

UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE

FACOLTA' DI INGEGNERIA

Corso di Laurea triennale in Ingegneria Biomedica

Sviluppo di una metodologia basata sull'analisi di immagini ad alta risoluzione per l'identificazione di genere di acheta domesticus.

Development of a methodology based on the analysis of high resolution images for the identification of the genus of acheta domesticus.

Relatore: Chiar.mo/a

Prof. Milena Martarelli

Tesi di Laurea di:

Elia Rocchetti

Anno accademico 2022/2023

INDICE

INTRODUZIONE……1

1. STATO DELL'ARTE……3

1.1 L'illuminazione e il suo ruolo nell'analisi per la rilevazione di features……3

1.2 Soggetto di misura e relativi problemi di individuazione delle features……5

1.2.1 Descrizione e anatomia dell'acheta domesticus……..5

1.3 Risoluzione e esposizione nell'acquisizione di immagini……..7

1.3.1 La risoluzione di un'immagine……7

1.3.2 Esposizione fotografica……...8

2. SISTEMA E PROCEDURE DI ACQUISIZIONE DEI DATI……10

2.1 Hardware.....10

2.1.1 Telecamera per acquisizione delle immagini e visualizzazione a schermo.....10

2.1.2 Obiettivo collegato alla telecamera.....11

2.1.3 Dispositivo di illuminazione.....15

2.1.4 Sollevatore da laboratorio.....18

2.2 Software.....20

2.2.1 NI-MAX.....21

2.2.2 LabVIEW.....22

2.2.2.1 Introduzione al software.....22

2.2.2.2 Diagramma di flusso del programma per l'acquisizione di immagini.....24

2.2.2.3 Schema a blocchi del programma di acquisizione delle immagini.....26

2.3 Procedure seguite per l'acquisizione dei dati.....33

3. ELABORAZIONE DEI DATI ACQUISITI.....35

3.1 MATLAB.....35

3.1.1 Programma di ridenominazione delle immagini.....36

3.1.2 Programma di eliminazione delle immagini.....40

4. CONCLUSIONI.....45

4.1 Considerazioni finali.....45

4.2 Raccomandazioni per studi futuri.....46

INDICE DELLE FIGURE.....47

INDICE DEI GRAFICI.....48

BIBLIOGRAFIA.....49

INTRODUZIONE

L'utilizzo di immagini ad alta risoluzione ai fini di individuare particolari caratteristiche o differenziazioni in alcune specie animali è diventato sempre più frequente. In particolare, una specie molto attenzionata è quella dell'*acheta domesticus* soprattutto in ambito alimentare, dove si è in continua ricerca di nuovi prodotti eco-sostenibili. Infatti, la tesi nasce con lo scopo di poter individuare, tramite immagini, la differenza che intercorre tra il genere maschile e quello femminile del grillo domestico. La componente anatomica che distingue i due generi è chiamata ovopositore ed è rappresentata da un'importante prominenza presente solamente sugli esemplari femminili.

Al fine di creare un dataset ricco e diversificato sono stati utilizzati 1000 campioni di grillo, perfettamente divisi per genere (500 maschi e 500 femmine). L'alta qualità e l'elevata risoluzione delle immagini sono state alla base del processo di acquisizione e per tali ragioni si sono sfruttate tecniche di illuminazione, di fotografia e di programmazione che hanno permesso di raccogliere oltre 3000 immagini in cui risulta perfettamente visibile l'ovopositore.

Il numero così elevato di immagini deriva dal fatto per cui sono state realizzate foto del medesimo campione da diverse angolazioni, questo anche perché il dataset, che è stato poi adoperato per allenare una rete neurale a riconoscere i due generi di *acheta domesticus* in maniera automatica, doveva essere il più ampio possibile.

Inoltre è possibile dire che con questo lavoro si vuole andare ad esaltare l'importanza dell'analisi di immagini per il rilevamento e l'individuazione di features caratteristiche in specifici soggetti che vengono prima studiati e poi fotografati (chiaramente in questo caso il soggetto di misura è il grillo domestico).

La tesi è articolata in quattro capitoli all'interno dei quali vengono presentate sia le tecniche di acquisizione delle immagini sia le tecniche e le procedure di elaborazione dei dati con l'ausilio dei diversi sistemi software.

Nel primo capitolo viene riportata una descrizione generale dei concetti di illuminazione fornendo una panoramica generale sullo stato dell'arte per poi concentrarsi sul processo di analisi delle immagini con la relativa identificazione delle features più significative. Vengono definiti anche concetti di fotografia che permettono di poter scegliere accuratamente l'obiettivo da adoperare e in particolare come lavorare sull'otturatore e il

diaframma di quest'ultimo. Infine viene descritto in breve il soggetto di misura, ovvero l'*acheta domesticus,* da un punto di vista anatomico e biologico.

Nel secondo capitolo vengono descritti da un punto di vista tecnico tutti gli strumenti utilizzati per l'acquisizione di immagini e il software che ha permesso di elaborare un programma atto al salvataggio automatico di ciascuna immagine con il relativo nome.

Nel terzo capitolo viene fornita una descrizione molto dettagliata dei programmi implementati per l'elaborazione dei dati raccolti.

Nel quarto e ultimo capitolo vengono redatte delle considerazioni finali sul lavoro svolto, con l'inserimento di alcuni utili consigli per le sperimentazioni future.

1. STATO DELL'ARTE

1.1 L'illuminazione e il suo ruolo nell'analisi per la rilevazione di features

Un problema di rilevante importanza nell'acquisizione di immagini in laboratorio riguarda la corretta scelta del dispositivo illuminante che evidenzi al meglio le features del soggetto di misura. I principali fattori[1] che determinano l'illuminazione sono:

- La direzione: fondamentale per capire anche come disporre il soggetto da illuminare, ricordando che i fasci luminosi si diffondono in linea retta
- L'origine: per le misurazioni di laboratorio occorrerà sfruttare luce artificiale, sulla quale si ha un maggiore controllo per quanto riguarda il controllo di intensità e direzione
- La dimensione: più grande è la sorgente di luce, più sfumate sono le ombre e quindi più ridotto il contrasto. Più piccola la sorgente più nette saranno le ombre.

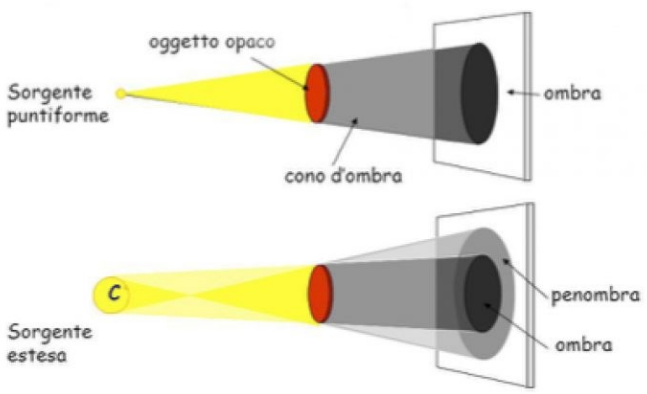


Fig. 1 - Rappresentazione schematica della differenza di ombre create da una sorgente puntiforme ed una estesa

- La qualità: quando parliamo di qualità della luce ci riferiamo all'effetto di ombre che la fonte luminosa crea sul soggetto. Se un oggetto illuminato presenta un'ombra dai contorni netti e definiti siamo in presenza di una fonte luminosa dura, se individuiamo un'ombra dai contorni sfumati abbiamo a che fare con una luce media. Infine se gli

[1] S. Sontag, "Sulla fotografia", ed. Einaudi, Feb. 2004

oggetti non presentano ombre, abbiamo una illuminazione morbida creata da una fonte di luce “grande”, spesso lontana i cui raggi arrivano da tutte le direzioni.

- L’intensità: l’intensità esprime la quantità di energia emessa da una sorgente luminosa. Risulta chiaro capire come un’intensità diversa modifichi l’illuminazione della scena.
- La distanza: l’intensità luminosa diminuisce allontanandosi dalla sorgente luminosa secondo una relazione che è l’inverso del quadrato della distanza dalla sorgente luminosa.

Dalle caratteristiche sopra elencate emerge la necessità di individuare una sorgente luminosa che crei meno ombre possibili e soprattutto permetta di accentuare il contrasto tra quello che è il soggetto di misura e l’ambiente in cui è inserito. Le acquisizioni fatte in laboratorio prevedevano infatti, al fine di rendere ancora più netto il contrasto soggetto/ambiente, di utilizzare uno sfondo bianco e di lavorare in scala di grigi affinché il soggetto venisse individuato nella maniera più nitida possibile.

