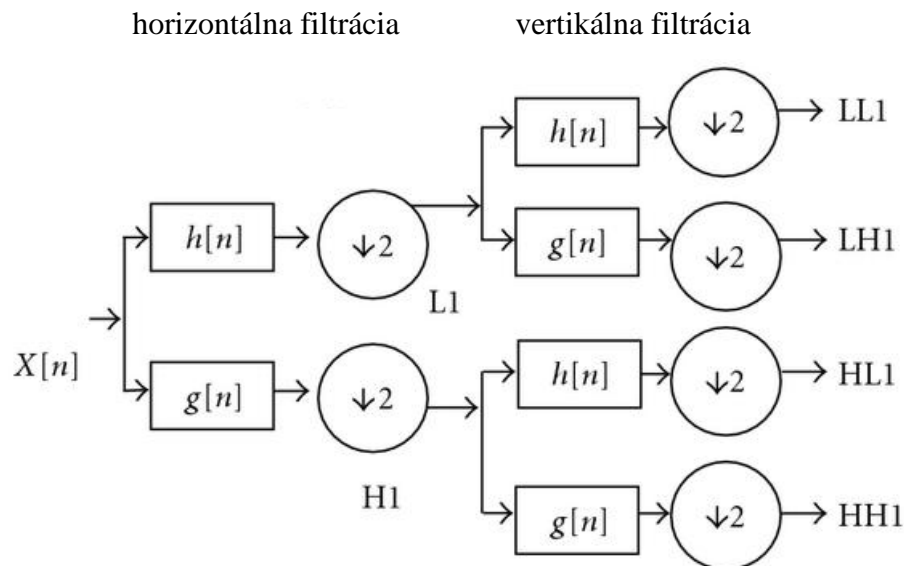
Obr. 2.8: Trojstupňová dyadická DTWT a frekvenčné charakteristiky ideálnych oktavových filtrov [5]

### 2.1.4 Vlnková transformácia dvojrozmerného signálu

Dvojrozmerná vlnková transformácia (2D DWT) je rozšírením jednorozmernej vlnkovej transformácie. Jej hlavnou vlastnosťou je oddeliteľnosť, to znamená, že umožňuje najprv spracovať pomocou 1D transformácie stĺpce a potom riadky matice vstupného signálu.

Realizácia dvojrozmernej vlnkovej transformácie môže byť uskutočnená využitím banky filtrov. Na obrázku 2.9 je znázornený dekompozičný krok 2D DWT pre jednu úroveň rozkladu. Bloky značené  $h[n]$  predstavujú filtre typu horná prepust' a bloky značené  $g[n]$  predstavujú filtre typu dolná prepust'. Filtre majú rovnaké vlastnosti v celom dekompozičnom kroku a sú jednorozmerné. Vstupný signál  $X[n]$  je privedený na vstup filtrov a je reprezentovaný jednotlivými riadkami vstupnej matice dát. Výstupy obidvoch filtrov sú následne podvzorkované po stĺpcoch čo spôsobí, že výstupné matice

budú mať rovnaký počet riadkov ale polovičný počet stĺpcov ako vstupná matica. Následne sú tieto matice privedené po stĺpcoch na vstup filtrov. Po filtrácii sú jednotlivé výstupné matice podvzorkované ale na rozdiel od predchádzajúceho kroku tentokrát po riadkoch. Výsledkom celého procesu budú štyri matice koeficientov, ktoré budú mať polovičný počet riadkov a stĺpcov ako vstupná matica. Jednotlivé matice koeficientov sú označené LL1, LH1, HL1 a HH1.



Obr. 2.9: Dekompozičný krok 2D DWT pre prvú úroveň rozkladu [9]

- LL1 - matica aproximačných detailných vlnkových koeficientov
- LH1 - matica horizontálnych detailných vlnkových koeficientov
- HL1 - matica vertikálnych detailných vlnkových koeficientov
- HH1 - matica diagonálnych detailných vlnkových koeficientov

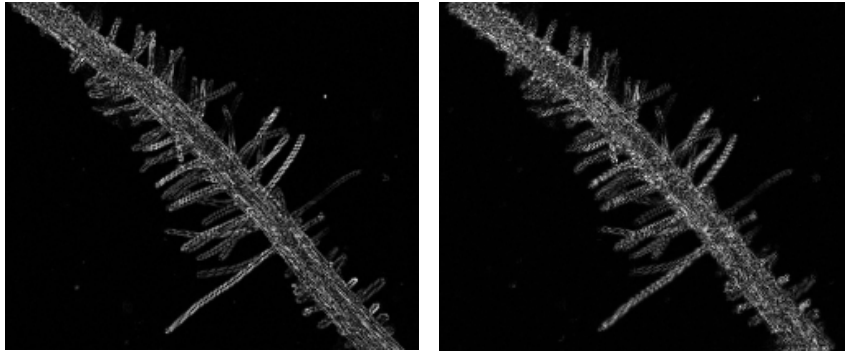
Možnú oblasť aplikovania dvojrozmernej vlnkovej transformácie predstavujú dvojrozmerné obrázky, u ktorých môže byť využitá na zvýraznenie hrán. Vhodnosťou využitia a experimentálnym overením 2D DWTV pre účely daného projektu sa zaoberá ďalšia podkapitola.

## 2.2 Wavelet Toolbox

Na experimentovanie a overenie možnosti použitia vlnkovej transformácie pre spracovanie daného obrázku sa ukázal byť ideálny v Matlabe implementovaný Wavelet toolbox.

Tento Matlabovský subprogram priamo umožňuje dvojrozmernú vlnkovú transformáciu. Po jej zvolení sa postupne aplikovali jednotlivé materské vlnky. Výsledky dosiahnuté jednotlivými vlnkami boli porovnané pri jedno a dvoj úrovňovom rozklade.

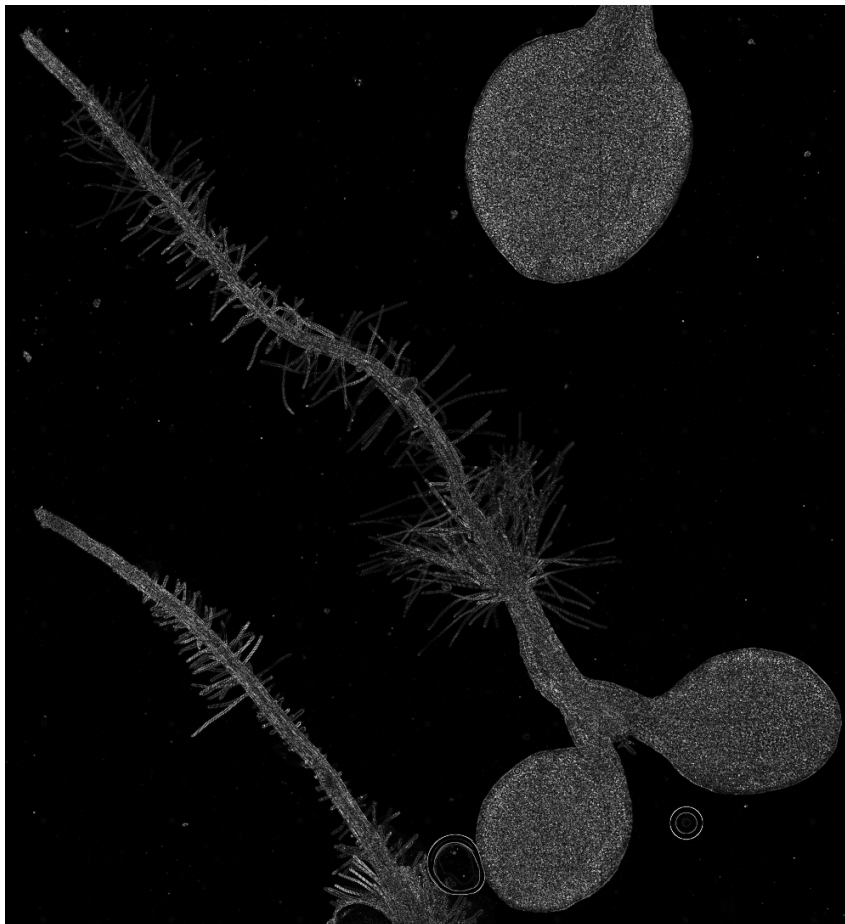
Na obr. 2.10 sú znázornené výsledky dosiahnuté vlnkami Haar a Coiflets. Hrany v obraze sú po použití Haarovej vlnky najostrejšie. Ďalšou výhodou použitia Haarovej vlnky je skutočnosť, že sa jedná o najjednoduchšiu vlnku. Znamená to, že jej používanie vyžaduje najmenej času. Z týchto dôvodov bola pre ďalšiu prácu s obrazom vybraná Haarova vlnka.



Obr. 2.10: Porovnanie dosiahnutých výsledkov vlnkovou transformáciou s využitím Haarových vlniek a s využitím Coifletsových vlniek

### 2.3 Výsledný predspracovaný obraz

Wavelet Toolbox je rýchla a pomerne jednoduchá aplikácia na použitie pre spracovávanie obrazu vlnkovou transformáciou. Jej ďalšie použitie však v rámci navrhnutého softwaru je nemožné z dôvodu, že si vyžaduje zásah užívateľa. A tým nie je splnená požiadavka na plne automatický program. Celý postup vlnkovej transformácie sa preto realizuje pomocou Matlabovských funkcií. Na obr. 2.11 je znázornený výsledný predspracovaný obraz. Bola použitá vlnková transformácia, zvolená úroveň rozkladu sa rovná jednej a jedná sa o Haarovú vlnku.



Obr. 2.11: Výsledný predspracovaný obraz aplikovaním 2D DWT.

Matematicky zápis daného procesu je:

$$P(x, y) = \frac{|H^1(x, y)| + |V^1(x, y)| + |D^1(x, y)|}{3}, \quad (2.12)$$

kde  $P(x, y)$  je výsledná matica,  $H$  predstavuje horizontálny,  $V$  vertikálny a  $D$  diagonálny detailný koeficient v absolútnej hodnote vstupnej matice pre prvú úroveň rozkladu s využitím Haarovej vlnky.

# 3 SEGMENTÁCIA

Obecná definícia segmentácie hovorí, že je to proces delenia obrazu do častí, ktoré korešpondujú s konkrétnymi objektmi v obraze. Inými slovami, každému zobrazenému pixelu je priradený index segmentu vyjadrujúci určitý objekt v obraze. Segmentácia je jeden z najdôležitejších krokov analýzy obrazu. Informáciu o rozdelení obrazu do jednotlivých segmentov využívajú vyššie algoritmy spracovania obrazu. Snažia sa porozumieť obsahu obrazu. Konkrétnou úlohou môže byť detekcia prítomnosti príslušného objektu alebo nájdenie a klasifikácia objektov v obraze.

V odbornej literatúre sú uvedené rôzne segmentačné techniky. Neexistuje ale technika, ktorej výsledok by sa dal považovať za rovnako dobrý pre každý typ množiny dát. Rozdiel medzi jednotlivými segmentačnými metódami je hlavne v závislosti na aplikačnej oblasti a v zobrazovacej modalite. Výsledok segmentácie môžu do značnej miery ovplyvniť všeobecné zobrazovacie artefakty ako napr. šum či pohybové efekty. Sú metódy, ktoré sú generalizované a môžu byť aplikované na širší okruh dát, ale metódy špecializované na konkrétny problém dávajú vždy lepšie výsledky.

## 3.1 Obecná definícia segmentácie

Segmentácia obrazu  $f(x,y)$  je jeho delenie na podobrazy  $R_1, R_2, \dots, R_n$  tak, že podobrazy spĺňajú nasledujúce kritéria [10]:

- $\bigcup_{i=1}^n R_i = f(x, y)$ ,
- $R_i \cap R_j = \emptyset, i \neq j$ ,
- každý podobraz spĺňa jedno tvrdenie, prípadne množinu tvrdení, napr.:
  - všetky pixely v podobraze  $R_i$  majú rovnakú úroveň šedi,
  - všetky pixely v podobraze  $R_i$  sa nelíšia v úrovni šedi viac než o zvolenú hodnotu,
  - štandardná odchýlka úrovni šedi všetkých pixelov podobrazu  $R_i$  je dostatočne malá, apod.

