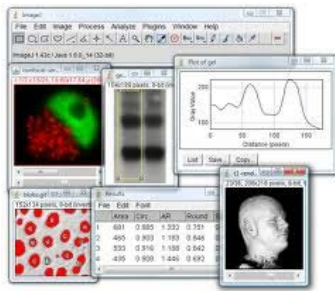


# ImageJ



[home](#) | [news](#) | [docs](#) | [download](#) | [plugins](#) | [resources](#) | [list](#) | [links](#)

**ImageJ**  
Image Processing and Analysis in Java

- Features
- News
- Documentation
- Download
- Plugins
- Developer Resources
- Applets/Web Start
- Mailing List
- Links

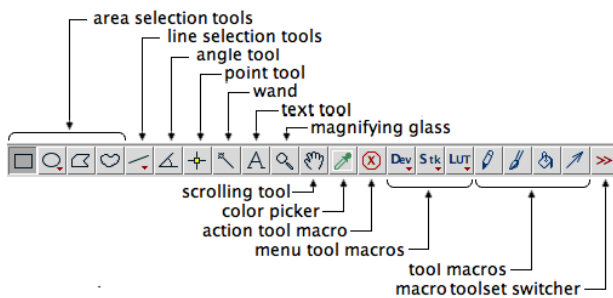
This page has been visited [8,447,444](#) times. Send comments to [wsr@nh.gov](mailto:wsr@nh.gov). [Disclaimer](#)

<http://rsbweb.nih.gov/ij/index.html>

## Introdução ao ImageJ

A janela de entrada do programa ImageJ consiste de 3 partes:

1. Menu-Bar (Barra de Menu),
2. Toolbar (Barra de Ferramenta) e
3. Status-Bar (Barra de Informações).



### Exercícios 2.1: Informação sobre Pixel, Zoom e Scrolling

- Abra a imagem "**A4 dapi 1.tif**" da pasta "**01 – opening images**".

Note que algumas informações sobre a imagem aberta são apresentadas no topo da janela da própria imagem. Algumas informações são: tamanho da imagem em pixel (e/ou outra unidade de medida), o tipo e o tamanho da imagem para armazenamento na memória do computador.

Selecione a ferramenta de lupa (magnifying glass tool) na barra de ferramentas e clique na área da imagem. Um clique com o botão esquerdo faz um zoom-in, um com o botão direito do mouse um zoom-out. Você pode usar as teclas [+] e [-] para também fazer a operação de zoom.

Observe a imagem com a área da imagem indicada no canto superior esquerdo, quando a imagem é maior que a janela de observação.

Aplique a operação de Zoom-in para que o indicador de posição seja exibido. Selecione a ferramenta de rolagem na barra de ferramentas. Clique na imagem e sem soltar o botão mova o mouse. Vá para o canto inferior direito da imagem.

Selecione a ferramenta lupa (magnifying glass tool) novamente. Aplique a operação Zoom-in para que o indicador de posição seja exibido. Você pode arrastar a imagem, mantendo pressionada a "barra de espaço" ao invés de usar a ferramenta rolagem (scroll). A vantagem é que você pode usar a barra de espaço para fazer uma rolagem da imagem quando uma outra ferramenta estiver ativa ao mesmo tempo.

Amplie para o zoom máximo e mova o mouse sobre a imagem. Olhe para a barra de status da janela de início do ImageJ. A posição do pixel sob o ponteiro do mouse e seu valor na escala de cinzas são exibidos.

a) Qual é o zoom máximo possível? Qual é o zoom mínimo?

Max = 3200% e mim = 3,1%

b) Qual é o valor em níveis de cinza do pixel com as coordenadas  $x = 549$  e  $y = 305$ ? Qual é o valor em níveis de cinza do pixel com as coordenadas  $x = 58$  e  $y = 246$ ?

199 e 197

c) Qual é a largura e altura da imagem? Qual é seu tipo? O que é o seu tamanho na memória?

d) Mova o mouse sobre a imagem. Em qual sentido a coordenada X dos pixels se tornam maiores? Em qual sentido as coordenadas Y se tornam maiores? Como é o sistema de coordenadas para uma imagem digital?

