Analyse de l'étape de propagation de segmentation version git 5c6bf9c du 2018-05-04 (dernière version remontée par G. Michelin)

# Contents

1	Overview	2
	1.1 Notations	
	1.2 Overview	
<b>2</b>	4-astec.py	7
3	ASTEC/ASTEC.py	Į.
	3.1 compute_volumes()	
	3.2 create_seed()	
	3.3 create_seeds()	
	3.4 cell_propagation()	
	3.5 extract_seeds()	
	3.6 slices_dilation()	
	3.7 to_u8()	
	3.8 get_seeds()	
	3.9 get_back_parameters()	
	3.10 get_seeds_from_optimized_parameters()	
	3.11 perform_ac()	
	3.12 volume_checking()	
	3.13 outer_correction()	
	3.14 segmentation_propagation_seeds_init_and_deform()	
	3.15 segmentation_propagation_from_seeds()	
	3.16 segmentation_propagation()	
4	5-postcorrection.py	45
5		44
	5.1 timeNamed()	44
	5.2 fuse_cells()	44
	5.3 apply_cell_fusion()	45
	5.4 get_volumes()	46
	$5.5$ soon_to_divide()	46
	5.6 branches_to_delete()	47
	5.7 get_sisters()	48
	5.8 remove too little branches()	49

## 1 Overview

#### 1.1 Notations

- $S_t^{\star}$ : segmentation à t
- $S_{t+\delta t \leftarrow t}^{\star} = S_{t}^{\star} \circ \mathcal{T}_{t \leftarrow t+\delta t}$ : segmentation à t projetée dans  $I_{t+\delta t}$ . C'est une nouvelle notation par rapport à [1], mais l'image est pas mal utilisée.
- $\hat{S}_{t+1}$ : segmentation de  $I_{t+\delta t}$  par ligne de partage des eaux avec les graines  $S_{t+1\leftarrow t}^e = S_t^e \circ \mathcal{T}_{t\leftarrow t+\delta t}$
- $\hat{S}_{t+1}$ : segmentation de  $I_{t+\delta t}$  par ligne de partage des eaux avec les graines Seeds<sub>t+1</sub>. Cette image peut être amenée à changer
- $S_t^e$ : cellules de  $S_t^{\star}$  érodées (pour servir de graines)
- $S_{t+\delta t\leftarrow t}^e = S_t^e \circ \mathcal{T}_{t\leftarrow t+\delta t}$ : cellules de  $S_t^{\star}$  érodées (pour servir de graines) puis projetées dans  $I_{t+\delta t}$ .
- Seeds $_{t+1}$ : image des graines calculées avec les paramètres optimaux. Cette image peut être amenée à changer
- $\mathcal{T}_{t \leftarrow t + \delta t}$ : transformation non-linéaire permet tant de rééchantillonner  $I_t$  sur  $I_{t + \delta t}$

#### 1.2 Overview

L'appel se fait par le fichier 4-astec.py. C'est là que se fait la boucle sur le temps pour segmenter successivement tous les points de temps.

La segmentation d'un point de temps  $t+\delta t$  se fait par l'appel de la fonction segmentation\_propagation() (section 3.16, page 37) avec en paramètres les images fusionnées,  $I_t$  et  $I_{t+\delta t}$  ainsi que la segmentation à t,  $S_t^{\star}$ .

La plupart des paramètres (longueurs, volumes) sont en unité voxelique. segmentation\_propagation() (section 3.16, page 37) fait les opérations suivantes

- non\_linear\_registration() de ASTEC/CommunFunctions/cpp\_wrapping.py qui calcule la transformation non-linéaire  $\mathcal{T}_{t\leftarrow t+\delta t}$ , à partir des images fusionnées
- segmentation\_propagation\_seeds\_init\_and\_deform() (section 3.14, page 32), qui calcule  $S_t^e$  et  $S_{t+\delta t\leftarrow t}^e$

$$S_{t+\delta t \leftarrow t}^e = S_t^e \circ \mathcal{T}_{t \leftarrow t+\delta t}$$

soit les graines projetées (cellules de  $S_t^{\star}$  érodées puis transformées dans  $I_{t+\delta t}$ ) [1, section 2.3.3.4]

- apply\_trsf() de ASTEC/CommunFunctions/cpp\_wrapping.py qui calcule  $S^{\star}_{t+\delta t \leftarrow t} = S^{\star}_{t} \circ \mathcal{T}_{t \leftarrow t+\delta t}$ , soit la segmentation à t projetée à  $t+\delta t$
- Une autre image d'intensité  $I_{t+\delta t}$  peut être calculée avec le rehaussement de membrane
- segmentation\_propagation\_from\_seeds(), (section 3.15, page 33) avec en paramètres l'image de segmentation à t,  $S_t^{\star}$ , l'image d'intensité à  $t + \delta t$  sur un octet,  $I_{t+\delta t}$ ,  $S_{t+1\leftarrow t}^e = S_t^e \circ \mathcal{T}_{t\leftarrow t+\delta t}$ , soit les graines projetées (cellules de  $S_t^{\star}$  érodées puis transformées dans  $I_{t+\delta t}$ ). La transformation pourrait se faire en dehors de la fonction.
  - Calcul de  $\tilde{S}_{t+1}$  (une première segmentation de  $I_{t+\delta t}$ ) par ligne de partage des eaux avec les graines  $S^e_{t+1\leftarrow t} = S^e_t \circ \mathcal{T}_{t\leftarrow t+\delta t}$
  - get\_seeds() (section 3.8, page 13). Pour chaque cellule, et pour un ensemble de valeurs de  $h \in [h_{min}, h_{max}]$  (avec un pas de 2, paramètre en dur), get\_seeds() calcule (avec cell\_propagation()) le nombre de h-minima qui sont strictement inclus dans la cellule c de  $\tilde{S}_{t+1}$  (Count $^h(c)$  de [1, section 2.3.3.5, page 71]). Cette opération de sélection des h-minima strictement inclus dans la cellule c de  $\tilde{S}_{t+1}$  est faite plusieurs fois, on peut donc la mutualiser.

- get\_back\_parameters() (section 3.9, page 15), qui détermine pour chaque cellule, selon les nombres de h-minima inclus, le nombre optimal de graines à considérer et les valeurs de paramètres  $(h, \sigma)$ , associés (on prend le plus grand h donnant ce nombre de graines). Il y a ici une différence significative entre la description dans la thèse et ce qui est mis en œuvre.

D'après la thèse [1, page 72], on utilise  $N_2(c)$  le nombre de h donnant exactement 2 graines et  $N_{2+}(c)$ , la plus grande valeur de h donnant 2 graines. De plus  $N_2(c)$  est défini par  $N_{2+}(c) - N_{2-}(c) + 1$ , où  $N_{2-}(c)$  est la plus petite valeur de h donnant 2 graines.

D'après [1], h peut être vu comme une mesure de contraste (si la hauteur de la membrane entre 2 cellules adjacentes est plus petite que h, alors il n'y aura qu'une seule Une première hypothèse est que le premier h donnant plus de 2 graines est une mesure du "bruit" (considéré comme un contraste) du "fond" de la cellule, ce premier h est donc  $N_2$ –(c) – 1. Il y a une vraie division si le contraste de la membrane entre les deux cellules après division est suffisamment élevé (ce contraste est estimé par  $N_2$ +(c)) et si ce contraste est suffisamment différent du contraste du bruit, donc si la différence  $N_2$ +(c) –  $(N_2$ -(c) – 1) =  $N_2$ (c) est suffisamment élevée. D'où le critère

$$s(c) = N_{2+}(c).N_2(c) > \tau \tag{1}$$

On calcule le score  $s(c) = N_{2+}(c).N_2(c)$  que l'on compare à  $\tau$ . Il y aura division si  $s(c) = N_{2+}(c).N_2(c) > \tau$ .

- st si plusieurs h donnent 2 graines, on prend le plus grand de ces h
- \* s'il y a toujours au moins 3 graines, on prend 3 graines (et le plus grand h donnant 3 graines) et la plus petite des 3 régions résultant de ces graines sera fusionnée avec celle avec laquelle elle partage la plus grande frontière. [En fait c'est faux, car dans get\_seeds\_from\_optimized\_parameters() qui sera ensuite appelé dans segmentation\_propagation\_from\_seeds() on crée les graines avec extract\_seeds(..., accept\_3\_seeds=False) : on ne numérotera que les 2 premières graines.]

L'implémentation est sensiblement différente

- \* On a  $h_{min} = 4$ ,  $h_{max} = 18$  et on parcourt les h avec un pas  $\delta h$  de 2. L'ensemble des h testés n'est  $[h_{min}, h_{max}] \subset \mathbb{N}$  mais  $\{4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18\}$ .
- n'est  $[h_{min}, h_{max}] \subset \mathbb{N}$  mais  $\{4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18\}$ . \* On calcule  $NB_2$  par nb\_2=np.sum(np.array(s)==2), c'est le nombre de h qui donnent 2 graines. Cette valeur n'est égale à  $N_2(c) = N_{2+}(c) - N_{2-}(c) + 1$  que si  $\delta h = 1$
- graines. Cette valeur n'est égale à  $N_2(c)=N_{2^+}(c)-N_{2^-}(c)+1$  que si  $\delta h=1$  \* On calcule  $NB_3$  par nb\_3=np.sum(np.array(s)>=2), c'est le nombre de h qui donnent 2 graines ou plus. Cette valeur n'a rien à voir avec  $N_{2^+}(c)$ . On a évidemment  $NB_3 \geq NB_2$

La règle implémentée (cf Alg. 1) est

- 1. S'il existe des h donnant 1 ou 2 graines (la question de la division se pose donc)
  - (a) si le score  $s(c) = NB_2 \cdot NB_3 \ge \tau$ , alors on garde 2 graines. Comme  $\tau = 25$ , cela signifie que s'il y a au moins 5 valeurs de h qui donnent 2 graines, alors on divisera la cellule.
  - (b)  $\sin (s(c) = NB_2 \cdot NB_3 < \tau)$  et il existe des h donnant 1 graine, alors on garde une graine
  - (c) sinon  $(s(c) = NB_2 \cdot NB_3 < \tau$  et il n'existe pas de h donnant 1 graine) on garde 2 graines [ce cas doit difficilement survenir, il faut que beaucoup de h ne donnent aucune graine, puis que les suivants donnent au moins 2 graines].
- 2. sinon (il n'existe pas de h donnant 1 ou 2 graines) et il existe des h donnant 3 graines, alors on garde 3 graines [en fait seules les 2 premières seront effectivement gardées].
- 3. sinon (il n'existe pas de h donnant 1 ou 2 ou 3 graines), on dit qu'il n'y a pas de graines

On récupère le premier h donnant le nombre choisi de graines. Comme les h sont parcourus par ordre décroissant, c'est donc le plus grand h donnant ce nombre de graines qui est retenu. Quelques remarques:

\* Le score dépend du nombre de h utilisés pour le calcul des graines, donc de  $h_{min}$ , de  $h_{max}$  et du pas entre 2 h successifs.

```
1 if N_1(c) > 0 or N_2(c) > 0 then
      // Il y a des h donnant 1 ou 2 graines
      if NB_2 \cdot NB_3 \geq \tau then
          // Rq: [1, page 72] utilise une inégalité stricte
          // \tau est fixé à 25
          \#seeds_{opt} = 2
 3
      else if N_1(c) > 0 then
 4
          \#seeds_{opt} = 1
 5
 6
      else
          \#seeds_{opt} = 2
 7
      end
 9 else if N_3(c) > 0 then
      \#seeds_{opt} = 3
10
11 else
      // cas où N_1(c) = N_2(c) = N_3(c) = 0
      \#seeds_{opt} = 0
12
13 end
```

Algorithm 1: Choix du nombre de graines

- get\_seeds\_from\_optimized\_parameters() (section 3.10, page 17), qui va construire une image de graines Seeds<sub>t+1</sub> à partir des nombres de graines calculés par get\_back\_parameters(), et l'image de segmentation correspondante  $\hat{S}_{t+1}$ 
  - \* Pour les cellules qui ont des graines (#seeds ≠ 0, cf Alg. 1), on récupère les h-minima (pour les paramètres optimaux trouvés) inclus dans la cellule (on les recalcule donc avec extract\_seeds() (section 3.5, page 11), qui numérote aussi les composantes).
    Rq: si #seeds = 3 on ne garde que les 2 premières composantes numérotées, ce qui me semble bizarre comme choix.
  - \* Pour le fond, on récupère (avec cell\_propagation()) les  $h_{max}$ -minima strictement inclus dans le fond. Plutôt que de garder plusieurs numéros/labels pour ces graines, on pourrait toutes les mettre à 1, cela supprimerait des opérations (eg renumérotation de la segmentation) car ces graines ne seront pas remises en cause plus tard.
  - \* Pour les cellules sans graines (#seeds = 0, cf Alg. 1, cas où  $N_1(c) = N_2(c) = N_3(c) = 0$ ), on regarde leur volume dans  $\tilde{S}_{t+1}$ . S'il est assez grand (supérieur à 100 voxels), on récupère la projection de la cellule mère érodée comme graine ( $S_{t+\delta t\leftarrow t}^e = S_t^e \circ \mathcal{T}_{t\leftarrow t+\delta t}$ )

Un appel à l'algorithme de ligne de partage des eaux permet de calculer l'image de segmentation  $\hat{S}_{t+1}$  à partir des graines Seeds<sub>t+1</sub>. Cet appel pourrait être sorti de la fonction.

- volume\_checking() (section 3.12, page 22). C'est une fonction assez complexe. Elle vise à corriger les erreurs faites à l'étape précédente. C'est plus ou moins bien décrit dans [1, section 2.3.3.6, page 73]. Une des préoccupations est que les tests (informatiques) sont mal faits, ce qui peut (en théorie) faire que des cas échappent aux traitements (ce qui est peut être voulu), ou que des cas soient traités deux fois (ce qui serait bizarre).
  - \* On classe les cellules (ou les couples (mère, fille(s))) selon les variations de volume entre la mère (calculé dans  $S_t^{\star}$  ou issu du linéage), et le volume des filles (calculé dans  $\hat{S}_{t+1}$ ). On calcule

$$volume_{ratio} = 1 - \frac{vol_{mother}}{\sum_{fille} vol_{fille}}$$

· bigger contient les couples (mère, fille(s)) avec une augmentation de volume de plus de 10% ( $vol_{mother} < \sum_{fille} vol_{fille}$ )

- · lower contient les couples (mère, fille(s)) avec une diminution de volume de plus de 10% ( $vol_{mother} > \sum_{fille} vol_{fille}$ )
- · to\_look\_at contient les couples (mère, fille(s)) avec une diminution de volume de plus de 50%, c'est donc un sous-ensemble de lower ( $vol_{mother} >> \sum_{fille} vol_{fille}$ )
- · too\_little contient les couples (mère, fille) où la fille a un volume de moins de 1000 voxels
- \* Traitement de to\_look\_at (cf Alg. 2, [1, point (1), section 2.3.3.6, page 73]).
  - · On recalcule le nombre de graines optimales  $\#seeds_{opt}$ , comme dans l'Alg. 1, pour les cas  $N_1(c) > 0$  or  $N_2(c) > 0$ , sauf que l'on garde le plus petit h donnant le nombre de graines  $\#seeds_{opt}$  (c'était le plus grand dans get\_back\_parameters()).
  - · On peut maintenant avoir trois graines (liste to\_fuse\_3 qui sera traitée plus tard).
  - · la gestion des correspondances (filiation) est mal faite : des graines sont re-numérotées, mais les filiations précédentes ne sont pas effacées.

```
1 if N_1(c) > 0 or N_2(c) > 0 then
      if N_{2^{+}}(c).N_{2}(c) \geq \tau then
         \#seeds_{opt} = 2
 3
      else if N_1(c) > 0 then
         \#seeds_{opt} = 1
 5
 6
      else
       \#seeds_{opt} = 2
 7
      end
 8
      if \#seeds_{opt} = 1 and N_2(c) > 0 then
         // si on avait 1 graine optimale, mais des h donnant 2 graines
         // on (re)calcule les graines (\#seeds) pour le premier h qui donne 2 graines
         // et on ne garde que les graines incluses dans la cellule
         if \#seeds = 2 and ... then
10
             // la seconde partie de la condition me semble bizarre, et serait fausse
                 tout le temps ...
             // C'est censé détecter le cas où sur les 2 graines, l'une est en dehors de
                 la cellule dans S_{t+1}
             on passe à 2 graines
11
      if (\#seeds_{opt} = 1 \text{ or } \#seeds_{opt} = 2) \text{ and } \exists n \geq 3 | N_n(c) > 0 \text{ then}
12
         // cette condition peut être vérifiée en même temps que la précédente
         // si on a par exemple \#seeds_{opt} = 1, N_2(c) > 0 et N_3(c) > 0
         // une cellule peut être traitée 2 fois ...
13
         on récupère les h_{min}-minima (il y en a donc au moins 3)
      else if \#seeds_{out} = 1 then
14
         // On a donc \forall n \geq 3 | N_n(c) = 0
         // cette condition peut être vérifiée en même temps que la première
         // si on a par exemple \#seeds_{opt}=1 et N_2(c)>0
         on récupère la graine correspondante de S^e_{t+\delta t\leftarrow t} // graine "projetée", censée être plus
15
             grande
16 else if N_3(c) > 0 then
      // C'est le cas où il n'y a pas de h donnant 1 ou 2 graines. On avait auparavant
         pris les 2 premières graines.
      on permet d'avoir 3 graines, et on en fusionnera 2 plus tard
```

Algorithm 2: Traitement de to\_look\_at dans volume\_checking().

