Anleitung

### Version 2011-04-29

(c) Heribert Cypionka

www.picolay.de

PICOLAY ist Freeware (für Windows<sup>™</sup>) ohne jede Garantie. Bitte zitieren Sie die Webseite www.picolay.de, wenn Sie das Programm für publizierte Bilder verwenden.

#### Wichtige Eigenschaften

Obwohl PICOLAY nur ein kleines Programm ist, hat es mächtige Funktionen. Es erlaubt

- Stapeln (Stacking): die Erstellung eines Bildes mit erhöhter Schärfentiefe aus einem Bilderstapel, der mit sequenziellen Fokusebenen (so genannter Z-Stapel) aufgenommen wurde.

- Stacking basierend auf Farben anstatt scharfen Bildbereichen.

- Wegfiltern von Farbanteilen, die nicht zur Zielfarbe passen.

- Mitteln von Bildern.

- Addieren oder Subtrahieren von Bildern.

- Automatische Korrektur von Verschiebungen (x- und y-Alignment) im Bilderstapel

- Automatische Korrektur von Helligkeitsschwankungen

- Digitale Entfernung störender Objekte, die nicht in der Bildebene liegen (Schmutzpartikel, Chipfehler, Coolpix-Ringe etc.)

- Einstellung des Weißabgleichs.
- Verbesserung von Bildparametern wie Größe, Helligkeit, Kontrast etc.

- Ausschneiden von relevanten Bildausschnitten aus Bilderstapeln

- Hinzufügen von Text und Skalierungsbalken

- Erzeugung von Diashows und animierten Gif-Bildern.

Als besonderes Highlight kann PICOLAY verschiedene dreidimensionale Ansichten und Projektionen liefern:

Generierung von dreidimensionalen Bildern aus einem einzigen
Bilderstapel, der mit gleichbleibender Perspektive aufgenommen wurde.
Erzeugung von rotierenden 3-D-Bildern, Rot-Grün-Überlagerungen und echten Stereobildern für die Betrachtung mit parallelem oder gekreuztem Blick

- 'Hologramm-Stacking', Darstellung eines Bilderstapels in beliebigem Blickwinkel, der es ermöglicht, ansonsten beim Stacking verdeckte Strukturen oder Farben sichtbar zu machen.

PICOLAY liefert so ein wenig 'konfokale Microskopie' kostenfrei.

### Installation

PICOLAY besteht nur aus einer Datei (picolay.exe) von derzeit weniger als 1 MB Größe. Es braucht keine Installation, verändert keine Systemdateien. Einfach in ein beliebiges Verzeichnis oder USB-Stick kopieren und ein Link dahin auf den Desktop setzen. - Dezimal-Komma oder Punkt

Unter 'Options', lässt sich (nach dem Starten des Programms) einstellen, ob für gebrochene Zahlen Dezimalpunkte ('1.3') oder Kommas ('1,3') verwenden werden. Die Einstellung sollte mit der in der Windows-Systemsteuerung (Regions- und Sprachoptionen) überseinstimmen.

PICOLAY merkt sich das zuletzt benutzte Verzeichnis mit Bildern in der Datei 'picolay.ini'.

Tipp: Oft erscheinen kurze Hilfetexte, wenn man die Maus über PICOLAY-Fenster bewegt.

## Bildformate

PICOLAY kann Bitmaps (BMP-Dateien) oder in Bilder im JPEG-Format (JPG-Dateien) bearbeiten. (Mit Tif-Bildern könnte es Probleme geben.)

Alle Bilder einer analysierten Serie müssen in demselben Verzeichnis gespeichert sein und dieselbe Breite und Höhe haben. Das Programm nimmt an, dass das erste Bild die oberste Schicht darstellt. Die Reihenfolge lässt sich aber mit einem Click umkehren (s.u.).

- Bildformate ändern

Bitmaps werden schneller bearbeitet als jpg-Dateien und außerdem verlustfrei! Um Bilder in das Bitmap-Format umzuwandeln, wählt man unter 'Options | Save as' Bitmap, klickt im Bildfenster auf 'Enhance' und nutzt die Möglichkeit, alle Bilder gleichzeitig zu ändern ('Apply to all marked images').

#### Automatisches Speichern der Ergebnisse

Die meisten PICOLAY-Routinen erzeugen automatisch Dateien, die unmarkiert in der Bilderliste (s.u.) erscheinen. Die meisten Dateinamen, die automatisch erzeugt werden, beginnen mit 'p#'. PICOLAY überschreibt keine Originaldateien, wohl aber p#-Dateien ohne Rückfrage! Deswegen empfiehlt es sich, die Bilder eines jeden Stapels jeweils in ein separates Verzeichnis zu kopieren.