A coordenada X varia da esquerda para a direita e o Y varia de cima para baixo

e) Você pode alterar a orientação do eixo-Y. Abra o Menu "Analyze> Set Measurements..." e selecione "Inverter as coordenadas Y". Passe o mouse sobre a imagem novamente.

## **Exercício 2.2: ferramentas de seleção da área**

Certifique-se que a ferramenta de seleção retangular (Rectangular Selection Tool) está ativa. A partir dela você poderá fazer uma seleção retangular na imagem, clicando em um ponto e arrastando o mouse para um outro ponto. Enquanto isso a largura, a altura e a relação de aspecto (aspect ratio) da seleção serão exibidos/modificados. Uma vez que você solte o botão do mouse você terminou de fazer uma seleção na imagem digital. Você ainda poderá alterar sua posição, clicando nele e arrastando, ou clicando na borda e modificando seu tamanho.

- a) Faça uma seleção retangular na imagem, mova-a e mude seu tamanho. Descubra na documentação ImageJ (ImageJ Guia do Usuário) quais teclas modificadoras existem para a ferramenta de seleção retangular e que elas fazem. Experimente-as.
- b) Note que você pode criar seleções complexas usando a tecla [Shift] e [Alt]. [Shift] adiciona uma nova área seleção existente. [Alt] remove uma área de uma seleção já existente. Experimente ambos os métodos de seleção. Mova a seleção complexa ao redor de toda a imagem. Note-se que você pode criar uma seleção, mesmo que as áreas individuais sejam separadas.
- Observação: A tecla [Alt] no Linux não funciona, para o mesmo trabalho é preciso segura o [Ctrl] juntamente com o [Alt], depois pode soltar o [Ctrl] e continuar segura o [Alt], e então teremos o mesmo efeito.
- c) Mude a cor de seleção para, por exemplo, magenta (Editar> Opções> Cores ...).
- d) Use o botão direito do mouse sobre a seleção retangular (rectangular-selection tool-button) e selecione a ferramenta de retângulo arredondado (rounded-rectangle selection). Faça uma seleção. Note-se que todas as ferramentas de seleção usam a mesma cor definida exceto para a seleção retângulo arredondado que tem sua configuração própria cor. Você pode alterá-la clicando duas vezes sobre a ferramenta de botão.
- e) Dê um duplo clique sobre a ferramenta de retângulo arredondado (rounded-rectangle selection). Altere o valor do tamanho do arco de canto para desenhar uma nova seleção.
- f) Tente as outras ferramentas de seleção de áreas da imagem incluindo a ferramenta freehand-selection (seleção livre). Note que ao usar a ferramenta freehand-selection, você não deve tentar fechá-la você mesmo. Basta ir próximo do ponto de início e soltar o botão do mouse. A seleção será fechada automaticamente.
- g) Faça uma seleção e execute o comando "Imagem> Recortar (Crop)". O que acontece?

Você pode recarregar a imagem original usando "File>Revert" ou (Ctrl + r). Faça uma seleção novamente e execute o comando "Imagem>Duplicar" (Duplicate) [Shift + d]. O que acontece?

### **Exercício 2.3: Medições e Tabela de Resultados**

O comando Analisar> Medida (Analyze>Measure), tecla [m], realiza medidas tanto de propriedades de toda a imagem ou de uma região previamente selecionada na imagem. Você poderá escolher as propriedades que serão medidas no Menu "Analyze> Set Measurements". Todas as medidas realizadas serão armazenadas na tabela de resultados globais (Janela de Resultados).

- a) Use a ferramenta de freehand-selection (seleção livre) para selecionar um núcleo (observado na imagem), em seguida, meça sua área e valor médio dos níveis de cinza no interior da seleção. Faça a mesma coisa para múltiplos núcleos. Aplique um zoom na imagem para fazer uma seleção precisa.

