

Trabalho de implementação 1

Instruções: este trabalho deve ser realizado preferencialmente em duplas. Os alunos têm liberdade para escolha da linguagem na qual irá implementar os exercícios propostos, mas é dada preferência à linguagem Python. Até o dia **18/03/2022**, cada aluno deverá fazer o *upload* no Moodle da disciplina de um arquivo .zip, contendo

- Os códigos fonte
- Um breve relatório (2-3 páginas) explicando as implementações e testes. Você pode adicionar imagens em um anexo (extrapolando o número de páginas indicado).

Alternativamente, você pode enviar um Jupyter notebook em Python contendo tanto o código quanto as explicações sobre os testes.

Motivação: queremos fazer a segmentação e a contagem de núcleos de células em imagens de microscopia. Os dados que temos são provenientes de dois tipos de captura que geram imagens registradas: o primeiro tipo produz imagens monocromáticas no espectro visível, e o segundo também produz imagens monocromáticas com fluorescência de núcleo – visando salientar o núcleo da célula. As imagens são fornecidas como uma composição RGB dessas duas modalidades: espectro visível é replicado nos canais B e G (*Blue* e *Green*), e a imagem de fluorescência é atribuída ao canal R (*Red*), conforme ilustrado na Figura 1. Tendo em vista o objetivo de segmentar os núcleos e realizar a contagem dos mesmos, pede-se que você implemente e avalie as estratégias descritas a seguir.

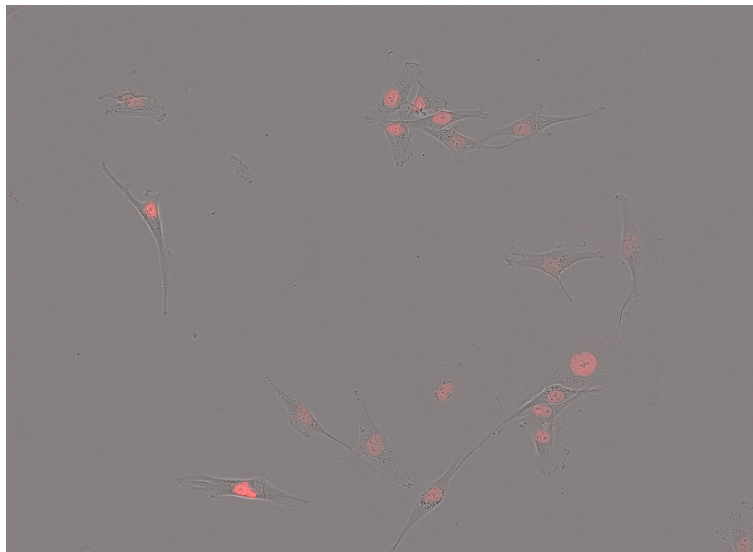


Figura 1: Exemplo de imagem composta visível + fluorescência

1. Primeiramente, faça uma análise visual entre o canal R e a imagem de diferença R-B (ou R-G, que é exatamente a mesma). Avalie qual em qual das duas imagens há uma maior separação entre o fundo e o núcleo, e escolha essa imagem como seu dado de entrada I_f para o processamento subsequente. Você pode fazer um *linear stretching* das intensidades nas novas imagens geradas

para que o valor máximo seja 255 (em uma imagem de 8-bits). Veja que, independente da sua escolha, I_f terá um único canal.

2. Tendo a imagem I_f como entrada, tentaremos isolar os núcleos através de um processo de binarização.

a) Avalie os histogramas das imagens e desenvolva alguma estratégia para achar automaticamente um limiar T que separe o fundo da imagem (*background*) dos núcleos. Mostre as imagens I_f lado-a-lado com sua versão binarizada I_b , e avalie visualmente os resultados.

b) Repita a análise do item (a) usando a técnica de limiarização de Otsu (você não precisa implementar a técnica de Otsu, pode usar versões disponíveis em bibliotecas).

c) Compare as duas estratégias de binarização, e escolha a melhor (justifique). Usando as imagens binárias obtidas com a “técnica vencedora”, aplique um algoritmo de extração de componentes conexos e use o número de componentes como uma estimativa para o total de núcleos presentes. Também calcule a área de cada componente conexo, e calcule estatísticas (média de desvio padrão) sobre a área dos núcleos em cada imagem. Faça uma análise crítica de seus resultados.

3. Em uma segunda abordagem, iremos avaliar a transformada watershed com marcadores tendo como ponto de partida o exercício anterior (escolha apenas a técnica de binarização considerada a melhor). Para cada imagem I_f e sua versão binarizada I_b :

a) Calcule o módulo do vetor gradiente $\|\nabla I_f\|$. Você tem liberdade para a escolha da estimativa do gradiente (filtro de Sobel, derivada da Gaussiana, etc.), mas deve justificá-la.

b) A partir da imagem binária I_b , gere um conjunto de marcadores para guiar a transformada watershed. Mais precisamente, faça as seguintes operações:

i) Aplique um *fechamento morfológico* com kernel quadrado de tamanho 3×3

ii) Aplique uma *erosão morfológica* com kernel quadrado de tamanho 3×3 na saída do item i)

c) Aplique a transformada watershed na imagem $\|\nabla I_f\|$ com os marcadores obtidos no item anterior

d) Analogamente ao exercício 2c), extraia estatísticas sobre o número de núcleos extraídos e suas áreas (médias e desvio padrão).

e) Avalie visualmente os resultados obtidos, comparando-os com a saída binária do exercício 2. Descreva potenciais vantagens ou desvantagens da abordagem com watersheds comparada com a binarização direta.

4. [CMP 197 apenas] Faça uma análise crítica da estratégia proposta no exercício anterior para a segmentação de núcleos usando watersheds com marcadores. Aponte etapas que podem ser melhoradas (sobretudo na geração das imagens binárias e marcadores). Sugira possíveis soluções e implemente-as, avaliando se de fato melhoraram os resultados.

Dicas: caso faça a implementação em **Python**, use as bibliotecas **opencv** para manipulação com imagens e **scikit-image** para a transformada watershed.