

# UTILIZAÇÃO DA SEGMENTAÇÃO DE IMAGENS NA ANÁLISE DE IMAGENS DE LEVEDURAS

**Charlene Silva de Almeida<sup>1</sup>; Carlos Alberto Rodrigues<sup>2</sup>**

1. Bolsista FAPESB, Graduanda em Engenharia da Computação, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [charlene.uefs@gmail.com](mailto:charlene.uefs@gmail.com).
2. Orientador, Departamento de Exatas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [carlos.fsa@gmail.com](mailto:carlos.fsa@gmail.com).

**PALAVRAS-CHAVE:** Processamento de imagens, segmentação, *Two Pass*.

## INTRODUÇÃO

Os constantes avanços da área da tecnologia ocorridos principalmente na última década proporcionaram o surgimento de novas demandas relacionadas à área de visão computacional, sobretudo o processamento e análise de imagens, pois, com a eficiência e robustez dos computadores os resultados são cada vez mais precisos, confiáveis e rápidos. Diante disso, esse artigo tem por objetivo relatar o trabalho realizado com a técnica de segmentação de imagens a partir da implementação de algoritmos para a contagem e avaliação da oxidação em imagens de leveduras. As imagens utilizadas foram cedidas pela Prof<sup>a</sup> Dra. Cristina Pungartnik do Centro de Biotecnologia e Genética e do Laboratório de Biologia de Fungos da UESC e pela Bióloga Rosimeyre Alves Pereira, Mestre em Biologia e Biotecnologia de Microrganismos da UESC e Doutoranda em Biotecnologia da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)/Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).

## METODOLOGIA

As técnicas de extração de informação a partir de imagens pertencem à área do processamento conhecida como análise de imagens, que para ser executada tem como passo inicial a realização de uma segmentação. Segmentar uma imagem consiste em dividi-la em diferentes regiões, de forma que os pixels de cada uma delas possuam características específicas, *i.e.*, nível de cinza com valor semelhante (Gonzalez & Woods, 1987). A partir da imagem segmentada, é possível executar a mensuração das regiões ou mesmo estabelecer relações de vizinhança entre regiões adjacentes. Dentro da área de visão computacional, a segmentação refere-se ao processo de decomposição de uma imagem digital em vários segmentos (regiões) que a formam. Já para a área de processamento digital de imagens de sensoriamento remoto a segmentação de imagem é a parte da análise de imagem que trata da definição de objetos geográficos ou regiões em uma imagem (Soille, 1999).

O fato é que a segmentação é de fundamental importância para a fase de análise, pois por meio dela é possível se extrair informações valiosas a partir das imagens digitais. A escolha de uma técnica de segmentação adequada está intimamente ligada à natureza dos dados e ao tipo de aplicação (Pratt, 2001).

Visto que a segmentação compõe uma parte fundamental para o processamento de imagens, os primeiros passos para o desenvolvimento dos algoritmos desse projeto foi a contagem de grãos, possível de ser realizada após a segmentação e que irá definir os picos e a quantidade de estruturas presentes na imagem. Para realizar tal procedimento, é necessário subdividir a imagens através do processo de limiarização (*thresholding*), em seguida rotular os *pixels* encontrados dividindo-os em objetos e calcular o centro de massa desses objetos.

A técnica utilizada para segmentação foi o algoritmo *Two-Pass*, descrito por Rosenfeld e Pfaltz em 1966, que corresponde a percorrer a matriz de *pixels* da imagem por duas vezes, percorrer toda a imagem passando por cada *pixel* e analisando os *pixels* vizinhos acima e à esquerda. Levando em consideração os rótulos dos *pixels* vizinhos o algoritmo atribui um rótulo ao *pixel* em questão e em seguida o algoritmo varre a imagem novamente eliminando todas as relações de equivalência entre os rótulos e finaliza assim o processo de rotulação. Primeiramente, o algoritmo verifica se o *pixel p* que está sendo analisado é parte do

objeto ou fundo, ou seja, se o valor do *pixel* for 255 corresponde ao fundo (cor branca), se o valor do *pixel* for zero, corresponde ao objeto (cor preta). A Figura 1 é o resultado da rotulação dos pixels no processo de segmentação por *Two Pass*.