Wenn man das Programm beendet, wird man gefragt, ob alle mit p#... benannten Dateien gelöscht werden sollen, so dass keine Spuren übrig bleiben. Man sollte deshalb auf jeden Fall mit Mühe erarbeitete Ergebnisse unter anderen als den automatisch von PICOLAY erzeugten Namen abspeichern. Das geht am einfachsten unter 'Image list | Rename marked files'

-Dateien mit clip#, enh#, b# und xy# Von Dateien, deren Name mit clip# (Ausschnitt), enh# (verbessert), b# (Helligkeit harmonisiert) oder xy# (Verschiebung korrigiert) beginnt, wird angenommen, dass sie für spätere Bearbeitung erhalten werden sollen. Diese werden nicht automatisch gelöscht.

### Bilder auswählen

Zunächst 'File' und 'Select Pictures' auswählen. Dann auf das erste Bild klicken, die SHIFT-Taste gedrückt halten und auf das letzte Bild

der Serie klicken. Alternativ die Strg-Taste gedrückt halten und jedes Bild einzeln anklicken.

Die ausgewählten Bilder erscheinen in der Box in alphabetischer Reihenfolge. Unter 'Image list' kann man die Reihenfolge umkehren ('Reverse list top-down').

Die meisten Analysen werden erst möglich, wenn man Bilder in die Liste geladen hat.

- Tipp: Wenn man mit dem Programm noch nicht vertraut ist, empfiehlt es sich, mit kleinen Bildern anzufangen und diese zuvor in ein separates Verzeichnis zu kopieren!

- Tipp zum Schnellstart von PICOLAY Einfach ein Liste von Bilder im Windows Explorer auswählen und auf das PICOLAY-Icon schieben!

### Stacking Schnellstart

Mit der Fl-Taste kann man sofort nach dem Laden die Stackingroutine mit einem Satz voreingestellter Parametern starten. Mehr dazu später.

## Durch die Liste wandern

Man klickt auf die Namen in der Liste, um Bilder anzusehen. Die Pfeiltasten nach oben und unten sowie die Leertaste bewirken dasselbe. Doppelklicken schaltet die Markierung an ('[X]') oder aus ('[\_]'). Alternativ kann man alle Markierungen unter 'Image list' ändern. 'Toggle all marks' wechselt alle Markierungen, 'Mark all' markiert alle Bilder der Liste.

Mit [-] und [+] kann man in die Bilder hinein oder heraus zoomen, ohne die Originaldateien zu verändern. Ein Klick auf die Zahl in der Mitte bringt einen zurück auf 100 %

F12 startet eine Diashow der markierten Bilder, ein Klick auf ein Bild oder die Liste beendet sie. Mehr dazu s.u.

- Tipp: Wenn man einen Teilbereich aus einem großen Bild ausgewählt hat, wird genau dieser weiterhin angezeigt, auch wenn man durch die folgenden Bilder wandert.

### Bilderliste (Image list): Weitere Möglichkeiten

- 'Reverse list top-down' kehrt den Bilderstapel von unten nach oben.

- 'Mark all' markiert alle Bilder der Liste, wählt sie damit für die weitere Bearbeitung aus.

- 'Toggle marks' wechselt alle Markierungen.
- 'Clear list' leert die Liste, ohne Dateien zu löschen.

- 'Delete MARKED p#-files' löscht alle MARKIERTEN von PICOLAY erzeugten Dateien (Beginn mit 'p#...') aus der Liste aus dem aktuellen Verzeichnis auf der Festplatte (bzw. USB-Stick usw.; nicht gelöscht werden p#-Dateien, die zwar im Verzeichnis gespeichert sind, nicht aber in der Liste stehen).

- 'Delete ALL p#-files' löscht ALLE von PICOLAY erzeugten Dateien (Beginn mit 'p#...') aus der Liste (ansonsten wie oben).

'Delete ALL MARKED files' löscht ALLE MARKIERTEN Dateien aus der Liste und aus dem aktuellen Verzeichnis auf der Festplatte (bzw. USB-Stick usw.) Hier erfolgt vorher eine Sicherheitsabfrage.

- Diashow (Slide show)

Unter 'Image list | Start slide show' lässt sich eine automatische Diashow aller markierten Bilder starten. Unter Options wird eingestellt, wie lange die Bilder jeweils angezeigt werden, und ob es am Ende der Liste rückwärts oder von vorne losgehen soll...