## 3.2 Segmentačné metódy

Jednotlivé segmentačné techniky je možné klasifikovať rôznymi spôsobmi. Mnohé odborné publikácie rozdeľujú segmentačné metódy do rôznych skupín a podskupín. Jedna možnosť na klasifikáciu segmentačných techník je na základe ich prístupu k segmentácii a je nasledovná [6]:

- štrukturálne techniky – k segmentácii využívajú štrukturálne informácie
- stochastické techniky – spoliehajú sa na metódy štatistickej analýzy, rozhodujú sa na úrovni pixelov, alebo ich okolia
- hybridné techniky – zlučujú dve predošlé techniky

### 3.2.1 Štrukturálne techniky

Metódy patriace do tejto kategórie sú založené na využívaní štrukturálnych informácií. To znamená, že sa snažia hľadať informácie ako sú hrany a integrujúce plochy v dvojrozmerných obrázkoch.

## Technika detekcie hrán

Patrí medzi základné segmentačné techniky. Je orientovaná na detekciu významných hrán v obraze. Každá hrana je určená smerom a veľkosťou. Pri detekcii hrán sa využíva prvá alebo druhá derivácia obrazovej funkcie. Lokálne hrany sú detekované pomocou hranových detektorov na základe rozdielu hodnôt okolitých pixelov. Hranový detektor je algoritmus, ktorý produkuje množinu hrán (bodov, pixelov alebo fragmentov) v obraze.

Prvú deriváciu obrazovej funkcie aproximuje Sobelov operátor, operátor Prewittovej, Robertsov operátor, Kirschov operátor a Robinsonov operátor. To znamená, že tieto operátory určujú hrany ako maximá prvej derivácie.

Robertsov operátor je jeden z najstarších a najjednoduchších. Využíva okolie 2x2 jedného pixelu. Jeho konvolučná maska je:

$$h_1 = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & -1 \end{bmatrix}, h_2 = \begin{bmatrix} 0 & 1 \\ -1 & 0 \end{bmatrix} \quad (3.1)$$

Sobelovým operátorom môže byť dosiahnutá lepšia aproximácia. Jedná sa o operátor smerovo závislý. Konvolučné masky pre dva smery sú:

$$h_1 = \begin{bmatrix} 1 & 2 & 1 \\ 0 & 0 & 0 \\ -1 & -2 & -1 \end{bmatrix}, h_2 = \begin{bmatrix} 0 & 1 & 2 \\ -1 & 0 & 1 \\ -2 & -1 & 0 \end{bmatrix} \quad (3.2)$$

Podobne ako Sobelov operátor aj operátor Prewittovej, Kirschov a Robinsonov vznikajú ako variácie centrálnej diferenciálnej rovnice (3.3) a ich konvolučné masky sa líšia iba v koeficientoch.

$$\Delta f(x) = \frac{f(x+1) - f(x-1)}{2h} + O(h^2) \quad (3.3)$$

Druhú deriváciu obrazovej funkcie využíva Laplaceov operátor. Jeho princíp spočíva v tom, že hľadá hrany v miestach kde druhá derivácia obrazovej funkcie pretína nulu. Laplaceov operátor je charakteristický aj tým, že kladie dôraz na stredový bod a súčet všetkých jeho koeficientov sa rovná nule. Jeho konvolučná maska je:

$$h_1 = \begin{bmatrix} 0 & 1 & 0 \\ 1 & -4 & 1 \\ 0 & 1 & 0 \end{bmatrix}, h_2 = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 \\ 1 & -8 & 1 \\ 1 & 1 & 1 \end{bmatrix} \quad (3.4)$$

Veľmi často býva k detekcii využívaný Cannyho hranový detektor. Najviac sa uplatňuje pri detekcii skokových hrán. Podľa J. F. Cannyho by mal spĺňať tri kritéria:

- detekčné kritérium – musia byť detekované dôležité hrany a nesmú byť detekované falošné hrany,
- lokalizačné kritérium – vzdialenosť medzi skutočnou a detekovanou hranou musí byť čo najmenšia,
- kritérium odozvy – každá hrana môže byť detekovaná iba raz.

Nevýhodou techník detekcií hrán je tá skutočnosť, že ich efektívnosť výrazne klesá

pri prítomnosti šumu a pri nízkom kontraste. Ďalšou ich slabinou je, že detekujú všetky hrany v danom obraze čo v značnej miere znižuje ich použiteľnosť pri plne automatických obrazových analýzach.

### **Morfologické techniky**

Morfológia predstavuje matematický nástroj pre segmentáciu obrazov. Medzi hlavné morfologické techniky patria dilatácia a erózia. Dilatácia sa využíva na zaplnenie malých dier a úzkych zálivov v obrazoch a taktiež môže viesť k zväčšeniu objektov v obraze. Erózia má opačný výsledok a to odstránenie objektov menších ako zvolená hodnota a rozdelenie zložitých objektov. Nevýhodou morfologických techník je fakt, že nezabezpečujú vysokú presnosť a pri ich aplikácii hrozí riziko straty dôležitých dát. Ako príklad by mohla poslúžiť skutočnosť, že séria dilatácií nasledovaná sériou erózie má za následok stratu vysokých frekvencií.

Morfologické metódy sa určite neuplatňujú ako samostatné segmentačné techniky. Ich výhodnosť použitia môže skôr spočívať pri ich využití v rámci iných segmentačných techník.

### **Deformovateľné modely**

Deformovateľné modely sú krivky definované v obraze, ktoré sa deformujú pôsobením vonkajších a vnútorných síl. Vonkajšie sily sú definované obrazom, posúvajú krivku smerom k bodom, ktoré krivku priťahujú. Vnútorné sily udržujú krivku hladkou.

Najpopulárnejšou metódou sú aktívne kontúry (snakes), ktoré predstavujú krivky minimalizujúce hodnotu vnútornej a potenciálnej energie krivky.

Ďalším zástupcom sú tzv. balóniky (balloons). Pokiaľ je do vnútra objektu umiestená východzia krivka, tak je deformovaná rovnako, ako nafukovaný balónik. Na okrajoch objektu sa krivka v rozpínaní zastaví rovnako, ako by sa tam zastavil nafukujúci sa balónik.

Výhodou danej metódy je odolnosť proti šumu, nespojitostiam objektu v obraze a schopnosť vyhľadať zložité tvary. Nevýhodami sú väčší počet parametrov, ktoré je nutné nastaviť (napr. ohybnosť, tuhosť, napätie krivky), a manuálne nastavenie východzej krivky, ktorá potom bude deformovaná. Táto metóda je skôr vhodná pre poloautomatickú segmentáciu.

### **Izoplochy**

Izoplocha je plocha preložená cez body priestoru, v ktorých je hodnota jasú rovná vstupnej hodnote (isovalue). Daná metóda sa prevažne používa v oblasti zobrazovania, na využitie pre potreby segmentácie musí byť modifikovaná pridaním algoritmu na sledovanie pohybu kriviek.

Sledovanie vývoja kriviek je možné realizovať viacerými technikami. Jedna z možností je numerická metóda, ktorá kladie značkovacie body na evolvujúcu sa plochu. Pozícia týchto bodov sa mení v závislosti na pohybujúcej sa ploche. Ďalšia z možností je technika level-sets, ktorá využíva spojitosť medzi pohybujúcimi sa povrchmi a rovnicami popisujúcimi chovanie kvapalín. Výhoda tejto metódy je, že sa dá použiť na výrazne komplexné povrchy, ktoré môžu obsahovať diery či na povrchy, ktoré sú rozdelené na niekoľko ďalších objektov. Má teda mnoho teoretických a praktických výhod [17].

### 3.2.2 Stochastické techniky

U algoritmov patriacich medzi stochastické techniky tvorí základ segmentácie štatistická analýza obrazových dát, najčastejšie hodnôt pixelov. Štruktúrna informácia je obvykle zanedbávaná.

#### Prahovanie

Prahovanie patrí medzi najjednoduchšie a najrýchlejšie segmentačné techniky. Využíva sa k prevedeniu šedotónového obrazu s viacerými úrovňami jasů na obraz, v ktorom sa vyskytujú väčšinou len dve jasové úrovne (čierna a biela). Bodom s hodnotou jasů väčšiou ako určitá hodnota – prah je priradená hodnota 1, ostatným bodom je priradená 0.

Existuje niekoľko typov prahovacích prístupov. Medzi najčastejšie používané patrí globálne prahovanie, poloprahovanie, adaptívne prahovanie, multispektrálne prahovanie a hysterézne prahovanie.

Globálne prahovanie je charakteristické tým, že je nájdená alebo zvolená určitá hodnota prahu  $T$ , a hodnotám jasů v obraze, pre ktoré platí  $f(x,y) \geq T$ , je priradená 1, prípadne 0. Táto hodnota prahu  $T$  je použitá pre celý obraz. Prahovanie je možné zapísať ako:

$$g(x,y) = 1, \text{ keď } f(x,y) \geq T,$$

$$g(x,y) = 0 \text{ inak.}$$

Poloprahovanie je metóda, pri ktorej sa pixelom, ktorých hodnota je vyššia alebo rovná hodnote prahu  $T$  ponecháva ich pôvodná hodnota. Poloprahovanie sa dá vyjadriť ako:

$$g(x,y) = f(x,y), \text{ keď } f(x,y) \geq T,$$

$$g(x,y) = 0 \text{ inak.}$$

Adaptívne prahovanie sa líši od globálneho tým, že hodnota prahu je iná pre rôzne časti obrazu. Obraz sa najprv rozdelí do niekoľko častí, pre každú časť je vypočítaná hodnota prahu (prahy jednotlivých oblastí môžu byť interpolované). Prahovanie sa realizuje pre každú časť s jej nastavenou hodnotou prahu. Existujú dve základné techniky na výpočet prahovej hodnoty a to technika Chow a Kanenho a metóda zvaná lokálne prahovanie.

Multispektrálne prahovanie môže byť efektívne pri obrazoch, ktorých objekty majú rôzne jasové hodnoty. Princíp tejto techniky spočíva v tom, že rozdelí obraz na viac než dve disjunktné množiny.

$$g(x,y) = a_1, \text{ keď } f(x,y) \in I_1,$$

$$g(x,y) = a_2, \text{ keď } f(x,y) \in I_2,$$

$$g(x,y) = \dots, \text{ keď } \dots,$$

$$g(x,y) = a_n, \text{ keď } f(x,y) \in I_n,$$

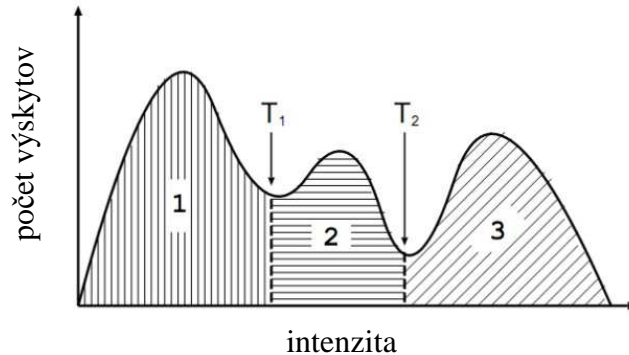
$$g(x,y) = 0 \text{ inak.}$$

kde  $I_1, \dots, I_n$  sú disjunktné intervaly jasových hodnôt,  $a_1, \dots, a_n$  sú rôzne jasové úrovne.

Ďalšou možnou modifikáciou je hysterézne prahovanie. Pri tejto technike sú zvolené dve prahovacie hodnoty  $T_1$  a  $T_2$  (viď obr. 3.1). Za objekty sú označené tie



oblasti, ktorých intenzita je vyššia ako  $T_1$  a obsahujú ale aspoň jeden pixel s intenzitou vyššou ako  $T_2$ .