Per tale motivo si tende a sfruttare un tipo di illuminazione diffusa a cupola. Tale tecnica distribuisce la luce per ridurre il riverbero sui componenti riflettenti e in maniera da fornire una luce più uniforme su tutto l'oggetto di interesse. La sorgente luminosa utilizzata, essendo necessariamente artificiale sfrutterà delle lampade ad emissione di luce (LED). I diodi emettitori di luce sono piccoli, potenti, duraturi ed efficienti dal punto di vista energetico. I LED funzionano in modo diverso rispetto alle tradizionali lampadine a incandescenza in quanto sono sorgenti con emissione spettrale a banda stretta. L'obiettivo di ottenere l'emissione della luce bianca è sempre stato centrale nella ricerca tecnologica sui led poiché è in base a questo parametro che si possono evidenziare in maniera ancor più netta i contorni e il contrasto tra il soggetto di misura e l’ambiente di misurazione. Uno dei metodi più utilizzati per l’ottenimento di luce bianca è detto RGB e miscela direttamente l'emissione di tre LED monocromatici rosso, verde e blu a costituire una sintesi additiva che il nostro occhio percepisce come bianca. I tre led sono incapsulati sullo stesso supporto e consentono qualora richiesto, la gestione separata dei 3 circuiti a comporre l'intera gamma dei colori visibili. Per ottenere una certa tonalità del bianco, secondo una certa temperatura di colore, è necessario regolare con cura i contributi relativi a ciascun colore primario.

In conclusione, dopo aver quindi compreso l'importanza dell'illuminazione e anche bene sottolineare che tutti i metodi di miglioramento dell'immagine esistenti, non possono recuperare le perdite di quantizzazione A/D dovute a un'illuminazione insufficiente o eccessiva (problemi di under flow e overflow)[2]. La perdita di dettagli dell'immagine dovuta alla quantizzazione A/D è completa e non può essere recuperata con i tradizionali metodi di elaborazione delle immagini, mentre i moderni approcci di apprendimento automatico basati sui dati offre una cura tanto necessaria al problema. Si possono sfruttare approcci per ripristinare e migliorare le immagini acquisite in condizioni di illuminazione scarsa e irregolare anche se in maniera molto complessa, cercando di compensare la scarsa illuminazione algoritmicamente emulando gli effetti dell'illuminazione supplementare artificiale. Come è ovvio intuire stiamo parlando di metodologie non ancora del tutto ben definite e non utilizzabili in ogni condizione.

1.2 Soggetto di misura e relativi problemi di individuazione delle features

Il progetto propostomi nasce dalla necessità di individuare delle features che evidenziassero la differenza tra i due generi di *acheta domesticus*, ovvero il grillo domestico.

1.2.1 Descrizione e anatomia dell'acheta domesticus

Il grillo domestico o grillo del focolare è un insetto ortottero, originario probabilmente dell'Asia sud-occidentale e importato in America nel XVIII secolo. Il ciclo di vita si completa in due o tre mesi, se allevato a 25-30 °C, e si compie attraverso 6 stadi (con cinque mute) in cui il grillo passerà da circa 1 mm di lunghezza a 2 cm. A partire dalla terza muta (quarto stadio) si iniziano a distinguere con facilità i sessi grazie all'abbozzo di ovopositore esibito dalle femmine, le quali hanno bisogno di sabbia o terriccio per deporre le uova. Il corpo e il capo sono di colore bruno-giallastro con macchie e bande nere, la dimensione si aggira attorno ai 16-21 millimetri. Ha lunghe ali posteriori che sporgono da quelle anteriori (tegmine), più rigide. Maschi e femmine sembrano simili, ma le femmine hanno un ovopositore che misura circa 10–15 mm. L'ovopositore è marrone-nero, ed è circondato da due appendici. Sia i maschi che le femmine hanno appendici ma sui maschi

[2] C. Zarpellon, P. Tenti, "Proprietà illuminotecniche delle lampade a led", Università degli studi di Padova, Sett. 2010

tendono ad essere più prominenti. Le ali anteriori dei grilli maschi sono più corte di quelli delle femmine e i raschietti sono ampliati per poter riprodurre meglio il suono del canto. regime dietetico è onnivoro. È prevalentemente composto da una varietà di verdura, frutta, cereali e piccoli insetti notturni, ma possono essere attaccate anche stoffe. In caso di allevamento viene utilizzato del cibo che contiene calcio in più che è necessario per gli anfibi. Gli habitat naturali del grillo domestico sono diversi: boschi, grotte, campi, sotto tronchi e rocce o sui lati delle strade; è possibile trovarlo anche all'interno di cumuli di legno, mattoni e pietre. In generale si situa soprattutto nelle zone umide o piene di erbacce. Essendo molto attratto dal calore, è indotto a vivere spesso nelle immediate vicinanze degli umani, nelle aree circostanti abitazioni, discariche ed edifici commerciali, dove può ricevere nutrimento e umidità sufficiente[3].



Fig. 2 e 3 - Nella figura di sinistra è ben visibile la presenza dell'ovopositore, il quale invece non è presente nell'immagine di destra che rappresenta un esemplare maschile

Il problema principale è riversato nella necessità e nella difficoltà di andare a valutare e individuare una singola componente anatomica come discriminante dei due generi di grillo domestico. Inoltre, trattandosi di grilli precedentemente congelati in maniera tale da non avere soggetti in movimento, alcune componenti dell'insetto tendono ad irrigidirsi con il rischio di rompersi. Per questo motivo si ha la necessità di acquisire immagini ad alta

[3] A. Servadei, S. Zangheri, L. Masutti, "Entomologia generale ed applicata", Padova, CEDAM, 1972.

risoluzione e soprattutto di solamente quei campioni che presentino le giuste caratteristiche e che siano compatibili con le richieste della nostra ricerca, pur consapevoli che gli esemplari presenti in natura possano pur sempre avere defezioni o malformazioni tali da creare un confondimento al processore di distinzione di genere.

1.3 Risoluzione e esposizione nell'acquisizione di immagini

1.3.1 La risoluzione di un'immagine

L'obiettivo finale del progetto di ricerca era quello di ottenere immagini ad alta risoluzione per un motivo ben preciso: ottenere un'immagine nitida in cui i dettagli (che a noi particolarmente interessavano in quanto l'ovopositore ha dimensione di pochi mm) fossero ben definiti. Concettualmente si può considerare che un'immagine digitale è formata da pixel, quadrati piccolissimi, ciascuno dei quali contiene una parte delle informazioni relative all'immagine acquisita. A seconda del tipo di macchina fotografica digitale si avrà la possibilità di scegliere la quantità del numero dei pixel con i quali si vuole costruire la dimensione dell'immagine in relazione alle possibilità offerte dal sensore. Maggiore sarà il numero di pixel e maggiore sarà la quantità di informazioni che potremo sfruttare per la sua stampa o per la sua visualizzazione. Immaginando un rettangolo composto da tanti quadratini, moltiplicando il numero dei pixel dei due lati che formano le dimensioni otterremo la risoluzione complessiva dell'immagine. Poiché il numero dei pixel costituisce anche il livello di dettaglio dell'immagine, si comprende il motivo per cui sia più conveniente impostare la macchina fotografica alla massima risoluzione disponibile per quel tipo di sensore. Il pixel è l'unità minima gestibile dal computer sul monitor. A seconda del numero di pixel che il monitor o il CCD (charge coupled device) della fotocamera digitale possono gestire, la qualità dell'immagine risultante varia in modo proporzionale: questo vuole dire che, se nello stesso spazio (il monitor o il CCD) trovano posto più pixel, la loro dimensione sarà minore, rendendoli quindi meno visibili ad occhio nudo. Il termine risoluzione indica inoltre il numero di punti che il nostro monitor o la nostra fotocamera riescono a gestire. Avendo la possibilità di scegliere la risoluzione con cui fotografare o acquisire le immagini, è meglio optare per quella più elevata, onde evitare di dover inserire punti non reali con il metodo dell'interpolazione al fine di incrementare le dimensioni dell' immagine acquisita troppo piccola. Il processo di interpolazione per aumentare la dimensione dell'immagine, eseguibile solo tramite software dedicati, non fa altro che copiare i pixel adiacenti ed

adattarli alla risoluzione finale richiesta. Pertanto, non è in grado di aggiungere più dettaglio rispetto a quello presente in origine sull'immagine[4].

1.3.2 Esposizione fotografica

Una fotografia avviene attraverso la cattura della luce mediante la scelta di una data esposizione. L'esposizione, quindi, non è altro che la quantità di luce che colpisce il sensore o la pellicola durante un determinato intervallo di tempo, una volta che si è premuto il pulsante di scatto. Esistono tre elementi che occorre prendere in considerazione per capire bene come funziona l'esposizione: ISO, Apertura del diaframma e velocità dell'otturatore (tempo di scatto)[5].