 'Generate animated gif image'
 Die Funktion überführt die gesamte Diashow in ein File 'animated.gif', das von Grafikprogrammen und jedem Internetbrowser ohne zusätzlichen Treiber angezeigt werden kann. Vor dem Abspeichern kann der Name geäandert werden, wenn gewünscht.

Die Funktion kann einen Videoclip überflüssig machen und auch für beliebige JPG- und BMP-Aufnahmen verwendet werden...

#### Bildfenster (Image window)

- Zoomen Durch einen Klick auf [+] oder [-] kann man den Zoomfaktor angezeigter Bilder einstellen. Ein Klick auf die Zahl in die Mitte setzt die Anzeige zurück auf 100 %.

- Edit-Funktionen

Unter 'Edit' kann man Bilder oder Teile daraus in die Zwischenablage kopieren ('Copy', 'Copy selection'), ein Bild beschneiden ('Crop') or Bilder aus der Zwischenablage einfügen ('Paste'). Bildausschnitte lassen sich auch von allen ausgewählten Bildern auf einmal erzeugen ('Crop all marked images'). Die Ergebnisse werden in diesem Fall automatisch unter 'clip#' + alter Dateiname gespeichert und (unmarkiert) zur Bilderliste hinzugefügt.

#### - Bildparameter verbessern (Enhance image)

Im Bildfenster angezeigte Bilder lassen sich verbessern, indem man verschiedene Parameter einstellt. Zunächst testet man das Ergebnis ('Test'), dann akzptiert man es ('Apply'). Das Ergebnis wird wie viele andere Ergebnisse automatisch gespeichert (unter 'p#enhanced-01.jpg', mit ansteigenden Nummern am Ende). Alternativ kann man unter 'File' und 'Save Result' (oder Strg-S) eine Speicherung unter anderem Namen selber veranlassen. Unter Options wird eingestellt, ob das Ergebnis im jpg-, bmp- oder gif-Format gespeichert werden soll.

Die ausgewählten Transformationen können auch mit allen markierten Bildern auf einmal durchgeführt werden ('Apply to all marked images').

Die neuen Dateien werden unter 'enh#' + (alter Name) gespeichert und (unmarkiert) in die Liste geschrieben.

Um ein Bild aus dem Ergebnis-Fenster (normalerweise rechts angezeigt) zu verbessern, muss man dieses zunächst mit 'Edite | Copy to image window' herüberkopieren.

Die einstellbaren Parameter sind von oben nach unten: Schärfe, Kontrast, Gamma-Wert, Helligkeit, Farbsättigung, Rot-Grün-Blau Offset oder prozentuale Veränderung, Rotation um beliebigen Winkel in °, spiegeln (horizontal oder vertikal), Bild-Negativ erstellen, sowie Bildgröße (dauerhaft und mit erhöhter Qualität verändern).

## Mausfunktionen

Unter [Mouse function] im Bildfenster lassen sich verschiedene Funktionen auswählen.

# - Maus - Rechteck (Rectangle)

Voreingestellt ist die Maus als Rechteck-Werkzeug, mit dem man bei gedrückter linker Maustaste Bildbereiche definiert und kopiert. Ein Klick auf die RECHTE Maustaste saugt die Farbe unter dem Cursor als Zielfarbe ein.

# - Maus - Pinsel (Paintbrush)

Es öffnet sich ein kleines Zusatzfenster mit dem die Strichdicke und Farbe eingestellt werden können. Um eine Farbe aus dem Bild aufzunehmen, mit der RECHTEN Maustaste in das Bild klicken. Wenn man nun die linke Maustaste (oder die Strg-Taste!) gedrückt hält und die Maus bewegt, zeichnet sie in das Bild mit abnehmender Deckkraft zum Rand hin. Ein Ring zeigt die Strichdicke an. Mit 'Undo' oder 'Strg-Z' kann man die Änderung bis zum letzten Mausklick rückgängig machen.

### - Verwischen (Blur)

Mit dieser Funktion können Bildbereich verwischt werden, um störende Strukturen zu entfernen und der Umgebung anzupassen. Wie beim Pinsel lässt sich die Breite der (mittenbetonten) Wirkung einstellen und man kann die Änderungen bis zum letzten Mauspklick rückgängig machen.

### - Schärfen (Sharpen)

Mit dieser Funktion lässt sich die Schärfe in ausgewählten Bereichen erhöhen. Anwendung vergleichbar wie bei 'blur'.

- Maus - Klonen ins Ergebnisfenster (Clone to result window)

Diese Funktion überträgt (bei gedrückter linker Maustaste) Bildpunkte aus dem Bild- in das Ergebnisfenster, jeweils an derselben Position und mit der Strichdicke, die im Zusatzfenster eingestellt wurde, und mit von innen nach außen abnehmender Deckkraft. Die Funktion ermöglicht ein Stacking per Hand bzw. die Korrektur eines Stackergebnisses. Das besondere: Das Programm überträgt die geänderten Flächen auch in die Tiefenkarte, so dass später eine korrekte 3-D-Darstellung möglich ist. Undo-Funktion wie beim Pinsel....