- \* Traitement de too\_little. On enlève la graine correspondant à la fille de volume trop petit dans Seeds $_{t+1}$ . Si c'est la seule fille, la mère n'a donc plus de descendance.
- \* S'il y a eu des changements précédemment, on recalcule une image de segmentation  $\hat{S}_{t+1}$  et les volumes des cellules de  $\hat{S}_{t+1}$ . Sinon, on pourrait sortir de la fonction, ce qui n'est pas fait.
- \* Recalcul de la liste lower (le seuil de 10% est en dur et non réglable par une variable). A priori, il faudrait recalculer aussi les autres listes.
- \* Traitement de lower.
  - · On fait la différence entre la cellule mère de  $S_{t+\delta t\leftarrow t}^{\star}$  et les cellules filles de  $\hat{S}_{t+1}$ , et on regarde si le label majoritaire dans cette différence est le fond. Si c'est le fond, on va mettre le couple (mère, fille(s)) dans une liste exterior\_correction, sinon on ne fait rien.
  - · Traitement de exterior\_correction [1, début du point (2), section 2.3.3.6, page 73] avec les morphosnakes dans des sous-images (perform\_ac(), section 3.11, page 21), c'est ce qui peut prendre du temps.
    - Dans perform\_ac(), on calcule une norme de gradient (vient de cpp\_wrapping.py), puis  $g(I) = \frac{1}{\sqrt{1+\alpha|\nabla G_{\sigma}*I|}}$  comme dans [2, Eq. (24)]. Toutefois, cette équation est faite pour avoir une image de potentiel avec de faibles valeurs pour les contours (ie les membranes). Elle n'est donc pas adaptée pour nos images (une inversion des valeurs de l'image pourrait être plus adéquate).
  - · Réincorporation des résultats dans  $\hat{S}_{t+1}$ . Attention, s'il y avait plusieurs filles (une division), elles sont fusionnées et la filiation ne donne plus qu'une fille.
- \* Traitement de to\_fuse\_3. On élimine la plus petite des 3 cellules et on l'affecte à celle des 2 autres avec laquelle elle partage le plus de frontière.
- outer\_correction() ([1, fin du point (2), section 2.3.3.6, page 73]) (section 3.13, page 31) On réalise une ouverture morphologique sur le masque de l'embryon (un ouvert est toujours inclus dans l'objet de départ) et on enlève, pour les cellules filles de exterior\_correction, les points enlevés par l'ouverture.

## 2 4-astec.py

```
[...]
  115 ### Building paths from nomenclature.py and parameters file
  117 path_fuse_exp = replaceFlags(path_fuse_exp, p)
  118 print "Fused data will be searched in directory %s"%replaceFlags(path_fuse_exp,
  120 assert os.path.isdir(path_fuse_exp), "Provided fuse directory '%s' not found"
  121
                                          %path_fuse_exp
  122 path_fuse_exp_files = replaceFlags(path_fuse_exp_files, p)
  124 path_seg = replaceFlags(path_seg, p)
  125 path_seg_exp = replaceFlags(path_seg_exp, p)
  126 path_seg_exp_files = replaceFlags(path_seg_exp_files, p)
  127 path_seg_exp_lineage = replaceFlags(path_seg_exp_lineage, p)
  128 path_seg_exp_lineage_test = replaceFlags(path_seg_exp_lineage_test, p)
  129 path_seg_exp_reconstruct=replaceFlags(path_seg_exp_reconstruct,p)
  130 path_seg_exp_reconstruct_files=replaceFlags(path_seg_exp_reconstruct_files,p)
  131 if not p.astec_keep_reconstruct_files:
          path_seg_exp_reconstruct_files = None
  133 path_log_file = replaceFlags(path_seg_logfile, p)
[...]
  179 ### Segmentation Propagation Stuff ###
  181
  182 # ASTEC segmentation propagation
  184 # Read the lineage tree (in case it was previously created)
  185 lin_tree_information=read_lineage_tree(path_seg_exp_lineage)
  186
  187 begin=p.begin+p.raw_delay
  188 end=p.end+p.raw_delay
  190 ####SAFETY CHECK AFTER RELAUNCH
[...]
  228 ### PROCESS PROPAGATION SEGMENTATION
  229 for t in range(begin, end):
  230
          time_segment=t+p.delta #Time point of Segmentation
  231
          print 'Starting the segmentation at ' + str(time_segment)
  232
          fused_file_ref=replaceTIME(path_fuse_exp_files, t) #Previous image file
  233
          fused_file=replaceTIME(path_fuse_exp_files, time_segment) #To be segmented
  234
          segmentation_file_ref=replaceTIME(path_seg_exp_files, t) #Prev. seg file
  235
          segmentation_file=replaceTIME(path_seg_exp_files, time_segment) #Output seg
  236
          reconstruct_file=None
  237
  238
          if p.astec_keep_reconstruct_files:
  239
              reconstruct_file=replaceTIME(path_seg_exp_reconstruct_files, \
  240
                                          time_segment)
  241
          # TEMPORARY FOLDER
  242
          temporary_folder=replaceTIME(os.path.join(path_seg_exp,'TEMP_'+FLAG_TIME),\
```

```
243
                                    t)
244
        os.system("mkdir -p " + temporary_folder ) # Make temporary folder
245
246
        vf_file=replaceTimes( \
247
                os.path.join( \
248
                temporary_folder,'VF_t'+FLAG_TIMEREF+'_on_t'+FLAG_TIMEFLO+'.inr' \
                ), {FLAG_TIMEREF:t,FLAG_TIMEFLO:time_segment})
249
250
        h_min_files=replaceTIME(os.path.join(temporary_folder, \)
251
                                'h_min_t$TIME_h$HMIN_s$SIGMA.inr'),time_segment)
252
        seed_file=replaceTIME(os.path.join(temporary_folder,'Seed_t$TIME.inr'),t)
253
        print vf_file
254
        print h_min_files
255
        print seed_file
256
        #PROCESS PROGATION SEGMENTATION
257
258
        seg_from_opt_h, lin_tree_information=segmentation_propagation( \
259
            t,fused_file_ref,segmentation_file_ref, fused_file, \
260
            seed_file, vf_file, h_min_files, \
261
           p.astec_h_min_min, p.astec_h_min_max, p.astec_sigma1, \
262
            lin_tree_information, p.delta, p.astec_nb_proc, \
263
            membrane_reconstruction_method=p.astec_membrane_reconstruction_method,\
264
            fusion_u8_method=p.astec_fusion_u8_method, \
265
            flag_hybridation=p.astec_flag_hybridation, \
            RadiusOpening=p.astec_RadiusOpening, Thau=p.astec_Thau, \
266
            MinVolume=p.astec_MinVolume, \
267
268
            VolumeRatioBigger=p.astec_VolumeRatioBigger, \
269
            VolumeRatioSmaller=p.astec_VolumeRatioSmaller, \
270
            MorphosnakeIterations=p.astec_MorphosnakeIterations, \
            NIterations=p.astec_NIterations, DeltaVoxels=p.astec_DeltaVoxels, \
271
272
            rayon_dil=p.astec_rayon_dil, \
273
            sigma_membrane=p.astec_sigma_membrane, \
274
            manual=p.astec_manual, \
275
            manual_sigma=p.astec_manual_sigma, \
276
           hard_thresholding=p.astec_hard_thresholding, \
277
            hard_threshold=p.astec_hard_threshold, \
278
            sensitivity=p.astec_sensitivity, \
279
            sigma_TV=p.astec_sigma_TV, \
280
            sigma_LF=p.astec_sigma_LF, \
281
            sample=p.astec_sample, \
           keep_membrane=False, keep_all=False, nb_proc_ACE=p.astec_nb_proc_ace,\
282
283
            min_percentile=p.astec_min_percentile, \
284
           max_percentile=p.astec_max_percentile, \
            min_method=p.astec_min_method, max_method=p.astec_max_method,\
285
286
            sigma_hybridation=p.astec_sigma_hybridation, \
287
            path_u8_images=reconstruct_file, \
288
            verbose=True)
```

Appel à segmentation\_propagation(), cf section 3.16, page 37

- $\bullet$  t : temps pour l'image de référence, on va segmenter l'image suivante, ie t+1
- fused\_file\_ref : nom de l'image d'intensite (fusionnée) à t, I<sub>t</sub>
- segmentation\_file\_ref : nom de l'image de segmentation à  $t, S_t^{\star}$

```
• fused_file : nom de l'image d'intensite (fusionnée) à t+1, I_{t+1}
  • seed_file : nom de l'image des graines
  • vf_file : nom de la transformation non-linéaire \mathcal{T}_{t\leftarrow t+1}
  • h_min_files : nom générique des images de h_{min} (paramétré par TIME, HMIN, et SIGMA)
   290
           #SAVE OUTPUT
   291
           print 'Write the segmentation in ' + segmentation_file
   292
           imsave(segmentation_file, seg_from_opt_h)
   293
           #Save the current lineage tree
   294
           write_lineage_tree(path_seg_exp_lineage,lin_tree_information)
   295
           os.system("rm -rf " + temporary_folder ) #delete temporary folder
   296
   297 print 'ASTEC SEGMENTATION DONE'
   299 ### PROCESS LINEAGE TREE FILE VERIFICATION
   300 print 'PROCESS LINEAGE TREE VERIFICATION'
   301 image_dict_seg=imageDict(path_seg_exp_files.replace(FLAG_TIME,"*"))
   302 report=pkl_lineage_test(lin_tree_information, image_dict_seg, \
   303
                                 file_out=path_seg_exp_lineage_test)
   304 print report
   305 print 'LINEAGE TREE FILE VERIFICATION DONE'
3
    ASTEC/ASTEC.py
3.1 compute_volumes()
    14 def compute_volumes(im, labels = None, real = True):
    15
           Return a dictionary, { label: volume }
    16
    17
           im : SpatialImage (label image)
    18
           labels: list of labels for which to compute the volumes (if None, all volumes are computed)
    19
    20
           labels = np.unique(im)
    21
    22
           volume = nd.sum(np.ones_like(im), im, index=np.int16(labels))
    23
           return dict(zip(labels, volume))
3.2 create_seed()
    26 def create_seed(parameters):
    27
    28
           Erodes the label i in the binary image tmp
    29
           tmp : binary SpatialImage
    30
           max_size_cell : size max allow for a cell (here put at np.inf)
           size_cell : size of the cell to erode
    31
           iterations : maximum number of iterations for normal cells
    32
           out_iterations : maximum number of iterations for exterior
    33
    34
           bb : bounding box if tmp in the global image (necessary when computing in parallel)
    35
           i : label of the cell to erode
    36
    37
           tmp, max_size_cell, size_cell, iterations, out_iterations, bb, i=parameters
```

```
38
       nb_iter=iterations
39
       if i==1:
40
           nb_iter=out_iterations
41
           opened=nd.binary_erosion(tmp, iterations=nb_iter)
42
           while len(nd.find_objects(opened))!=1 and nb_iter>=0:
43
               nb_iter-=1
44
               opened=nd.binary_erosion(tmp, iterations=nb_iter)
45
       else:
46
           opened=nd.binary_erosion(tmp, iterations=nb_iter)
47
           while len(nd.find_objects(opened))!=1 and nb_iter>=0:
48
               nb_iter-=1
49
               opened=nd.binary_erosion(tmp, iterations=nb_iter)
50
       if max_size_cell<size_cell:</pre>
51
           num=1
52
       else:
53
           num=i
54
       return opened, num, bb
```

## 3.3 create\_seeds()

85

pool.terminate()

Retourne une SpatialImage où les cellules de taille supérieure à min\_size\_cell (1000) sont érodées d'au plus 10 itérations pour les cellules et 25 pour le fond.

```
57 def create_seeds(seg, max_size_cell=np.inf, min_size_cell=1000, iterations=10, out_iterations=25
58
59
       Erodes all the labels in the segmented image seg
       seg : Segmentation to erode (SpatialImage)
60
       max_size_cell : size maximum of a cell in number of voxels
61
62
       min_size_cell : size minimum of a cell in number of voxels
       iterations: maximum number of iterations for normal cells
63
       out_iterations : maximum number of iterations for exterior
64
65
       nb_proc : number maximum of processors allowed to be used
66
67
       from multiprocessing import Process, Queue, Pool
68
       bboxes=nd.find_objects(seg)
69
       seeds=np.zeros_like(seg)
70
       a=np.unique(seg)
71
       pool=Pool(processes=nb_proc)
72
       count=0
73
       mapping=[]
74
       for i in a:
75
           tmp=seg[bboxes[i-1]]==i
76
           size_cell=np.sum(tmp)
77
           if size_cell>min_size_cell:
78
               count+=1
79
               mapping.append((tmp, \
80
                               max_size_cell, size_cell, \
                               iterations, out_iterations, \
81
82
                               bboxes[i-1], i))
83
       outputs=pool.map(create_seed, mapping)
84
       pool.close()
```

```
86    for seed, num, bb in outputs:
87        seeds[bb][seed]=num
88    return SpatialImage(seeds, voxelsize=seg.voxelsize)
```

## 3.4 cell\_propagation()

Appelé par get\_seeds() (section 3.8, page 13) et get\_seeds\_from\_optimized\_parameters() (section 3.10, page 17)

Pour une sous-image contenant une cellule et une sous-image correspondant contenant des minima étiquetés, sélectionne les minima strictement inclus dans la cellule, et renvoie leur nombre total. Cette procédure est similaire à extract\_seeds() (section 3.5, page 11), toutefois extract\_seeds() renvoie un nombre de graines d'au plus 3, et en sélectionne au plus 2.

```
92 def cell_propagation(parameters):
93 """

94 Return the seeds in seeds_not_prop stricly included in cell c in seg_c
95 seg_c : segmented image (SpatialImage)
96 c : label of the cell to process
97 seeds_not_prop : image of seeds (SpatialImage)
98 """

99 seg_c, c, seeds_not_prop=parameters
```

- $seg_c$ : une sous-image où la cellule est à c et le reste à 1.
- c : le label de la cellule
- seeds\_not\_prop : la sous-image des h-minima étiquetés

```
if len(np.unique(seg_c))!=2: # DON'T MESS WITH THE SEEDS ! YOU NEED ONE AND ONLY ONE !!
return
seg_out=None
labels=list(np.unique(seeds_not_prop[seg_c==c]))
```

on récupère les labels qui sont dans la cellule

```
#if 0 in labels:
labels.remove(0)#TODO Check if 0 is inside labels list
final_labels=[]
for 1 in labels:
    if (seg_c[seeds_not_prop==1]==c).all():
```

on vérifie que le h-minimum du label est entièrement dans la cellule

```
final_labels.append(1)

nb=len(final_labels)

return seg_out, nb, final_labels, c
```

Retourne None, le nombre de h-minima, la liste des labels des h-minima, le label de la cellule

## 3.5 extract\_seeds()

Appelé par get\_seeds\_from\_optimized\_parameters() (section 3.10, page 17) et volume\_checking() (section 3.12, page 22). Cette procédure est similaire à cell\_propagation() (section 3.4, page 11). Cependant extract\_seeds() renvoie le nombre total de graines dans la cellule d'au plus 3, en en sélectionnant au plus 2, alors que cell\_propagation() les dénombre toutes.

```
113 def extract_seeds(seg_c, c, path_seeds_not_prop=None, bb=None, accept_3_seeds=False):
```

Appelé par get\_seeds\_from\_optimized\_parameters (section 3.10, page 17). Il y a des similarités avec cell\_propagation()

- $\bullet$  seg\_c : sous-image où la cellule est à c et le reste à 1
- c : label de la cellule
- path\_seeds\_not\_prop : sous-image des h-minima, s'appelait seeds\_ex lors de l'appel. Les h-minima ontété étiquetés par find\_local\_minima()

```
11 11 11
114
        Return the seeds from seeds_not_prop stricly included in cell c from seg_c (the labels of th
115
        seg_c : segmented image (SpatialImage)
116
        c : label of the cell to process
117
118
        seeds_not_prop : image of seeds (can be the path to the image or the SpatialImage)
119
        bb : if seeds_not_prop is a path then bb is the bounding box of c in seeds_not_prop
120
        accept_3_seeds : True if 3 seeds can be accepted as a possible choice
121
122
        if type(path_seeds_not_prop)!=SpatialImage:
123
            seeds_not_prop_out=imread(path_seeds_not_prop)
124
            seeds_not_prop=seeds_not_prop_out[bb]
125
        else: ## Then path_seeds_not_prop is the actual image we want to work with
126
            from copy import deepcopy
127
            seeds_not_prop=deepcopy(path_seeds_not_prop)
128
        labels=list(np.unique(seeds_not_prop[seg_c==c]))
```

#### Récupère les labels des graines qui intersectent la cellule

```
129    labels.remove(0)
130    final_labels=[]
131    for l in labels:
132        if (seg_c[seeds_not_prop==1]==c).all():
133             final_labels.append(1)
```

## Test si le label est entièrement inclus dans la cellule

```
134
        if len(final_labels)==1:
135
            return (1, (seeds_not_prop==final_labels[0]).astype(np.uint8))
        elif len(final_labels) == 2:
136
            return (2, ((seeds_not_prop==final_labels[0]) +
137
138
                        2*(seeds_not_prop==final_labels[1])).astype(np.uint8))
        elif len(final_labels) == 3 and not accept_3_seeds: # "too much seeds in the second extraction"
139
140
            return (3, ((seeds_not_prop==final_labels[0]) +
                        2*(seeds_not_prop==final_labels[1])).astype(np.uint8))
141
```

accept\_3\_seeds est à False par défaut, et ne peut pas être modifié lors de l'appel d'extract\_seeds() par get\_seeds\_from\_optimized\_parameters, donc en cas de 3 graines, on ne numérote que les 2 premières, mais on renvoie un nombre de 3 graines quand même.