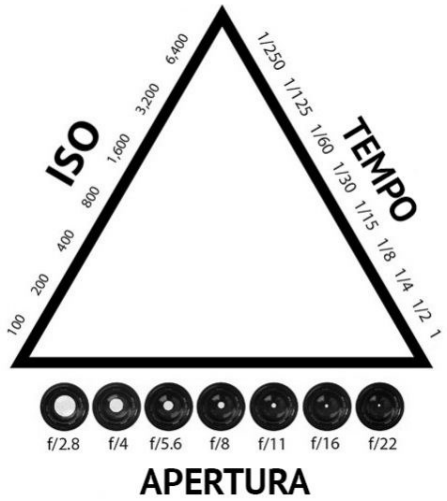


Fig. 4 - In tale figura sono rappresentati i tre parametri dell'esposizione fotografica

L'ISO indica la sensibilità alla luce che diamo al sensore della fotocamera digitale o il valore di sensibilità della pellicola analogica (vecchie ASA). Mentre nella fotografia analogica veniva scelta a priori una pellicola con una determinata sensibilità a seconda delle condizioni delle scene da fotografare, nel digitale il sensore nasce con una sua sensibilità intrinseca nativa che possiamo modificare (a posteriori) amplificando il segnale in uscita dal sensore, grazie alla pressione di un solo tasto. Più basso è il valore ISO e

[4] D. Harman, L. Stellato, "Manuale di fotografia digitale", ed. Contrasto, Sett. 2013

[5] G. Santagata, "L'esposizione in fotografia", Corso di fotografia Istituto Italiano di Fotografia di Milano, 2019

meno sensibile alla luce è il sensore. Tuttavia dobbiamo fare attenzione a non alzare troppo i valori ISO. Infatti, all'aumentare della sensibilità, aumenta il cosiddetto rumore nelle macchine digitali che consiste nella generazione di pixel colorati in maniera casuale, soprattutto nelle zone scure dell'immagine, dovute all'eccessivo riscaldamento del sensore causato da un ISO troppo elevato.

Il diaframma determina la quantità di luce che raggiunge il sensore nel periodo di tempo in cui l'otturatore rimane aperto. È costituito da un sistema a lamelle meccanico che ha la particolarità di poter creare un foro di dimensioni variabili (in base alle impostazioni). Il foro regola la quantità di luce che passa all'interno dell'obiettivo, riducendola o aumentandola. I diaframmi utilizzano come unità di misura f/stop. Occorre prestare attenzione perché a un numero f più piccolo che corrisponde un'apertura più grande e viceversa. La scelta di un diaframma piuttosto che un altro andrà a influire sulla profondità di campo della foto, ovvero la zona di una scena in cui un'immagine è estremamente nitida.

Il tempo d'esposizione corrisponde al tempo durante il quale l'otturatore (un dispositivo meccanico il cui compito fondamentale è quella di controllare il tempo in cui il sensore viene colpito dalla luce) della macchina rimane aperto. Quando si scatta il sensore viene esposto alla luce per un determinato tempo dandogli modo di catturare l'immagine. Tempi di esposizione lunghi fanno sì che l'otturatore rimanga aperto più a lungo e che il sensore catturi molta più luce e renda la fotografia molto più luminosa. Al contrario, un tempo di esposizione breve espone per un tempo breve il sensore alla luce. La conseguenza è una fotografia meno luminosa. Il tempo dello scatto si misura in un tempo in secondi (1", 5", 10"..) e frazioni di secondo (ad esempio 1/125 = un centoventicinquesimo di secondo).

2. SISTEMA E PROCEDURE DI ACQUISIZIONE DEI DATI

In questo capitolo verranno presentate le componenti hardware e software necessarie per poter andare ad acquisire le immagini, ricordando che come soggetto di misura si stanno prendendo in considerazione 1000 esemplari di acheta domesticus al fine di poterne differenziare il genere.

2.1 Hardware

In informatica con il termine hardware si identifica l'insieme delle componenti fisiche, non modificabili (alimentatori, elementi circuitali fissi, unità di memoria) di un sistema di elaborazione dati e di tutte le periferiche ad esso connesse. In particolar modo andremo ad analizzare la telecamera di acquisizione delle immagini con la relativa modalità di connessione all'elaboratore per la visualizzazione a schermo, il sistema di illuminazione e lo strumento meccanico utilizzato come piedistallo.

2.1.1 Telecamera per acquisizione delle immagini e visualizzazione a schermo

Il sensore utilizzato per l'acquisizione è Teledyne DALSA Nano-M2420 "H2064523"[6]. Tale telecamera, prodotta dall'azienda Teledyne DALSA, consente elevate velocità di acquisizione delle immagini, riuscendo comunque a mantenere una qualità eccezionale. La Nano-M2420 sfrutta la tecnologia Gigabit Ethernet che permette di trasmettere dati su cavi standard CAT-5e e CAT-6 a distanze fino a 100 m. Le specifiche tecniche di tale sensore sono elencate di seguito:

- Pixels (H x V): 2464 x 2056
- Tipo: Telecamera monocromatica
- Video output: PoE
- Tipo di sensore: CMOS a scansione progressiva
- Sensing Area, H x V (mm): 8.45 x 7.07
- Profondità dei pixel: 8/12 bit

[6] "Teledyne DALSA catalog", Teledyne Technologies, Canada, 2023

- Dynamic range: 76 dB
- Imaging Sensor: Sony IMX264
- Temperatura operativa (°C): -20 e +60
- Peso (g): 46
- Mount: C-Mount
- Dimensioni (mm): 40.6 x 29.0 x 44.0



Fig.5 – Telecamera utilizzata per le acquisizioni da due diverse prospettive

2.1.2 Obiettivo collegato alla telecamera

Per le acquisizioni delle immagini di grillo domestico si è scelto di collegare alla telecamera, descritta nel capitolo precedente, un obiettivo 'COMPUTAR M2518-MPW2'[7].

[7] "Computar Lens Catalog", CBC AMERICA Group certified by ISO company, Torrance (California), 2022

Tale obiettivo viene prodotto da una delle aziende leader nel mercato delle ottiche per sistemi di visione e presenta le seguenti caratteristiche:

- Mount: C
- 5 Megapixel
- Lunghezza focale: 25 mm
- Iris range: F1.8 - F16.0
- Peso: 60 g
- Massimo rapporto di apertura: 1:1.8
- Temperatura operativa: -10° C ~ +50° C
- Controllo del diaframma e messa a fuoco: manuale
- Angolo di visione per 2/3": V= 15.0°; D= 24.6°; H= 19.9°
- Angolo di visione per 1/2": V= 10.9°; D= 18.1°; H= 14.5°
- Dimensioni: ø 29 mm x 36.37 mm

Si potrebbero utilizzare altre tipologie di obiettivi, l'importante è utilizzare un obiettivo non grandangolare. Il grandangolo è una tipologia di obiettivo per macchine fotografiche che permette di allargare il campo visivo registrabile dalla pellicola o dal sensore. Il grandangolo quanto più è spinto, tanto più tende a deformare la prospettiva ai lati dell'immagine piegando le linee rette e rendendo sferici i soggetti al centro. Quindi ci servirà un teleobiettivo che sia in grado di evitare sfocature eccessive ai bordi e soprattutto di evitare le così dette vignettature, che consistono nella riduzione della luminosità della periferia di una immagine rispetto al centro della stessa. Infatti una delle principali cause delle vignettature è causato sia dalle caratteristiche dell'obiettivo con cui viene scattata l'immagine sia da quelle del sensore digitale oltre che chiaramente da disturbi esterni.





Fig. 6 e 7 - Obiettivo utilizzato per l'acquisizione delle immagini, nella figura di destra è possibile osservare una visione dall'alto

Come è possibile visualizzare nelle immagini soprastanti (Fig. 5 e 6) esistono due apposite viti sporgenti che permettono, muovendole in senso orario o antiorario, di modificare le aperture del diaframma e dell'otturatore.

Con il primo si va a gestire la quantità di luce che andrà a colpire il sensore e il suo funzionamento è molto simile a quello dell'iride dell'occhio in quanto lo si apre quando c'è poca luce per lasciarne passare il più possibile e lo si chiude quando c'è molta luce per regolarne il passaggio ottimale. Con l'otturatore invece si va a regolare e controllare il tempo in cui il sensore resta esposto alla luce. E' di fondamentale importanza, prima di ogni procedura di acquisizione delle immagini, fare delle prove e valutare quali siano le condizioni migliori per ottenere immagini di buona qualità.