Diese Funktion erlaubt das Duplizieren von Bereichen innerhalb eines Bildes. Dies ist z.B. hilfreich, wenn man den gestörten Hintergrund eines Bildes nicht einfach mit einer einheitlichen Farbe sondern mit ähnlichen Strukturen wie in der Nachbarschaft gestalten möchte.

Vorgehen: Zunächst den ZIELbereich mit der RECHTEN Maustaste anklicken. Dann die Maus mit (linker) gedrückter Maustaste vorsichtig im QUELLbereich bewegen, um die Pixel in den Zielbereich zu übertragen.

## - Maus - Text einfügen (Insert text)

Dies öffnet ein neues Fenster, das es erlaubt einen Text einzugeben, sowie Schriftart, -Größe, -Farbe und -Richtung (horizontal oder vertikal) auszuwählen.

Ein Klick auf das Bild platziert den Text an die gewünschte Stelle. Wenn's noch nicht perfekt ist, kann man die Aktion mit 'Undo' rückgängig machen, ansonsten wird durch 'Save' gespeichert.

Wenn ausgewählt, lässt sich der Text auch auf allen ausgewählten Bildern an derselben Stelle platzieren.

Es empfiehlt sich, Text oder auch einen Maßstab (s.u.) erst in die Endfassung eines Bildes zu setzen. Die Qualität leidet, wenn noch Änderungen z.B. an Farbe, Kontrast oder Schärfe vorgenommen werden.

### - Maus - Maßstab einzeichnen (Draw scale bar)

Ähnlich wie Text lassen sich auch Rechtecke definierter Größe auf Bilder einfügen. In diesem Fall werden Länge und Breite sowie die Farbe definiert und der Balken durch einen Klick auf eines oder auch alle markierten Bilder platziert.

### Stapel-Funktionen (Stack operations)

Unter 'Stack operations' lassen sich verschiedene Funktionen aufrufen und einstellen. Man kann diese auch mit Hilfe der Tasten F1 bis F11 starten.

Während der Routinen, die (je nach Anzahl und Größe der Bilder) längere Zeit benötigen, erscheint ein Fenster, in dem (im Sekundentakt oder pro bearbeitetetem Bild) ansteigende Zahlen den Fortschritt anzeigen. Das Fenster hat einen Schalter, mit dem sich die Bearbeitung abbrechen lässt ('Terminate current operation'). Achtung – dies ist eine Notbremse. Der Abbruch erfolgt oft erst nach einigen Sekunden und hinterlässt manchmal Dateien, die man nicht gebrauchen kann.

# Stapeln, Schärfe-basiert

#### F1 1-Klick-Stacking

Die Fl-Taste (oder ein Klick auf 'Stack operations | Stack with varied parameters') löst die folgende Kaskade von Operationen aus:

- Ordnung muss sein: Nicht markierte Dateien werden aus der Liste geworfen (aber nicht gelöscht).

- Der Bilder werden gegen Verschiebungen in x- und y-Richtung korrigiert (besonders wichtig bei Stereolupen-Bildern)

- Die Bilder werden in der Helligkeit angeglichen.

- Es werden mehrere Stacking-Durchläufe mit voreingestellten Parametern durchgeführt. Dabei werden verschiedene Dateien als Ergebnis produziert. Die jeweils dafür genutzten Parameter sind im Dateinamen erkennbar.

- Die Ergebnisse sowie die dazu gehörenden Tiefenkarten werden gemittelt und als 'p#avsharp.bmp' und 'p#avmap.bmp' gespeichert und in der Liste angezeigt.

- Zwischenzeitlich erzeugte Dateien werden automatisch gelöscht (außer den gerade erwähnten).

Das Ergebnis ist meistens ganz gut - wie Fertig-Pizza, leicht zuzubereiten und misslingt selten. Das optimale Ergebnis findet man aber eher, wenn man sich die erzeugten Bilder und die in den Namen versteckten Parameter ansieht (s.u.), um darin die besten Werte zu entdecken und nachher noch einmal anzuwenden. Oder man mittelt die vorliegenden Ergebnisse unter Auslassung von solchen schlechter Qualität. Recht gut brauchbar erschien mir in allen getestenen Fällen die gemittelte Tiefenkarte für 3D-Darstellungen. Die Analyse braucht einige Zeit, abhängig von der Größe und Zahl der Bilder (maximal 250!). Man kann den schrittweisen Aufbau des Ergebnis-Bildes verfolgen.