Les lignes ci-après ne sont utiliées que par  $volume\_checking()$ . C'est le cas où il y a eu une grosse diminution de volume (plus de 50%) entre la mère et les filles, et qu'il n'existe pas de h donnant 1 ou 2 graines.

```
elif len(final_labels)==3 and accept_3_seeds: #"accept 3 seeds !"

return (3, ((seeds_not_prop==final_labels[0]) +

2*(seeds_not_prop==final_labels[1]) +

3*(seeds_not_prop==final_labels[2])).astype(np.uint8))
```

Retourne le nombre de labels, ainsi qu'une sous-image avec les graines étiquettées à partir de 1.

```
3.6 slices_dilation()
```

return slices

156 def to\_u8(im, lt=0):

```
147 def __slices_dilation(slices, maximum=[np.inf, np.inf, np.inf]):

148     return tuple([slice(max(0, s.start-1), min(s.stop+1, maximum[i])) for i, s in enumerate(slic

149

150 def slices_dilation(slices, maximum=[np.inf, np.inf, np.inf], iterations=1):

151     for i in range(iterations):

152     slices=__slices_dilation(slices, maximum)
```

## 3.7 to\_u8()

153

```
157
158
         Return a SpatialImage in unsigned int
159
        im : SpatialImage
        lt : if the smallest value in the intensity image can be "predicted"
160
161
162
        from copy import deepcopy
        imcp=deepcopy(im)
163
164
        tmp=imcp[:,:,imcp.shape[2]/3]
165
        fper=np.percentile(tmp[tmp>=lt], 1)
        nper=np.percentile(tmp[tmp>=lt], 99)
166
167
        imcp[imcp<fper]=fper</pre>
168
        imcp[imcp>nper]=nper
169
        #im-=fper
        np.subtract(imcp, fper, out=imcp, casting='unsafe')
170
171
        return SpatialImage(np.uint8(np.linspace(0, 255, nper-fper+1), casting='unsafe')[imcp], voxe
```

## 3.8 get\_seeds()

### Appelé par segmentation\_propagation\_from\_seeds(), section 3.15

Compte les h-minima strictement inclus dans la cellule pour un ensemble de valeurs de h

174 def get\_seeds(seg, h\_min\_min,h\_min\_max, sigma, cells, fused\_file, path\_h\_min, bounding\_boxes, nb

- seg : image de segmentation  $\tilde{S}_{t+1}$ . S'appelait segmentation lors de l'appel
- $h_{\min}$  : plus petite valeur de h pour le calcul des h-minima
- $h_{min_max}$ : plus grande valeur de h pour le calcul des h-minima
- $\bullet$  sigma :  $\sigma$  pour le lissage gaussien avant le calcul des h-minima
- cells : liste des cellules
- fused\_file : image originale  $I_{t+1}$ , les graines sont donc calculées sur l'image originale en 2 octets, et non sur une image transformée (eg par GLACE)
- path\_h\_min : nom générique pour les images de h-minima

• bounding\_boxes : boites englobantes des cellules

```
11 11 11
175
176
        Return the number of seeds found for each cell in seg for different h_min values (from h_min
        seg : Segmented image (SpatialImage)
177
178
        h_min_max : starting maximum value of h_min
        sigma : sigma of the gaussian smoothing (in voxels)
179
180
        cells : cells contained in seg
        fused_file : path (?) towards the fused image on which to perform the local minima detection
181
182
        path_h_min : format of h minima file names
183
        bounding_boxes : bounding boxes of the cells in seg (to fasten the computation)
184
        verbose : verbose mode (False or True)
185
186
        from multiprocessing import Pool
187
        nb_cells={}
188
        treated=[]
189
        parameters={}
190
        mask=None
191
        temp_path_h_min=path_h_min.replace('$HMIN',str(h_min_max))
192
        if not os.path.exists(temp_path_h_min):
193
            seeds_not_prop, mask=find_local_minima(temp_path_h_min, fused_file, h_min_max, sigma=sig
194
        else:
195
            seeds_not_prop=imread(temp_path_h_min)
```

find\_local\_minima() fait successivement un lissage gaussien, un calcul des h-minima (renvoie une image de "différence"), puis un seuillage par hysteresis avec un seuil bas de 1 et un seuil haut à h (les composantes sont étiquetées). Renvoie seeds\_not\_prop, SpatialImage résultat du seuillage par hystérésis, et mask, image de "différence" résultat du calcul des h-minima. Du fait de la relation d'ordre pour les h-minima, on peut calculer les prochains (avec h plus petit) dans cette image. find\_local\_minima() est dans ASTEC/CommunFunctions/cpp\_wrapping.py

```
196
197
        h_min=h_min_max
198
        tmp_nb=[]
199
        checking=True
200
        while (checking):
201
            mapping=[]
202
            tmp_nb=[]
203
            for c in cells:
204
                 if not c in treated:
205
                     bb=slices_dilation(bounding_boxes[c], maximum=seg.shape, iterations=2)
206
                     seg_c=np.ones_like(seg[bb])
207
                     seg_c[seg[bb] == c] = c
208
                     mapping.append((seg_c, c, seeds_not_prop[bb]))
```

Pour chaque cellule c, on dilate sa boite englobante, puis on construit une sous-image où la cellule est à c et le reste à 1.

```
209
210 pool=Pool(processes=nb_proc)
211 outputs=pool.map(cell_propagation, mapping)
on passe à cell_propagation() (section 3.4, page 11)
```

```
• seg_c: une sous-image où la cellule est à c et le reste à 1.
```

- c : le label de la cellule
- seeds\_not\_prop[bb] : la sous-image des h-minima étiquetés

```
212      pool.close()
213      pool.terminate()
```

#### cell\_propagation() retourne

- seg\_c : None,
- nb : le nombre de h-minima strictement inclus dans la cellule
- labels : liste des labels de ces h-minima
- c : le label de la cellule

```
214
            for seg_c_p, nb, labels, c in outputs:
215
                tmp_nb.append(nb)
                nb_cells.setdefault(c, []).append(nb)
216
                parameters.setdefault(c, []).append([h_min, sigma])
217
218
219
            h_{min}=2
220
            checking=h_min>=h_min_min and (((np.array(tmp_nb)<=2) & (np.array(tmp_nb)!=0)).any() or
221
            if checking:
222
                temp_path_h_min=path_h_min.replace('$HMIN',str(h_min))
223
                if not os.path.exists(temp_path_h_min):
224
                    seeds_not_prop, mask=find_local_minima(temp_path_h_min,fused_file, h_min, mask=m
225
226
                    seeds_not_prop=imread(temp_path_h_min)
227
                if seeds_not_prop is None:
228
                    checking=False
229
        return nb_cells, parameters
```

#### Retourne

- nb\_cells: liste pour chaque cellule, du nombre de h-minima strictement inclus dans la cellule de  $S_{t+1}$
- parameters : liste pour chaque cellule, des paramètres de calcul des h-minima (h et  $\sigma$ )

## 3.9 get\_back\_parameters()

Appelé par segmentation\_propagation\_from\_seeds(), section 3.15

```
232 def get_back_parameters(nb_cells, parameters, lin_tree, cells,Thau=25):
```

- nb\_cells: liste pour chaque cellule, du nombre de h-minima strictement inclus dans la cellule de  $\tilde{S}_{t+1}$ . C'est le Count $^h(c)$  de [1, section 2.3.3.5, page 71].
- paramèters : liste pour chaque cellule, des paramètres de calcul des h-minima (h et  $\sigma$ )
- lin\_tree : fichier de linéage
- cells : liste des cellules
- Thau:  $\tau$  pour le calcul du score  $s(c) = N_{2+}(c).N_2(c) > \tau$  [1, page 72].

```
11 11 11
233
234
        Return the correct h-minima value for each cell
        nb_cells : { cell: [#seeds, ] }: dict, key: cell, values: list of #seeds
235
        parameters : { cell: [[h_min, sigma], ]}: dict matching nb_cells, key: cell, values: list of
236
237
        lin_tree_back={ v:k for k, val in lin_tree.iteritems() for v in val }
238
239
        right_parameters={}
240
        cells_with_no_seed=[]
241
        ## 2 plateau size vs noise ##
242
        for c, s in nb_cells.iteritems():
243
            nb_2=np.sum(np.array(s)==2)
244
            nb_3=np.sum(np.array(s)>=2)
245
            score=nb_2*nb_3
```

D'après [1, page 72], on utilise  $N_2(c)$  le nombre de h donnant exactement 2 graines et  $N_{2+}(c)$ , la plus grande valeur de h donnant 2 graines. De plus  $N_2(c)$  est défini par  $N_{2+}(c)-N_{2-}(c)+1$ , où  $N_{2-}(c)$  est la plus petite valeur de h donnant 2 graines. On calcule le score  $s(c)=N_{2+}(c).N_2(c)$  que l'on compare à  $\tau$ . Il y aura division si  $s(c)=N_{2+}(c).N_2(c)>\tau$ .

- $\bullet$  si plusieurs h donnent 2 graines, on prend le plus grand de ces h
- s'il y a toujours au moins 3 graines, on prend 3 graines (et le plus grand h donnant 3 graines) et la plus petite des 3 régions résultant de ces graines sera fusionnée avec celle avec laquelle elle partage la plus grande frontière. [En fait c'est faux, car dans get\_seeds\_from\_optimized\_parameters() qui sera ensuite appelé dans segmentation\_propagation\_from\_seeds() on crée les graines avec extract\_seeds(..., accept\_3\_seeds=False) : on ne numérotera que les 2 premières graines.]

L'implémentation est sensiblement différente

- On a  $h_{min} = 4$ ,  $h_{max} = 18$  et on parcourt les h avec un pas  $\delta h$  de 2. L'ensemble des h testés n'est  $[h_{min}, h_{max}] \subset \mathbb{N}$  mais  $\{4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18\}$ .
- On calcule  $NB_2$  par  $nb_2=np.sum(np.array(s)==2)$ , c'est le nombre de h qui donnent 2 graines. Cette valeur n'est égale à  $N_2(c)=N_{2^+}(c)-N_{2^-}(c)+1$  que si  $\delta h=1$
- On calcule  $NB_3$  par  $nb_3=np.sum(np.array(s)>=2)$ , c'est le nombre de h qui donnent 2 graines ou plus. Cette valeur n'a rien à voir avec  $N_{2+}(c)$ . On a évidemment  $NB_3 \geq NB_2$

La règle implémentée est

- 1. S'il existe des h donnant 1 ou 2 graines (la question de la division se pose donc)
  - (a) si le score  $s(c) = NB_2 \cdot NB_3 \ge \tau$ , alors on garde 2 graines. Comme  $\tau = 25$ , cela signifie que s'il y a au moins 5 valeurs de h qui donnent 2 graines, alors on divisera la cellule.
  - (b) sinon  $(s(c) = NB_2 \cdot NB_3 < \tau)$  et il existe des h donnant 1 graine, alors on garde une graine
  - (c) sinon  $(s(c) = NB_2 \cdot NB_3 < \tau$  et il n'existe pas de h donnant 1 graine) on garde 2 graines [ce cas doit difficilement survenir, il faut que beaucoup de h ne donnent aucune graine, puis que les suivants donnent au moins 2 graines].
- 2. sinon (il n'existe pas de h donnant 1 ou 2 graines) et il existe des h donnant 3 graines, alors on garde 3 graines [en fait seules les 2 premières seront effectivement gardées].
- 3. sinon (il n'existe pas de h donnant 1 ou 2 ou 3 graines), on dit qu'il n'y a pas de graines

On récupère le premier h donnant le nombre choisi de graines. Comme les h sont parcourus par ordre décroissant, c'est donc le plus grand h donnant ce nombre de graines qui est retenu.

```
246
            if (s.count(1) or s.count(2))!=0:
247
                if score>=Thau:
248
                    h, sigma=parameters[c][np.where(np.array(s)==2)[0][0]]
                    nb_final=2
249
250
                elif s.count(1)!=0:
                    h, sigma=parameters[c][np.where(np.array(s)==1)[0][0]]
251
252
                    nb final=1
253
                else:
254
                    h, sigma=parameters[c][np.where(np.array(s)==2)[0][0]]
255
                    nb_final=2
256
                right_parameters[c]=[h, sigma, nb_final]
257
            elif s.count(3)!=0:
258
                h, sigma=parameters[c][s.index(3)]
259
                right_parameters[c]=[h, sigma, 3]
260
            else:
261
                cells_with_no_seed.append(c)
262
                right_parameters[c]=[0, 0, 0]
263
        return right_parameters, cells_with_no_seed
264
```

Retourne un tableau avec, pour chaque cellule c, les valeurs de h,  $\sigma$ , et le nombre de graines, ainsi que la liste des cellules sans graines (c'est redondant, puisque ce sont les cellules avec 0 graines).

## 3.10 get\_seeds\_from\_optimized\_parameters()

Appelé par segmentation\_propagation\_from\_seeds(), section 3.15, page 33

266 def get\_seeds\_from\_optimized\_parameters(t, seg, cells, cells\_with\_no\_seed, right\_parameters,delt

- $\bullet$  t : temps pour l'image de référence, on va segmenter l'image suivante, ie t+1
- seg: image de segmentation  $\hat{S}_{t+1}$ , SpatialImage. S'appelait segmentation lors de l'appel
- cells : liste des cellules
- cells\_with\_no\_seed : liste des cellules sans graines
- right\_parameters :  $(H, \sigma, \text{ nombre de graines})$  pour chaque cellule
- delta\_t:
- bounding\_boxes : boites englobantes pour les cellules
- im\_ref :  $I_{t+1}$  sur un octet, SpatialImage. S'appelait im\_fused\_8 lors de l'appel
- seeds :  $S_{t+1\leftarrow t}^e = S_t^e \circ \mathcal{T}_{t\leftarrow t+1}$ , soit les graines projetées (cellules de  $S_t^{\star}$  érodées puis transformées dans  $I_{t+1}$ ), SpatialImage
- ullet paramètres : liste pour chaque cellule, des paramètres de calcul des h-minima (h et  $\sigma$ )

```
267
        Return the seed image from the locally parametrized h-minima operator
268
269
        t : time
270
        seg : propagated segmentation (seg at t deformed on t+dt)
271
        cells: list of cells in seg
272
        cells_with_no_seed : list of cells with no correct parameters
273
        right_parameters : dict of the correct parameters for every cells
274
        delta_t : dt
275
        bounding_boxes : bounding boxes of the cells in seg (to fasten the computation)
```

```
276
        im_ref : Intensity image at time t+dt (on which to permorm the watershed)
277
        seeds: Propagated seeds from segmentation at time t (when no correct parameters were found)
        parameters : ?
278
279
        h_min_max : starting maximum value of h_min
280
        sigma : sigma of the gaussian smoothing (in voxels)
        path_h_min : format of h minima file names
281
282
283
        seeds_from_opt_h=np.zeros_like(seg, dtype=np.uint16)
284
        label_max=2
285
        corres={}
286
        divided_cells=[]
287
        h_min_information={}
288
        sigma_information={}
        sigma_done=[]
289
        h_min_done=[]
290
291
        seeds_images={}
292
        for c in cells:
293
         print 'get_seeds_from_optimized_parameters on '+str(c)
294
            if c in cells_with_no_seed:
295
                continue
296
            if not seeds_images.has_key((right_parameters[c][0], right_parameters[c][1])):
                path_seeds_not_prop=path_h_min.replace('$HMIN',str(right_parameters[c][0])).replace(
297
                seeds_images[(right_parameters[c][0], right_parameters[c][1])]=imread(path_seeds_not
298
            bb=slices_dilation(bounding_boxes[c], maximum=seg.shape, iterations=2)
299
            seg_c=np.ones_like(seg[bb])
300
301
            seg_c[seg[bb] == c] = c
302
            seeds_ex=seeds_images[(right_parameters[c][0], right_parameters[c][1])][bb]
```

Pour chaque cellule (qui a des graines), on dilate sa boite englobante, et on crée une sous-image, seg\_c, où la cellule est à c et le reste à 1. On récupère aussi la sous-image correspondante, seeds\_ex, des h-minima correspondant aux paramètres de la cellule. C'est tout-à-fait similaire à ce qui était fait dans get\_seeds() (section 3.8, page 13).

```
nb, seeds_c=extract_seeds(seg_c, c, seeds_ex)
```

Appel à extract\_seeds() (section 3.5, page 11)

- $seg_c$ : sous-image où la cellule est à c et le reste à 1
- c : label de la cellule
- $\bullet$  seeds\_ex : sous-image des h-minima

extract\_seeds() (re)calcule les graines strictement incluses dans la cellule c et renvoie une sous-image des graines numérotées à partir de 1

- nb : le nombre de graines
- seeds\_c : sous-image des graines numérotées à partir de 1