- b) Aplique a opção " File>Duplicate"<sup>1</sup> para duplicar a tabela de resultados e fazer uma cópia dos mesmos. Meça posteriormente uma nova seleção. A qual a tabela esses novos resultados foram acrescentados?
- c) Use "File>Rename" (Arquivo>Renomear) para renomear a tabela de resultados original (Resultados) para, por exemplo, "Resultados\_Velho". Faça uma nova medida. Em que tabela de resultados o mesmo é acrescentado?
- d) Limpe a tabela de resultados usando o Menu " Results>Clear Results" e meça pelo menos 3 novos núcleos. O que é a média, o desvio-padrão, os parâmetros min, a max e o modo da distribuição da área de valores? Use "Use Results>Summarize" e "Results>Distribution"... para obter as respostas.

<sup>1</sup> - Atenção: o menu "File" se encontra na janela de Resultados (Results)

#### **Exercício 2.4: ferramentas de seleção de linha**

Experimente as ferramentas de seleção de linha em linha reta (line selection tools straight-line), linha-segmentada (segmented-line) e linha-livre (freehand-line). Note-se que durante a criação da linha o comprimento do segmento corrente e o ângulo com o eixo x são exibidos na barra de informações (status-bar).

- a) Utilize a ferramenta em linha reta (straight-line tool) para estimar as distâncias entre os centros dos núcleos.
- b) Utilize a mesma ferramenta para estimar os diâmetros dos núcleos.
- c) Use a ferramenta de linha-segmentada (segmented-line) para estimar os perímetros dos núcleos.
- d) Use a ferramenta linha-livre (freehand-line) para estimar os perímetros dos núcleos.
- e) Use a ferramenta ângulo para estimar os ângulos entre os três núcleos.

#### **Exercício 2.5: Gráfico de Perfil**

Você pode usar as ferramentas de seleção de linha para criar gráficos de perfis. Um gráfico de perfil contém os valores de intensidade dos pixels ao longo da linha selecionada. Primeiro faça uma seleção de linha, por exemplo através de um núcleo na imagem, em seguida, pressione a tecla [k] (o atalho para "Analyze->Plot\_Profile"). Note que, quando a largura de linha é maior do que um, o perfil será a média dos valores sobre esta largura. Você pode alterar a largura da linha de seleção por meio de um duplo clique na ferramenta linha de seleção (line-selection tool-button).

- a) Use a ferramenta "Plot Profile " por exemplo para estimar o diâmetro de um núcleo. Note que o plot (gráfico) é uma imagem também, de modo que você pode usar as mesmas ferramentas do ImageJ nela. Faça uma avaliação se existe alguma vantagem em se utilizar o mapa do perfil (Plot Profile) em vez de medir o diâmetro na imagem original?

- b) Crie um " Plot Profile " através de um núcleo na imagem exemplo. Sem alterar a seleção, mude a linha de largura e crie um novo plot. O que mudou?
- d) Crie um " Plot Profile " através de um núcleo (da imagem exemplo). Clique no botão "List" na janela do gráfico de perfil. Copie os valores para o clipboard ([Ctrl + A] para selecionar todos e [CTRL + C] para copiar). Abra o Ajuste de curvas (Curve Fitter) em "Analyze>Tools> Curve Fitting...". Exclua os valores no local (se houver algum) e cole os valores da área de transferência para ele [Ctrl + V]. Faça um ajuste Gaussiano dos pontos medidos.

### Exercício 2.6: seleções de pontos

Você pode usar as ferramentas de seleção pontuais (point selection tools) para contar manualmente os objetos em uma imagem. Com o "Point Selection Tools" use a tecla [Shift] para adicionar pontos ou use a ferramenta multi-ponto para adicionar mais de um ponto. Você pode apagar os pontos usando a tecla [Alt].

- a) Faça uma seleção de ponto em três núcleos na imagem teste, em seguida, faça um ponto em algum lugar no fundo da imagem e faça seleções de pontos em núcleos remanescentes. Exclua o ponto no fundo usando a tecla [Alt]. O que acontece com a numeração dos pontos?
- b) Salve uma imagem com uma seleção de vários pontos em algum lugar no disco utilizando o formato TIF ("Save as > TIFF" ...). Feche a imagem e recarregue-a ("File> Open ..."). O que aconteceu com a seleção de pontos? Você ainda pode modificá-los?
- c) Marque a opção Auto-Medida (Auto-Measure) da ferramenta de pontos (Point Tool). O que esta ferramenta faz? Dica: Veja a tabela de Resultados.
- d) Você pode usar a ferramenta seleção de ponto(s) com as opções "Auto-Medida" (Auto-Measure) e "Auto-Next Slice" para traçar a trajetória de uma partícula. Por exemplo, abra a imagem "**particles.tif**" na pasta "**02 - basic tools**" e faça o teste, com o ponto amarelo na sequência de imagens.