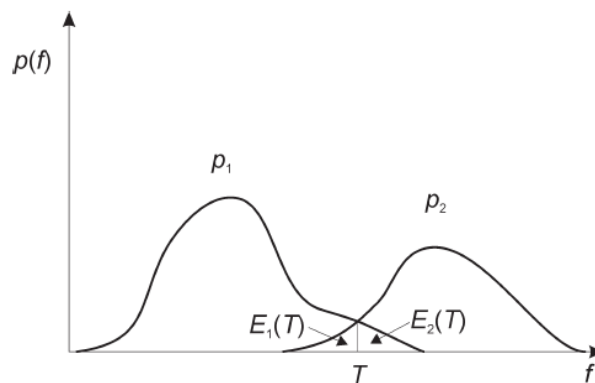


Obr. 3.1: Histogram s dvomi prahovacími hodnotami  $T_1$  a  $T_2$  [6]

Správna voľba prahu je pre úspešný výsledok prahovania zásadná. Hodnotu prahu môžeme určovať interaktívne (pokusne), alebo pomocou niektorých z metód automatického určovania prahu napr. hľadanie lokálneho minima. Ak histogram obrazovej funkcie je bimodálny, to znamená, že predmety v obraze majú výrazne odlišnú hodnotu jasu od pozadia, lokálne minimum medzi dvoma špičkami histogramu sa použije ako prahová hodnota.

Medzi automatické metódy určovania prahu patrí aj Otsuová metóda. Je pomenovaná podľa japonského matematika Nobuyuki Otsu. Vychádza z relatívneho histogramu a je založená na štatistických výpočtoch. Predpokladá existenciu dvoch tried, bodov objektov a bodov pozadia, ktoré sú rozdelené prahom.

Histogram považujeme za funkciu hustoty pravdepodobnosti (rozdelenia). Histogram aproximuje dvoma krivkami  $p_1$  a  $p_2$  (viď obr. 3.2), kde krivky predstavujú dve rozdelenia reprezentujúce popredie a pozadie. Základnou myšlienkou je nájsť správny stred, prah tak, aby rozdelenia boli čo najďalej od seba [12].



Obr. 3.2: Hľadanie optimálneho prahu [12]

Jedná sa o nájdenie prahu v takom mieste histogramu, kde vzdialenosť stredných hodnôt oboch tried je maximálna a dochádza tak k optimálnej separácii objektov a pozadia.

## Klasifikačné metódy

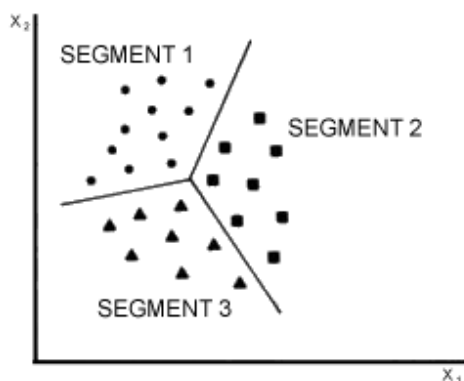
Klasifikačné metódy zaraďujú neznáme objekty v obraze do tried. Jednotlivé objekty sú reprezentované vektorom hodnôt, ktorý popisuje určité vlastnosti objektu (ako napr. rozmer, jas atď.). Trieda je definovaná jedným alebo viacerými vzorovými obrazmi tzv. klasifikátormi.

Klasifikátory obsahujú trénovacie údaje, ktoré sú presegmentované a slúžia ako referencia. Najčastejšie používané klasifikátory sú klasifikátor najbližšieho suseda a klasifikátor maximálnej pravdepodobnosti zvaný tiež bayesovský.

Nevýhodou tejto metódy je získavanie trénovacích údajov. Tie sa môžu získať buď z každého objemu, ktorý je potrebné segmentovať (časovo náročné), alebo je možné použiť tú istú trénovaciu množinu pre viacero výpočtov (spôsobuje vychýlenie, ktoré neberie ohľad na anatomickú a fyziologickú variabilitu medzi jednotlivými subjektmi) [17].

## Zhluková analýza

Metoda zhlukovej analýzy pixelov podobných vlastností je priamo závislá na meraní prevedených pre každý pixel. Každý pixel je reprezentovaný vektorom  $X=[x_1, x_2, \dots, x_N]^T$  obsahujúcim výsledky jednotlivých meraní pre daný pixel. Meranými oblasťami môžu byť farebné komponenty pixelu, vlastnosti okolia pixelu akými sú stredná hodnota okolitých pixelov, rozptyl, apod. Je nutné navrhnuť také meranie, aby pixely z jedného segmentu boli ohodnotené rovnako a z rôznych segmentov rozdielne. Dáta by mali byť v pevnom zhluku v  $N$ - rozmernom priestore. Príklad zhlukovej analýzy je uvedený na obr. 3.3.



Obr. 3.3: Príklad zhlukovania v 2D priestore [10]

Výhoda danej metódy je, že sa dá ľahko rozšíriť a patrí medzi jednoduchšie metódy. Má veľa modifikácií a postupov. Nevýhodou je problém stanovenia cieľového počtu zhlukov a závislosť výslednej segmentácie na počiatočnom nastavení prvých zhlukov.

## Markovské náhodné polia

Ide o štatistický model, ktorý môže byť využitý v rámci segmentačných prístupov. Markovské náhodné polia modelujú priestorové väzby medzi susednými a blízkymi pixelmi obrazu. Typicky platí, že väčšina pixelov obrazu patrí do rovnakého segmentu ako jeho susedia. Teda akýkoľvek objekt či segment o veľkosti jedného pixelu má

veľmi malú pravdepodobnosť výskytu v obraze.

Markovské náhodné polia spoločne s Bayesovským modelom môžu byť spracované do zhlukových segmentačných algoritmov. Výslednú segmentáciu získame maximalizáciou posteriornej pravdepodobnosti  $p(C/X)$  (pravdepodobnosť, že vzorka  $X$  patrí do segmentu  $C$ ) pre všetky body obrazu.

Nevýhoda spojená s MRF modelmi je náročná voľba riadiacich parametrov, ktoré ovplyvňujú silu priestorových väzieb medzi pixelmi obrazu. Zlé nastavenie parametrov môže spôsobiť nadmierne hladké hranice medzi segmentami obrazu a tým pádom stratu dôležitých detailov. Metódy založené na MRF sú výpočtovo veľmi náročné.

### 3.2.3 Hybridné techniky

Jedná sa o segmentačné techniky, ktoré obsahujú prvky štruktúrnych a stochastických segmentačných techník.

#### Metóda šírenia oblasti

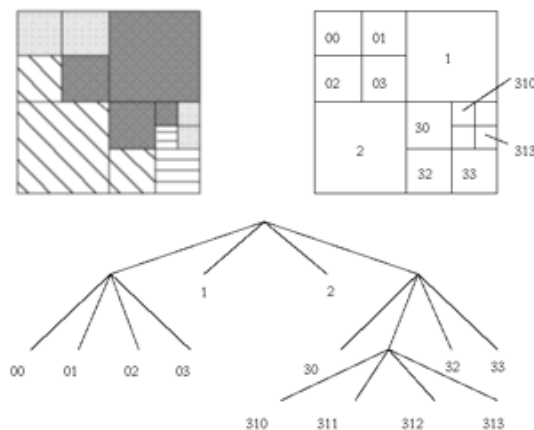
Princíp metódy spočíva v tom, že susedné pixely s podobnou amplitúdou sú zoskupované k sebe a vytvárajú segmentovanú oblasť.

Pri segmentácii sú najprv vytvorené atomické oblasti pomocou kvantizovaných hodnôt pixelov. V ďalšom kroku sú odstránené slabé hrany medzi atomickými oblasťami, to znamená, že oblasti sú spájané do väčších celkov v prípade, že sú splnené definované kritéria. Jednotlivé metódy sa môžu líšiť pravidlami pre počiatočné rozdelenie oblastí i kritériami pre ich následné spájanie. Výsledok spájania je závislý na poradí, v akom sú oblasti spájané.

Nevýhodou metódy je, že vyžaduje manuálnu interakciu a je citlivá na prítomnosť šumu či na diskontinuity hranice objektu.

#### Metóda delenia a spájania

Táto metóda vznikla ako spojenie dvoch vývojovo starších segmentačných metód region merging a region splitting. Je založená na quad-tree prezentácii dát, keď podobraz je rozdelený na štyri kvadranty v prípade, že sú jeho merané atribúty nehomogénne. Ak sú niektoré susedné štvorce homogénne, sú spojené do jednej oblasti.



Obr. 3.4: Princíp hierarchie metódy delenia a spájania [10]

Najjednoduchším meraním uniformity je rozdiel medzi maximálnym a minimálnym pixelom v oblasti.

Výhodou danej metódy voči technike šírenia oblastí je tá skutočnosť, že nepotrebuje manuálnu inicializáciu počiatočných bodov. Za nevýhodu môže byť považovaný fakt, že metóda potrebuje mať vstupné údaje zorganizované ako pyramidálna mriežková štruktúra.

### **Watershed**

Tento algoritmus je inšpirovaný rozlievaním vody na nerovnomerný povrch, odtiaľ pochádza aj jeho názov watershed čo by sa dalo preložiť ako záplava. Obraz je chápaný ako terén prípadne topografický reliéf, ktorý je postupne zaplavovaný vodou.

Jednotlivé oblasti sú z počiatočných bodov (lokálne minimá obrazu) zaplňané vodou. V miestach, kde by sa voda z dvoch rôznych povodí mohla zliať sú vytvorené hrádze. Proces postupného zaplavovania je zastavený vo chvíli, keď dosiahneme najvyšší bod terénu (maxima obrazu). Výsledkom je obraz rozdelený do regiónov, ktoré sú od seba oddelené už spomínanými hrádzami. Vzniknuté hrádze sú nazývané watershed lines alebo watersheds.

Výsledkom danej segmentačnej metódy je označenie všetkých pixelov daného spojitého objektu v obraze rovnakým unikátnym indexom. Jednotlivé hrádze sú označené špeciálnym indexom, ktorý je odlišný od všetkých ostatných.

Nevýhodou tejto segmentačnej techniky je, že pri výrazne zašumenom obraze produkuje veľký počet regiónov, ktoré je nutné ďalej spracovať.

### **Znalostné metódy**

Znalosť vlastností segmentovaných objektov (tvar, farba, štruktúra, apod.) môže segmentáciu značne uľahčiť. Metódy patriace do tejto kategórie využívajú atlas predlôh či modelov segmentovaných objektov (v prípade medicínskych dát to môže byť atlas ľudských tkanív). Atlas je generovaný automaticky zo súboru tréningových dát, alebo sú do neho informácie vložené ručne, na základe ľudských skúseností. V priebehu segmentácie algoritmus hľadá transformáciu známych objektov, šablón v atlase, na objekty nájdené v obraze. Tento proces sa obvykle nazýva atlas-warping a najčastejšie využíva lineárnu transformáciu.

Nevýhoda tejto techniky spočíva v potrebe vytvorenia atlasu. Vytvorenie atlasu je časovo náročný proces. Vyžaduje veľmi presnú manuálnu segmentáciu. Z týchto dôvodov jej použitie pre danú aplikáciu nie je vhodné.

### **Umelé neurónové siete**

Segmentácia obrazu neurónovými sieťami sa nezakladá na podobných meta-pravidlách ako väčšina segmentačných metód. Predstavuje tak určité riešenie na elimináciu možných problémov vzniknutých nedostatočnými odbornými znalosťami užívateľa.

Neurónové siete sú rozsiahle paralelné siete obsahujúce jednoduché výpočtové elementy (neuróny), ktoré simulujú schopnosť živých organizmov učiť sa. Každý neurón dokáže uskutočňovať len jednoduché výpočty. Učenie je realizované adaptáciou váh pridaných k spojom medzi neurónmi.

V zásade existujú dve stratégie tréningu umelých neurónových sietí. Prvý prístup

hľadá charakteristické vlastnosti vstupných dát (obvykle príznakové vektory) a klasifikuje ich do tried bez akejkoľvek ďalšej interpretácie. Tento prístup sa nazýva učenie bez učiteľa. Druhý prístup, má názov tréning s učiteľom a vyžaduje ručne segmentované tréningové údaje.

Neurónové siete sa najčastejšie v segmentácii používajú ako klasifikátory. Jednotlivé váhy sa nastavujú pomocou tréningových údajov. Samotná sieť sa potom môže použiť na segmentáciu nových dát. Možnú aplikáciu neurónových sietí predstavujú aj deformovateľné modely.