Toutefois, le nombre de graines ne peut être que dans [1,2,3] et il ne peut y avoir au plus que 2 graines numérotées. C'est pour ça que le cas nb==3 est identique au cas nb==2 ci-dessous.

```
304    if nb==1:
305         corres[c]=[label_max]
306         h_min_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=right_parameters[c][0]
307         sigma_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=right_parameters[c][1]
```

```
308
                seeds_from_opt_h[bb]+=seeds_c*label_max
                label_max+=1
309
            elif nb==2:
310
                corres[c]=[label_max, label_max+1]
311
312
                divided_cells.append((label_max, label_max+1))
                seeds_from_opt_h[bb][seeds_c==1]=label_max
313
                h_min_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=right_parameters[c][0]
314
                sigma_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=right_parameters[c][1]
315
316
                label_max+=1
317
                seeds_from_opt_h[bb][seeds_c==2]=label_max
318
                h_min_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=right_parameters[c][0]
                sigma_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=right_parameters[c][1]
319
320
                label_max += 1
321
            elif nb==3:
322
                corres[c]=[label_max, label_max+1]
323
                divided_cells.append((label_max, label_max+1))
324
                seeds_from_opt_h[bb][seeds_c==1]=label_max
325
                h_min_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=right_parameters[c][0]
                sigma_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=right_parameters[c][1]
326
327
                label_max+=1
328
                seeds_from_opt_h[bb][seeds_c==2]=label_max
                h_min_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=right_parameters[c][0]
329
                sigma_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=right_parameters[c][1]
330
331
                label max+=1
```

A la fin de cette etape, seeds\_from\_opt\_h contient les graines numerotees (la numérotation commence à 2, voir l'initialisation de label\_max) des cellules qui ont des graines (donc pas celles de la liste cells\_with\_no\_seeds).

```
332
333 print 'Create Background seed'
334
335
        seg_c=np.ones_like(seg)
336
        seg_c[seg!=c]=0
337
        sigma_out=sigma
        key_min = (h_min_max, sigma_out)
338
339
        for k in seeds_images.iterkeys():
340
         if k[0] < key_min[0]:</pre>
341
         key_min = k
```

Pour la graine du fond, on récupère dans  $seg_c$  la "cellule" fond de  $\tilde{S}_{t+1}$  ( $seg_c$  a donc des 1 pour le fond et des 0 ailleurs), segmentation par ligne de partage des eaux de  $I_{t+1}$  avec les graines  $S_{t+1\leftarrow t}^e = S_t^e \circ \mathcal{T}_{t\leftarrow t+1}$ . On lui affecte des paramètres fictifs ( $h_{max}, \sigma$ ).

```
342
343     print 'Cell propagation'
344     seeds_not_prop=seeds_images[key_min]
345     parameters=(seg_c, c,seeds_not_prop)
346     seg_c_p, nb, labels, c=cell_propagation(parameters)
```

On appelle cell\_propagation() (section 3.4, page 11) avec les graines issues du calcul des  $h_{max}$ -minima. cell\_propagation() retourne None, le nombre de h-minima, la liste des labels des h-minima, le label de la cellule

```
347    corres[1]=[]
348    exterior_corres=[]
349    for l in labels:
350     seeds_from_opt_h=seeds_from_opt_h.astype(np.uint16)
```

On caste seeds\_from\_opt\_h en uint16, mais il avait été construit dans ce type : seeds\_from\_opt\_h=np.zeros\_like(seg, d

On a récupéré ici toutes les graines correspondant au fond dans l'image des  $h_{max}$ -minima. Autre choix, on aurait pu toutes les mettre à 1.

```
354
355 print 'Cells with not Seed'
356 for c in cells_with_no_seed:
357 if np.sum(seg==c)>Volum_Min_No_Seed:
358 seeds_from_opt_h[seeds==c]=label_max
359 h_min_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=right_parameters[c][0]
360 corres[c]=[label_max]
361 label_max+=1
```

Pour les cellules "sans graines", on regarde si leur volume (dans  $\tilde{S}_{t+1}$ ) est suffisamment grand (supérieur à 100). Si oui, on récupère alors la graine correspondante dans  $S^e_{t+1\leftarrow t} = S^e_t \circ \mathcal{T}_{t\leftarrow t+1}$  (cellules de  $S^\star_t$  érodées puis transformées).

```
362

363 print 'Watershed '

364 seg_from_opt_h=watershed(SpatialImage(seeds_from_opt_h, voxelsize=seeds_from_opt_h.voxelsize
```

Ligne de partage des eaux dans  $I_{t+1}$ 

```
365    for l in exterior_corres:
366        seg_from_opt_h[seg_from_opt_h==1]=1
367    corres[1]=[1]
```

On met les cellules correspondant au fond à 1. Cela n'aurait pas été nécessaire si toutes les graines du fond avaient été mises à 1.

368 return seeds\_from\_opt\_h, seg\_from\_opt\_h, corres, exterior\_corres, h\_min\_information, sigma\_i:

## Retourne

- seeds\_from\_opt\_h : une SpatialImage contenant les graines
- seg\_from\_opt\_h : une SpatialImage contenant la segmentation
- corres: un tableau contenant les filiations
- exterior\_corres : une liste contenant la filiation pour le fond (inutile ?)
- h\_min\_information : une liste contenant les valeurs de h utilises pour chaque cellule
- sigma\_information : une liste contenant les valeurs de  $\sigma$  utilises pour chaque cellule
- divided\_cells : une liste contenant les couples de cellules soeurs
- label\_max : le plus grand label utilis (+1)

## 3.11 perform\_ac()

Appelé par volume\_checking() (section 3.12, page 22).

```
372 def perform_ac(parameters):
373
374
        Return the shape resulting of morphosnake operation on image I using image S as an initialis
375
        m : label of the cell to work on
376
        daughters: list of the daughters of cell m (to keep track when working in parallel)
        bb: bounding boxe of m
377
378
        I : intensity image to perform active contours on (SpatialImage)
379
        S: segmented image to perform active contours from (SpatialImage, must contain the label m)
380
381
382
```

- m : label de la cellule mère
- daughters : labels des cellules filles
- bb : boite englobante de la cellule mère transformée et dilatée (15 fois)
- I : sous-image de l'image originale définie par la boite englobante (ce n'est pas nécessairement une image sur 2 octets). S'appelait im\_ref\_tmp
- S : sous-image de  $S_t^{\star}$  transformée dans  $I_{t+1}$ , soit  $S_t^{\star} \circ \mathcal{T}_{t \leftarrow t+1}$ . S'appelait seg\_ref\_tmp
- MorphosnakeIterations: MorphosnakeIterations=10
- NIterations : NIterations=200
- DeltaVoxels : DeltaVoxels=10\*\*3

```
m, daughters, bb, I, S,MorphosnakeIterations,NIterations,DeltaVoxels=parameters
import os
from scipy import ndimage as nd
import morphsnakes
cell_num=m
```

On érode le complémentaire de la mère ?

```
Sb=nd.binary_erosion(S!=cell_num, iterations=MorphosnakeIterations, border_value=1)#[:,:,sl]
image_input='tmp_'+str(cell_num)+'.inr'
gradient_output='tmp_out_'+str(cell_num)+'.inr'
imsave(image_input, I)
```

On calcule une norme de gradient (vient de cpp\_wrapping.py), puis on calcule

$$g(I) = \frac{1}{\sqrt{1 + \alpha |\nabla G_{\sigma} * I|}}$$

c'est l'eq. (24) de [2]. Toutefois, le design de cette fonction g() est d'être faible aux contours. Si on considère que l'image des membranes est une image de norme de gradient, il aurait suffi de l'inverser.

```
392    gradient_norm(image_input,gradient_output)
393    gI = imread(gradient_output)
394    os.system('rm -f '+image_input+' '+gradient_output)
395    gI=1./np.sqrt(1+100*gI)
396
```

```
397
        macwe = morphsnakes.MorphGAC(gI, smoothing=3, threshold=1, balloon=1)
398
        macwe.levelset = Sb
399
400
        bef=np.ones_like(Sb)
401
        from copy import deepcopy
        for i in xrange(NIterations):
402
403
            beff=deepcopy(bef)
404
            bef=deepcopy(macwe.levelset)
405
            macwe.step()
406
            if np.sum(bef!=macwe.levelset) < DeltaVoxels or np.sum(beff!=macwe.levelset) < DeltaVoxels:
407
408
        out=macwe.levelset
409
        tmp=nd.binary_fill_holes(out)
410
        cell_out=(out.astype(np.bool) ^ tmp)
        return m, daughters, bb, cell_out
411
```

## 3.12 volume\_checking()

Appelé par segmentation\_propagation\_from\_seeds() (section 3.15, page 33)

```
414 def volume_checking(t,delta_t,seg, seeds_from_opt_h, seg_from_opt_h, corres, divided_cells, boundation  
415 label_max, exterior_corres, parameters, h_min_information, sigma_information, segmentation_f
416 nb_proc=26,Thau= 25,MinVolume=1000,VolumeRatioBigger=0.5,VolumeRatioSmaller=0.1,MorphosnakeI
```

- t : temps pour l'image de référence, on va segmenter l'image suivante, ie t+1
- delta\_t:
- seg : image de segmentation  $\tilde{S}_{t+1}$ , SpatialImage. S'appelait segmentation lors de l'appel. C'est la segmentation de  $I_{t+1}$  avec les graines projetées  $S_{t+1\leftarrow t}^e = S_t^e \circ \mathcal{T}_{t\leftarrow t+1}$ ,
- seeds\_from\_opt\_h: une SpatialImage contenant les graines (obtenues avec les paramètres optimaux pour chaque cellule)
- seg\_from\_opt\_h: une SpatialImage contenant la segmentation obtenue avec les graines de seeds\_from\_opt\_h
- ullet corres : un tableau contenant les filiations de chaque cellule de la segmentation à t
- divided\_cells : une liste contenant les couples de cellules soeurs
- bounding\_boxes : boites englobantes pour les cellules
- right\_parameters :  $(h, \sigma, \text{ nombre de graines})$  optimaux pour chaque cellule
- $im\_ref : I_{t+1}$  sur un octet, SpatialImage. S'appelait  $im\_fused\_8$  lors de l'appel
- im\_ref16 :  $I_{t+1}$  sur un ou deux octet, SpatialImage. Peut être identique à im\_ref. S'appelait im\_fused lors de l'appel.
- seeds :  $S_{t+1\leftarrow t}^e = S_t^e \circ \mathcal{T}_{t\leftarrow t+1}$ , soit les graines projetées (cellules de  $S_t^\star$  érodées puis transformées dans  $I_{t+1}$ ) SpatialImage
- nb\_cells: liste pour chaque cellule, du nombre de h-minima strictement inclus dans la cellule de  $\tilde{S}_{t+1}$ . C'est le Count $^h(c)$  de [1, section 2.3.3.5, page 71].
- label\_max : le plus grand label utilis pour les graines (+1)
- exterior\_corres: une liste contenant la filiation (les labels des graines) pour le fond (inutile?)
- paramètres : liste pour chaque cellule, de tous les paramètres de calcul des h-minima (h et  $\sigma$ )
- h\_min\_information: une liste contenant les valeurs de h utilises pour chaque cellule
- sigma\_information : une liste contenant les valeurs de  $\sigma$  utilises pour chaque cellule
- segmentation\_file\_ref : nom de l'image de segmentation à  $t, S_t^{\star}$

```
• segmentation_file_trsf: nom de l'image de segmentation S_t^* transformée dans I_{t+1}, soit S_t^* \circ \mathcal{T}_{t \leftarrow t+1}. S'appelait path_seg_trsf lors de l'appel.
```

```
• path_h_min : nom générique pour les images de h-minima
```

• volumes\_t\_1 : liste des volumes des cellules à t

```
• ...
```

```
11 11 11
417
        Return corrected final segmentation based on conservation of volume in time
418
419
        seg : propagated segmentation (seg at t deformed on t+dt) (SpatialImage)
420
        seeds_from_opt_h : optimized seeds (SpatialImage)
421
        seg_from_opt_h : segmented image from seeds_from_opt_h (SpatialImage)
422
        corres: mapping of cells at time t to cells at t+dt in seg_from_opt_h
423
        divided_cells : list of cells that have divided between t and t+dt
424
        bounding_boxes : bounding boxes of the cells in seg (to fasten the computation)
425
        right_parameters : list of parameters used to create seeds_from_opt_h
426
        im_ref : image to segment at time t+dt 8 bits (SpatialImage)
427
        im_ref16 : image to segment at time t+dt in 16 bits (SpatialImage)
428
        seeds: Propagated seeds from segmentation at time t
429
        nb_cells : { cell: [#seeds, ] }: dict, key: cell, values: list of #seeds
430
        label_max : maximum label in seg_from_opt_h
431
        exterior_corres : list of cells that have been corrected for issue in exterior
432
        parameters : { cell: [[h_min, sigma], ]}: dict matching nb_cells, key: cell, values: list of
433
        h_min_information : { cell: h_min}: dict associating to each cells the h_min that allowed it
434
        sigma_information : { cell: sigma}: dict associating to each cells the sigma that allowed it
435
        segmentation_file_ref : path to the segmentation at time t
436
        segmentation_file_trsf : path to the segmentation at time t resampled at t+1
437
        vf_file : path to the vector field that register t into t+dt
438
        path_h_min : format of h-minima files
439
        volumes_t_1 : cell volumes at t (provient de la lecture du lin\'eage)
440
441
442
        # seg_origin : original segmentation (SpatialImage)
443
444
        seg_origin=imread(segmentation_file_ref)
445
446
        volumes_from_opt_h=compute_volumes(seg_from_opt_h)
447
        if volumes_t_1=={}:
448
            volumes=compute_volumes(seg_origin)
449
        else:
450
            volumes=volumes_t_1
```

- volumes\_from\_opt\_h: volumes des cellules de la segmentation seg\_from\_opt\_h à t+1
- volumes : volumes des cellules de la segmentation segmentation\_file\_ref à t (a priori provient de la lecture du linéage lors de l'appel : volumes\_t\_1).

La variation de volume se calcule donc par rapport à la segmentation de l'instant d'avant.

```
451
452 bigger=[]
453 lower=[]
```

```
454
        to_look_at=[]
        too_little=[]
455
456
        for mother_c, sisters_c in corres.iteritems():
457
            if mother_c!=1:
458
                 volume_ratio=1-(volumes[mother_c]/np.sum([volumes_from_opt_h.get(s, 1) for s in sist
                 if not (-VolumeRatioSmaller<volume_ratio<VolumeRatioSmaller):</pre>
459
                     if (volume_ratio>0) and (volumes_from_opt_h.get(s, 1)!=1):
460
461
                         bigger.append((mother_c, sisters_c))
462
                     elif volumes_from_opt_h.get(s, 1)!=1 :
463
                         lower.append((mother_c, sisters_c))
464
                     if volume_ratio<-VolumeRatioBigger:</pre>
                         to_look_at.append(mother_c)
465
                 else :
466
467
                     for s in sisters_c:
                         if volumes_from_opt_h[s] < MinVolume:</pre>
468
469
                              too_little.append((mother_c, s))
```

Calcule  $volume_{ratio} = 1 - vol(mother) / \sum vol(daughter)$ 

- 1. Si  $vol(mother)/\sum vol(daughter) \ge 1 + VRS$  ou  $1 VRS > vol(mother)/\sum vol(daughter)$  (variation de volume de plus de 10%)
  - (a) Si  $\sum vol(daughter) > vol(mother)$ , on met le couple (mère, liste des filles) dans bigger
  - (b) sinon (si  $\sum vol(daughter) \leq vol(mother)$ ), on met le couple (mère, liste des filles) dans lower
  - (c) Si  $vol(mother)/\sum vol(daughter) \ge 1 + VRB$  (variation de volume de plus de 50%), on ajoute la mère dans to\_look\_at
- 2. sinon, si une cellule fille s a un trop petit volume (< 1000), alors on ajoute le couple (mère, fille) dans too\_little

### Notes:

- Les mères dans to\_look\_at sont aussi dans lower
- Le cas  $vol(mother)/\sum vol(daughter) \le 1 + VRB$  n'est pas considéré.
  - Pour les cellules dans to\_look\_at (variation de volume de plus de 50%), on va réestimer les graines dans un premier temps
  - lower (variation de volume de plus de 10%) va être recalculé après coup, et utilisé comme ensemble de cellules potentielles à corriger via le morphosnake.

```
470
471 to_fuse_3=[]
472 change_happen=False
```

to\_look\_at contient la liste des cellules de  $S_t^{\star}$  dont les filles ont une grande diminution de volume (plus de 50%). nb\_cells contient le nombre de graines (de h-minima) pour les différentes valeurs de h. nb\_cells a été calculé par get\_seeds() (section 3.8, page 13).

```
478
            if (s.count(1) or s.count(2))!=0:
479
                if score>=Thau:
480
                    h, sigma=parameters[c][np.where(np.array(s)==2)[0][-1]]
481
                    nb_final=2
482
                elif s.count(1)!=0:
                    h, sigma=parameters[c][np.where(np.array(s)==1)[0][-1]]
483
484
                    nb final=1
485
                else:
486
                    h, sigma=parameters[c][np.where(np.array(s)==2)[0][-1]]
487
                    nb_final=2
488
                right_parameters[c]=[h, sigma, nb_final]
```

On recalcule le score  $s(c) = N_{2+}(c).N_2(c) > \tau$  (déjà calculé dans get\_back\_parameters() (section 3.9, page 15). Les premières lignes (479 à 488) sont identiques aux lignes (247 à 256) de get\_back\_parameters(), excepté que c'est le plus petit h qui donne ce nombre de graines qui est retenu (plutôt que le plus grand – l'indice [-1] au lieu de [0])

- 1. Si le score donne une graine ( $nb_final = 1$ ) et il existe des h qui donnent 2 graines, on récupère le premier h qui donne 2 graines et on passe donc à 2 graines (mais il y a un test bizarre)
- 2. Si le score donne une ou deux graine(s) (nb\_final = 1 or nb\_final = 2) et il existe un h qui donne plus de 2 graines, on récupère les paramètres liés au plus petit h (parameters [c] [-1]), donc forcément plus de 2 graines. Notons que le cas où nb\_final = 1 et qu'il y a des h qui donnent 2 et plus graines est traité 2 fois.

```
489 if nb_final==1 and s.count(2)!=0:
490 h, sigma=parameters[c][s.index(2)]
```

Premier cas : la sélection optimale donne 1 graine, et il existe des h qui donnent 2 graines, on récupère le premier h qui donne 2 graines, donc le plus grand d'entre eux.

```
path_seeds_not_prop=path_h_min.replace('$HMIN',str(h)).replace('$SIGMA',str(sigm bb=slices_dilation(bounding_boxes[c], maximum=seg.shape, iterations=2)

seg_c=np.ones_like(seg[bb])

seg_c[seg[bb]==c]=c

nb, seeds_c=extract_seeds(seg_c, c, path_seeds_not_prop, bb)
```

Comme dans  $get_seeds_from_optimized_parameters()$  (section 3.10, page 17), on crée une sous-image,  $seg_c$ , où la cellule est à c et le reste à 1.  $extract_seeds()$  (section 3.5, page 11) renvoie le nombre de graines ainsi qu'une sous-image avec ces graines étiquetées. Ici,  $extract_seeds()$  peut renvoyer 1, 2 ou 3 comme nombre de graines, mais n'en numérote que 2 dans le cas de graines ( $accept_3_seeds$  est à False par défaut).

```
496 if nb==2 and (seg_from_opt_h[bb][seeds_c!=0]==0).any(): #If we can found 2 seeds
```

On vérifie que l'on a bien 2 graines (ce doit être le cas, ce sont les mêmes opérations que pour get\_seeds(), et que seg\_from\_opt\_h[bb] [seeds\_c!=0]==0).any(): on prend la sous-image seg\_from\_opt\_h[bb], on la masque par [seeds\_c!=0], on a donc un tableau avec la liste des labels de seg\_from\_opt\_h[bb] "endessous" des graines de seeds\_c et on regarde s'il y a des points à 0, ce qui est a priori nécessairement faux, puisque les labels vont de 1 (le fond) à label\_max-1 ...