Una volta scelto adeguatamente l'obiettivo, questo verrà avvitato nell'apposito spazio presente all'interno della struttura di illuminazione (la quale verrà accuratamente descritta nel successivo sotto capitolo). Si collegherà poi la telecamera a quello che è un dispositivo PoE (Power over Ethernet). Si ricorre alla tecnica PoE quando ci si trova nelle condizioni di dover alimentare e utilizzare un dispositivo di rete in luoghi dove non risultasse disponibile, nelle vicinanze, una presa elettrica a muro. Un injector Power-over-Ethernet serve a fornire alimentazione elettrica sfruttando un cavo Ethernet di tipo Twisted Pair (Cat5 o Cat6), al fine di alimentare e al tempo stesso fornire scambio di dati con dispositivi

distanti dal router. Di seguito vengono riportare le procedure da seguire per collegare correttamente la telecamera (o sensore di acquisizione), il PoE e l'elaboratore (PC):

- Collegare il cavo Ethernet alla porta Power/PoE dell'iniettore PoE e alla porta PoE della telecamera.
- Collegare un altro cavo Ethernet alla porta Ethernet/Dati dell'iniettore e all'ingresso Ethernet del nostro PC
- Collegare il cavo di alimentazione dell'iniettore a una presa elettrica CA locale (assicurandosi che la tensione dell'iniettore PoE sia conforme ai dispositivi alimentati).

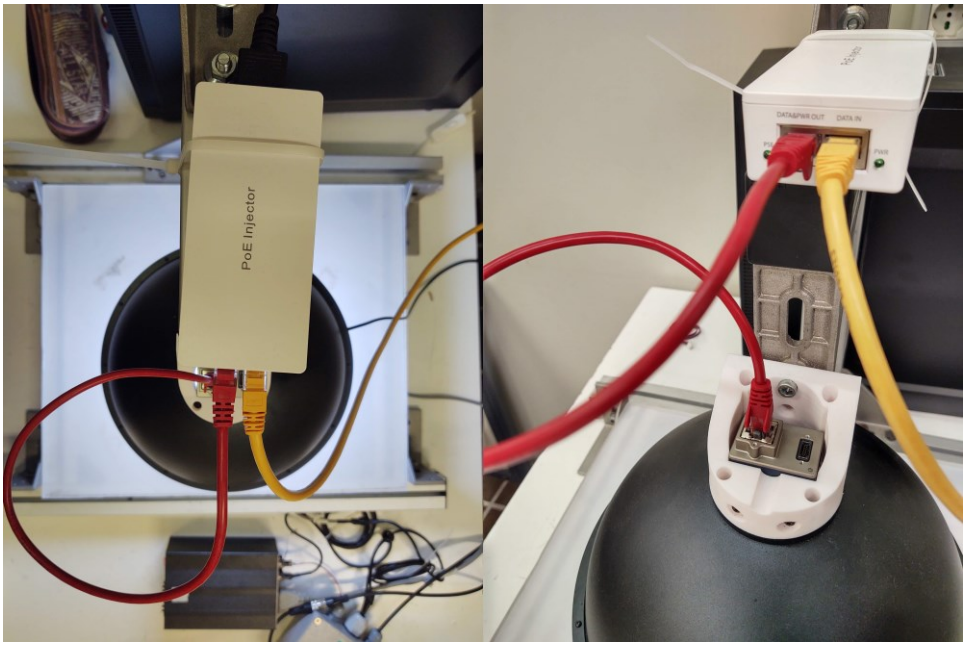


Fig. 8 - Immagine raffigurante il PoE da due diverse prospettive

Come ben visibile in figura, il PoE è connesso tramite un cavo di alimentazione nero alla presa a spina da 220 V, mentre i due cavi Ethernet rosso e giallo servono rispettivamente per connettere il PoE alla telecamera e il PoE all'elaboratore.

Anche in questo caso, come visto per il teleobiettivo, valutare sempre il corretto funzionamento del PoE e dei singoli collegamenti al fine di avere possibili problemi di misura.

Infine occorre precisare che come elaboratore verrà utilizzato un computer fisso desktop collegato a relativo schermo. Questo in particolar modo per garantire a parità di CPU, disco e RAM maggior potenza rispetto a un portatile, visto che l'hardware progettato per i PC fissi è in grado di spingere maggiormente sulle performance.

2.1.3 Dispositivo di illuminazione

Uno dei sistemi di illuminazione più utilizzati per l'imaging di insetti è quello del Dome Led che genera una luce a cupola antiriflesso per un'illuminazione uniforme e senza ombre. Essendo in laboratorio dovremmo necessariamente utilizzare luce artificiale, ma l'utilizzo di quest'ultima è anche reso necessario dal fatto per cui la luce naturale non può essere regolata né in intensità né in direzione e questo potrebbe distorcere le immagini o comunque creare troppe ombre indesiderate.

Il Dome è un illuminatore diffuso a cupola, tant'è che il suo nome indica appunto un duomo, ovvero una struttura all'interno della quale la luce tende a diffondersi in maniera omogenea. La luce diffusa permette di ammorbidire le ombre e di far sì che il fascio luminoso non investa direttamente il soggetto di misura (ovvero il grillo domestico), generando quindi un riflesso che risulti essere non mono direzionale, ma appunto più "diffuso".

La luce che viene utilizzata è una luce led bianca a temperature superiori a 6000 K per esaltare ogni dettaglio e perché questa è la tipologia di luce più simile a quella naturale, in quanto la temperatura della luce solare durante il giorno supera i 5000K.

Il Dome Led che è stato utilizzato era di fabbricazione industriale ed apparteneva all'azienda produttrice BMT. Di seguito vengono elencate le specifiche tecniche[8]:

- Alimentazione: CA 90-240 V; 50 / 60Hz
- Max. Apertura per obiettivo: ø 61mm
- Tipo di lampadine: lampadine a LED
- Temperatura di colore: 6400 K, luce bianca
- Dimensioni dell'alimentatore: (140x90x54)mm
- Diametro esterno della luce dell'anello, fondo: ø 98mm