### Exercício 2.7: Thresholding e a ferramenta de "varinha mágica"

A ferramenta varinha mágica (magic wand tool) permite fazer uma seleção de pixels conectados em uma imagem. Há duas maneiras diferentes para se determinar quais pixels farão parte da seleção final: (1) Ou a ferramenta seleciona todos os pixels conectados com o valor de mesma intensidade (eventualmente mais ou menos tolerância a partir de um valor inicial) ou (2) ele seleciona todos os pixels a partir de um threshold (limiar de corte). Neste caso ele criará uma nova imagem com todos os pixels com intensidades maiores do que o mínimo determinado e menores do que o valor máximo informado. Será uma imagem binária. O mínimo (e máximo) valores-limite podem ser definido usando o limite de ajuste na Janela de Threshold. Você pode abrir esta ferramenta de corte (threshold) a partir de "Image> Adjust> Threshold" [Shift + t]. No Menu de Threshold troque alternativamente (para ver o efeito) a opção de visualização de modo de vermelho (Red) para "Over/Under".

Cada clique com a ferramenta de seleção varinha mágica (magic wand tool) cria uma seleção. Se você quiser remover a seleção utilize a tecla [Ctrl + Shift + a].

- a) Use a ferramenta de seleção varinha mágica (magic wand tool) em combinação com o ajuste de limiar (threshold) para selecionar núcleos. Meça os núcleos. Quais são os maiores e os menores perímetros e quais são os diâmetros maiores e menores?
- b) Use a ferramenta de seleção varinha mágica (magic wand tool) para selecionar todos os núcleos como uma seleção (shift-clique). Descubra qual é a porcentagem da área de imagem é coberta por núcleos. Dica: você pode usar CTRL + A para selecionar toda a imagem.

### Exercício 2.8: Gerenciador de Região de Interesse (Roi-Manager)

O Roi-Manager é uma ferramenta que ajuda a trabalhar com seleções de pixels na imagem. Será nesta seleção (ou seleções) que o processamento da imagem estará concentrado. Você pode manter um número ilimitado de seleções, exibir, modificar e medi-los quando quiser. Os comandos do gerente de regiões ROI (Region of Interest) sempre trabalhará nas ROIs selecionadas ou em todas as ROIs do gerenciador caso nenhuma delas esteja selecionada.

- a) Use a ferramenta varinha (wand-tool) para selecionar um núcleo na imagem exemplo, em seguida, pressione a tecla [t] (atalho para adicionar a seleção ao Roi-Manager, você encontrará a janela principal do ROI-Manager em Analyze>Tools>ROI Manager ...). Selecione a opção Mostrar todas as seleções.
- b) Clique em uma das etiquetas (por exemplo na de número 5) na imagem. Note que a linha correspondente no ROI-Manager é selecionado. Modifique a seleção (remova uma peça usando freehand-selection com a tecla [Alt] pressionada). Pressione o botão de atualização no ROI-Manager para fazer a mudança permanentemente.
- c) Selecione uma ou várias linhas no ROI-Manager (você pode usar as teclas [Ctrl] / [Shift]) e pressione o botão medida (Measure). Pressione o botão Deselect, feche ou apague a tabela de resultados e pressione o botão medida (Measure) novamente para ver o resultado de ação da ferramenta.
- d) O que significa botão flatten (achatar)? Dica - Dê uma olhada no tipo da imagem resultante.
- e) Defina o limiar inferior (lower threshold) de modo que o fundo se torne azul e não há furos nos núcleos. Você pode criar uma seleção a partir dos valores após o uso do threshold (valores após a limiarização/corte) usando Edit>Selection>Create Selection. Execute o comando Split do ROI-Manager. O que acontece?
- f) Adicione as seleções de todos os núcleos para o ROI-Manager. Agora abra a imagem "**A4 Rhod 1.tif**" da pasta "**02 - basic tools**". Com a imagem recém carregada ativa, desmarque a opção Mostrar Tudo ("Show All") do ROI-Manager e selecione a mesma novamente. Pressione o botão medida. O que acontece?