Sans doute il aurait fallu tester avec  $seeds_from_opt_h$ , auquel cas on aurait bien testé l'apparition d'une nouvelle graine (par rapport à une graine (avec un h grand) qui se divise en 2 graines (avec un h petit).

Si oui, on efface dans les graines seeeds\_from\_opt\_h la graine précédente (corres[c][0]) et on y ajoute les 2 nouvelles graines. On met à jour l'information des paramètres dans h\_min\_information et sigma\_information. Notons qu'il aurait fallu y enlever les informations liées à corres[c][0].

```
ex: del h_min_information[(t+delta_t)*10**4+corres[c][0]]
```

```
497
                        change_happen=True
498
                        seeds_from_opt_h[seeds_from_opt_h==corres[c][0]]=0
499
                        corres[c]=[label_max, label_max+1]
500
                        divided_cells.append((label_max, label_max+1))
501
                        seeds_from_opt_h[bb][seeds_c==1]=label_max
                        h_min_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=h
502
                        sigma_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=sigma
503
504
                        label_max+=1
505
                        seeds_from_opt_h[bb][seeds_c==2]=label_max
506
                        h_min_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=h
507
                        sigma_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=sigma
508
                        label_max+=1
509
                if (nb_final==1 or nb_final==2) and (np.array(s)>2).any():
510
                    h, sigma=parameters[c][-1]
```

Second cas : la sélection optimale donne 1 graine ou 2 graines, et il existe des h qui donnent plus de 2 graines, on récupère le dernier h (le plus petit testé, donc  $h_{min}$ ) qui donne forcément plus de graines.

Les cas où l'ensemble des h donne 1, 2 et plus graines est vérifié par les 2 conditions, et est donc traité 2 fois ?!

```
path_seeds_not_prop=path_h_min.replace('$HMIN',str(h)).replace('$SIGMA',str(sigm seeds_image=imread(path_seeds_not_prop))
bb=slices_dilation(bounding_boxes[c], maximum=seg.shape, iterations=2)
seg_c=np.zeros_like(seg_from_opt_h[bb])
for daughter in corres[c]:
seg_c[seg_from_opt_h[bb]==daughter]=1
```

On crée une sous-image  $seg_c$  de 0 pour la cellule c dans laquelle on met à 1 les cellules filles de c (rappel, il y a une diminution de volume de plus de 50% entre la mère et les filles)

On crée une sous-image  $seeds_c$  de 0 pour la cellule c dans laquelle on met à

- 1 : l'intersection des cellules filles de c (marquées dans  $seg_c$ ) et des  $h_{min}$ -minima
- 2 : l'intersection de la cellule c de  $\hat{S}_{t+1}$  et des  $h_{min}$ -minima (qui ne sont pas dans les cellules filles). Ces points sont donc des graines en-dehors des cellules filles.

```
if 2 in seeds_c:
```

Si il existe des graines en dehors des cellules filles (donc des graines permettant de "récupérer" plus de matière), on efface dans les graines seeeds\_from\_opt\_h les graines des filles précédentes (corres[c]) et on y ajoute les 2 ensembles de nouvelles graines. On met à jour l'information des paramètres dans h\_min\_information et sigma\_information. Notons qu'il aurait fallu y enlever les informations liées à corres[c].

```
ex: del h_min_information[(t+delta_t)*10**4+corres[c][0]]
```

Par ailleurs, on a forcément plus de 3 graines : les graines à l'intérieur des cellules filles auront un label, et celles à l'extérieur un autre. La division cellulaire est réalisée ainsi (alors qu'il pouvait déjà y avoir une division cellulaire (cas  $nb_final == 2$ )!)

```
521
                        change_happen=True
                        for daughter in corres[c]:
522
523
                            seeds_from_opt_h[seeds_from_opt_h==daughter]=0
                        corres[c]=[label_max, label_max+1]
524
525
                        divided_cells.append((label_max, label_max+1))
                        seeds_from_opt_h[bb][seeds_c==1]=label_max
526
                        h_min_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=h
527
                        sigma_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=sigma
528
529
                        label_max+=1
530
                        seeds_from_opt_h[bb][seeds_c==2]=label_max
531
                        h_min_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=h
532
                        sigma_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=sigma
533
                        label_max+=1
                elif nb_final==1:
534
```

On est donc dans le cas où (np.array(s)>2).any() est faux, donc il n'y a que une ou deux graines. S'il y a deux graines, cela a déjà été traité dans le premier test (ligne 489). On efface alors la graine de seeds\_from\_opt\_h et on la remplace par la graine projetée de seeds ( $S_{t+1\leftarrow t}^e = S_t^e \circ \mathcal{T}_{t\leftarrow t+1}$ ). Comme on ne change pas le nombre de labels, pourquoi incrémenter label\_max de 1?

```
change_happen=True

seeds_from_opt_h[seeds_from_opt_h==corres[c][0]]=0

seeds_from_opt_h[seeds==c]=corres[c][0]

seeds_from_opt_h[seeds==c]=corres[c][0]

label_max+=1

elif s.count(3)!=0:
```

cas où il y a 0 ou trois graines (ou plus) dans tous les h-minima (s'il y a 0 ou 4 graines ou plus, cela échappe au test).

```
h, sigma=parameters[c][s.index(3)]
```

Premier cas : on récupère le premier 3 qui donne 2 graines, donc le plus grand d'entre eux. Si les premiers h ne donnent pas 0 graines, c'est donc  $h_{max}$ .

```
path_seeds_not_prop=path_h_min.replace('$HMIN', str(h)).replace('$SIGMA', str(sigma));
bb=slices_dilation(bounding_boxes[c], maximum=seg.shape, iterations=2)
seg_c=np.ones_like(seg[bb])
seg_c[seg[bb]==c]=c
```

Appel à extract\_seeds() (section 3.5, page 11), avec accept\_3\_seeds=True. On va donc numéroter les 3 graines.

- 1. il est bizarre de noter la cellule mère se divisant en 2 dans divided\_cells, la division en 3 étant conservée dans to\_fuse\_3 (ligne 564)
- 2. corres[c] n'est pas mis à jour

```
551
                divided_cells.append((label_max, label_max+1))
552
                seeds_from_opt_h[bb][seeds_c==1]=label_max
553
                h_min_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=h
                sigma_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=sigma
554
555
                label_max+=1
                seeds_from_opt_h[bb][seeds_c==2]=label_max
556
                h_min_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=h
557
                sigma_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=sigma
558
559
                label_max+=1
560
                seeds_from_opt_h[bb][seeds_c==3]=label_max
561
                h_min_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=h
                sigma_information[(t+delta_t)*10**4+label_max]=sigma
562
563
                label_max+=1
                to_fuse_3.append([c, (label_max-1, label_max-2, label_max-3)])
564
565
```

to\_fuse\_3 contient donc les couples (mère, triplets de labels des filles) lorsqu'il y a 3 soeurs.

566 567

On traite les cas où une fille a un trop petit volume. too\_little contient le couple c=[mother\_c, daughter\_c]. On enlève cette fille des graines de seeds\_from\_opt\_h. Si c'était la seule fille, on enlève la mère de la table des correspondances.

```
if too_little!=[]:
568
569
            for c in too_little:
570
                #for d in corres[c]:
                 seeds_from_opt_h[seeds_from_opt_h==c[1]]=0
571
572
                 tmp=corres[c[0]]
                 tmp.remove(c[1])
573
                 if tmp==[]:
574
575
                     corres.pop(c[0])
576
                 else:
577
                     corres[c[0]]=tmp
578
                 change_happen=True
579
```

S'il y a eu des changements dans les graines, on recalcule une image de segmentation. Sinon on pourrait arreter là.

bigger n'a pas été utilisé, lower non plus, et va être recalculé.

```
if change_happen:
seg_from_opt_h=watershed(SpatialImage(seeds_from_opt_h,voxelsize=seeds_from_opt_h.voxels
for l in exterior_corres:
seg_from_opt_h[seg_from_opt_h==1]=1
set
volumes_from_opt_h=compute_volumes(seg_from_opt_h)
```

On recalcule lower (on rappelle que les cellules présentes dans to\_look\_at étaient aussi dans lower, il y a donc eu des changements dans la liste (s'il y a eu des changements dans les graines).

lower (variation de volume de plus de 10%) est un sur-ensemble de to\_look\_at (variation de volume de plus de 50%). La variation de volume se calcule par rapport à la segmentation de l'instant d'avant.

A priori, cela est inutile s'il n'y a pas eu de changements. Note : il aurait fallu utiliser VolumeRatioSmaller et non 0.1

On regarde donc s'il y a des diminutions de volumes de plus de 10%.

```
595 exterior_correction=[]
596 if lower!=[]:
597 from copy import deepcopy
598 #tmp=apply_trsf(segmentation_file_ref, vf_file, nearest=True, lazy=False)
599 tmp=imread(segmentation_file_trsf)

segmentation_file_trsf: S_t^* transformée dans I_{t+1}, soit S_t^* \circ \mathcal{T}_{t \leftarrow t+1}.

600 old_bb=nd.find_objects(tmp)
601 for mother_c, sisters_c in lower:
```

- cell\_before : sous-image booléenne écrivant la cellule c dans  $S_t^{\star}$
- $\bullet$  cell\_after : sous-image booléenne écrivant les cellules filles de c dans la nouvelle segmentation  ${\tt seg\_from\_opt\_h}$
- lost : masque de la sous-image de seg\_from\_opt\_h masquée par le XOR de cell\_before et cell\_after, c'est donc à la fois ce qui a été perdu et ce qui a été gagné [Rq: sur ma machine, le XOR se comporte comme un OR ...]

```
602
                cell_before=tmp[old_bb[mother_c-1]] == mother_c
                cell_after=np.zeros_like(cell_before)
603
604
                for c in sisters_c:
                    cell_after+=seg_from_opt_h[old_bb[mother_c-1]]==c
605
                lost=seg_from_opt_h[old_bb[mother_c-1]][cell_after^cell_before]
606
607
                max_share=0
                share_lab=0
608
                size={}
609
```

lost contient les labels de la différence. On cherche donc à vérifier si le plus grand label est le fond, ce qui suppose que c'est le fond qui a gagné sur la cellule.

On vérifie que 1 (le fond) est bien le label le plus représenté dans la partie perdue. On vérifie aussi que le fond était présent dans la boite englobante de la cellule mere deformée (il aurait fallu vérifier que le fond était adjacent à la cellule mère). Si oui, on va lancer des corrections.

```
615
                if share_lab==1 and 1 in tmp[old_bb[mother_c-1]]:
                    exterior_correction.append((mother_c, sisters_c))
616
617
            from multiprocessing import Pool
            pool=Pool(processes=nb_proc)
618
619
            mapping=[]
            for m, daughters in exterior_correction:
620
                bb=slices_dilation(old_bb[m-1], maximum=im_ref.shape, iterations=15)
621
                im_ref_tmp=deepcopy(im_ref16[bb])
622
623
                seg_ref_tmp=deepcopy(tmp[bb])
624
                mapping.append((m, daughters, bb, im_ref_tmp, seg_ref_tmp,MorphosnakeIterations,NIte
```

Appel à perform\_ac(), cf section 3.11, page 21.

- $\bullet$  m : label de la cellule mère
- daughters : labels des cellules filles
- bb : boite englobante de la cellule mère transformée et dilatée (15 fois)
- im\_ref\_tmp: sous-image de l'image originale définie par la boite englobante (ce n'est pas nécessairement une image sur 2 octets)
- seg\_ref\_tmp : sous-image de  $S_t^*$  transformée dans  $I_{t+1}$ , soit  $S_t^* \circ \mathcal{T}_{t \leftarrow t+1}$
- MorphosnakeIterations: MorphosnakeIterations=10
- NIterations : NIterations=200
- DeltaVoxels : DeltaVoxels=10\*\*3

On récupère ensuite le résultat du morphosnake. S'il y a plusieurs cellules filles, on n'en garde qu'une (la division n'est plus considérée). Note : si le morphosnake est appliqué à deux cellules adjacentes, les parties communes dans le fond atteintes par les 2 morphosnakes seront attribuées à la première qui sera traitée.

Le cas de 3 cellules filles n'est pas considéré.

```
625
            outputs=pool.map(perform_ac, mapping)
626
            pool.close()
            pool.terminate()
627
            for m, daughters, bb, cell_out in outputs:
628
629
                 seg_from_opt_h[bb] [seg_from_opt_h[bb] == 1 & cell_out] = daughters[0]
                 if len(daughters) == 2:
630
                     seg_from_opt_h[bb] [seg_from_opt_h[bb] == daughters[1]] = daughters[0]
631
                     if tuple(daughters) in divided_cells:
632
633
                         divided_cells.remove(tuple(daughters))
634
                 corres[m] = [daughters[0]]
```

Traitement de to\_fuse\_3 : couples (mère, triplets de labels des filles) lorsqu'il y a 3 soeurs. On élimine le plus petit label et on l'attribue au label avec lequel il a la plus grande frontière.

```
635
        for c, tf in to_fuse_3:
636
            bb=slices_dilation(bounding_boxes[c], maximum=seg.shape, iterations=2)
637
            seg_c=np.ones_like(seg_from_opt_h[bb])
638
            seg_c[seg_from_opt_h[bb]==tf[0]]=tf[0]
            seg_c[seg_from_opt_h[bb] == tf[1]] = tf[1]
639
            seg_c[seg_from_opt_h[bb] == tf[2]] = tf[2]
640
            v1=np.sum(seg_c==tf[0])
641
642
            v2=np.sum(seg_c==tf[1])
643
            v3=np.sum(seg_c==tf[2])
            vol_cells_to_f=[v1, v2, v3]
644
645
            cell_to_f=np.argmin(vol_cells_to_f)
```

```
646
            tmp=nd.binarv_dilation(seg_c==tf[cell_to_f])
            p1=tf[np.argsort(vol_cells_to_f)[1]]
647
648
            p2=tf[np.argsort(vol_cells_to_f)[2]]
            im_tmp=np.zeros_like(seg_c)
649
650
            im_tmp[seg_c==p1]=p1
            im_tmp[seg_c==p2]=p2
651
            im_tmp[tmp==False]=0
652
653
            p1_share=np.sum(im_tmp==p1)
654
            p2_share=np.sum(im_tmp==p2)
655
            if p1_share>p2_share:
656
                seg_from_opt_h[seg_from_opt_h==tf[cell_to_f]]=p1
657
            else:
                seg_from_opt_h[seg_from_opt_h==tf[cell_to_f]]=p2
658
659
            corres[c]=[p1, p2]
            divided_cells.append((p1, p2))
660
661
662
        return seg_from_opt_h, bigger, lower, to_look_at, too_little, corres, exterior_correction
```

- seg\_from\_opt\_h : image de segmentation
- $\bullet$  bigger : liste des couples (mère, filles) où les filles ont un volume plus grand (de plus de 10%) de celui de la mère
- lower : liste des couples (mère, filles) où les filles ont un volume plus petit (de plus de 10%) de celui de la mère
- to\_look\_at : liste des couples initiaux (mère, filles) où les filles avaient un volume plus petit (de plus de 50%) de celui de la mère. A priori, les filles ont été recalculées, donc cette liste n'est plus à jour.
- too\_little : liste des couples initiaux (mère, fille) où la fille avait un petit volume (inférieur à 1000 voxels). Ces filles ont a priori disparu.
- corres : table des correspondances (mère, filles), il peut y rester des incohérences.
- exterior\_correction : liste des couples (mère, filles) où les filles ont un volume plus petit (de plus de 10%) de celui de la mère, et proches du fond, sur lesquels on lancera le morphosnake.