[8] SCHAEFER-TEC ITALIA, "Catalogo Sorgenti luminose", Rovigo, 2020

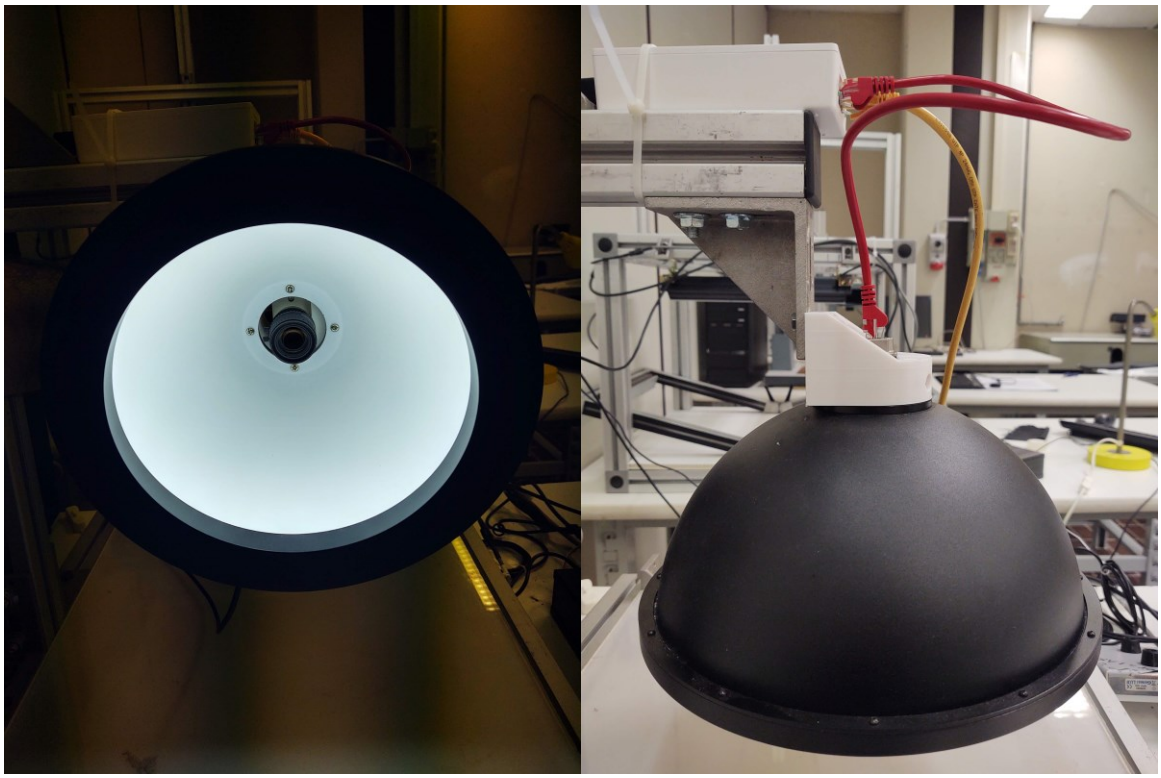


Fig. 9 - Dome Led sia attivo che raffigurato esternamente

Per ottenere migliori risultati si preferisce lavorare in condizioni di poca luminosità esterna (ovvero si tiene acceso solo il Dome e si spengono le luci della stanza di laboratorio in cui si lavora) in maniera da evitare disturbi o interferenze con fasci luminosi provenienti da sorgenti diverse da quelle del dispositivo di illuminazione a cupola. Come è facile comprendere, però, per questioni operative (come ad esempio la necessità di dover andare a cambiare il campione dopo ogni acquisizione e doverlo recuperare da appositi contenitori su altri piani di lavoro) si è sempre lavorato in presenza di luce esterna. Una soluzione utilizzata per risolvere i problemi di eccesiva luminosità o oscurità dell'area in cui si va a riporre il campione (ovvero l'esemplare di grillo) è quella di andare a regolare l'intensità di luce emessa dalla doppia schiera di diodi LED che costituiscono il Dome Led BMT. Questa peculiare caratteristica del dispositivo permette, tramite un apposito regolatore, di andare a selezionare anche due intensità diverse sulle due schiere di LED. In particolar modo, il valore di intensità luminosa è espresso da un valore compreso tra 0 e 99, dove all'aumentare del valore selezionato aumenta in maniera proporzionale l'intensità di luce emessa. Per le acquisizioni fatte si è scelto di porre L1= 99, ponendo così al massimo il

valore di intensità luminosa per la prima fila di LED e mantenendo L2= 70 ÷80 (con L2 indichiamo la seconda schiera di diodi).

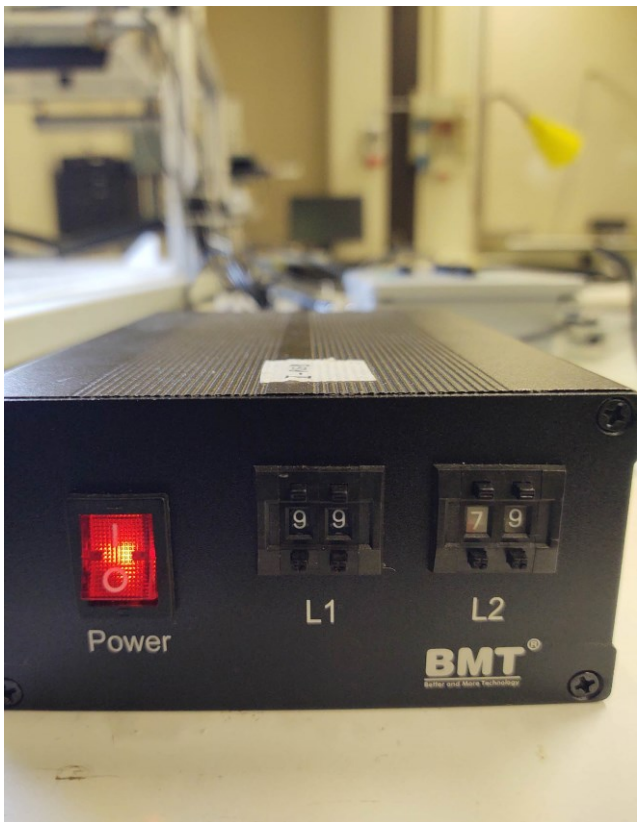


Fig. 10 - Immagine del regolatore di intensità luminosa impostato con i valori scelti in funzioni delle condizioni di lavoro

E' bene ricordare che i valori vanno settati ogni qualvolta vengano interrotte le misurazioni per poi essere riprese in un secondo momento, al fine di evitare acquisizioni molto diverse tra loro.

Un ultimo aspetto da dover valutare è l'altezza a cui posizionare il Dome rispetto al piano di lavoro, in quanto questa può essere regolata con un semplice bullone rispetto ad un asta metallica verticale (come visibile in Fig.8). Si deduce facilmente che tanto più il dispositivo di illuminazione sarà distante dal piano tanto più l'immagine risulterà buia e la luce tenderà a disperdersi maggiormente. Inoltre, essendo il teleobiettivo avvitato al Dome nell'apposito foro, avremo che ad altezze maggiori la camera sarà più distante dal soggetto di misura andando a sfocare sempre più i contorni e rendendo le nostre acquisizioni meno precise e affidabili. Infatti, qualora l'altezza del Dome dovesse variare, è necessario

modificare la lunghezza focale della camera e quindi lavorare su otturatore e diaframma del teleobiettivo per adattarlo alle nuove condizioni.

Concludiamo infine dicendo che esistono numerosi articoli scientifici, tra cui quello redatto da Peter H. Kerr, Eric M. Fisher, Matthew L. Buffington dal titolo *"Dome lighting for insect imaging under a microscope"*[9], che forniscono una descrizione accurata su come realizzare in maniera artigianale il proprio Dome Led in maniera economica con l'utilizzo di pochi elementi.

2.1.3 Sollevatore da laboratorio

La piattaforma di sollevamento da laboratorio viene utilizzata per regolare la posizione in altezza del soggetto di misura e per far sì che quest'ultimo venga posto ad una corretta distanza dal teleobiettivo.

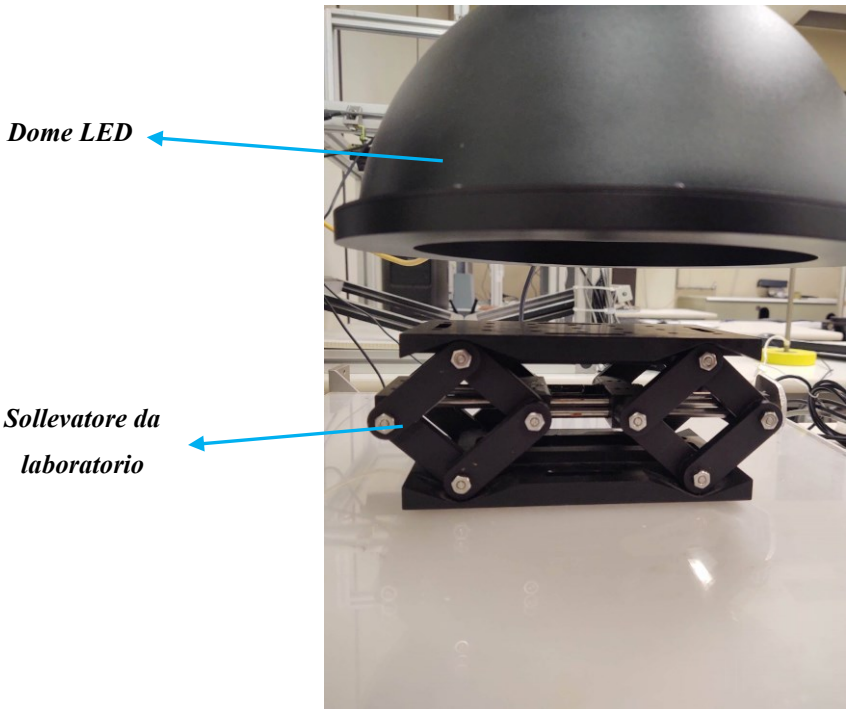


Fig. 11 - Disposizione del sollevatore a vite e del Dome Led

Il sistema di sollevamento utilizzato presentava le seguenti specifiche tecniche:

- Dimensione piattaforma: (10 x 20) cm

[9] Peter H. Kerr, Eric M. Fisher, Matthew L. Buffington, "*Dome lighting for insect imaging under a microscope*", American Entomologist, Volume 54, Issue 4, pagg. 198–200, Nov. 2008

- Peso massimo applicabile: 25 kg
- Altezza di sollevamento: 20 cm
- Peso: 800 g
- Tipo di sollevamento: manuale a vite

Dopo aver elencato le specifiche occorre dire che, prima di essere utilizzata, la superficie di appoggio è stata rivestita con un foglio di carta comune adeguatamente ritagliato e sistemato al fine di non creare pieghe. Il rivestimento era necessario in quanto il sollevatore preso in considerazione era di colore nero e una superficie cosi scura non avrebbe permesso di evidenziare il campione di grillo domestico appoggiatovi sopra (in quanto anche esso di tonalità scura), ricordando inoltre, che le acquisizioni prese in considerazione sono in scala di grigi.

