



PICOLAY



by Heribert Cypionka

| [About](#) | [Manual](#) | [Tutorials](#) | [Deutsch](#) | [Galleries](#) | [What's new](#) |



- Focus stacking - slim and fast - stereo images from a single z-stack - image processing -
- slide shows - animated gif images etc. - portable freeware - no installation required -

[Download PICOLAY](#) (2 MB, last change: 2013-05-18)

PICOLAY - Unterstützung auf Deutsch

- [Schritt für Schritt \(DEUTSCH, ~~2012-05-11~~\) 2013-05-24](#)
- [Anleitung auf DEUTSCH \(2012-02-12\)](#)
- [Tutorial auf DEUTSCH \(2010-09-09\)](#)
- [Bebildertes Wörterbuch Englisch-Deutsch \(2010-09-08\)](#)
- [Demo-Video \(21 MB, 2010-09-02\)](#)

Tipps zur Erstellung eines guten Bilderstapels

- Stativ verwenden bzw. Kamera an Mikroskop-Okular fixieren
- Kamerablende und Kondensorblende weit öffnen
- Feinkörnig aufnehmen (z.B. 100 ASA)
- Als Bildauflösung reicht meist: Bildhöhe und -breite doppelt so groß wie in der endgültig geplanten Darstellung.
- Kontrastreiche, rauscharme Bilder wichtiger als Raw-Format
- Nicht überbelichten, bei Makroaufnahmen Diffusor einsetzen
- Bei Makroaufnahmen: möglichst Lichtquelle gegenüber Objekt nicht bewegen
- Autofokus abschalten!
- Von oben nach unten in so kleinen Stufen durchfokussieren, so dass alle Bereiche mindestens auf einem Bild scharf erfasst sind.
- Am besten: Blick durch das (Bin-)Okular eines Mikroskops mit perfekt parfokal adaptierter Kamera
- Berührungslos auslösen, Spiegelschlag vermeiden (z.B. Live-View-Modus)
- Die Namen der Bilder sollten alphabetisch der Schichtung von oben nach unten entsprechen (oder von unten nach oben, dann nachher umkehren...)

Workflow zum perfekten PICOLAY-Stapelbild

Bilder vorbereiten

- Bilder eines jeden Stapels in ein eigenes Verzeichnis kopieren
- Zum Üben kleine Bilder verwenden!
- Mit PICOLAY -> File -> Add images, Bilderstapel laden
- Falls nötig, kann man mit Strg-O (Image list -> Reverse order) die Reihenfolge der Bilder in der Liste umkehren
- Als Bildformat Bitmap wählen (Options -> Save as), ganz am Ende dann wieder jpg
- Den relevanten Objektbereich ausschneiden (am mittleren Bild, dann Edit -> Crop all marked images), nicht zu knapp
- Mit F12 (Image list -> Start slide show) den Stapel als Diashow ansehen
- Bei Makro- und Stereo-Lupen Bilderstapeln mit F6 (Stack operations -> Auto-align and resize) die Objektgröße und -position automatisch korrigieren
- Evtl. danach noch einmal Ränder beschneiden (s.o.)

Workflow zum perfekten PICOLAY-Stapelbild

-> Die Stapel-Prozedur starten

- **Am einfachsten:** Mit **F1** (Stack operations -> Stack with current parameters) das Fokus-Stacking mit den voreingestellten Parametern starten (dauert...)
- **Besser: F2** (Set stacking parameters = Parameter einstellen)
 - Narrow or widen patches** -> 0 (= scharfe Bereiche nicht in der Größe ändern)
 - Prefer bottom or top frames** -> 0 (= weder obere noch untere Strukturen bevorzugen)
 - ✓ **Test 4 param. Sets** (= 4 Parameter-Kombinationen testen)
 - ✓ **Auto-enhance** (= automatische Bildverbesserung)
- Bei Makro- und Stereo-Lupen** Bilderstapeln (falls nicht vorher schon mit F6 erledigt):
 - ✓ **Auto-align images** (= automatische Anpassung von Größe und Position)
- > **Go** (= Los geht's)

Der Bilderstapel wird mit 4 verschiedenen Parameter-Kombinationen analysiert, Die Ergebnisse werden gespeichert, in die Liste geschrieben und angezeigt. Es werden Dateien deren Name mit p# und beginnt die verwendeten Parameter enthält.

Workflow zum perfekten PICOLAY-Stapelbild

-> Die perfekten Stapel-Parameter finden

- Durch Vergleich der vier erzeugten Bilder (einfach in der Liste anklicken), lässt sich erkennen, welche Parameter gut sind , evtl. kann man die noch etwas größer machen und mit **Go** noch einmal stacken.
- Sollten sich bei gut eingestellten Werten für Minimum contrast auf der Tiefenkarte graue Stellen im interessanten Objektbereich befinden, kann man die durch Vergrößern der Flecken (pos. Wert für **Narrow oder widen patches**) zum Verschwinden bringen . Sollten statt dessen kleine Flecken im Hintergrund geblieben sein, verschwinden die durch neg. Werte für **Narrow oder widen patches**
- **Weighted average** bei 100% erzeugt weiche Übergänge, 0% hingegen ist meist brillanter mit härteren Übergängen
- Ein Bevorzugung der oberen Schichten (**Preference of upper frames**) kann hilfreich sein wenn diese durch kontrastreiche Strukturen im Untergrund verdeckt werden. Eine Änderung dieses Parameters erfordert ein Neueinlesen aller Bilder.
- Man kann auch mehrere der Ergebnisse mitteln, in dem man (nur!) sie markiert und F4 (Stack operations -> **Average marked images**) anklickt.