### 3.3 Implementácia segmentácie

Voľba vhodnej segmentačnej metódy je pre funkčnosť navrhnutej aplikácie nevyhnutná. Pri jej zvolení sa kládol dôraz na primárne požiadavky akými sú rýchlosť, efektívnosť a pamäťová nenáročnosť. Rýchlosť je dôležitá z dôvodu zabezpečenia automatickej analýzy gigabytových obrázkov v dostupnom čase. Efektívnosť znamená, že výsledky zvolenej metódy budú kvalitné a presné s minimálnym priestorom pre chyby. Medzi rýchle segmentačné techniky patria väčšinou tie najjednoduchšie. Ich triviálnosť úzko súvisí s výpočtovo nenáročnými algoritmi, ktoré obsahujú. Nie vždy ale dosahujú požadovanú presnosť. Pravdepodobne neexistuje jedna segmentačná metóda, ktorá by naraz spĺňala primárne požiadavky. Preto sa zvolilo niekoľko segmentačných techník a postupov.

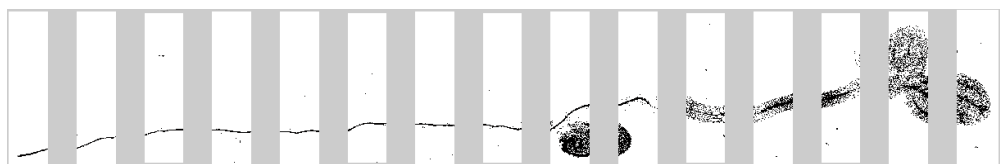
Jedna zo segmentačných procesov je metóda prahovania. Bola zvolená po teoretických úvahách a praktických testoch. Využíva sa hlavne v prvej fáze ako pomocný nástroj pre vysegmentovanie celej rastliny. Ďalší použitý postup kombinuje segmentačnú techniku založenú na jasových zmenách a prahovacie prístupy. Je využitý pre určenie množstva kontrastnej látky v rastlinnom preparáte.

#### 3.3.1 Segmentácia rastliny ako celku

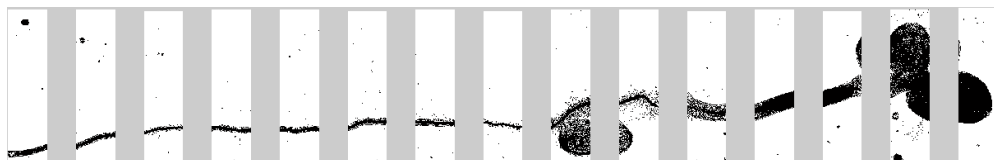
Ako už bolo uvedené pre vysegmentovanie jednotlivých rastlín sa používa prahovanie. Pri výbere vhodného spôsobu prahovania bolo dôležité experimentovanie. V MATLABe sa postupne vyskúšali metódy s automatickým určením hodnoty prahu a metódy s manuálnym určením hodnoty prahu.

Pri automatickom určovaní bola použitá Otsuová metóda. Túto metódu v programovom prostredí MATLAB reprezentuje funkcia `graythresh`.

Ako jedna z prvých metód sa vyskúšalo prahovanie po častiach. Mikroskopický obraz sa rozdelil manuálne na šesťnásť častí a prah sa určoval pre každú jednu časť zvlášť. A to automatickým spôsobom (viď obr. 3.5) a manuálnym odhadom (viď obr. 3.6).



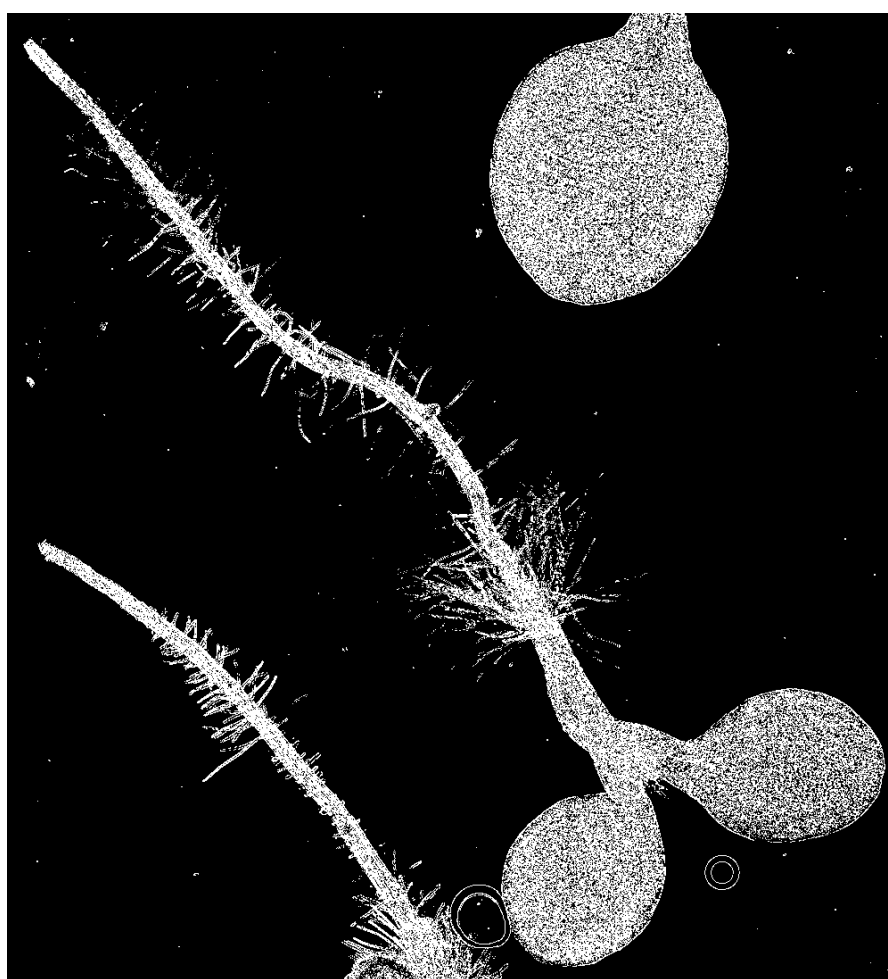
Obr. 3.5: Prahovanie po častiach s využitím funkcie `graythresh`



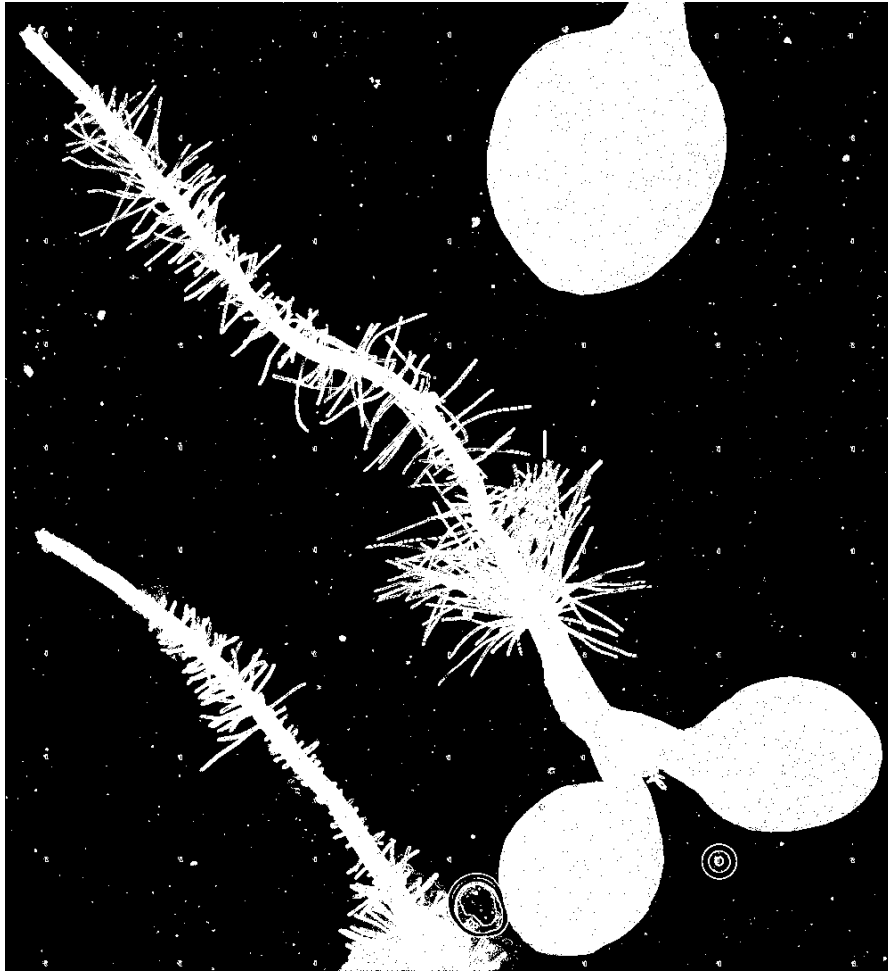
Obr. 3.6: Prahovanie po častiach s manuálnym nastavením prahu pre každú jednu časť

Dosiahnuté výsledky sú pozoruhodné, ale použitie prahovania po častiach je skôr nepravdepodobné z dôvodu, že výsledky dosiahnuté globálnym prahovaním sú rovnako kvalitné.

Globálne prahovanie je výpočtovo jednoduchšou a časovo rýchlejšou metódou. Aj u tejto metódy sa vyskúšala efektívnosť automatického (vid' obr. 3.7) a manuálneho (vid' obr. 3.8) odhadu prahovacej hodnoty.



Obr. 3.7: Globálne prahovanie s využitím funkcie graythresh



Obr. 3.8: Globálne prahovanie s manuálnym nastavením prahu

Rozdiel medzi automatickým a manuálnym určením prahu je dosť výrazný. Problém u Otsuovej metódy je, že prahovanie je dosť nepresné. Po prahovaní sa vytvorí binárny obraz, v ktorom chýbajú tenké čiary (vlásočnice), ktoré môžu obsahovať dôležité informácie. Preto sa táto metóda nedá použiť.

Pre segmentáciu sa použije globálne prahovanie. Prahovacia hodnota sa určuje spôsobom, že sa pomocou histogramu automaticky určí úroveň jasu s najväčším počtom pixelov, z ktorého sa odčíta manuálne nastavená hodnota. Vzhľadom na to, že sú dodržané rovnaké podmienky snímania majú mikroskopické obrazy podobné vlastnosti, hodnota prahu určená u jedného obrazu sa môže považovať za hodnotu platnú aj pre ďalšie mikroskopické obrazy.

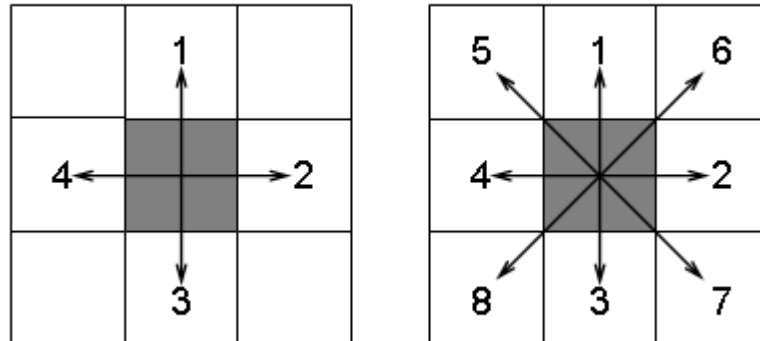
### 3.3.2 Artefakty

Po dôkladnom prezretí binárneho obrazu 3.8 vidíme na pozadí menšie biele bodky tzv. artefakty. Prítomnosť týchto artefaktov pre ďalšiu prácu s obrazom je nepredstaviteľná čo znamená, že musia byť nejakým spôsobom odstránené. Pre ich elimináciu sa použila metóda Connected Component Labeling.

### Connected Component Labeling

Metóda Connected Component Labeling patrí medzi metódy zhlukovania. Je založená na definovaní spojitých oblastí. Spojitosť jednotlivých oblastí sa definuje rekurzívne

a to tak, že pokiaľ dve susediace pixely v binárnom obraze majú hodnotu jedna sa oblasť môže považovať za spojitú. Susednosť obrazových bodov sa môže definovať ako 4-okolie alebo 8-okolie (viď obr. 3.9).