Una volta preparato il martinetto a vite, si disporrà come sotto riportato (Fig. 12)

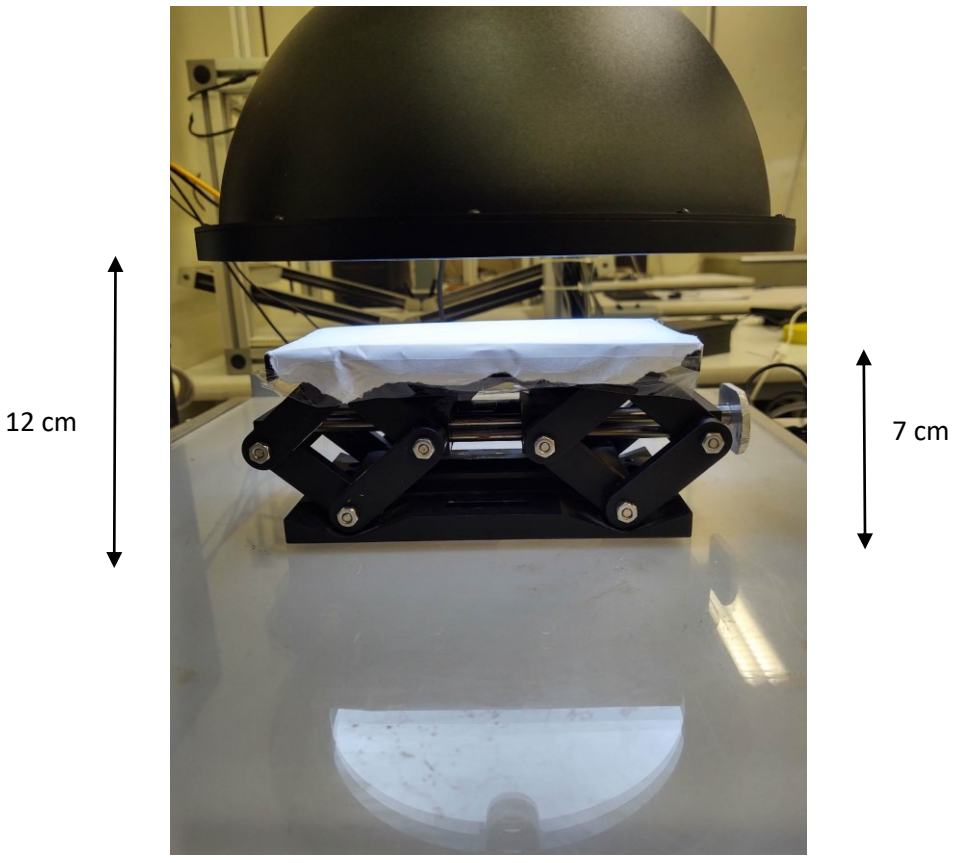


Fig. 12 - Disposizione della strumentazione di misura

La disposizione scelta per la misurazione (indicata in Fig.12) prevede di posizionare il Dome Led ad un'altezza di 12 cm rispetto al piano di lavoro e di porre il campione da

misurare sulla piattaforma di sollevamento esattamente ad una altezza di 7 cm dal piano di lavoro. Essendo il teleobiettivo avvitato nel Dome e quindi ad una altezza vincolata a quella del dispositivo di illuminazione, avremo la camera ad un'altezza di 20 cm rispetto al piano di lavoro e a 13 cm dal campione posto sul sollevatore a vite.

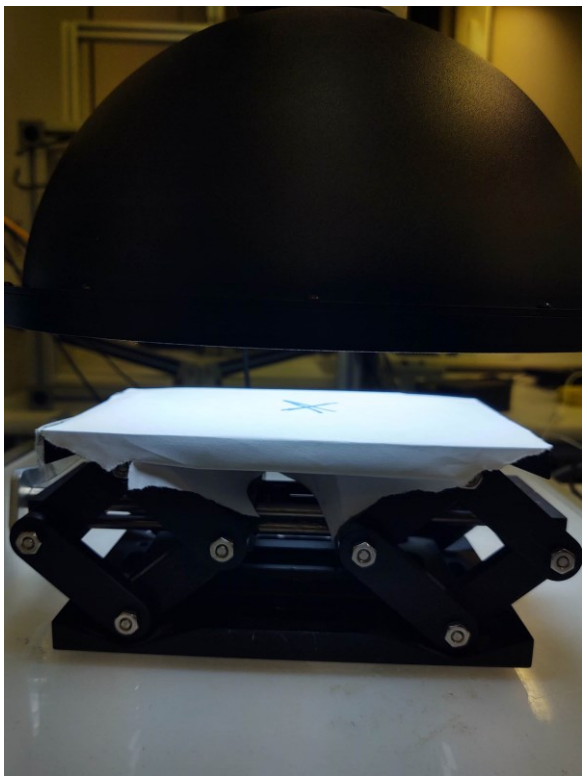


Fig. 13 - Strumentazione attiva e pronta all'acquisizione

L'esemplare di grillo andrà disposto in un punto del sollevatore tale da garantire la condizione necessaria per cui il campione risulti essere al centro del campo di visione dell'obiettivo utilizzato. Ad esempio, nelle varie prove iniziali, si è utilizzata una croce disegnata a penna sul rivestimento in carta bianca della piattaforma (come in Fig.13) per valutare la posizione ideale in cui riporre il grillo per le future acquisizioni.

2.2 Software

Il termine software identifica l'insieme dei programmi che possono essere impiegati su un sistema di elaborazione dei dati. In particolar modo si utilizzeranno tre differenti

programmi, due nella parte di acquisizione e uno nella parte di elaborazione dei dati raccolti (ovvero le immagini). In questa sezione verranno trattati i due sistemi software relativi alla parte di acquisizione dei dati: 'NI-MAX' e 'LabVIEW'. Il primo è stato utilizzato in maniera più marginale mentre il secondo è stato necessario per rendere il procedimento di raccolta delle immagini molto più semplice e fluido.

2.2.1 NI-MAX

NI Measurement & Automation Explorer (MAX) fornisce l'accesso ad un hardware NI[10]. È un software gratuito che non può essere scaricato da solo ma è incluso e installato automaticamente con tutti i driver NI (tra cui la telecamera utilizzata per le acquisizioni). In particolar modo questo software è stato molto utile nella fase iniziale della ricerca. Infatti prima di tutto era necessario verificare che la il teleobiettivo utilizzato (e descritto nei capitoli precedenti) venisse riconosciuto dall'elaboratore sul quale avremmo poi visualizzato le immagini realizzate. Inoltre è stato molto utile per capire in tempo reale (o comunque con un ritardo di qualche millisecondo) quale fosse la disposizione dell'esemplare di grillo sul sollevatore e rispetto all'obiettivo. Con NI-MAX, ricapitolando, è possibile:

- Configurare il proprio sistema hardware e software;
- Esportare/Importare la configurazione del sistema;
- Eseguire diagnostica del sistema;
- Visualizzare dispositivi e strumenti connessi al sistema e relativi software.

La configurazione della telecamera viene salvata e memorizzata all'interno del programma per poi venire caricata nella fase di inizializzazione della medesima all'interno del programma principale. Quindi, seppure non fondamentale per la fase di acquisizione vera e propria, il software NI-MAX è stato di vitale importanza sia per far sì che il teleobiettivo potesse essere riconosciuto dall'elaboratore e potesse essere configurato correttamente sia per fornire un'anteprima di quella che sarebbe poi stata l'immagine acquisita.

[10] NI-MAX. 'MAX 18.0' (versione 2018). Austin, Texas, Stati Uniti, National Instruments, 2018. Available: 'NI-MAX Download' on ni.com