#### 3.13 outer\_correction()

Appelé par segmentation\_propagation\_seeds\_init\_and\_deform() (section 3.15, page 33).

```
665 def outer_correction(seg_from_opt_h, exterior_correction,segmentation_file_ref,RadiusOpening=20)
666 """
667 Return an eroded segmentation correcting for potential errors in the morphsnake
668 seg_from_opt_h : segmentated image (SpatialImage)
669 exterior_correction : list of cells that have been corrected using morphsnake algorithm
```

- seg\_from\_opt\_h : image de segmentation
- exterior\_correction : liste des couples (mère, filles) où les filles ont un volume plus petit (de plus de 10%) de celui de la mère, et proches du fond, sur lesquels on a lancé le morphosnake.
- segmentation\_file\_ref: nom de l'image de segmentation à  $t, S_t^{\star}$
- RadiusOpening: RadiusOpening= 20

```
.....
   670
           if exterior_correction!=[]:
   671
            image_input=segmentation_file_ref.replace('.inr','.seg_from_opt_h.inr')
   672
                imsave(image_input, SpatialImage(seg_from_opt_h!=1, voxelsize=seg_from_opt_h.voxelsize).
   673
   674
                image_output=segmentation_file_ref.replace('.inr','.seg_out_h.inr')
Ouverture morphologique (érosion puis dilatation) du masque de l'embryon, cela va lisser les cellules touchant
le fond par l'extérieur.
   675
                morpho(image_input,image_output,' -ope -R '+str(RadiusOpening))
   676
                opened=imread(image_output)
```

677 cells\_to\_correct=[i for j in exterior\_correction for i in j[1]]
678 os.system('rm -f '+image\_input+' '+image\_output)

\*\*CORRECT OF THE PROOF OF

XOR entre le masque de l'embryon et son ouverture (qui y est inclus). La différence se trouve donc uniquement dans les cellules de seg\_from\_opt\_h.

```
679          to_remove=opened^(seg_from_opt_h>1)
680
```

Plutôt que de faire une boucle sur les cellules, on pourrait juste les cellules à corriger de seg\_from\_opt\_h par le masque de l'ouverture ?

```
for c in cells_to_correct:

seg_from_opt_h[((seg_from_opt_h==c) & to_remove).astype(np.bool)]=1

return seg_from_opt_h
```

## 3.14 segmentation\_propagation\_seeds\_init\_and\_deform()

686 def segmentation\_propagation\_seeds\_init\_and\_deform(t, segmentation\_ref, fused\_file, seeds\_file,

- ullet t : temps pour l'image de référence, on va segmenter l'image suivante, ie t+1
- segmentation\_ref : image (ie SpatialImage) de segmentation à  $t, S_t^*$
- fused\_file : nom de l'image d'intensite (fusionnée) à t+1,  $I_{t+1}$
- vf\_file : nom de la transformation non-linéaire  $\mathcal{T}_{t\leftarrow t+1}$
- delta\_t : pas de temps, l'image à segmenter est  $I_{t+\delta t}$ , généralement  $\delta t=1$

```
887 """

888 Steps 2 to 3 of segmentation propagation:

889 create seeds from reference segmentation, then resample it by transformation application

890 -> generation of seeds_file containing the image of seeds which will be used for segmentation

891 """

892 print 'Create The Seeds from '+str(t)

893

894 seeds_ref=create_seeds(segmentation_ref, max_size_cell=np.inf)
```

Appel à create\_seeds(), cf section 3.3, page 10. seeds\_ref est la SpatialImage  $S_t^e$  [1, section 2.3.3.4] où les cellules de taille supérieure à min\_size\_cell (1000) sont érodées d'au plus 10 itérations pour les cellules et 25 pour le fond.

```
imsave(seeds_file, SpatialImage(seeds_ref, voxelsize=seeds_ref.voxelsize))
696
697 print 'Deform Seeds with vector fields from '+str(t)+' to '+str(t+delta_t)
698 apply_trsf(seeds_file, vf_file , path_output=seeds_file, template=fused_file,nearest=True, l
```

La dernière ligne calcule  $S_{t+1\leftarrow t}^e = S_t^e \circ \mathcal{T}_{t\leftarrow t+1}$  [1, section 2.3.3.4].

## 3.15 segmentation\_propagation\_from\_seeds()

```
702 def segmentation_propagation_from_seeds(t, segmentation_file_ref, fused_file, fused_file_u8, s
703 RadiusOpening=20,Thau=25,MinVolume=1000,VolumeRatioBigger=0.5,VolumeRatioSmaller=0.1,Morphose
704 verbose=False):
```

- $\bullet$  t : temps pour l'image de référence, on va segmenter l'image suivante, ie t+1
- segmentation\_file\_ref : nom de l'image de segmentation à  $t, S_t^{\star}$
- fused\_file : ce peut être l'image originale  $I_{t+1}$  ou l'image à segmenter sur 1 octet. S'appelait graylevel\_file lors de l'appel
- fused\_file\_u8 : c'est l'image à segmenter sur 1 octet. S'appelait graylevel\_file\_u8 lors de l'appel
- seeds\_file : nom de l'image  $S_{t+1\leftarrow t}^e = S_t^e \circ \mathcal{T}_{t\leftarrow t+1}$ , soit les graines projetées (cellules de  $S_t^{\star}$  érodées puis transformées dans  $I_{t+1}$ )
- path\_seg\_trsf : nom de l'image de segmentation  $S_t^{\star}$  transformée dans  $I_{t+1}$ , soit  $S_t^{\star} \circ \mathcal{T}_{t \leftarrow t+1}$
- path\_h\_min : nom générique des images de  $h_{min}$  (paramétré par TIME, HMIN, et SIGMA),

```
11 11 11
705
706
        Steps 4 to 9 of segmentation propagation:
707
        - initial watershed
708
        - computation of h-minima (get_seeds method)
709
        - optimal h selection for each cell (get_back_parameters method)
710
        - build a seeds image from previous information and new segmentation by watershed (get_seeds
711
        - morphosnake if needed (called from volume_checking method)
712
        - last corrections with a morphological opening (outer_correction method)
713
        Returns seg_from_opt_h, lin_tree_information
714
            seg_from_opt_h : SpatialImage of the segmentation at t+delta_t
715
            lin_tree_information : updated lineage tree
716
717
        from copy import deepcopy
718
        lin_tree=lin_tree_information.get('lin_tree', {})
719
        tmp=lin_tree_information.get('volumes_information', {})
720
        volumes_t_1=\{k\%10**4: v \text{ for } k, v \text{ in tmp.iteritems}() \text{ if } k/10**4 == t\}
721
        h_min_information={}
722
723
724
        print 'Perform watershed with the seeds from method "segmentation_propagation_seeds_init_and
725
        im_fused=imread(fused_file)
726
        im_fused_8=imread(fused_file_u8)
727
728
729
730
        segmentation=watershed(seeds_file, im_fused_8, temporary_folder=os.path.dirname(path_seg_trs
```

Calcule la segmentation  $\tilde{S}_{t+1}$  par ligne de partage des eaux de  $I_{t+1}$  avec les graines  $S^e_{t+1\leftarrow t} = S^e_t \circ \mathcal{T}_{t\leftarrow t+1}$ . segmentation est une SpatialImage

Attention, c'est un appel direct à la fonction watershed, il n'y a donc pas de lissage de l'image de membrane.

```
731 seeds=imread(seeds_file)
732 if delSeedsASAP:
733 cmd='rm %s'%seeds_file
```

```
if verbose:

735 print cmd

736 os.system(cmd)

737 cells=list(np.unique(segmentation))

738 cells.remove(1)

739 bounding_boxes=dict(zip(range(1, max(cells)+1), nd.find_objects(segmentation)))
```

Calcul des bounding boxes pour les cellules

```
740 treated=[]
741
742 print 'Estimation of the local h-minimas at '+str(t+delta_t)
743 nb_cells, parameters=get_seeds(segmentation, h_min_min,h_min_max, sigma, cells, fused_file, j
```

Appel à get\_seeds(), cf section 3.8, page 13. Attention, les graines (minima locaux) sont calculées sur les image originales, encodées sur 2 octets, et non sur des images transformées (par to\_u8(), ...)

- segmentation: image de segmentation  $\tilde{S}_{t+1}$
- $h_{\min}$ : plus petite valeur de h pour le calcul des h-minima
- $h_{\min}$  : plus grande valeur de h pour le calcul des h-minima
- sigma :  $\sigma$  pour le lissage gaussien avant le calcul des h-minima
- cells : liste des cellules
- fused\_file : image originale  $I_{t+1}$
- path\_h\_min : nom générique pour les images de h-minima
- bounding\_boxes : boites englobantes des cellules

#### Retourne

744

- nb\_cells : liste pour chaque cellule, du nombre de h-minima strictement inclus dans la cellule de  $\tilde{S}_{t+1}$  (segmentation calculée à partir des graines de l'image à t-1). C'est le Count<sup>h</sup>(c) de [1, section 2.3.3.5, page 71].
- parameters: liste pour chaque cellule, des paramètres de calcul des h-minima (h et  $\sigma$ )

```
right_parameters, cells_with_no_seed=get_back_parameters(nb_cells, parameters, lin_tree, cel
```

Appel à get\_back\_parameters(), cf section 3.9, page 15.

- nb\_cells: liste pour chaque cellule, du nombre de h-minima strictement inclus dans la cellule de  $\tilde{S}_{t+1}$ . C'est le Count $^h(c)$  de [1, section 2.3.3.5, page 71].
- parameters : liste pour chaque cellule, de tous les paramètres de calcul des h-minima (h et  $\sigma$ )
- lin\_tree : fichier de linéage
- cells : liste des cellules
- Thau :  $\tau$  pour le calcul du score  $s(c) = N_{2+}(c).N_2(c) > \tau$  [1, page 72].

Retourne un tableau avec, pour chaque cellule c, les valeurs de h,  $\sigma$ , et le nombre de graines, ainsi que la liste des cellules sans graines (c'est redondant, puisque ce sont les cellules avec 0 graines).

746

Appel à get\_seeds\_from\_optimized\_parameters(), cf section 3.10, page 17.

- $\bullet$  t : temps pour l'image de référence, on va segmenter l'image suivante, ie t+1
- segmentation : image de segmentation  $\tilde{S}_{t+1}$ , SpatialImage

- cells : liste des cellules
- cells\_with\_no\_seed : liste des cellules sans graines
- right\_parameters :  $(h, \sigma, \text{ nombre de graines})$  optimaux pour chaque cellule
- delta\_t:
- bounding\_boxes : boites englobantes pour les cellules
- $im\_fused\_8 : I_{t+1}$  sur un octet, SpatialImage
- seeds :  $S_{t+1\leftarrow t}^e = S_t^e \circ \mathcal{T}_{t\leftarrow t+1}$ , soit les graines projetées (cellules de  $S_t^{\star}$  érodées puis transformées dans  $I_{t+1}$ ), SpatialImage
- parameters: liste pour chaque cellule, des paramètres de calcul des h-minima (h et  $\sigma$ )

```
print 'Applying volume correction '+str(t+delta_t)

seeds_from_opt_h, seg_from_opt_h, corres, exterior_corres, h_min_information, sigma_informat

right_parameters, delta_t, bounding_boxes, im_fused_8, seeds, parameters, h_min_max, pat
```

#### Retourne

- seeds\_from\_opt\_h : une SpatialImage contenant les graines
- seg\_from\_opt\_h : une SpatialImage contenant la segmentation
- corres : un tableau contenant les filiations
- exterior\_corres : une liste contenant la filiation pour le fond (inutile ?)
- h\_min\_information : une liste contenant les valeurs de h utilises pour chaque cellule
- sigma\_information : une liste contenant les valeurs de  $\sigma$  utilises pour chaque cellule
- divided\_cells : une liste contenant les couples de cellules soeurs
- label\_max : le plus grand label utilis (+1)

```
750
751 print 'Perform volume checking '+str(t+delta_t)
```

Appel à volume\_checking(), cf section 3.12, page 22.

- $\bullet$ t : temps pour l'image de référence, on va segmenter l'image suivante, ie t+1
- delta\_t:
- segmentation: image de segmentation  $\tilde{S}_{t+1}$ , SpatialImage
- seeds\_from\_opt\_h : une SpatialImage contenant les graines (obtenues avec les paramètres optimaux pour chaque cellule)
- seg\_from\_opt\_h: une SpatialImage contenant la segmentation obtenue avec les graines de seeds\_from\_opt\_h
- ullet corres : un tableau contenant les filiations de chaque cellule de la segmentation à t
- divided\_cells : une liste contenant les couples de cellules soeurs
- bounding\_boxes : boites englobantes pour les cellules
- right\_parameters :  $(h, \sigma, \text{ nombre de graines})$  optimaux pour chaque cellule
- im\_fused\_8 :  $I_{t+1}$  sur un octet, SpatialImage
- $im_fused : I_{t+1}$  sur un ou deux octet, SpatialImage
- seeds :  $S_{t+1\leftarrow t}^e = S_t^e \circ \mathcal{T}_{t\leftarrow t+1}$ , soit les graines projetées (cellules de  $S_t^{\star}$  érodées puis transformées dans  $I_{t+1}$ ) SpatialImage
- nb\_cells: liste pour chaque cellule, du nombre de h-minima strictement inclus dans la cellule de  $\tilde{S}_{t+1}$ . C'est le Count $^h(c)$  de [1, section 2.3.3.5, page 71].
- label\_max : le plus grand label utilis pour les graines (+1)
- exterior\_corres: une liste contenant la filiation (les labels des graines) pour le fond (inutile?)

- parameters: liste pour chaque cellule, de tous les paramètres de calcul des h-minima (h et  $\sigma$ )
- h\_min\_information : une liste contenant les valeurs de h utilises pour chaque cellule
- sigma\_information : une liste contenant les valeurs de  $\sigma$  utilises pour chaque cellule
- segmentation\_file\_ref : nom de l'image de segmentation à  $t, S_t^{\star}$
- path\_seg\_trsf: om de l'image de segmentation  $S_t^{\star}$  transformée dans  $I_{t+1}$ , soit  $S_t^{\star} \circ \mathcal{T}_{t \leftarrow t+1}$
- path\_h\_min : nom générique pour les images de h-minima
- volumes\_t\_1 : liste des volumes des cellules à t (provient de la lecture du linéage)
- . . .

765

```
seg_from_opt_h, bigger, lower, to_look_at, too_little, corres, exterior_correction = volume_
im_fused_8, im_fused, seeds, nb_cells, label_max, exterior_corres, parameters, h_min_inf_
nb_proc=nb_proc,Thau=Thau, MinVolume=MinVolume,VolumeRatioBigger=VolumeRatioBigger,Volum
```

#### volume\_checking() retourne

- seg\_from\_opt\_h : image de segmentation
- bigger : liste des couples (mère, filles) où les filles ont un volume plus grand (de plus de 10%) de celui de la mère
- lower : liste des couples (mère, filles) où les filles ont un volume plus petit (de plus de 10%) de celui de la mère
- to\_look\_at : liste des couples initiaux (mère, filles) où les filles avaient un volume plus petit (de plus de 50%) de celui de la mère. A priori, les filles ont été recalculées, donc cette liste n'est plus à jour.
- too\_little : liste des couples initiaux (mère, fille) où la fille avait un petit volume (inférieur à 1000 voxels). Ces filles ont a priori disparu.
- corres : table des correspondances (mère, filles), il peut y rester des incohérences.
- exterior\_correction : liste des couples (mère, filles) où les filles ont un volume plus petit (de plus de 10%) de celui de la mère, et proches du fond, sur lesquels on lancera le morphosnake.

```
755
756 print 'Perform Outer Correction '+str(t+delta_t)
```

Appel à outer\_correction() (section 3.13, page 31)