## F2 - Stacking-Parameter (schärfebasiert) einstellen

Nach Drücken von F2 (und nach Beendigung jedes Stacking-Durchlaufs) öffnet sich ein neues Panel auf der rechten Seite. Man kann einige (wenige aber wirksame!) Parameter einstellen und klickt dann auf 'Go', um die Stackingroutine erneut zu starten. Als Ergebnis erhält man ein Bild mit erhöhter Schärfentiefe auf der rechten Seite, im Ergbenisfenster.

### Stacking-Parameter

Leserahmen ('Filter frame size') Der Wert für die Größe des Leserahmens ('Filter frame size') sollte bei fein strukturierten Bilder klein (1 oder 2) sein, bei großen Strukturen, mit wenigen Wechseln der scharfen Ebenen groß (3 bis 8) einfach ausprobieren.

### Minimum-Kontrast

Der Wert für für die Kontrastschwelle ('Minimum contrast') sollte so eingestellt werden, dass eine Unterscheidung zwischen kontrastarmem Hintergrund und scharfem Vordergrund möglich wird. Durch Setzen dieses Schwellwertes wird vermieden, dass kleine Störungen des Hintergrunds hervorgehoben werden. Falls 'Minimum contrast' auf Null gestellt war, enthält das Bild nur Original-Pixel aus dem Stapel. Ansonsten werden Pixel unterhalb des Schwellenwertes gemittelt.

### Karte glätten

'Smooth map' erzeugt eine geglättete Tiefenkarte und weniger Wechseln der Ebenen im Bilderstapel.

## Tiefenkarte (2-D map)

Neben dem Ergebnisbild wird eine Farbkarte erzeugt, die Information enthält, aus welchem Bild jedes Pixel stammt. Die Karte wird auch zur Erzeugung dreidimensionaler Bilder genutzt (s.u.).

Die Ergebnisse der Stapelroutine wird automatisch als unmarkiertes File gespeichert, z.B. 'p#sharp\_ff3\_mc5.jpg' und zur Bilderliste hinzugefügt. 'p#sharp' bedeutet Schärfe-basiertes PIOLAY-File, und '\_ff3\_mc5' beschreiben die Werte für den Leserahmen (= 3) und minimum contrast (= 5).

Ein Klick auf '[Flip view=] Result' (oder '[Flip view=] 2-D map', schaltet um zwischen der Ansicht des Ergebnisses und der Tiefenkarte. Diese hilft, die besten Werte für den Leserahmengröße und den Minimal-Kontrast zu finden. Falls unter 'Options' ausgewählt, wird die Farbkarte (2-D map) automatisch unter 'p#mapsharp...' gespeichert (unmarkiert).

Man kann schließlich das beste Resultat übernehmen oder mehrere Ergebnisse anders kombinieren ('Average'...) und Bildparameter optimieren ('Enhance').

### F3 Farbbasiert Stapeln (colour-based stacking)

Für manche Bilderstapel ist es interessant, nicht nur nach scharfen Bereichen, sondern nach Farben zu suchen.

Ein Klick auf 'Stacking based on colours' im Stack operations-Menue öffnet ein Panel zur Einstellung der Zielfarbe: 'Select target colours'. Man kann die Zielfarbe durch Klicken in ein Original-Bild mit der RECHTEN Maustaste definieren, Zahlen in die entsprechenden Felder eingeben oder auf die kleinen Farbquadrate (rot/grün/blau/schwarz/weiß) klicken.

Besonders Schwarz und Weiß (R/G/B = 0/0/0 und 255/255/255) geben oft interessante Informationen!

Ein Klick auf 'Go' produziert ein Ergebnisbild, das aus Original-Pixeln zusammengesetzt ist. Ebenso wird eine Tiefenkarte erzeugt.

Die Ergebnisse werden automatisch gespeichert unter 'p#colour\_r0\_g0\_b0.jpg' (Zahlen = RGB-Werte, und, falls unter Options auto-save maps ausgewählt, 'p#map\_r0\_g0\_b0.jpg') und zur Liste hinzugefügt (unmarkiert).

Wenn man die Funktion 'Strip non-target part' aktiviert, werden nicht zur Zielfarbe passende Anteile weggefiltert.

## F4 Bilder mitteln

Durch Klicken auf 'Average images' im Hauptfenster, erhält man ein Bild aus den gemittelten Pixeln aller markierten Bilder in der Liste. Das Ergebnis wird autonmatisch gespeichert unter 'p#mean.jpg' und an die Liste angefügt (unmarkiert). [Ältere Dateien mit demselben Namen werden überschrieben!]