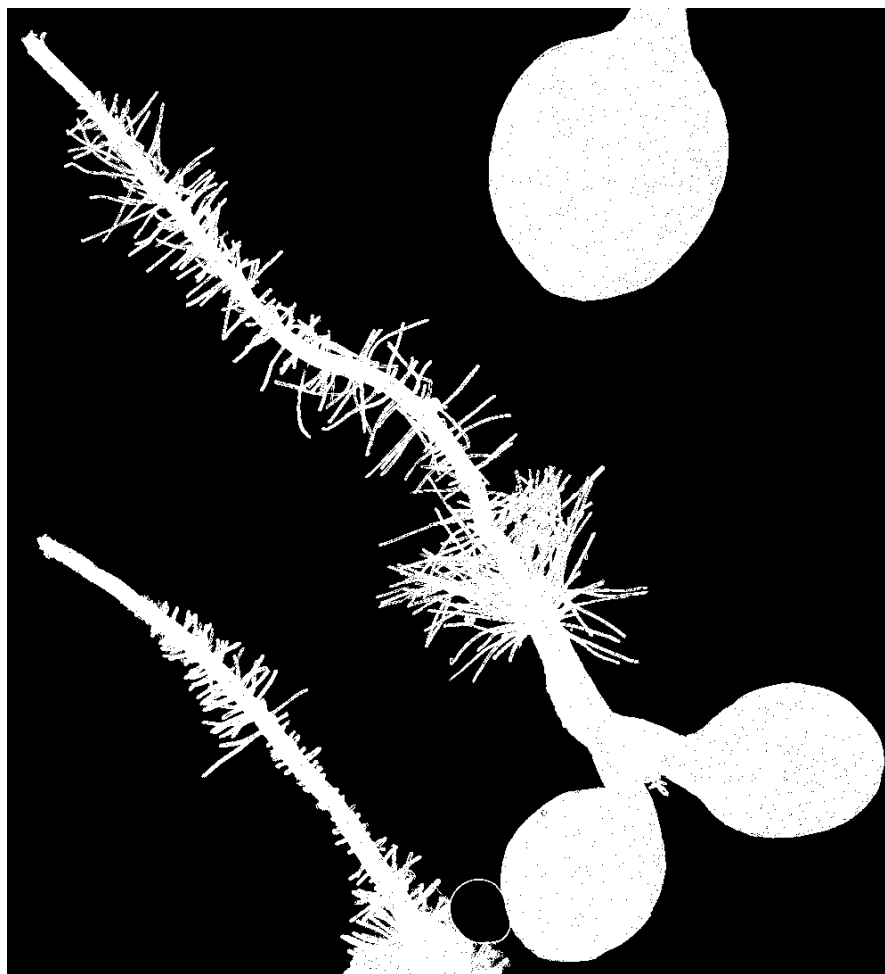


Obr. 3.9: Susednosť - 4 susediace pixely (vľavo, len spoločné hrany s centrálnym pixelom) a 8 susediacich pixelov (zdieľanie hrán a vrcholov)

Po definovaní všetkých spojitých oblastí (zhlukov pixelov) v binárnom obraze sa eliminujú tie zhluky, ktorých veľkosť je menšia ako nastavená hraničná hodnota. Na nasledujúcom obraze (obr. 3.10) je výsledok prahovania po odstránení nežiaducich artefaktov.

Metódu Connected Component Labeling v Matlabe využívajú funkcie `bwlabel` a `bwareaopen`. Výsledky obidvoch funkcií sú celkom totožné. Pri rozhodovaní pre použitie jednej z nich vo finálvej aplikácii sa preto brala do úvahy celková doba ich spracovania. Funkcia `bwareaopen` je aj vzhľadom tomu, že nevyžaduje zápis vo forme cyklu výrazne rýchlejšia a preto bola zvolená.





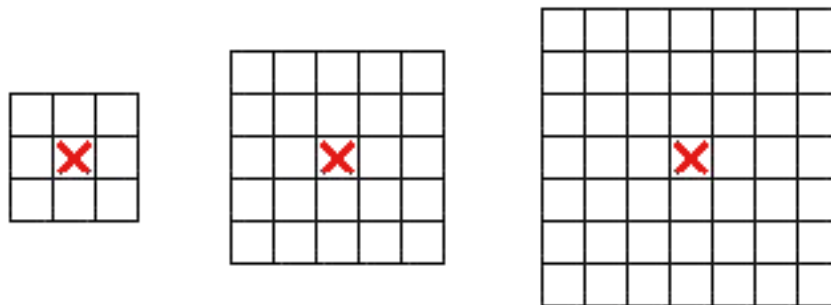
Obr. 3.10: Výsledok prahovania po odstránení nežiaducich artefaktov

Binárny obraz po globálnom prahovaní a odstránení artefaktov ešte stále obsahuje určité nedokonalosti. Na obr. 3.10 je vidieť, že veľké biele plochy nie sú jednoliate. Obsahujú malé čierne bodky, ktoré z hľadiska ďalšieho použitia obrazu v podobe masky, pôsobia negatívne na výsledok. Na ich odstránenie sa navrhli dva spôsoby. Spôsob s využitím už zmienenej metódy Connected Component Labeling alebo pomocou mediánových filtrov.

### Mediánové filtre

Mediánová filtrácia je nelineárny spôsob vyhladenia signálu, potlačenia impulzného šumu a zachovania hrán obrazov. Tieto vlastnosti sa ťažko dosahujú s obvyklými lineárnymi filtermi. Zachovanie hrán je veľmi dôležité pri spracovaní obrazu. Mediánové filtre však nie sú vždy ideálnymi filtermi. Môžu spôsobovať posun hrany oproti originálnej pozícii, pruhy v obraze a môžu odstrániť dôležité detaily obrazu. Hlavný dôvod týchto nedostatkov je, že sa použijú len vzorky dát v určitom rozsahu (okne) bez ohľadu na ostatné dáta [15].

Najčastejšie sa používa pohyblivé okno s nepárnym počtom vzoriek. Okno sa pohybuje po obraze. Vzorky v okne sa zoradia podľa veľkosti a prostredná vzorka predstavuje medián. Väčšinou sú používané okná o veľkosti 3x3, 5x5 prípadne 7x7 (viď obr. 3.11).



Obr. 3.11: Najčastejšie používané okná, 3x3, 5x5 a 7x7

Pri voľbe vhodnej veľkosti okna treba uvážiť veľkosť obrazu, na ktorý sa má mediánový filter použiť. Pre filtráciu obrazu 3.10 sa použil filter s oknom 3x3. V programe MATLAB sa filtrácia realizovala pomocou funkcie `medfilt2`.

Obraz získaný po filtrácii sa porovnal s obrazom, v ktorom sa na odstránenie šumu použila metóda Connected Component Labeling. Veľkosť hodnoty prahu pri metóde Connected Component Labeling bola zvolená v súlade s použitým oknom. Na prvý pohľad obidva obrazy boli identické. Po hlbšej analýze sa zistili rozdiely. Obrazy spracované pomocou metódy Connected Component Labeling boli kvalitnejšie. Nedostatky mediánovej filtrácie sa ukázali u vlásočníc (veľmi tenkých čiarach). Niektoré sa po filtrácii rozdelili, prípadne zmizli.

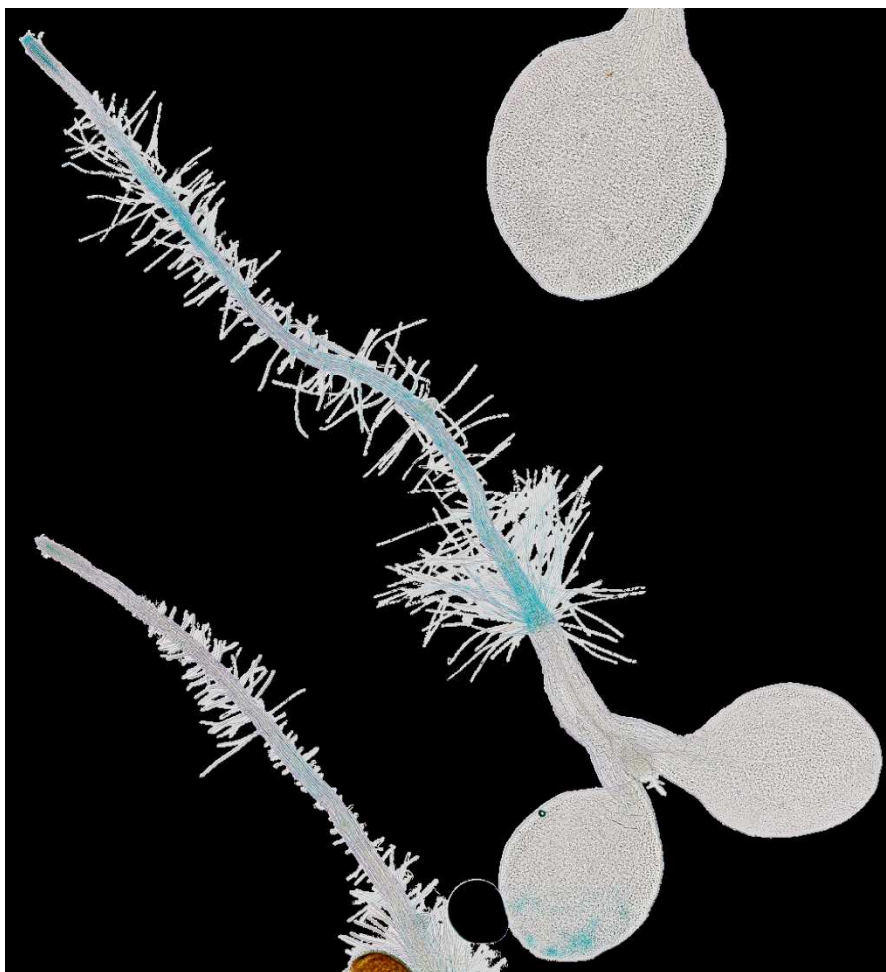


Obr. 3.12: Porovnanie výsledkov. Obraz po filtrácii a obraz po použití metódy Connected Component Labeling

### 3.3.3 Výsledný vysegmentovaný rastlinný preparát

Prahovanie sa aplikuje na šedotónovú reprezentáciu obrazu. Pre šedotónovú reprezentáciu obrazu bola zvolená modrá zložka pôvodného obrazu.

Po prahovaní a odstránení nežiaducich objektov v obraze bol vytvorený výsledný binárny obraz – maska. Na obraze 3.13 je znázornený mikroskopický obraz po vynásobení vytvorenou maskou. Vynásobenie sa realizovalo v programovom prostredí MATLAB spôsobom, že každá jedna zložka (RGB) pôvodného mikroskopického obrazu (viď obr. 1.1) sa vynásobila zvlášť s vytvorenou maskou.



Obr. 3.13: Pôvodný obraz vynásobený s maskou

### 3.3.4 Segmentácia kontrastnej látky

Výsledkom danej aplikácie má byť číselné vyjadrenie množstva kontrastnej látky v jednotlivých rastlinných preparátoch. Z tohto dôvodu je nesmierne dôležitá jej kvalitná identifikácia.

Pri výbere vhodnej techniky sa uvažovalo o využití RGB zložiek obrazu. Farba kontrastnej látky je vo väčšine rastlinných preparátoch odtieňom modrej. To znamená, že červená zložka obsahuje najvýraznejšie rozdiely odtieňov kým modrá a zelená sú menej kontrastné. Pôvodný teoretický predpoklad využitia tejto skutočnosti bol nasledujúci.

Jednotlivé zložky sa mali naprahovať zvlášť a po tom vynásobiť. To znamená, že sa najprv mala naprahovať červená zložka a potom modrá spolu so zelenou. Následne sa výsledky týchto prahovaní, po invertovaní jedného z nich, mali vynásobiť. Výsledkom podľa teórie by mal byť binárny obraz, ktorého nenulové hodnoty by reprezentovali objekty zafarbené kontrastnou látkou. Testy však ukázali, že popísaný teoretický predpoklad sa nedá využiť pre danú aplikáciu. Metóda je totiž výrazne nepresná.