- seg\_from\_opt\_h : image de segmentation
- exterior\_correction : liste des couples (mère, filles) où les filles ont un volume plus petit (de plus de 10%) de celui de la mère, et proches du fond, sur lesquels on a lancé le morphosnake.
- segmentation\_file\_ref : nom de l'image de segmentation à t,  $S_t^{\star}$  (le nom sert juste pour créer des noms d'images intermédiaires qui seront effacées)
- RadiusOpening: RadiusOpening= 20

if m!=1:

```
757     seg_from_opt_h = outer_correction(seg_from_opt_h, exterior_correction, segmentation_file_ref,)
758
759     print 'Compute Volumes'+str(t+delta_t)
760     volumes=compute_volumes(seg_from_opt_h)
761     volumes_information={}
762     for k, v in volumes.iteritems():
763         volumes_information[(t+delta_t)*10**4+k]=v
764     for m, d in corres.iteritems():
```

```
766
                    daughters=[]
                    for c in d:
   767
   768
                        if c in volumes:
   769
                            daughters.append(c+(t+delta_t)*10**4)
   770
                        else:
   771
                            print str(c) +' is not segmented'
                    if len(daughters)>0:
   772
   773
                        lin_tree[m+t*10**4] = daughters
   774
           lin_tree_information['lin_tree']=lin_tree
           lin_tree_information.setdefault('volumes_information', {}).update(volumes_information)
   775
   776
           lin_tree_information.setdefault('h_mins_information', {}).update(h_min_information)
   777
           lin_tree_information.setdefault('sigmas_information', {}).update(sigma_information)
   778
           return seg_from_opt_h, lin_tree_information
   779
3.16
       segmentation_propagation()
   782 def segmentation_propagation(t, fused_file_ref, segmentation_file_ref, fused_file,v
           membrane_reconstruction_method=None, fusion_u8_method=0, flag_hybridation=False,
   783
   784
           RadiusOpening=20, Thau=25, MinVolume=1000, VolumeRatioBigger=0.5, VolumeRatioSmaller=0.1, Morphos
   785
           rayon_dil=3.6, sigma_membrane=0.9, manual=False, manual_sigma=7, hard_thresholding=False, ha
   786
           keep_membrane=False, keep_all=False, path_u8_images=None, nb_proc_ACE=7,
   787
           min_percentile=0.01, max_percentile=0.99, min_method='cellinterior', max_method='cellborder'
   788
           verbose=False):
   • t : temps pour l'image de référence, on va segmenter l'image suivante, ie t+1
   • fused_file_ref : nom de l'image d'intensite (fusionnée) à t, I_t
   • segmentation_file_ref : nom de l'image de segmentation à t, S_t^{\star}
   • fused_file : nom de l'image d'intensite (fusionnée) à t+1, I_{t+1}
   • seeds_file : nom de l'image des graines (s'appelait seed_file lors de l'appel)
   • vf_file : nom de la transformation non-linéaire \mathcal{T}_{t\leftarrow t+1}
   • path_h_min : nom générique des images de h_{min} (paramétré par TIME, HMIN, et SIGMA), s'appelait
    h_min_files lors de l'appel
   789
   790
           Return the propagated segmentation at time t+dt and the updated lineage tree and cell inform
   791
           t : time t
   792
           fused_file_ref : path format to fused images
   793
           segmentation_file_ref : path format to segmentated seeds_images
   794
           fused_file : fused image at t+dt
   795
           vf_file : path format to transformation
   796
           path_h_min : path format to h-minima files
   797
           h_min_max : maximum value of the h-min value for h-minima operator
           sigma : sigma value in voxels for gaussian filtering
   798
   799
           lin_tree_information : dictionary containing the lineage tree dictionary, volume information
   800
           delta_t : value of dt (in number of time point)
   801
           nb_proc : number maximum of processors to allocate
   802
   803
           # Modules choice
   804
```

```
805
        membrane_reconstruction_method : if not set or set to 0, the input fused_file is not process
806
                                         if set to 1, the GLACE reconstruction method is going to be
807
                                         if set to 2, the GACE reconstruction method is going to be
808
809
        fusion_u8_method : select method to convert fused_file into a 8 bits images for the segmenta
                           if set to 0 (default), calling the historical "to_u8" method
810
                           if set to 1, calling the mc_adhocFuse function which enhances the fused in
811
                           knowing the semgnetation propagation from previous time point
812
813
814
        flag_hybridation : if set to True and if the membrane_reconstruction_method parameter is pro
815
                           then the reconstructed gray level image
                           used for semgentation_propragation_from_seeds is goind to be ahybridation
816
                           fused_file and the result of image reconstruction by the specified method
817
818
819
        path_u8_images : default is None. If provided, saves a copy of the u8 image used for watersh
820
821
822
823
        # Glace Parameters (if membrane_reconstruction_method is set to 1 or 2):
824
        # membrane_renforcement
825
        sigma_membrane=0.9 # membrane enhancement parameter (in real units, a
826
                            # priori 0.9 um is a good choice for data like
827
                            # Patrick/Ralph/Aquila)
828
        # anisotropicHist /!\ critical step
829
        sensitivity=0.99
                            # membrane binarization parameter, /!\ if failure,
830
                            # one should enter in "manual" mode of the function
831
                            # anisotropicHist via activation of 'manual' option
832
833
        manual=False
                            # By default, this parameter is set to False. If
834
                            # failure, (meaning that thresholds are very bad,
835
                            # meaning that the binarized image is very bad),
836
                            # set this parameter to True and relaunch the
837
                            # computation on the test image. If the method fails
838
                            # again, "play" with the value of manual_sigma...
839
                            # and good luck.
840
                            # Axial histograms fitting initialization parameter
        manual_sigma=15
841
                            # for the computation of membrane image binarization
842
                            # axial thresholds (this parameter is used iif
843
                            # manual = True).
844
                            # One may need to test different values of
845
                            # manual_sigma. We suggest to test values between 5 and
                            # 25 in case of initial failure. Good luck.
846
847
                                  # If the previous membrane threshold method
848
        hard_thresholding=False
                                  # failed, one can force the thresholding with a
849
                                  # "hard" threshold applied on the whole image.
850
851
                                  # To do so, this option must be set to True.
                                  # If hard_thresholding = True, the enhanced
852
        hard_threshold=1.0
853
                                  # membranes image is thresholded using this
854
                                  # parameter (value 1 seems to be ok for
855
                                  # time-point t001 of Aquila embryo for example).
```

```
856
857
        # Tensor voting framework
        sigma_TV=3.6
858
                        # parameter which defines the voting scale for membrane
                        # structures propagation by tensor voting method (real
859
860
                        # coordinates).
                        # This parameter shoud be set between 3 um (little cells)
861
                        # and 4.5 um(big gaps in the binarized membrane image)
862
                        # Smoothing parameter for reconstructed image (in real
863
        sigma_LF=0.9
864
                        # coordinates). It seems that the default value = 0.9 um
865
                        # is ok for classic use.
866
        sample=0.2
                        # Parameter for tensor voting computation speed
867
                        # optimisation (do not touch if not bewared)
868
        rayon_dil=3.6
                        \# dilatation ray for propagated ROI from time t to t+1
                        # (default: 3.6, in real coordinates)
869
870
871
        nb_proc_ACE=7
                        # number of processors for ACE (7 is recommanded)
872
        , , ,
873
874
        segmentation_ref=imread(segmentation_file_ref);
875
876
877
        print 'Compute Vector Fields from '+str(t)+' to '+str(t+delta_t)
878
        non_linear_registration(fused_file_ref,\
                            fused_file, \
879
880
                            vf_file.replace('.inr','_affine.inr'), \
                            vf_file.replace('.inr','_affine.trsf'),\
881
882
                            vf_file.replace('.inr','_vector.inr'),\
883
                            vf_file);
```

Calcul de la transformation non-linéaire  $\mathcal{T}_{t\leftarrow t+1}$ . non\_linear\_registration() est dans ASTEC/CommunFunctions/cpp\_wrappi

Appel à segmentation\_propagation\_seeds\_init\_and\_deform(), cf section 3.14, page 32. seeds\_file est le nom de l'image  $S_{t+1\leftarrow t}^e = S_t^e \circ \mathcal{T}_{t\leftarrow t+1}$  [1, section 2.3.3.4], soit les graines projetées (cellules de  $S_t^{\star}$  érodées puis transformées dans  $I_{t+1}$ ).

```
891
892
893
        # graylevel image construction for segmentation propagation
894
895
        # defining temporary file paths
                                                                         # The first input gray level
        graylevel_file=vf_file.replace('.inr','_graylevel.inr')
896
897
        graylevel_file_u8=vf_file.replace('.inr','_graylevel_u8.inr')
                                                                         # The second input gray leve
898
        fused_file_u8=vf_file.replace('.inr','_fuse_u8.inr')
                                                                         # Temporary file
899
        path_seg_trsf=vf_file.replace('.inr','_seg_trsf.inr')
                                                                         # Temporary file
```

```
900
   901
           # segmentation propagation
   902
           apply_trsf(segmentation_file_ref, path_trsf=vf_file, path_output=path_seg_trsf, template=fus
path_seg_trsf est le nom de l'image de segmentation S_t^{\star} transformée dans I_{t+1}, soit S_t^{\star} \circ \mathcal{T}_{t \leftarrow t+1}
   903
           # transformation file deletion
   904
   905
           cmd='rm -f '+vf_file
   906
           if verbose:
   907
               print cmd
   908
           os.system(cmd)
   909
   910
   911
           # fused file u8 vconversion if needed
   912
           if flag_hybridation or not membrane_reconstruction_method:
   913
               if fusion_u8_method==1:
                   mc_adhocFuse(fused_file, path_seg_trsf, fused_file_u8, min_percentile=min_percentile
   914
   915
                                 min_method=min_method, max_method=max_method, sigma=sigma_hybridation,
   916
               else:
   917
                   imsave(fused_file_u8, to_u8(imread(fused_file)))
   918
   919
           # Switch membrane_reconstruction_method
   920
           if not membrane_reconstruction_method:
   921
               copy(fused_file_u8, graylevel_file_u8, verbose=verbose)
   922
               copy(fused_file, graylevel_file, verbose=verbose)
   923
           if membrane_reconstruction_method == 1:
   924
               # GLACE reconstruction
               GLACE_from_resampled_segmentation(fused_file, path_seg_trsf, labels_of_interest='all', b
   925
   926
               path_output=graylevel_file, rayon_dil=rayon_dil,
   927
               sigma_membrane=sigma_membrane, manual=manual, manual_sigma=manual_sigma, hard_thresholdi
   928
               hard_threshold=hard_threshold, sensitivity=sensitivity, sigma_TV=sigma_TV, sigma_LF=sigm
   929
               keep_membrane=keep_membrane, keep_all=keep_all, nb_proc=nb_proc_ACE, verbose=verbose)
   930
           if membrane_reconstruction_method == 2:
   931
               # GACE reconstruction
   932
               out=GACE(fused_file, binary_input=False, path_output=graylevel_file,
               sigma_membrane=sigma_membrane, manual=manual, manual_sigma=manual_sigma, hard_thresholdi
   933
   934
               hard_threshold=hard_threshold, sensitivity=sensitivity, sigma_TV=sigma_TV, sigma_LF=sigm
   935
               keep_membrane=keep_membrane, keep_all=keep_all, verbose=verbose)
   936
   937
   938
   939
           # reconstructed image and fused image hybridation if needed
   940
           if membrane_reconstruction_method:
   941
               if flag_hybridation:
   942
                   Arit(fused_file_u8, graylevel_file, graylevel_file, Mode='max', Type='-o 1', verbose
   943
               copy(graylevel_file, graylevel_file_u8, verbose=verbose)
   944
   945
           # temporary images deletion
   946
           if os.path.exists(fused_file_u8):
   947
               cmd='rm -f '+fused_file_u8
   948
               if verbose:
   949
                   print cmd
```

```
950 os.system(cmd)
951
952 # u8 image copy if asked
953 if path_u8_images:
954 copy(graylevel_file_u8, path_u8_images, verbose=verbose)
955
```

There are two fusion images:

- graylevel\_file will be named fused\_file in segmentation\_propagation\_from\_seeds
  - used as input image for seeds extraction (regional minima)
  - used as input image for morphosnake
- graylevel\_file\_u8 will be named fused\_file\_u8 in segmentation\_propagation\_from\_seeds
  - used as energy (height) image for watersheds.

For use without Glace, fused\_file is the original fusion image on 2 bytes, while fused\_file\_u8 is the original fusion image normalized on 1 byte.

For use with Glace, ie with

```
astec_membrane_reconstruction_method = 1
astec_flag_hybridation = True
```

fused\_file and fused\_file\_u8 are the same image, calculated as the maximum between the fusion image normalized on 1 byte and the result of Glace

```
# segmentation propagation stuff from seeds
seg_from_opt_h, lin_tree_information = segmentation_propagation_from_seeds(t, segmentation_f
958
path_h_min, h_min
RadiusOpening=Rad
VolumeRatioSmalle
961
NIterations=NIter
delSeedsASAP=True
```

Appel à segmentation\_propagation\_from\_seeds(), cf section 3.15, page 33.

- $\bullet$  t : temps pour l'image de référence, on va segmenter l'image suivante, ie t+1
- segmentation\_file\_ref : nom de l'image de segmentation à  $t, S_t^{\star}$
- graylevel\_file : ce peut être l'image originale  $I_{t+1}$  ou l'image à segmenter sur 1 octet
- graylevel\_file\_u8 : c'est l'image à segmenter sur 1 octet
- seeds\_file : nom de l'image  $S_{t+1\leftarrow t}^e = S_t^e \circ \mathcal{T}_{t\leftarrow t+1}$ , soit les graines projetées (cellules de  $S_t^{\star}$  érodées puis transformées dans  $I_{t+1}$ )
- path\_seg\_trsf : nom de l'image de segmentation  $S_t^{\star}$  transformée dans  $I_{t+1}$ , soit  $S_t^{\star} \circ \mathcal{T}_{t \leftarrow t+1}$
- path\_h\_min : nom générique des images de  $h_{min}$  (paramétré par TIME, HMIN, et SIGMA),

```
963
964 # temporary images deletion
965 if os.path.exists(path_seg_trsf):
966 cmd='rm -f '+path_seg_trsf
967 if verbose:
968 print cmd
969 os.system(cmd)
970
```

```
971
       if os.path.exists(graylevel_file):
972
           cmd='rm -f '+graylevel_file
973
           if verbose:
974
               print cmd
975
           os.system(cmd)
976
       if os.path.exists(graylevel_file_u8):
977
           cmd='rm -f '+graylevel_file_u8
978
979
           if verbose:
980
               print cmd
981
           os.system(cmd)
982
983
       return seg_from_opt_h, lin_tree_information
```

# 4 5-postcorrection.py

```
[...]
    25 from nomenclature import *
   26 from lineage import write_tlp_from_lin_tree,read_lineage_tree,\
    27 write_lineage_tree,timeNamed,timesNamed
   28 from post_correction import apply_cell_fusion,remove_too_little_branches
   29 from lineage_test import pkl_lineage_test, imageDict
[...]
   147 ### Segmentation Post-Correction Stuff ###
   149
   150 # Post correction of the segmentation
   152 # Read the lineage tree (in case it was previously created)
   153 lin_tree_information=read_lineage_tree(path_seg_exp_lineage)
Appel à remove_too_little_branches() (section 5.8, page 49).
   157 # Lineage Tree Post-correction
   158
   159 ### CORRECT THE LINEAGE TREE WITH THE CELLS VOLUMES
   160 lin_tree_cor, new_volumes, to_fuse, been_fused=\
   161 remove_too_little_branches(lin_tree_information['lin_tree'], \
   162 lin_tree_information['volumes_information'], \
   163 p.postcor_Volume_Threshold, soon=p.postcor_Soon)
   164
Appel à apply_cell_fusion() (cf section 5.3, page 45).
  Notons que le linéage mis à jour n'est pas passé à apply_cell_fusion() qui prend en entrée le linéage
avant correction. De même les nouveaux volumes (qui ne peuvent pas avoir pris en compte les fusions de
branches où il y a division), ne seront pas tenus en compte. .
   166 ### APPLYING THE CORRECTION ON THE IMAGES
   167 apply_cell_fusion(lin_tree_information['lin_tree'], \
   168
          lin_tree_information['volumes_information'], \
   169
          to_fuse,os.path.join(path_seg_exp,path_seg_exp_files), \
Il faut vérifier si les volumes (mis à jour) sont bien remontés. .
   170
                        os.path.join(path_post_exp,path_post_exp_files),p.begin+p.raw_delay, \
   171
         p.end+p.raw_delay, p.delta)
   172
   173 #SAVE THE NEW LINEAGE TREE
   174 lin_tree_information['lin_tree']=lin_tree_cor
   175
   176
   177 ### SAVE THE FINAL LINEAGE TREE
  178 write_lineage_tree(path_post_exp_lineage,lin_tree_information)
[\ldots]
```

# 5 ASTEC/post\_correction.py

```
5.1 timeNamed()
```

```
13 def timeNamed(filename, time):
14    time_point = ('00' + str(time))[-3:] # Format time on 3 digit
15    return filename.replace('$TIME', time_point)+".inr"
16
```