Um die Qualität des Bildes zu verbessern kann man unter [Enhance image] z.B. Schärfe und Kontrast erhöhen...

Die Mittelungsfunktion kann man auch nutzen, um verschiedene Bilder, die PICOLAY erzeugt hat (schärfste, dunkelste, hellste Pixel...) zu einem optimierten Ergebnis zu kombinieren.

## F5 Zwischenbilder einfügen

'Insert intermediate images' generiert zusätzliche Bilder aus den Mittelwerten (geschärften) von jeweils zwei Originalaufnahmen und schiebt sie in der Liste zwischen diese. Die Funktion ist nützlich als Übergang in einer Diashow oder bei der 3-D-Darstellung durch 'Hologramm-Stacking' (s.u.).

## F6 Positionsverschiebungen und Objektgröße ausgleichen

Mit F6 oder 'Stack operations | Auto-align positions & resize' kann man die Bilder zueinander ausrichten. Die Kompensation betrifft derzeit nicht Verdrehungen! Die Ergebnisse werden unter 'xy#' + <Original-Filename> abgespeichert und automatisch in die Liste geladen.

Diese Funktion ist wichtig, wenn man Bilderserien bearbeitet, die durch eine Stereolupe aufgenommen wurden. Hier gibt es eine systematische Verschiebung der Positionen!

Man kann die Größenkorrektur unter Options inaktivieren.

TIPP: Falls das Ergebnis nach einem Durchlauf der Routine nicht perfekt ist, kann oft eine zweiter Lauf bessere Ergebnisse bringen.

TIPP: Falls man 'hot Pixels' auf dem Chip oder Schmutzpartikel im optischen System hat, empfiehlt es sich, unscharfe Aufnahmen oberhalb und unterhalb des Objekts zu machen, diese zu mitteln und das Ergebnis mit der 'Flatfield-Routine' (F10, s.u.) von allen Bildern abzuziehen. Andernfalls können kleine Partikel zu störenden Linien werden.

## F7 Unterschiedliche Helligkeiten ausgleichen

Unterschiedliche Bildhelligkeiten kann man mit F5 oder oder 'Stack operations | Auto-adjust Brightness' ausgleichen. Die Ergebnisse werden unter 'b#' + <Original-Filename> abgespeichert und automatisch in die Liste geladen.

### F8 Weißabgleich einstellen

Um den Weißabgleich einzustellen F6 frücken oder die Funktion oder 'Stack operations | Set white balance' aktivieren. Nun mit der RECHTEN Maustaste in den Hintergrund eines Originalbildes klicken, an einer Stellen die auf weiß bzw. grau gesetzt werden soll. 'Go' bewirkt nun die gewünschte Farbkorrektur.

## F9 Addieren oder Subtrahieren eines Bildes

PICOLAY erlaubt es, das erste Bild der Liste zu den anderen markierten zu addieren oder es abzuziehen. Dabei gilt es zu bedenken, dass RGB-Werte über 255 und unter 0 gekappt werden.

### F10 Einstellen eines homogenen Hintergrunds

Wenn man die Funktion 'Set background/flat-field correction' aktiviert und 'Factor' auf -1 stellt (der negative Wert führt zu einer Subtraktion) kann man die Bildaddition dazu verwenden, störende Effekte aus dem optischen System (Schmutz etc.) zu eliminieren und gleichzeitig ein homogenen Hintergrund mit einer gewünschten Farbe zu füllen.

Dazu sollte das erste Bild der Liste nur die störenden Elemente enthalten. Das Programm zieht dann dieses Bild nicht nur von den anderen der Liste ab, sondern addiert jeweils die Differenz zu den RGB-Werten der gewünschten Hintergrundfarbe. Letztere sollte ähnlich dem Mittelwert des Hintergrunds sein. Die Farbe einstellen kann man durch Klicken mit der RECHTEN Maustaste in das Originalbild.

Die korrigierten Bilder werden automatisch gespeichert unter 'p#' + (Originalname) und unmarkiert in die Liste geschrieben. Nach Anklicken von 'Image list' und 'Toggle marks' kann man dann mit ihnen weiter arbeiten.

# F11 Farbwerte einer Bilderserie durch die des ersten Bilds dividieren

Diese Funktion wird für wissenschaftliche Anwendungen genutzt um störende Übelagerungen (die im ersten Bild enthalten sind) herauszurechnen.

#### Optionen (Hauptfenster)

Unter 'Options' kann man einstellen,

- in welchem Format erzeugte Bilder abgespeichert werden sollen.
- welche Farben für die Darstellung der Tiefenkarte verwendet werden sollen.
- ob die Tiefenkarten automatisch gespeichert werden oder nicht.