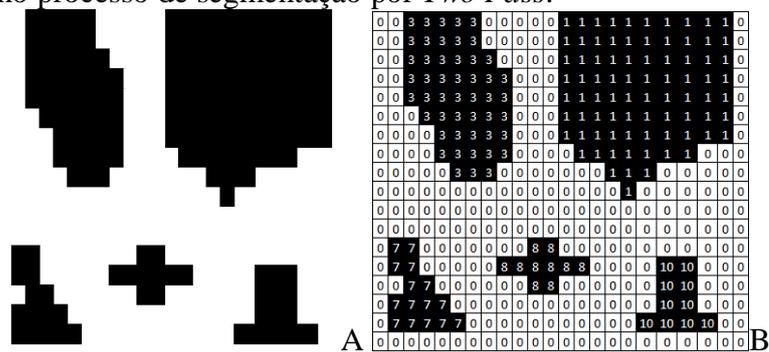


Figura 1 - Resultado da rotulação dos *pixels* da imagem. A – Imagem binária; B - Matriz de rótulos equivalente a matriz de *pixels* da imagem binária.

Com a rotulação é possível identificar as regiões de cada objeto. Deste modo, a rotulação permite identificar as fronteiras de cada objeto e quantos são eles. A quantidade de objetos é determinada pela aplicação de diferentes limiares aplicados na imagem, com a respectiva segmentação na imagem binária para cada limiar. Cada limiar revela a presença de um ou mais objetos que vão sendo coletados e comparados com os demais. Ao final desse processo, obtêm-se a contagem total dos objetos na imagem. Com essa informação é possível fazer o somatório de todas as coordenadas *x* dos *pixels* de cada objeto e dividir esse valor pelo número total de *pixel* que pertence àquele objeto. Se o mesmo procedimento for realizado para a coordenada *y* é obtido às coordenadas do centro de massa para aquele objeto. A Figura 2 representa uma imagem de levedura *S. cerevisiae* com os centros dos objetos identificados na imagem após ser verificado pelo algoritmo de contagem.



Figura 2 – Resultado da contagem de objetos com 15 pontos de limiarização. Identificados 540 objetos.

O resultado do processo de segmentação e contagem foram utilizados para realização de comparações. As amostras utilizadas foram submetidas a diferentes tratamentos de oxidação através da exposição das leveduras ao  $H_2O_2$  (4mM) crônico que produz uma fluorescência vermelha ao se ligar ao DNA da célula. O processo de limiarização fornece a separação da imagem no ponto desejado através da análise do histograma da imagem. Limiarizar no ponto onde os objetos vermelhos aparecem em maior número irá indicar o percentual de oxidação das amostras quando comparadas as contagens de leveduras oxidadas (pontos vermelhos) em relação à contagem na amostra original que gerou a oxidação pós-tratamento. Tal relação foi possível pela razão entre a contagem de objetos na imagem de levedura oxidada e a contagem na imagem de levedura segmentada pela técnica de limiarização. A figura 3 apresenta a limiarização realizada na imagem para a segmentação e a Tabela 1 fornece uma comparação entre as amostras de diferentes linhagens, apresentadas em

pares como na Figura 4, elucidando a eficiência do processo de segmentação e a utilização do mesmo na análise de imagens de leveduras.

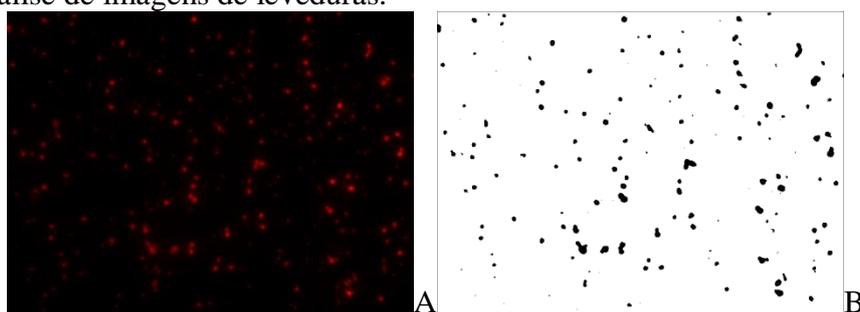


Figura 3 – Imagens utilizadas no processo de contagem das imagens tratadas. A - Imagem de levedura oxidada; B - Mesma imagem limiarizada.

Tabela 1 – Relatório comparativo entre amostras de leveduras.