### 5.2 fuse\_cells()

```
18 def fuse_cells(couple, lin_tree, bb, im, t):
19
20
       Return an segmented image where the cells in couple have been fused
21
       couple : tuple of cells to fuse, couple[0] is fused to couple[1]
       lin_tree : lineage tree
23
       bb : bounding box of the couple of cells in "couple"
24
       im : segmented image to fuse
25
       t : time point of im
26
27
       inv_lin_tree={ v : k for k, values in lin_tree.iteritems() for v in values }
28
       give=couple[0]%10**4
29
       get=np.array(couple[1])%10**4
```

give est la cellule à enlever, get est un tableau de cellules avec lesquelles fusionner

```
30     possibles=np.array(lin_tree[inv_lin_tree[t*10**4+give]])
31     possibles=possibles[possibles!=10**4*t+give]%10**4
32     possibles=np.array([p for p in possibles if p in get])
33     get=possibles
```

on récupère l'ensemble des cellules avec lesquelles fusionner qui sont les soeurs de la cellule à enlever. En cas de division le long de la branche soeur, cela suppose une certaine mise à jour de l'arbre de linéage (cf lignes 253 à 260 de remove\_too\_little\_branches(), section 5.8).

```
if len(get)==1:
34
35
           final_get=get[0]
36
       else:
37
           if bb is None:
38
               bb=nd.find_objects(im)
39
           im_tmp=im[bb[give-1]]
40
           im_tmp_d=nd.binary_dilation(im_tmp==give)
           borders_b=im_tmp_d & (im_tmp!=give)
41
42
           borders=im_tmp[borders_b]
43
           count=[]
44
           for g in get:
               count.append([g, np.sum(borders==g)])
45
46
           count=np.array(count)
47
           final_get=count[np.argmax(count[:,1]), 0]
48
       return bb, (give, final_get)
49
```

```
5.3 apply_cell_fusion()
    52 def apply_cell_fusion(lin_tree,volumes, to_fuse, segmented_files,segmented_fused_files,begin, en
    53
    54
           Fuse all the cells from the information given by the lineage correction for a time series
    55
           begin : starting point
    56
           end : ending point
    57
           step : dt
    58
           path : path to the working folder
    59
           folder: folder containing the segmentations (in path)
    60
           path_lin_tree : path to the lineage tree
    61
           to_fuse_file : path the the file containing the informations on the cells to fuse
    62
           path_file_format : format of the segmented files
    63
    64
           print 'Process cell fusion'
    65
    66
           inv_lin_tree={ v : k for k, values in lin_tree.iteritems() for v in values }
    67
    68
           for t in range(begin, end+1, step):
    69
               current_state=deepcopy(lin_tree)
    70
               print ' ->Cell fusion at '+str(t)
    71
               bb=None
    72
               time=('00'+str(t))[-3:]
    73
               time_prev=('00'+str(t-1))[-3:]
    74
               tf=to_fuse.get(t, '')
    75
               ext_cor=[]
    76
               segmented_file=timeNamed(segmented_files,t)
    77
               im=imread(segmented_file)
               treated=[]
    78
    79
               mapping=[]
               if tf!='':
    80
    81
                   if im is None:
    82
                        im=imread(file_name)
    83
                   if mapping==[]:
                       mapping=np.array(range(np.max(im)+1), dtype=np.uint16)
    84
                   getting=[]
    85
    86
                   for couple in tf:
    87
                       bb, trsf=fuse_cells(couple, lin_tree, bb, im, t)
    88
                        getting.append(trsf)
trsf est un tuple (ancien label, nouveau label) calculé par fuse_cells(), on les conserve dans l'array
getting
    89
                   getting={i:j for i,j in getting}
on transforme l'array getting en un dictionnaire où getting (ancien label) = nouveau label
    90
                   roots=set(getting.keys()).difference(set(getting.values()))
on a les labels de getting qui n'ont pas de prédécesseur
    91
                   final_pairing={}
    92
                   for r in roots:
    93
                       n=r
```

```
94
                        to_change=[]
    95
                        while getting.has_key(n):
                            to_change.append(n)
    96
    97
                            n=getting[n]
    98
                            final=n
    99
                        for n in to_change:
                            getting[n]=final
   100
pour les labels de roots, on les suit pour les avoir tous, et on leur donne le même label (ici le dernier)
   101
                    for give, get in getting.iteritems():
   102
                        inv_lin_tree={ v : k for k, values in lin_tree.iteritems() for v in values }
   103
                        if give<mapping.shape[0]:</pre>
   104
                            mapping[give] = get
   105
                        tmp=lin_tree.get(10**4*t+get, [])
   106
                        tmp.extend(lin_tree.get(10**4*t+give, []))
   107
                        lin_tree[inv_lin_tree[10**4*t+get]].remove(10**4*t+give)
   108
                        lin_tree[10**4*t+get]=tmp
   109
                        lin_tree.pop(10**4*t+give, None)
                        volumes[10**4*t+get]=volumes[10**4*t+get]+volumes[10**4*t+give]
   110
Mise à jour du linéage et des volumes
   111
               if mapping!=[]:
                    im=SpatialImage(mapping[im], voxelsize=im.voxelsize)
   112
   113
               segmented_fused_file=timeNamed(segmented_fused_files,t)
   114
   115
               imsave(segmented_fused_file, im)
   116
5.4 get_volumes()
   118 def get_volumes(n, vol, lin_tree):
   119
   120
           Return the volumes of cell n and its progeny up to division
   121
           n : starting cell
   122
           vol : dictionary of volumes
   123
           lin_tree : lineage tree
           11 11 11
   124
   125
           tmp=[vol[n]]
   126
           while len(lin_tree.get(n, ''))==1:
   127
               tmp.append(vol[n])
   128
               n=lin_tree[n][0]
   129
           return tmp
5.5 soon_to_divide()
   131 def soon_to_divide(c, tree, reverse_tree, len_min,time_begin,time_end):
   132
           Return if a division is too soon (mother divided to late or cell divided too early)
   133
   134
           c : daughter cell to check
   135
           tree : lineage tree
   136
           reverse_tree : reversed lineage tree
```

```
137  len_min : minimum length allowed
138  time_begin: Starting time point
139  time_end : final time of the movie
140  """
141  cell=deepcopy(tree[reverse_tree[c]])
142  cell.remove(c)
143  cell=cell[0]
```

reverse\_tree[c] est la cellule parente de c, celle où il y a bifurcation. tree[reverse\_tree[c]] est donc l'ensemble des cellules filles de celle-ci, filles dont c fait partie. Au final, on récupère la sœur de c

```
144    out=[cell]
145    while len(tree.get(cell, []))==1:
146     cell=tree[cell][0]
147    out.append(cell)
```

out est donc la branche sœur de la branche dont c est la première cellule.

```
148 cell=reverse_tree[c]
149 out2=[cell]
150 while reverse_tree.has_key(cell):
151 cell=reverse_tree[cell]
152 out2.append(cell)
```

out2 est la branche qui remonte et qui part de la cellule mère de c. Elle devrait s'arrêter à la première bifurcation et non remonter jusqu'au début

```
return (len(out)<len_min and out[-1]/10**4!=time_end) or (len(out2)<len_min and out2[-1]/10*
```

Cette fonction renvoir True si l'une des branches, sœur ou mère, est trop courte (à condition que la branche sœur ne soit pas une branche finissant au dernier point de temps, ou que la branche mère ne commence pas au premier point de temps). Comme la branche mère est mal construite, elle commence toujours au premier point de temps ...

### 5.6 branches\_to\_delete()

```
159 def branches_to_delete(tree, volumes, threshold, reverse_tree, soon=False,ShortLifespan=25,Pears
160
161
        Return the list of cells that have to be removed sorted from the yougest to the oldest
162
        tree : lineage tree
        volumes : dictionary of volumes information
163
164
        reverse_tree : reversed lineage tree
165
        soon: True if the cell life span has to be taken into account
166
167
        from scipy.stats.stats import pearsonr
168
        nodes=list(set(tree.keys()).union(set([v for values in tree.values() for v in values])))
169
        leaves=set(nodes)-set(tree.keys())
170
        last_time=max(leaves)/10**4
171
        leaves_to_delete=[1 for 1 in leaves if (((1/10**4)<last_time) or (volumes[1]<threshold))]
```

Cellules terminales des branches candidates pour un effacement.

- la cellule n'est pas au dernier instant de la séquence
- ou elle a un petit volume

```
172
           branche_max_val=0
   173
           branche_max=[]
           for l in leaves_to_delete:
   174
Pour chaque branche potentielle
   175
                b=[]
   176
                b.append(1)
                while len(tree.get(reverse_tree.get(l, ''), ''))==1:
   177
   178
                    l=reverse_tree[1]
   179
                    b.append(1)
                b.reverse()
   180
La branche est extraite, la division n'est pas incluse.
                if (min(b)>branche_max_val):
   181
On considère la branche si sa division (min(b) est la première cellule après la division) est plus tardive.
Note: ce test prend aussi en compte le numéro de la cellule ...
   182
                    if len(b) < ShortLifespan: #Time steps length
   183
                         branche_max=list(b)
   184
                         branche_max_val=min(b)
On peut effacer la branche si elle est trop courte (même si elle commence au tout début de la séquence ...).
   185
                    elif reverse_tree.get(min(b), '')!='':
Sinon (la branche n'est pas trop courte), et si elle ne commence pas au tout début de la séquence
                         n1, n2=tree[reverse_tree[min(b)]]
   186
   187
                         tmp1, tmp2=get_volumes(n1, volumes, tree), get_volumes(n2, volumes, tree)
   188
                         common_len=min(len(tmp1), len(tmp2))
   189
                         P=pearsonr(tmp1[:common_len-1], tmp2[:common_len-1])
pearsonr() renvoie une erreur si l'une des séquences est constante. On pourrait aussi tester si common_len
est suffisamment grand
   190
                         if P[0]<-PearsonThreshold:# and deriv>4*10**4:
   191
                             branche_max=list(b)
   192
                             branche_max_val=min(b)
   193
                         elif soon and soon_to_divide(min(b), tree, reverse_tree, ShortLifespan, time_begin
si soon est vrai, appel à soon_to_divide()
   194
                             branche_max=list(b)
   195
                             branche_max_val=min(b)
   196
           branche_max.reverse()
   197
   198
           return branche_max
5.7 get_sisters()
   200 def get_sisters(lin_tree_out, mother, init, end):
   201
   202
           Build the list of all the progeny of the sister cells of init
   203
           lin_tree_out : lineage tree
```

```
204
           mother: common mother of sisters and init cell
   205
           init : cell id
   206
           end : final time point
   207
   208
           sisters=[s for s in lin_tree_out[mother] if s!=init]
   209
           out=[]
   210
           tmp=sisters
   211
           while tmp!=[] and sisters[0]/10**4<=end:
ne vérifie pas si sisters est multiple (s'il y a eu division)
   212
               out.append(sisters)
   213
               tmp=[]
               for s in sisters:
   214
   215
                   if lin_tree_out.has_key(s):
   216
                       tmp.extend(lin_tree_out[s])
   217
               sisters=tmp
   218
           return out
5.8 remove_too_little_branches()
   223 def remove_too_little_branches(lin_tree, volumes, threshold=2000, soon=False, ShortLifespan=25, Pe
   224
   225
           Build a corrected lineage tree (based on volume correlation and cell life span).
   226
           Return a list of cells to fuse, new volumes and new lineage tree
   227
           lin_tree : lineage tree
   228
           volumes : dictionary of volumes
   229
           threshold: volume low threshold for final cells (in voxels)
   230
           soon : True if the cell life span has to be taken into account
   231
   232
           print 'Process remove too little branches'
   233
           reverse_tree={v:k for k, values in lin_tree.iteritems() for v in values}
   234
           branches=branches_to_delete(lin_tree, volumes, threshold, reverse_tree, soon=soon, ShortLifes
   235
           lin_tree_out=deepcopy(lin_tree)
   236
           to_fuse={}
   237
           new_volumes=deepcopy(volumes)
   238
           while list(branches)!=[]:
               reverse_tree={v:k for k, values in lin_tree_out.iteritems() for v in values}
   239
   240
               b=branches
   241
               last=b[-1]
   242
               mother=reverse_tree.get(last, '')
   243
               if mother!='':
```

tmp est une liste de liste, où chaque liste correspond aux sœurs à fusionner pour chaque instant (comme get\_sisters() passe à travers les divisions, il peut y avoir plusieurs sœurs pour un seul point de temps). b est ordonné à partir de la feuille, tandis que tmp est ordonné à partir de la division.

tmp=get\_sisters(lin\_tree\_out, mother, last, b[0]/10\*\*4)

```
245 for t in tmp:

246 time=t[0]/10**4

247 cell=[c for c in b if c/10**4==time]

248 to_fuse.setdefault(time, []).append((cell[0], t))
```

244

to\_fuse est un dictionary où les clefs sont les instants (time point). Les entrées sont des listes, et chaque élément de la liste est un tuple (cellule à enlever, [cellule(s) avec qui fusionner]) où le premier élément est une cellule de la branche à enlever (la cellule de cet instant) et le second élément la liste de ses sœurs avec laquelle il faut la fusionner. to\_fuse sera utilisé par la fonction apply\_cell\_fusion() (section 5.3) pour effectivement faire la fusion dans les images.

```
249 if len(t)==1 and new_volumes.has_key(t[0]) and new_volumes.has_key(cell[0]):
250 new_volumes[t[0]]=new_volumes[cell[0]]+new_volumes[t[0]]
```

La mise à jour des volumes ne se fait que pour les cellules à fusionner qui n'ont qu'une seule sœur. Il aurait fallu supprimer cell[0] du dictionnaire des volumes ...

```
251 i=1
252 while (i<=len(b)) and (b[-i]/10**4 in [time_cell[0]/10**4 for time_cell in tmp]):
253 n=b[-i]
```

On parcourt b dans l'inverse (de la fin vers la début), b étant construit depuis la feuille

```
sis=tmp[np.argwhere(np.array([time_cell[0]/10**4 for time_cell in tmp])==n/10**4
```

- time\_cell[0]/10\*\*4 for time\_cell in tmp est la liste des time point du sous-arbre sœur
- np.array([time\_cell[0]/10\*\*4 for time\_cell in tmp])==n/10\*\*4 est une liste de booléen indiquant les sœurs du même time point que le point de la branche
- np.argwhere() donne le tableau d'indice où les booléens sont vrais
- tmp[np.argwhere(np.array([time\_cell[0]/10\*\*4 for time\_cell in tmp])==n/10\*\*4)[0, 0]] est la liste des sœurs du point à fusionner
- sis est la première de ces soeurs

```
255
                     lin_tree_out[reverse_tree[n]].remove(n)
256
                     lin_tree_out.pop(n, None)
257
                     if i+1 \le len(b):
258
                         lin_tree_out.setdefault(sis, []).append(b[-(i+1)])
                         reverse_tree[b[-(i+1)]]=sis
259
260
                     i+=1
261
            else:
                 for n in b:
262
263
                     lin_tree_out.pop(n, None)
264
                     reverse_tree.pop(n, None)
```

on traite ici les branches dont la mère n'existe pas, donc commençant ex nihilo ou au début de la séquence. Il manque le traitement des volumes, et la fusion (avec le fond?) des cellules effacées.

```
branches=branches_to_delete(lin_tree_out, new_volumes, threshold, reverse_tree, soon=soon

#### FUSE TOO EARLY DIVISIONS

from scipy.stats.stats import pearsonr

cells_list=[(i[0],i[1]) for i in lin_tree_out.values() if len(i)==2]
```

extrait les premières cellules après une bifurcation, revient donc à regarder l'ensemble des bifurcations.

```
270
            P=\{\}
            deriv={}
   271
            for n1, n2 in cells_list:
   272
                tmp1, tmp2=get_volumes(n1, new_volumes, lin_tree_out), get_volumes(n2, new_volumes, lin_
   273
   274
                common_len=min(len(tmp1), len(tmp2))
                if len(tmp1)>8 and len(tmp2)>8:
   275
                     P[(n1, n2)]=pearsonr(tmp1[:common_len-1], tmp2[:common_len-1])
   276
Si la longueur des branches est suffisamment longue (> 8), on calcule le coefficient de Pearson entre les
volumes des 2 branches
   277
            to_check=[k for k, v in P.iteritems() if v[0]<-.80] #.80 WHAT ?
On examine donc les branches qui ont un coefficient de corrélation de Pearson plus petite que -0.8 (c'était
-0.9 pour la première étape)
   278
            scores_window={}
   279
            for c1, c2 in to_check:
   280
                tmp1, tmp2=get_volumes(c1, volumes, lin_tree_out), get_volumes(c2, volumes, lin_tree_out
   281
   282
                common_len=min(len(tmp1), len(tmp2))
   283
                for i in range(0, common_len-4):
   284
                     scores.append(pearsonr(tmp1[i:i+5], tmp2[i:i+5])[0])
   285
                scores_window[(c1, c2)]=np.array(scores)
On calcule le coefficient de corrélation de Pearson sur une fenêtre glissante de longueur 5 le long de la
branche.
   286
   287
            been_fused={}
   288
            for c, scores in scores_window.iteritems():
   289
                if (np.array(scores)<-.8).all(): #.8 WHAT ?</pre>
   290
                     first_size=len(scores)-1
   291
                else:
   292
                     out=scores[1:]-scores[:-1]
out[i] = score[i+1] - score[i] c'est donc la différence (dérivée) du score
   293
                     sizes=np.argsort(out)[::-1]
sizes donne les indices de out pour un tri décroissant (de la plus grande dérivée à la plus petite)
   294
                     sizes=np.array([s for s in sizes if scores[s]<-.8])</pre>
sizes donne les indices de out[i] = score[i+1] - score[i] pour un tri décroissant, avec score[i] < -0.8
   295
                     first_size=sizes[sizes<len(scores)/2]</pre>
On ne récupère que les indices qui sont dans la première moitié, donc les plus proches de la bifurcation
   296
                     if first_size!=[]:
   297
                         first_size=first_size[0]
```

298

299

300 301 else:

c1, c2=c

first\_size=-1

for i in range(first\_size+1):

```
302
                next_c1=lin_tree_out.get(c1, [0])[0]
303
                next_c2=lin_tree_out.get(c2, [0])[0]
304
                lin_tree_out.setdefault(c1, []).extend(lin_tree_out.get(c2, []))
305
                for tmp_c in lin_tree_out[c1]:
306
                    reverse_tree[tmp_c]=c1
                lin_tree_out[reverse_tree[c1]]=[c1]
307
                lin_tree_out.pop(c2, None)
308
309
                time=c1/10**4
310
                to_fuse.setdefault(time, []).append((c2, [c1]))
                new_volumes[c1] = new_volumes[c1] + new_volumes[c2]
311
312
                c1=next_c1
313
                c2=next_c2
314
                been_fused[c1]=1
315
        return lin_tree_out, new_volumes, to_fuse, been_fused
```

### References

- [1] Léo Guignard. Quantitative analysis of animal morphogenesis: from high-throughput laser imaging to 4D virtual embryo in ascidians. Theses, Université Montpellier, December 2015.
- [2] P. Màrquez-Neila, L. Baumela, and L. Alvarez. A morphological approach to curvature-based evolution of curves and surfaces. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 36(1):2–17, Jan 2014.