- ob der benutze Computer Dezimal-Kommas oder Punkte erwartet (je nach Reginonal-Einstellung variiert das).

- ob nach Beendigung der Berechnung eine Tonfolge zu hören sein soll.

- Diashow/Slide show Parameter - welche Intervalle (in Millisekunden) zwischen den Bildern einer Diashow eingehalten werden sollen, und ob die Show am Ende der Liste rückwärts läuft oder zum ersten Bild springt.

#### Hauptfenster: Help

Unter Info wird das Erstellungsdatum der benutzten PICOLAY-Version angezeigt. Bitte überprüfen, ob es unter <u>www.picolay.de</u> eine neuere Version zum Download gibt.

Unter Help wird der englische Hilfetext angezeigt.

### Ergebnisfenster (Result window)

Ergebnisse werden von PICOLAY im rechten Fenster angezeigt.

Man kann wie beim Bildfenster beschrieben zoomen ([+], [-] oder die Zahl in der Mitte anklicken).

Ein Klick auf [Flip view=] schaltet um zwischen dem Ergebnis und der letzten gespeicherten Tiefenkarte.

Die Edit-Funktion ist beschränkt auf das Kopieren des Bildes in das Bildfenster, wo dann weitere Veränderungen vorgenommen werden können.

Ein Klick au 3-D view schaltet um auf die Anzeige der Tiefenkarte und öffnet ein neues Fenster, in dem weitere Parameter eingestellt werden können.

## Erzeugung von dreidimensionalen Bildern

Wie oben beschrieben, speichert PICOLAY sowohl beim Schärfe- als auch beim farbbasierten Stapeln die Information darüber, aus welchem Bild (d.h. aus welcher Ebene) jedes Pixel stammt, in Form von Farbkarten (von blau nach gelb, gemittelte Pixel grau). Diese Tiefen-Information kann zur Erzeugung von 3-D-Projektionen und echten Stereobildern genutzt werden.

### Allgemeines zu 3-D-Betrachtungsweisen

Während uns 3-D-Projektionen gut vertraut sind, erfordert echtes Stereo-Sehen die Erzeugung von zwei verschiedenen Bildern für das linke und das rechte Auge und besondere Betrachtungstechniken. Das ist nicht immer einfach, ermöglicht aber ein faszinierendes Erlebnis.

Manche können mit Parallelblick auf zwei nebeneinander liegende Bilder stieren, die das Objekt aus leicht verschobener Perspektive (2 - 4°) zeigen. Nach einiger Zeit sehen sie drei Bilder, von denen das mittlere den dreidimensionalen Eindruck vermittelt.

Andere schauen mit gekreuztem Blick. Hierbei sollten das linke und das rechte Bild vertauscht sein, sonst wird konkav zu konvex und umgekehrt. Auch die Kreuzblicker sehen drei Bilder. Sie haben den Vorteil, auch große Bilder dreidimensional sehen zu können, während bei Parallelblickern die Bilder meist nicht breiter sein dürfen als der Augenabstand (ca. 6.5 cm).

Viele können weder die eine noch die andere Methode nutzen. In diesem Fall helfen Cyan-Rot-Brillen und eine Überlagerung der beiden Bilder in diesen Farben.

PICOLAY erzeugt frei rotierbare dreidimensionale Projektionen, Stereo-Bilder für die Betrachtung mit Parallel- oder Kreuzblick, sowie Cyan-Rot- Überlagerungen. Dafür wird nur ein einziger Bilderstapel, der aus konstanter Perspektive aufgenommen wurde, benötigt. Ein besonderes Verfahren ist das so genannte Hologramm-Stacking, bei dem vermieden wird, dass Strukturen in verschiedenen Ebenen des Objekts sich überdecken. Man stellt bereits vor dem Stacken verschiedene Betrachtungswinkel ein, so dass alle Strukturen sichtbar werden.

## 3-D-Bilder mit PICOLAY

Ein Klick auf [3-D view] im Rahmen des Ergebnisfensters (nach dem Stacking) öffnet ein neues Fenster, das es erlaubt verschiedene 3-D-Darstellungen zu erzeugen: Paare von echten 3-D-Bildern (für Paralleloder Kreuzblick), Cyan-Rot -Überlagerngenen (für Rot-Grün oder Rot-Cyan-Brillen), frei rotierbare 3-D-Landschaften (abgeleitet aus der Farbkarte) und so genannte Hologramm-Bilder (mit voreingestellten Betrachtungswinkeln zur Vermeidung von Überdeckungen, s.o.).