### Exercício 2.9: Medindo objetos com o Analisador de Partículas (Particle Analyzer)

Até agora todas as seleções foram criadas individualmente. A ferramenta de Análise de Partículas permite criar automaticamente uma seleção para cada objeto (partícula), região ou seja, conectado de pixels acima do limiar mínimo e abaixo do limite máximo de corte (threshold).

- a) Utilize o limiar de corte (Image> Adjust> Threshold ou [shift + t]) da imagem, para adicionar núcleos para o Roi-Manager (desmarque todas as opções sobre a Particle-Analyzer exceto a possibilidade "Adicionar ao Manager").
- b) Apague todas as regiões do Roi-Manager e use a ferramenta Particle-Analyzer" de novo. Desta vez, selecione a opção Excluir as partículas que tocam as bordas da imagem. Você pode explicar para quais situações esta opção é boa e quando ela deve ser usada?
- c) Use o analisador de partículas de novo, porem desta vez, o objetivo é tentar excluir objetos/regiões que são demasiadamente pequenas para serem núcleos, definindo um tamanho mínimo na caixa de diálogo do Particle-Analyzer.
- d) Utilize o Analisador de Partícula para selecionar apenas os núcleos que têm um valor de circularidade elevada. Determine, com o uso da ferramenta, o valor que exclui os dois núcleos com a menor circularidade? O que você entende por circularidade?
- e) Abra a imagem "inclusion.tif". Imagine que o interior e exterior dos retângulos brancos são partículas. Utilizar a ferramenta Particle-Analyze, e teste a opção com e sem a opção furos (holes option). Interprete a diferença dos resultados nos dois casos?
- f) Use o Analisador de Partículas para descobrir quantas gotas brilhantes existem na imagem "blobs.gif" da pasta "02 - ferramentas básicas". Qual é a área média das bolhas?

### Exercício 2.10: Setas, anotações e sobreposições

Imagens podem sofrer anotações de forma não-destrutiva, usando a ferramenta sobreposições (overlays). Opções como desenhos de setas e outras seleções podem ser adicionadas à imagem sobreposta pressionando b (Image> Overlay> Selection).

- a) Utilize a (arrow tool) ferramenta Seta (acessível clicando com o botão direito do mouse sobre a opção de linha - line-selection tool-button) para criar setas que apontam para uma parte da imagem, no caso do exercício um núcleo. Antes de criar as setas, use as opções da ferramenta de seta (arrow-tool) para definir a cor das setas, por exemplo para magenta.
- b) Use a ferramenta de texto (text tool) para escrever uma anotação para cada seta (por exemplo na direção do núcleo um e/ou do núcleo dois). Use [Ctrl+Alt+B] para adicionar o texto a uma camada de sobreposição (overlay).
- c) Modifique as setas. Dica: Use Image>Overlay>To ROI Manager primeiro. Não esqueça de clicar no botão Atualizar (Update) na janela de gerenciamento de ROI (Roi-Manager), depois de modificar uma seta.

- d) Substitua o texto por outro texto (por exemplo aquele associado ao primeiro núcleo). Dica: - Você não pode modificar o texto em si. Selecione o texto no Roi-Manager, escreva um novo texto com a ferramenta de texto e pressionar o botão de atualização.
- e) Adicione uma anotação de terceiro. Dica: Converta as seleções de volta em overlay, adicione nova anotação no overlay.
- f) Use "Image> Overlay> Flatten" para criar uma imagem que contém as anotações que você pode copiar para, por exemplo uma apresentação em slides. Nesta imagem final (após o comando flatten) a anotação não será mais uma camada de sobreposição ou uma ROI. Os desenhos ou textos da camada de overlay serão transportados diretamente para a imagem final, alterando os valores dos pixels.