Pri ďalšej analýze obrazu sa zistilo, že na tých miestach v obrázku kde je prítomná kontrastná látka dochádza k poklesu jasů. Tento pokles je zreteľný pri všetkých troch farebných zložkách. Táto skutočnosť bola implementovaná nasledovne.

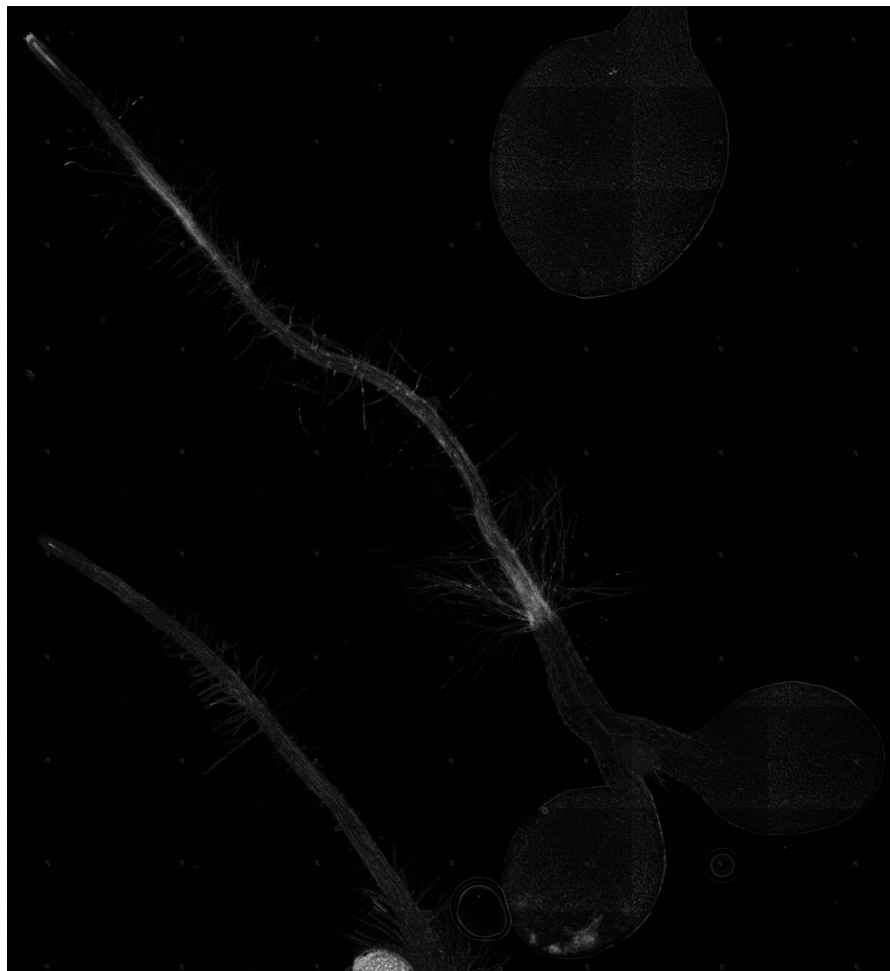
Určia sa minimá a maximá jednotlivých farebných zložiek. Následne sa určí ich rozdiel. Matematické vyjadrenie daného postupu je:

$$P(x,y) = I_{max}(x,y) - I_{min}(x,y), \quad (3.5)$$

$$\text{kde } I_{max}(x,y) = \max(X(x,y)), \quad (3.6)$$

$$I_{min}(x,y) = \min(X(x,y)) \quad (3.7)$$

$X(x,y)$  je pôvodný obraz. Výsledkom je obraz, ktorý je znázornený na obrázku 3.14.

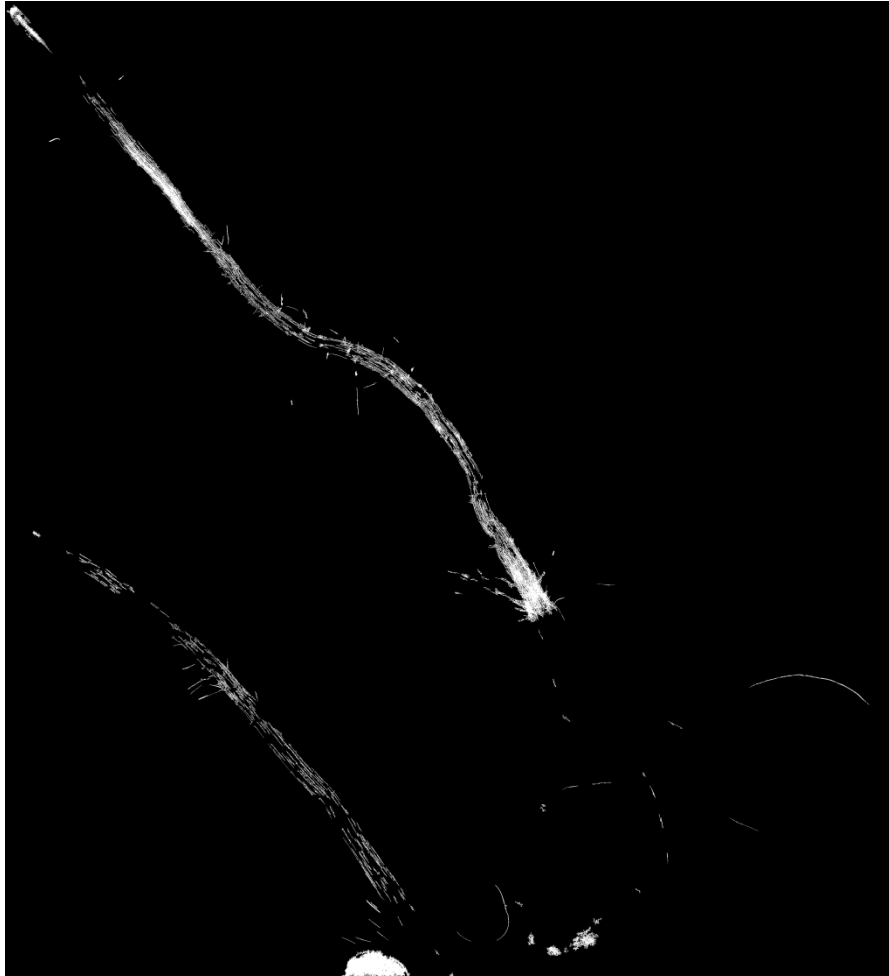


Obr. 3.14: Rozdiel minimá a maximá jednotlivých farebných zložiek v rastlinnom preparáte

Na miestach kde sú rozdiely medzi minimom a maximom pre daný pixel je s vysokou pravdepodobnosťou prítomné farbivo.

### 3.3.5 Výsledná vysegmentovaná kontrastná látka

Po jasovej modifikácii obrazu sa prevedie prahovanie s adekvátnou hodnotou. Výsledkom bude binárny obrázok (viď obr. 3.15), ktorého počet jednotiek bude vyjadrovať počet pixelov obsahujúcich kontrastnú látku.

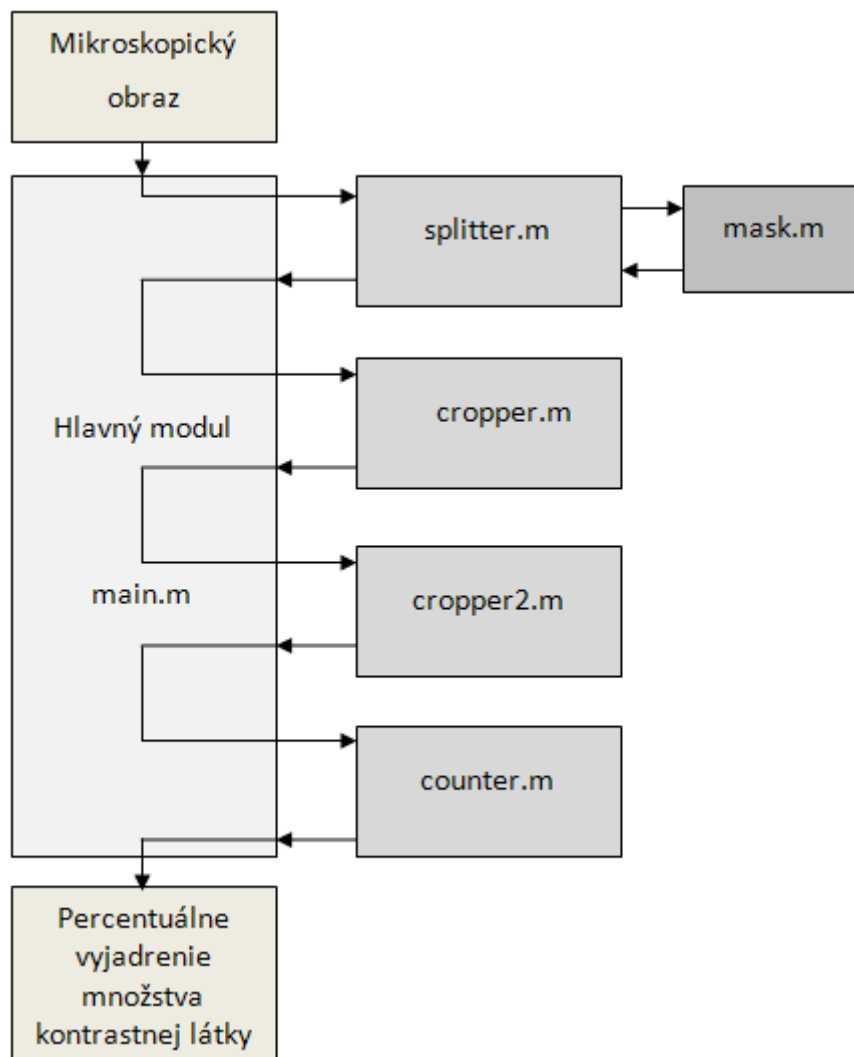


Obr. 3.15: Výsledná vysegmentovaná kontrastná látka

# 4 PROGRAMOVÁ REALIZÁCIA

Program v plnom rozsahu bol navrhnutý a realizovaný v programovom prostredí MATLAB. Jednotlivé časti programu boli pre prehľadnosť a lepšiu orientáciu rozdelené do modulov. Po spustení program vyzve užívateľa aby vybral obraz. Následne mu umožní zvoliť zobrazenie binárneho obrazu s ohraničenými a očíslovanými rastlinnými preparátmi (viď príloha B.3). Ďalej ponúka možnosť nastavenia zobrazenia vysegmentovaných rastlín. Táto možnosť sa neodporúča z dôvodu, že výrazne spomaľuje program. Výsledkom analýzy je tabuľka, ktorá obsahuje identikačné číslo rastlinného preparátu, počet jeho pixelov, počet pixelov obsahujúcich kontrastnú látku a percentuálne vyjadrenie množstva kontrastnej látky. Program po voľbe užívateľa exportuje výsledok analýzy do generovaného txt súboru. Tento txt súbor ďalej obsahuje presný termín dokončenia analýzy a jej trvanie. Obsahuje iba číselné hodnoty z dôvodu jednoduchšej implementácie do prípadného ďalšieho procesu spracovávania.

## 4.1 Blokové rozdelenie modulov



Obr. 4.1: Blokové rozdelenie modulov

## 4.2 Programové moduly

### Hlavný modul (main)

V tomto module sa spúšťa samotný program. Realizuje načítanie obrázku a jeho rozloženie na farebné zložky. Ďalšou úlohou modulu je volať ostatné moduly a vypisovať výsledok analýzy.

### Modul rozdeľujúci obrázok na časti (splitter)

Modul realizujúci vytvorenie binárnej masky pôvodného obrazu. Rozdeľuje vstupný obraz na 24 rovnakých častí. V prípade potreby doplní pôvodný obraz pixelmi (viď. kap. 1.2). Aplikuje modul mask na jednotlivé časti. Následne spojí jednotlivé časti do jedného obrazu.