### Länge der Z-Achse (Length of Z axis)

Die Z-Achse wird definiert in Vergleich zur Höhe des Bildes (Y-Achse). Eine Wert von 0 unterdrückt jeden 3-D-Effekt. Zu große Werte ergeben Verzerrungen und ein Auseinanderreißen der Schichten des Objekts.

## Seam: Saum zwischen den Schichten

Der Saum dient dazu, horizontale und vertikale Risse in den 3-D-Bildern zu schließen. Längere Z-Achsen und größere Betrachtungswinkel erfordern mehr Saum und umgekehrt.

Projection based on 2-D map erzeugt **Projektion auf der Basis der Tiefenkarte** 

### Hologram-Stacking

erzeugt Bilder im oben genannten und unten detailliert beschriebenen Hologramm-Verfahren

## Images to be generated

definiert die zu erzeugenden Bilder. Die Oberfläche (surface) kann aus Original-Pixeln, der Tiefenkarte oder einem Mix aus beidem erstellt werden. Außerdem kann man Scharzweißbilder anzeigen lassen, wenn Farbe stören sollte.

Ergebnisse werden automatisch gespeichert unter 'p#\_x0\_y0\_z0.jpg', wobei die letzten 3 Zahlen die Winkel der Drehung um die drei Achsen wiedergeben.

# 3-D view

Wenn diese Funktion aktiviert ist, werden zwei Bilder aus leicht verschiedenen Betrachtungswinkeln für das linke und rechte Auge erstellt. Es gibt derezit ach Darstellungsweisen. Die Bilder können entweder einzeln angezeigt, überlagert werden (für die Cyan-Rot-Brille), oder zu dritt oder viert kombiniert werden. Letzteres hat den Vorteil, dass man den 3-D Effekt unabhängig davon, ob man parallel

oder mit gekreuztem Blick adarauf schaut, wahrnehmen kann. Schließlich kann man auch ein Wackelbild erzeugen, das es möglich macht, auch mit nur einem Auge den 3-D-Effekt zu sehen.

Das Kippen der Karte lässt einige Teile des Bildes ungenutzt. Die Hintergrundfarbe für diesen Bereich kann man unter 'Background colour' auf Schwarz, Weiß oder Silber einstellen oder durch Klicken auf den Balken die Zielfarbe (s.o.) wählen.

### Hologramm-Stacking (Schärfe-basiert)

[Hologram stacking (sharpness-based)] Zum Hologramm-Stacking benötigt man Schwellenwerte, die einen Teil der Pixel aus dem Bilderstapel ausschließen. Ansonsten würden sich die Schichten wie die Seiten eines Buches voll überdecken. Dazu stellt man einen Minimal-Kontrast ein, und zwar höher als beim normalen Stacking.

Um nun alle Schichten eines Bilderstapels ohne Überdeckung sehen zu können, sollte man die Option 'Schrittweise Rotation' ('Stepwise rotation') aktivieren.

Hologramm-Stacking (farbbasiert), [Hologram stacking (colour-based) Für farbbasiertes Hologramm-Stacking werden statt eines Kontrast-Schwellenwertes eine Zielfarbe und eine Toleranz-Bereich definiert. Um die Farbe zu wählen, klickt man mit der RECHTEN Maustaste in ein Original-Bild oder man nutzt die Farbauswahl im Fenster 'Stacking Colour-based'. Wenn man Weiß oder Schwarz als Zielfarbe wählt, ist meistens ein großer Wert für die Toleranz erforderlich.

Bilder aus diesem Verfahren werden automatisch gespeichert unter 'p#3D4...' (s.o.) Wie bei den anderen Verfahren lassen sich auch hier Paare von Stereobildern und Cyan-Rot -Überlagerungen erzeugen.

### Das war's auch schon!

Weitere Hinweise, ein Tutorial und Beipiele unter <a href="www.picolay.de">www.picolay.de</a>. Bitte hin und wieder nach neuen Versionen schauen – ich arbeite weiter an der Verbesserung des Programms. Bitte teilen Sie mir gern Probleme und Verbesserungsvorschläge mit!

## Danksagung

Ich danke Eberhard Raap für zahlreiche Vorschläge und hilfreiche Kritik, die sehr geholfen hat, das Programm weiter zu entwickeln. Jöran März Dank für die Hilfe bei den Cosinus- und Sinus-Berechnungen und Anders Melander für das open source Angebot von gifimage.pas.

Heribert Cypionka Institut für Chemie und Biologie des Meeres Universität Oldenburg, Germany e-mail: Cypionka[at]icbm.de Internet: www.picolay.de