Imagens	Contagem	Porcentagem (%)
ctt 1-1 (amostra)	4237	
ctt 1-2 (amostra oxidada)	628	14,82
sod2-1 (amostra)	5081	
sod2-2 (amostra oxidada)	648	12,75
sod1 ctt-1 (amostra)	3978	
sod1 ctt-2 (amostra oxidada)	790	19,86
wt-1 (amostra)	3879	
wt-2 (amostra oxidada)	555	14,31
sod2-5 (amostra)	4774	
sod2-6 (amostra oxidada)	383	8,02

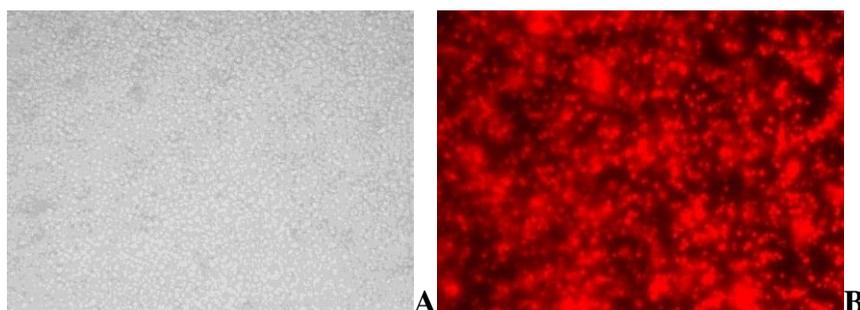


Figura 4 – Par de amostra de levedura. A - Amostra de levedura wt; B - Amostra da levedura oxidada w

## RESULTADOS

A importância e compreensão desse trabalho podem ser percebidas a partir da análise gráfica das figuras 5, 6 e 7, onde diferentes comparações foram montadas para avaliar os resultados obtidos com a segmentação. A figura 5 representa os percentuais de oxidação com relação às amostras de leveduras no estado normal e as mesmas amostras após o tratamento de oxidação. Esse gráfico expressa a reação de cada uma das linhagens com relação à oxidação que foi submetida. Percebe-se que as amostras da linhagem sod2, por exemplo, obtêm o maior percentual de oxidação, atingindo 35%. Na figura 6, o gráfico é uma comparação entre os tipos de oxidação que as amostras foram submetidas. Pode-se perceber que as amostras submetidas ao tratamento “Com extrato e com peróxido”, tiveram um percentual de oxidação menor, ou seja, apresentação em menor porcentagem à presença de pigmentação vermelha, sendo possível verificar a eficiência de cada tratamento. Já a figura 7, onde a comparação também é dada pelas amostras oxidadas, identifica-se a eficiência dos tratamentos, verificando o potencial de oxidação por linhagem. Percebe-se graficamente que o tratamento “Sem extrato e com peróxido”, apresenta maior índice de oxidação com relação aos demais tratamentos. Esses gráficos expressam, sobretudo, a utilidade dos algoritmos no processamento e análise de imagens. São visíveis aos olhos humanos as diferenças existentes entre cada amostra de levedura analisada, porém apenas essa visualização não é suficiente para padronizar essas informações e obter uma consistência nas informações.

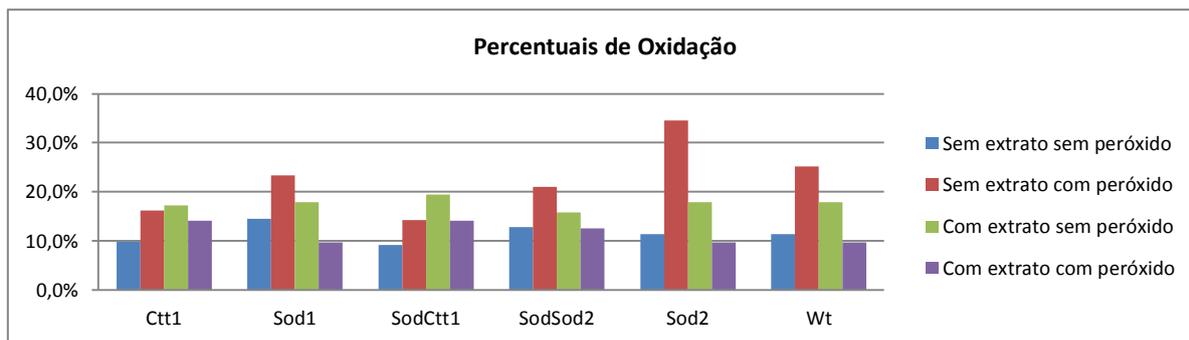


Figura 5 – Comparação percentual de oxidação entre as leveduras no estado normal versus oxidação.