### Modul vlnkovej transformácie (mask)

Ide o modul, ktorý je volaný iným modulom ako hlavným. Realizuje predspracovanie obrazových častí využitím vlnkovej transformácie a následné prahovanie predspracovaného obrazu. Na odstránenie nežiaducich objektov využíva metódu Connected Component Labeling. Jedná sa o časovo a pamäťovo najnáročnejší modul pre výpočtovú techniku.

### Modul na vysegmentovanie jednotlivých rastlinných preparátov (cropper)

Modul, najprv s využitím funkcie `bwlabel` nájde jednotlivé rastlinky. Následne zistí ich súradnice. Potom rozseká binárny obrázok na časti spôsobom, že každá jedna časť bude obsahovať iba jeden rastlinný preparát. Na záver určí počet nenulových obrazových bodov v jednom rastlinnom preparáte.

### Modul na určenie kontrastnej látky (cropper2)

Modul využíva súradnice získané predošlým modulom. Pomocou funkcie `imcrop` rozsekáva pôvodný obraz rovnakým spôsobom ako modul `cropper`. Následne aplikuje jasové operácie na každú jednu časť a prahovanie. Ako posledné zisťuje počet pixelov, ktorých hodnota je jedna pre jednotlivé časti.

### Modul realizujúci výpočet (counter)

Pracuje s hodnotami získanými predošlými modulmi o počtoch pixelov. Stanovuje percentuálnu hodnotu kontrastnej látky pre každý rastlinný preparát zvlášť. Ponúka možnosť exportovanie výsledku do automaticky generovaného txt súboru.

## 5 DOSIAHNUTÉ VÝSLEDKY

S realizovanou aplikáciou sa analyzovali tri mikroskopické obrazy. Tieto obrazy boli poskytnuté Ústavom experimentálnej biológie Masarykovej univerzity. Doba analýzy jedného snímku trvá niekoľko hodín. Vyžaduje si vysoko výkonný počítač s dostatočnou kapacitou operačnej pamäte. Spracovávanie daných obrazov sa realizovalo na školskom počítači, ktorý disponuje operačnou pamäťou 12 GB a 64-bitovým operačným systémom.

Analyzované obrazy sú uvedené v prílohe A v zmenšenej podobe. V prílohe B sú znázornené vybrané vysegmentované rastlinné preparáty. Dosiahnuté výsledky sú zapísané v tabuľke 5.1.

Tab. 5.1: Výsledky pre jednotlivé mikroskopické obrazy

Mikroskopický obraz	Rastlinný preparát	Počet pixelov	Počet pixelov obsahujúcich kontrastnú látku	Percentuálne vyjadrenie množstva kontrastnej látky. [%]	Doba trvania analýzy
A	1	10380305	172793	1.6646	1h 32min
	2	13101139	106288	0.8113	
	3-6	42945612	1749348	4.0734	
	7	9408461	881403	9.3682	
	8	7096172	86355	1.2169	
	9-12	44741663	2031519	4.5406	
B	1	10976526	104829	0.9550	3h 49min
	2-3	14785012	545797	3.6916	
	4	11272174	495827	4.3987	
	5	8737177	965178	11.0468	
	6-7	18861527	148642	0.7881	
	8-9	17979719	168041	0.9346	
	10	8479539	661401	7.8000	
	11	7350009	46170	0.6282	
C	1	9900439	74890	0.7564	1h 08min
	2	10419397	1390238	13.3428	
	3	10727963	96205	0.8968	
	4	11829247	583036	4.9288	
	5	6108704	246710	4.0387	
	6	7433626	455821	6.1319	

V prípade, že sa dva preparáty prekrývajú alebo dotýkajú sú detekované ako celok (viď príl. B.3). Tomuto by sa dalo zamedziť pri usporiadaní rastlinných preparátov pred samotným snímaním.

Správnosť výsledkov sa overovala vizuálnou kontrolou na počítači. Z dôvodu, že referenčné výsledky nie sú k dispozícii a neexistuje iná dostupná metóda pre danú analýzu sa dosiahnuté výsledky môžu považovať za správne.



## 6 ZÁVER

Bol vypracovaný teoretický rozbor segmentácie v mikroskopických obrazoch. V programovom prostredí MATLAB bol naprogramovaný program, ktorý plne automaticky vyhodnocuje množstvo kontrastnej látky v jednotlivých rastlinných preparátoch.

Editácia gigapixelových mikroskopických obrazov sa realizuje po častiach. Na predspracovanie mikroskopických obrazov sa využíva vlnková transformácia Haarovými vlnkami. Na vysegmentovanie rastlinného preparátu ako celku sa používa segmentačná technika prahovania. Po vyskúšaní niekoľkých metód prahovania, bolo zvolené globálne prahovanie. Nežiaduce artefakty sú eliminované využitím morfolologickej operácie. Oddelenie kontrastnej látky je realizované s využitím jasových zmien RGB zložiek obrazu a následného prahovania.

Aplikácia automaticky ukladá výsledky do generovaného txt súboru. Ponúka tak možnosť implementácie aplikácie do ďalšieho procesu spracovania.

Vzhľadom na to, že program spracováva obrazy, ktoré majú vysoké rozlíšenie a veľké rozmery je vyžadovaný výkonný počítač s dostatočne veľkou operačnou pamäťou.

Celý proces spracovania obrazu prebieha v priemere za dve hodiny a spĺňa tak požiadavku časovo dostupného riešenia. Dosiiahnuté výsledky sa môžu považovať za vierohodné. Percentuálne vyjadrenie úspešnosti aplikácie vzhľadom na to, že referenčné výsledky nie sú k dispozícii je nemožné.

# LITERATÚRA

- [1] ŽÁRA, J., BENEŠ, B., FELKEL, P. *Moderní počítačová grafika*. Praha: Computer Press, 2004.
- [2] NIXON, M., AGUADO, A. *Feature Extraction and Image Processing*, Elsevier, 2005.
- [3] SMÉKAL, Z. *Číslicové spracování signálů*. Elektronické skriptum. Brno: FEKT VUT v Brně, 2009.
- [4] JAN, J. *Číslicová filtrace, analýza a restaurace signálů*. Brno: VUTIUM, 2002.
- [5] KOZUMPLÍK, J. *Multitaktní systémy*. Elektronické skriptum. Brno: FEKT VUT v Brně, 2005.
- [6] LAKERE, S. *3D Segmentation Techniques for Medical Volumes*. State University of New York at Stony Brook, 2000.
- [7] XUAN, J., ADALI, T., WANG, Y. Segmentation of Magnetic Resonance Brain Image: Integrating Region Growing and Edge Detection In *Proceedings of the 1995 International Conference on Image Processing*. 1995.
- [8] ŠMÍD, R.: Úvod do vlnkové transformace [online]. [cit. 10.5.2010]. Dostupné na www: <<http://measure.feld.cvut.cz/usr/staff/smid/wavelets/wavelet-intro-html.html>>.
- [9] SEETHARAMAN, G., VENKATARAMANI, B., LAKSHMINARAYANAN, G. *VLSI Implementation of Hybrid Wave-Pipelined 2D DWT Using Lifting Scheme*. Hindawi Publishing Corporation, 2008.
- [10] ŠPANĚL, M., BERAN, V.: Obrazové segmentační techniky [online]. [cit. 10.5.2010]. Dostupné na www: <[http://www.fit.vutbr.cz/~spanel/segmentace/#\\_Toc125769325](http://www.fit.vutbr.cz/~spanel/segmentace/#_Toc125769325)>.
- [11] POLIKAR, R.: The Wavelet Tutorial [online]. [cit. 27.4.2009]. Dostupné na www: <<http://users.rowan.edu/~polikar/WAVELETS/WTtutorial.html>>.
- [12] DOBEŠ, M.: Zpracování obrazu a algoritmy v C#. Praha: BEN - technická literatura, 2008.
- [13] MISITI, M., MISITII, Y., OPPENHEIM, G., POGGI, J. *Wavelet Toolbox User's Guide*. Revised for version 2 (Release 12). The Mathworks Inc., 2000.
- [14] The Mathworks, Inc. Matlab Web Server [online]. [cit. 27.4.2009]. Dostupné na www: <<http://www.mathworks.com/index.html>>.
- [15] ŠTORK, M.: Mediánové filtry a jejich použití při filtraci impulsních šumů [online]. [cit. 27.4.2009]. Dostupné na www: <<http://vyuka.fel.zcu.cz/kae/+eln/Median02.pdf>>.
- [16] WASILEWSKI, F.: Wavelet Browser [online]. [cit. 6.5.2009]. Dostupné na www: <<http://www.wavelets.pybytes.com/>>.
- [17] ULMAN, A. *Zpracování perfúzních sekvencí*. Diplomová práce. Praha: Univerzita Karlova v Praze, 2010.
- [18] SEZGIN, M., SANKUR, B., Survey over image tresholding techniques and quantitative performance evaluation. *Journal of Electroning Imaging*. 2004 p. 146.

- [19] VINCENT, L., MASTERS, B., Morphological Image Processing and Network Analysis of Cornea Endothelial Cell. *Image algebra and morphological Image Processing III*. 1992, vol. 1769, p. 212-226.
- [20] VS110 – VIRTUAL Slide System [online]. [cit. 10.5.2010]. Dostupné na [www: <http://www.microscopy.olympus.eu/microscopes/Life\\_Science\\_Microscopes\\_VS110\\_-\\_Virtual\\_Slide\\_System.htm>](http://www.microscopy.olympus.eu/microscopes/Life_Science_Microscopes_VS110_-_Virtual_Slide_System.htm).
- [21] SUZUKI, K., HORIBA, I., SUGIE, N., Linear-time connected-component labeling based on sequential local operations. *Computer Vision and Image Understanding*. 2003, vol. 89, p. 1-23.

# ZOZNAM SYMBOLOV, VELIČÍN A SKRATIEK

$\psi(\cdot)$	Vlnková funkcia
$1D$	Jednorozmerný
$2D$	Dvojrzmerný
$CWT$	Spojité vlnková transformácia
$DTWT$	Diskrétna vlnková transformácia s diskretným časom
$DWT$	Diskrétna vlnková transformácia
$HHI$	Matica diagonálnych detailných vlnkových koeficientov
$HLI$	Matica vertikálnych detailných vlnkových koeficientov
$LHI$	Matica horizontálnych detailných vlnkových koeficientov
$LLI$	Matica aproximačných detailných vlnkových koeficientov
$MRF$	Markovské náhodné polia
$RGB$	farebné zložky obrazu (Red Green Blue)
$STFT$	Krátkodobá Fourierová transformácia
$WT$	Vlnková transformácia

# ZOZNAM PRÍLOH

<b>A</b>	<b>Mikroskopické obrazy</b>	<b>54</b>
A.1	Mikroskopický obraz A .....	54
A.2	Mikroskopický obraz B .....	55
A.3	Mikroskopický obraz C .....	56
<b>B</b>	<b>Vybrané vysegmentované rastlinné preparáty</b>	<b>57</b>
B.1	Rastlinný preparát s 3,23% obsahom kontrastnej látky .....	57
B.2	Rastlinný preparát s 0,88% obsahom kontrastnej látky .....	59
B.3	Detekované rastlinné preparáty v mikroskopickom obraze A .....	60
<b>C</b>	<b>Obsah DVD</b>	<b>61</b>