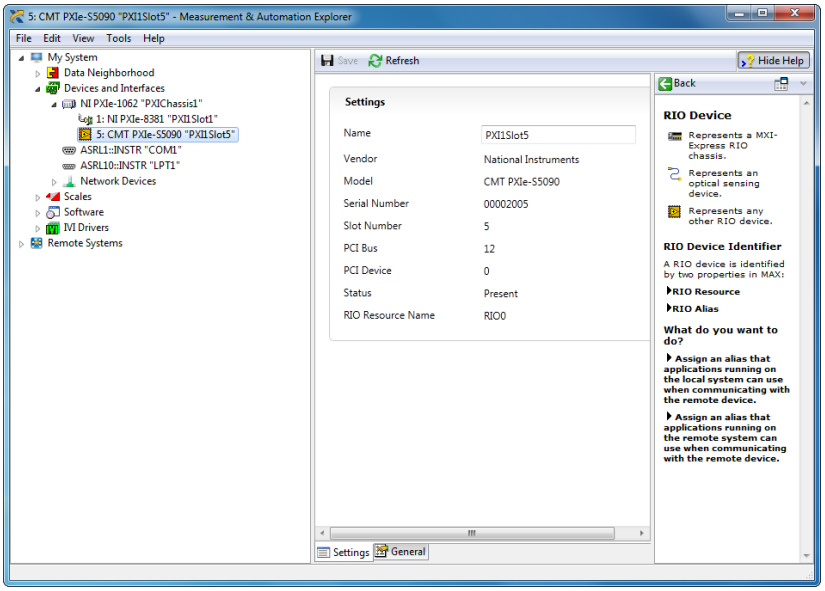


Fig. 14 - Esempio di interfaccia del programma NI-MAX

2.2.2 LabVIEW

2.2.2.1 Introduzione al software

LabVIEW (abbreviazione di Laboratory Virtual Instrumentation Engineering Workbench) è l'ambiente di sviluppo integrato per il linguaggio di programmazione visuale di National Instruments. Tale linguaggio grafico viene chiamato Linguaggio G. LabVIEW viene principalmente utilizzato per programmi di acquisizione e analisi dati, controllo di processi, generazione di rapporti, o più generalmente per tutto ciò che concerne l'automazione industriale. Il linguaggio di programmazione usato in LabVIEW si distingue dai linguaggi tradizionali perché la sua sintassi non è scritta ma grafica e per questa ragione viene chiamato G-Language (Graphic Language). Nell'ambiente di sviluppo, i VI (ovvero programmi di tipo G) sono composti da tre parti principali[11]:

- il pannello frontale: il pannello frontale è l'interfaccia utente del VI. Si realizza con controlli e indicatori, che costituiscono i terminali interattivi d'ingresso e d'uscita. I

[11] LabVIEW. 18.0 (versione maggio 2018). Austin, Texas, Stati Uniti, National Instruments, 2018. Available: 'LabVIEW Download' on ni.com

controlli sono matrici, manopole, potenziometri, pulsanti e quadranti; simulano i dispositivi d'ingresso degli strumenti e forniscono dati allo schema a blocchi del VI.

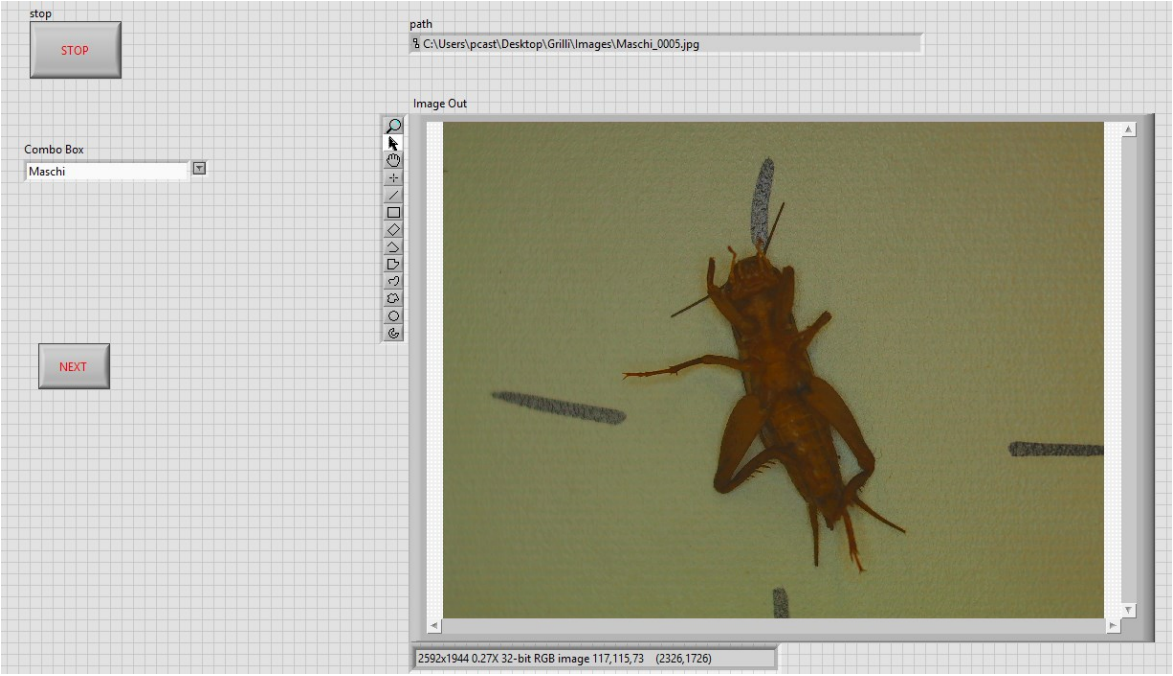


Fig. 15 – Esempio di Pannello Frontale

- lo schema a blocchi o block diagram: lo schema a blocchi è il diagramma di flusso che rappresenta il codice sorgente, in formato grafico. Gli oggetti dello schema a blocchi comprendono i terminali, le funzioni, le costanti, le strutture, fili di collegamento oltre che commenti testuali. Lo schema a blocchi può essere reso visibile anche durante l'esecuzione, cosa molto utile in fase di debug, in quanto esiste la possibilità di visualizzare con un'animazione al rallentatore il movimento dei dati lungo i fili e il loro valore momentaneo. Il block diagram contiene due tipi di elementi fondamentali: nodi (sono gli elementi di elaborazione elementare) e collegamenti (uniscono i nodi e permettono lo scambio di informazioni)

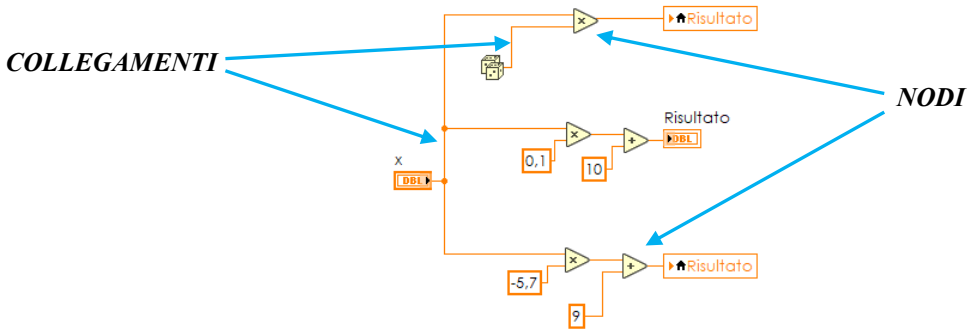
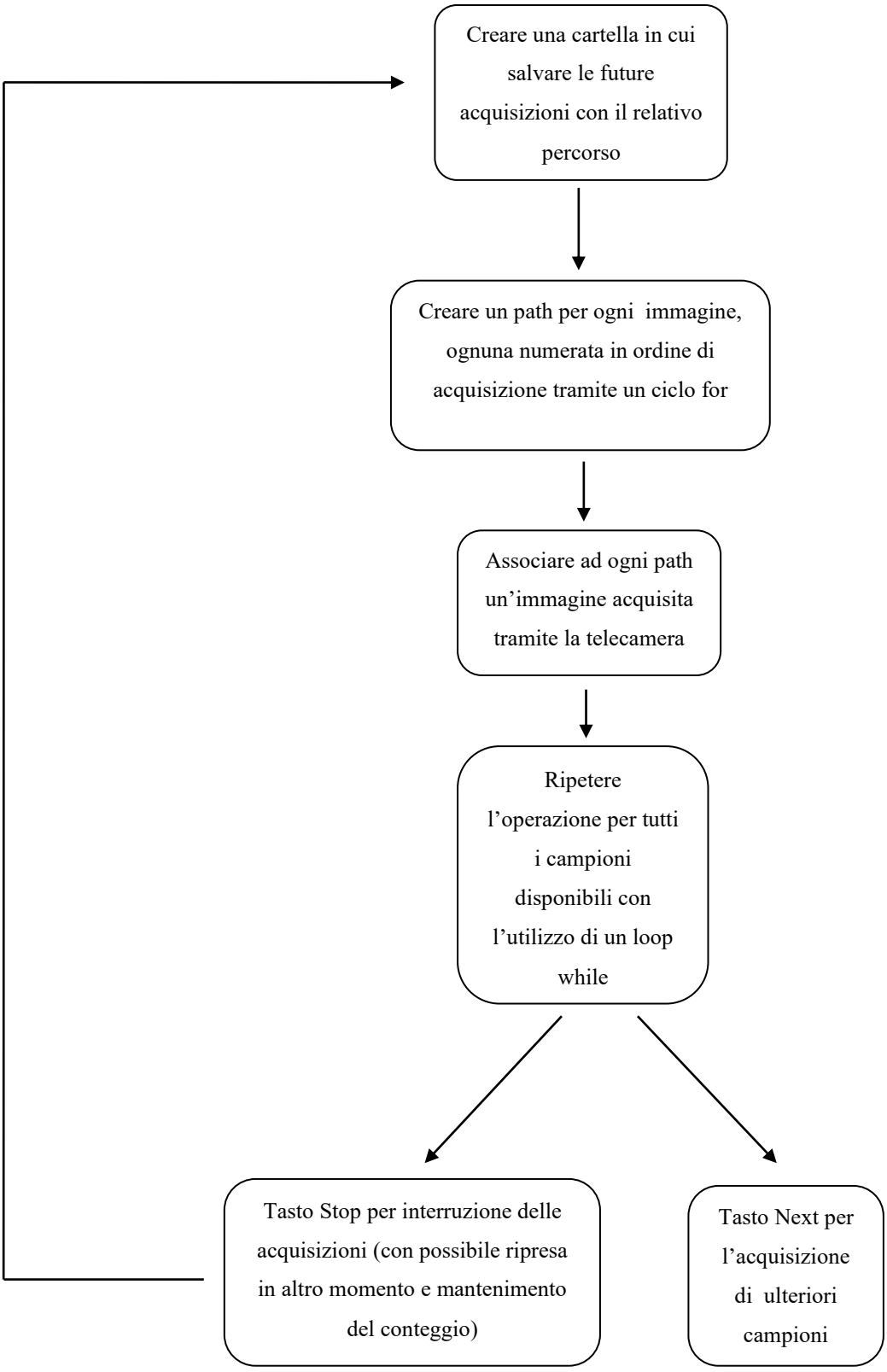