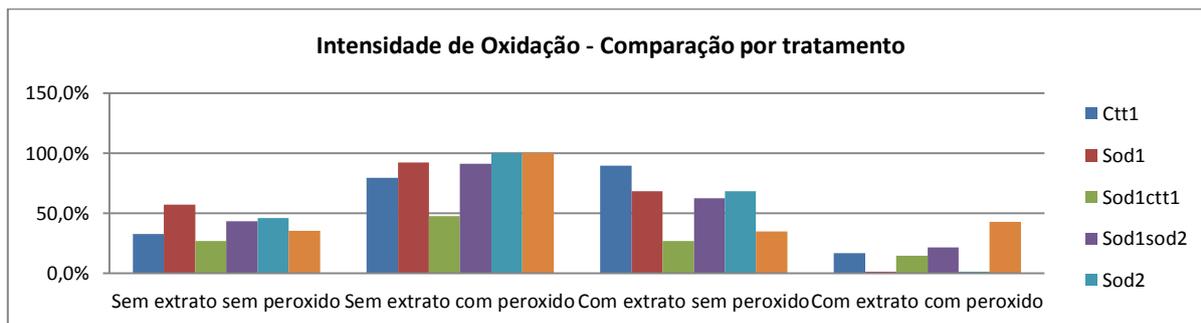


Figura 6 – Comparação percentual da intensidade de oxidação entre as leveduras oxidadas por tipo de oxidação.

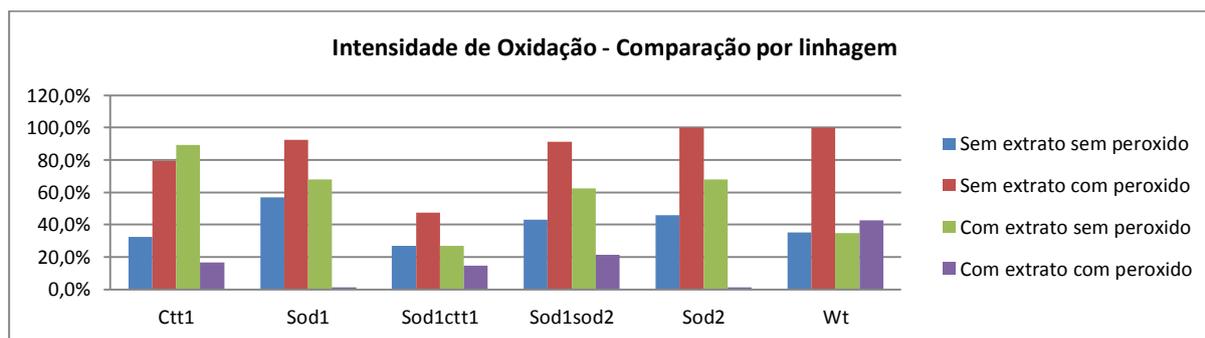


Figura 7 – Comparação percentual da intensidade de oxidação entre as leveduras oxidações por linhagem.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A segmentação de imagens é parte do processo de identificação de características morfológicas nas imagens. Sua importância está relacionada à necessidade de ressaltar partes das imagens e obter novas informações que diferenciam, principalmente, a superfície das imagens. Com a conclusão dos trabalhos referentes à segmentação, seguido da contagem de objetos, diversos resultados puderam ser fornecidos apenas fazendo análises comparativas com relação à contagem. Nesse contexto, a segmentação foi eficiente para contar os objetos na imagem e em quantificar a intensidade da oxidação, atendendo aos objetivos do projeto.

Além disso, os resultados da contagem e informações referentes aos níveis de cinza e picos, obtidos na segmentação das imagens, proporcionarão outras formas de análise futuras através de outras técnicas. Como resultado desse trabalho um artigo para publicação internacional relacionado à pesquisa está sendo desenvolvido de forma colaborativa com a UESC.

## REFERÊNCIAS

- GONZALEZ, R. C.; Woods, R. E. Digital Image Processing. NY: Inc, 1987.  
 PRATT, W, K. Digital Image Processing: PIKS Inside. 3ªEd. Nova York: John Wiley and Sons, 2001.  
 SOILLE, P. *Morphological Image Analysis: Principle and Applications*, Springer, 1999.