# A MIKROSKOPICKÉ OBRAZY

## A.1 Mikroskopický obraz A



Rozlíšenie: 561983 x 14283

Veľkosť: 2,24 GB

Formát: BMP

## A.2 Mikroskopický obraz B

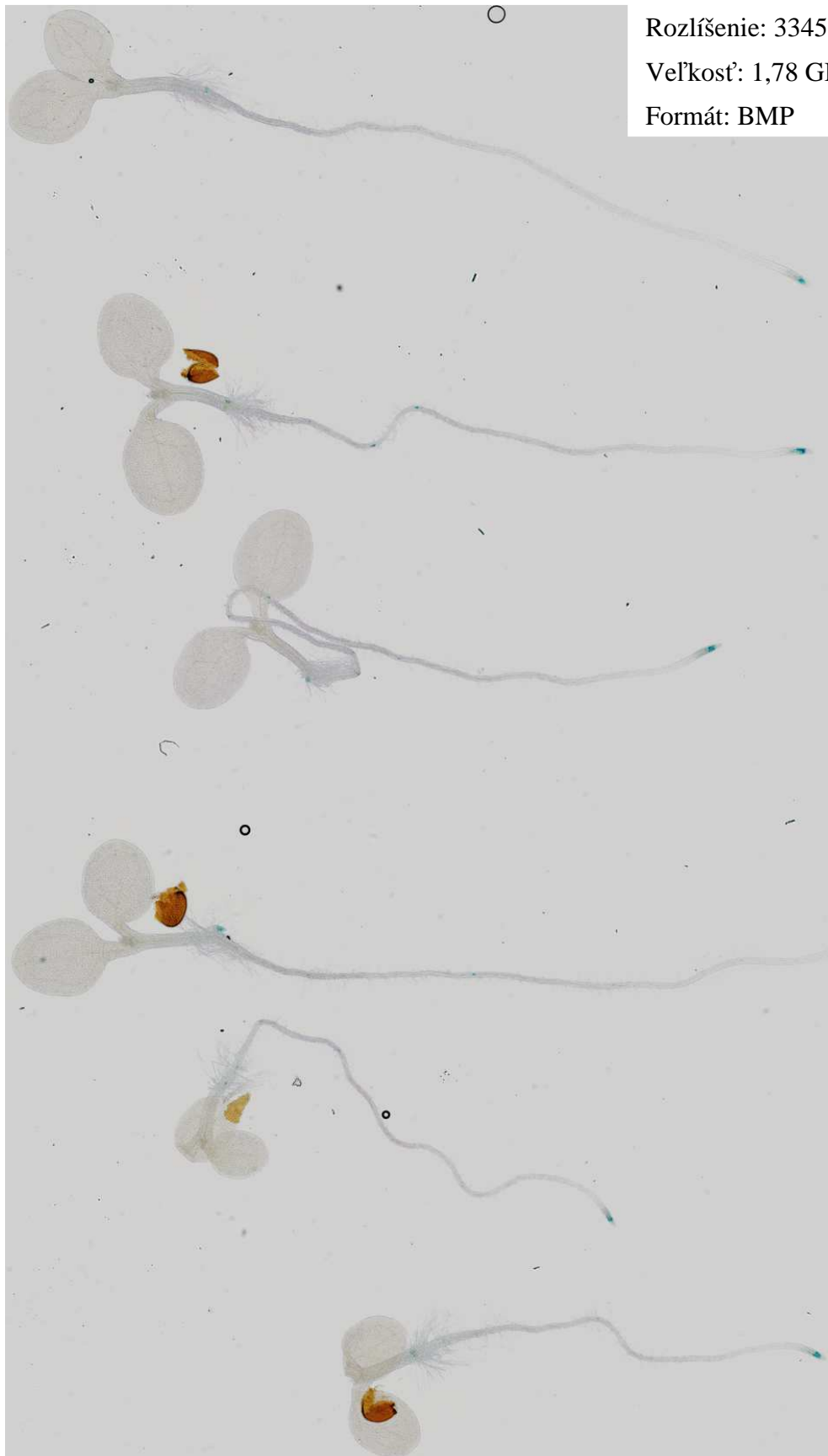


Rozlíšenie: 59814 x 18042

Veľkosť: 3,01 GB

Formát: BMP

### A.3 Mikroskopický obraz C



Rozlíšenie: 33459 x 19045

Veľkosť: 1,78 GB

Formát: BMP

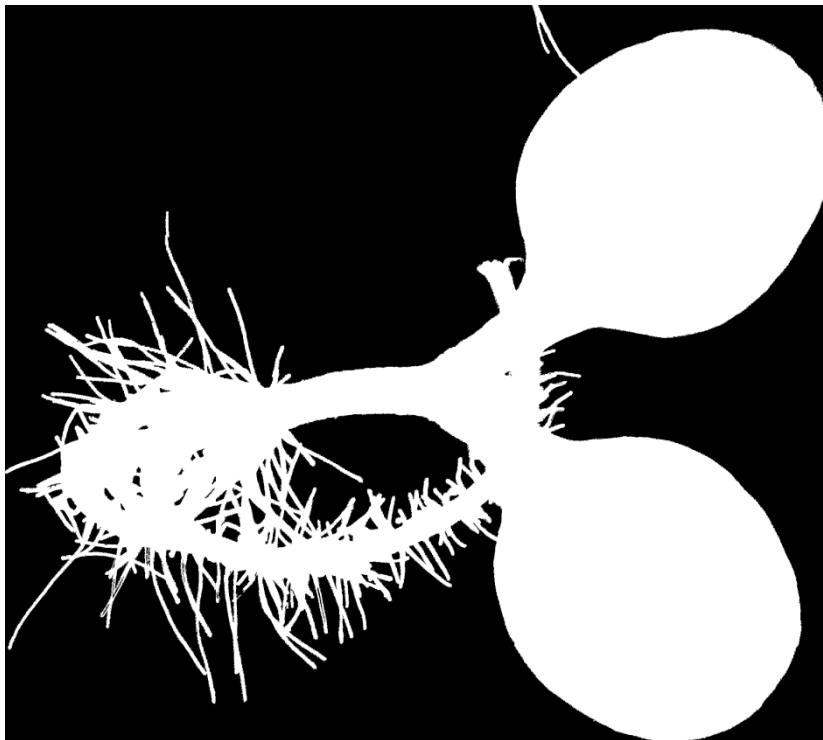


# B VYBRANÉ VYSEGMENTOVANÉ RASTLINNÉ PREPARÁTY

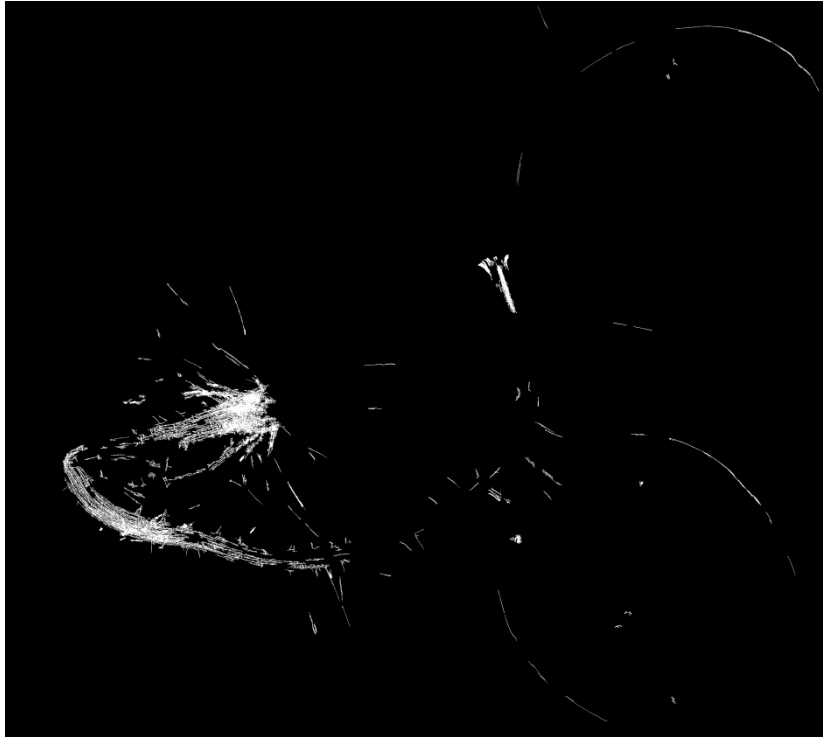
## B.1 Rastlinný preparát s 3,23% obsahom kontrastnej látky



Pôvodný obraz



Výsledok prahovania



Vysegmentovaná kontrastná látka

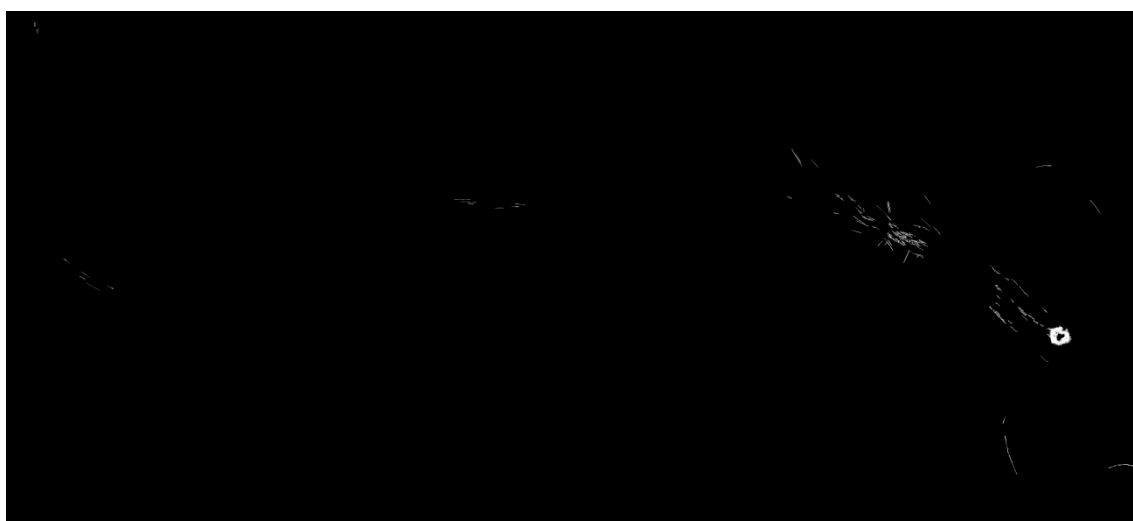
## B.2 Rastlinný preparát s 0,88% obsahom kontrastnej látky



Pôvodný obraz

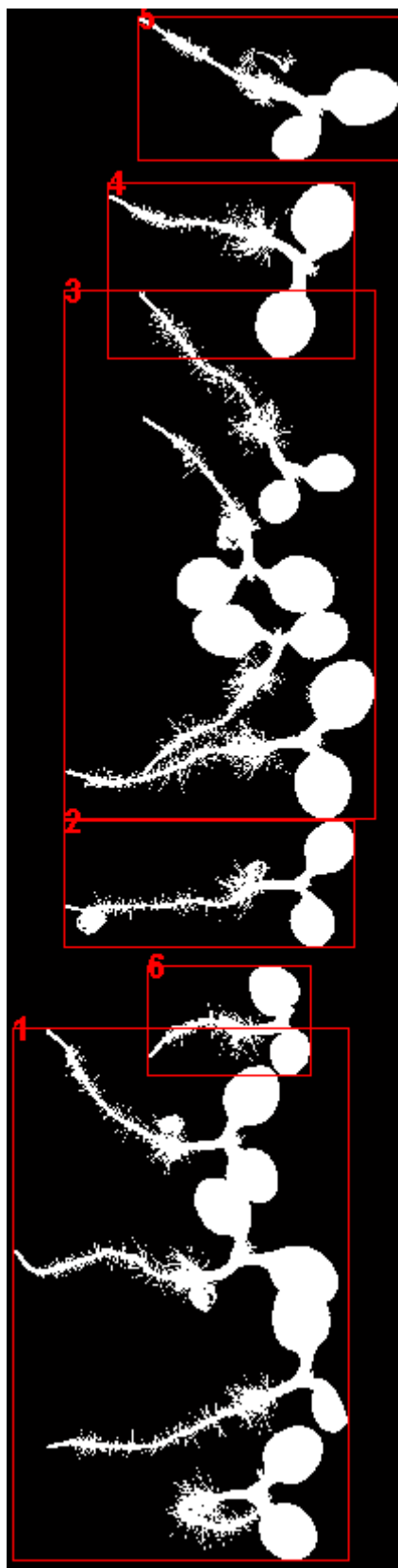


Výsledok prahovania



Vysegmentovaná kontrastná látka

### B.3 Detekované rastlinné preparáty v mikroskopickom obraze A



## **C OBSAH DVD**

Priečinok program – obsahuje všetky programové moduly

Priečinok obrazy – obsahuje jeden mikroskopický obraz, podložka rozsekane\_obrazy  
obsahuje jednotlivé rastlinné preparáty mikroskopického obrazu

Priečinok text – obsahuje kompletný text danej diplomovej práce vo formáte pdf