Workflow zum perfekten PICOLAY-Stapelbild

-> Das Stacking-Ergebnis optimieren

- Um die Bildqualität zu verbessern, kopiert man das Ergebnis in das Bildfenster (Edit -> **Copy to image window**).
- **Globale Parameter** (Schärfe, Helligkeit, Kontrast , Farbe etc.) verändert man unter **Enhance image**.
- **Einzelne Bildbereiche** werden mit dem Mauswerkzeug (**Mouse tool**, Pinsel, Verwischen, Schärfen, ...) bearbeitet.
- Spezielle Möglichkeiten bietet das Klonen. Dabei handelt es sich um das Kopieren von Bildbereichen mit Hilfe der Maus, entweder innerhalb eines Bildes (**Clone within image**) oder von Originalbildern in das Stacking-Ergebnis (**Clone to result image**). Bei letzterem wird gleichzeitig die Bildebene in die Tiefenkarte übertragen.
- Auch die Tiefenkarte lässt sich bearbeiten, nachdem man sie ins Bildfenster kopiert hat. Dabei überschreibt man störende 'Ausreißer' mit Grau oder den Nachbarfarben.
- Die optimierten Bilder und Karten speichert man (**Save with new name**) oder kopiert sie direkt in das Ergebnisfenster (**Copy to result window**) oder als Tiefenkarte (**Copy to depth map**).

3D-Bilder aus Stacking-Ergebnis und Tiefenkarte

- Im Ergebnisfenster (rechts) auf **3D view** klicken, außer der Tiefenkarte wird ein neues Parameter-Fenster angezeigt.
- Die Tiefe des Bilderstapels (**Z-Achse**) eingeben (als Prozent der Bildhöhe = y-Achse). Wenn man diese nicht genau weiß (z.B. vom Fokussierrad des Mikroskops), lässt sie sich meist sinnvoll abschätzen.
- **Enlarge Pixels** (=Pixelvergrößerung) verhindert Risse im 3D-Bild, besonders bei gekippter Projektion
- **Perspective** (Strukturen im Vordergrund größer als im Hintergrund zeigen) , braucht man meist nicht.
- Meist: **Projection based on depth map** (= Projektion anhand der Tiefenkarte), Zur Darstellung verdeckter Strukturen in gedrehter Projektion: **Hologram Stacking** (s.u.)
- Der Betrachtungswinkel (**Viewing angle**) sollte für Ansicht aus der Nähe auf 3 - 5°, für die Ferne auf Werte von 1 - 3° eingestellt werden.
- **Object distance** >0 lässt das Objekt nach hinten wandern, negative Werte nach vorne, bei 0 ist die Mitte des Bilderstapels in der Bildschirmenebene.

3D-Bildformate

- Es gibt zahlreiche verschiedene Ausgabeformate für 3D-Bilder.
- **Cyanred** erzeugt Anaglyphenbilder für die Rot-Cyan-Brille
- **[RLR]** (bzw. **[LRL]**) erzeugt **Rechts-Links-Rechts**-Bilder für Parallel- und Kreuzblick
- **[R] + [L]** erzeugt zwei getrennte Bilder, z.B. für mpo-Dateien nutzbar
- **Rocking gif** erzeugt ein einfaches Wackelbild
- **[RL]** oder **[LR]** erzeugt Links-Rechts-Bilder für Parallel- und Kreuzblick. Diese können optional auch im **jps**-Format abgespeichert werden
- **Animierte Gifbilder** werden unter dem Menü-Punkt Image List erstellt. Hierzu sollten vorher unter **Options** die Anzeigzeit pro Bild (in msec) und die Laufrichtung am Ende Stapels (rückwärts oder Start beim 1. Bild) eingestellt werden
- mpo-Dateien werden ebenfalls im Menü-Punkt Image List erstellt. Dazu zwei passende Bilder als **[R] + [L]** im **jpg-Format** erzeugen.

Hologramm-Stacking

- Bei kartenbasierten 3D-Bildern gibt es nur eine einzige Tiefeninformation pro Bildposition. Mehrschichtige Objekte können damit nur unvollständig dargestellt werden.
- Beim Hologramm-Stacking werden hingegen die Bilder unter einem vorgewählten Winkel neu analysiert und lassen jedes genügend kontrastgebende Element sichtbar werden, auch wenn es nicht die schärfsten Pixel im Stapel hatte.
- Dazu müssen u. U. neue Werte für **Minimum contrast** und **Filter radius** eingegeben werden, da hier ein anderer Algorithmus genutzt wird.
- Die Ergebnisse wirken weniger scharf, enthalten aber mehr Information, wie oben erklärt.

Weitere Infos, Beispiele, Tutorials, Demo-Video, **kostenloser Download** des
Programms als Freeware etc. unter

www.picolay.de