Fig.16 - Esempio di block diagram in LabVIEW

- il riquadro connettori: il riquadro connettori serve a definire qual è l'aspetto del VI quando appare come subVI in uno schema a blocchi di un VI più ampio. Viene descritta che facciata ha l'icona, ma soprattutto come e dove vanno collegate le linee per permettere il passaggio dei dati.

2.2.2.2 Diagramma di flusso del programma per l'acquisizione di immagini

Alla base della realizzazione del programma di acquisizione delle immagini tramite il software LabVIEW, viene individuata la necessità di creare una cartella in cui salvare le singole immagini, ciascuna delle quali con il proprio percorso. Il percorso (path) deve includere il genere del grillo campionato (selezionabile tramite un'apposita combo box presente nel pannello frontale di LabVIEW), il numero sequenziale corrispondente al campione che si sta acquisendo e il formato dell'immagine (jpg). La numerazione progressiva viene ottenuta tramite un ciclo for interno al VI principale. Inoltre è stato inserito un loop per far sì che, qualora le acquisizioni venissero interrotte per poi essere riprese in un secondo momento, il conteggio venisse mantenuto (anche andando a salvare le immagini in una nuova cartella).


Creare una cartella in cui salvare le future acquisizioni con il relativo percorso
Creare un path per ogni immagine, ognuna numerata in ordine di acquisizione tramite un ciclo for
Associare ad ogni path un'immagine acquisita tramite la telecamera
Ripetere l'operazione per tutti i campioni disponibili con l'utilizzo di un loop while
Tasto Stop per interruzione delle acquisizioni (con possibile ripresa in altro momento e mantenimento del conteggio)
Tasto Next per l'acquisizione di ulteriori campioni

2.2.2.3 Schema a blocchi del programma di acquisizione delle immagini

Una volta compreso lo scopo e i principi alla base del programma di acquisizione delle immagine di grillo domestico, occorre andarne a definire una possibile implementazione all'interno della sezione 'Block Diagram' di LabVIEW.

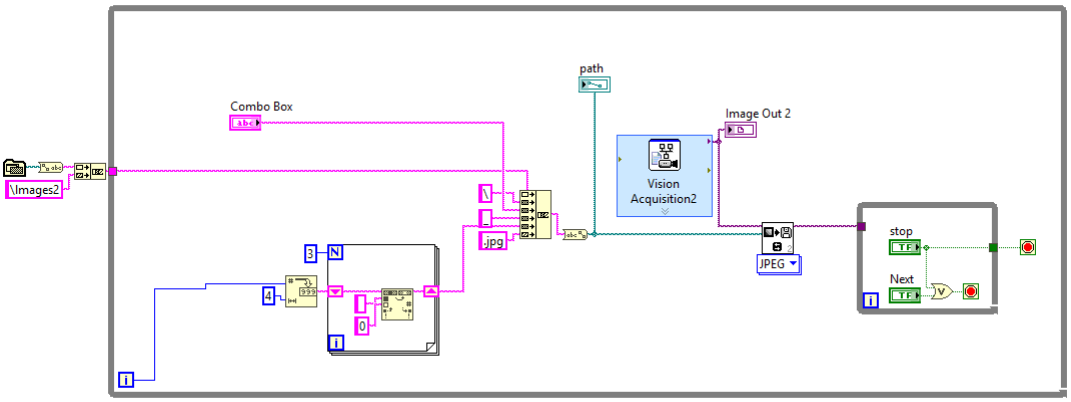


Fig. 17 - Programma LabVIEW utilizzato per le acquisizioni

Successivamente verranno analizzate tutte le componenti che costituiscono il programma implementato (raffigurato in Fig.17).

La prima parte del programma è costituita da tre componenti: la directory dell'applicazione, la funzione 'path to string' e la funzione di concatenazione delle stringhe. La directory dell'applicazione restituisce il percorso della directory contenente l'applicazione. Se viene chiamato tale VI (la directory delle applicazioni) dall'ambiente di sviluppo e il VI (programma che sta per essere implementato) viene caricato in un file di progetto LabVIEW, l'application directory restituisce il percorso della cartella contenente il file di progetto. La funzione 'path to string' converte un path (posizione di un file in un archivio di dati) in una stringa, la quale corrisponde alla traduzione del path in un formato standard richiesto da LabVIEW. Infine la funzione di concatenazione di stringhe permette di concatenare tra loro due o più stringhe. In questo caso concatenerà la stringa derivante dalla funzione 'path to string' e quella costituita da '\images2' (indicativa del fatto per cui stessimo lavorando sui generi, due appunto). La stringa concatenata verrà data in ingresso ad un' altra funzione di concatenazione di stringhe presente nello schema a blocchi (come visibile in Fig.17), che verrà descritta in seguito.

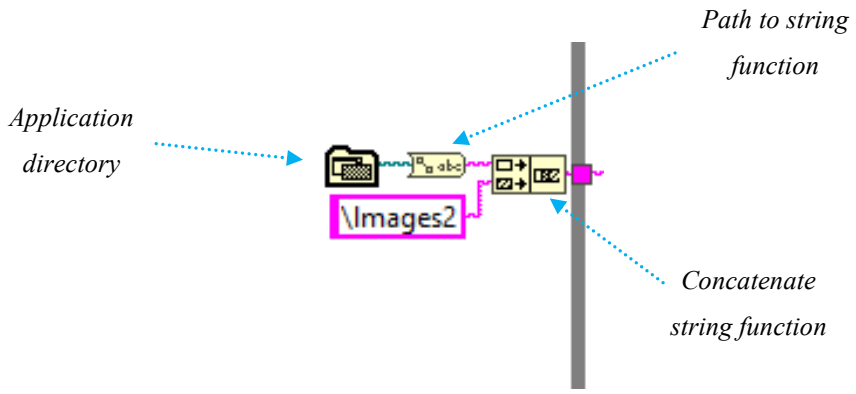


Fig. 18 - Prima parte del programma VI

La seconda parte del programma contiene un 'For Loop', ovvero una funzione che esegue ciclicamente quanto contenuto al suo interno. In particolar modo il ciclo for in questione viene utilizzato per andare ad incrementare, in modo progressivo, il numero corrispondente al campione di grillo che si sta acquisendo. Il terminale di ingresso 'N' serve a specificare il numero di volte per cui deve essere eseguito quanto posto all'interno del loop, mentre 'i' fornisce il conteggio delle iterazioni del ciclo corrente (che va da N ad N-1). Esternamente al ciclo for viene inserita una funzione che ha il compito di convertire un numero in una stringa di cifre decimali. In ingresso al convertitore viene dato un valore numerico 'i' (corrispondente al numero del campione che si sta analizzando) e un valore numerico corrispondente al 'width' (se la larghezza riservata al valore è maggiore di quella necessaria si aggiungono spazi a sinistra). Infatti, inserendo un 'width = 4' e ipotizzando una 'i = 1', il risultato in uscita sarà '_ _ _ 1'. Internamente al ciclo for viene implementata una funzione di 'search and replace string', il cui compito è quello di sostituire una o tutte le istanze di una sottostringa con un'altra sottostringa. In particolare, tale funzione andrà a sostituire ciascun spazio presente nella stringa uscente dalla funzione precedente (ovvero la 'number to decimal string function') con uno zero. Quindi il risultato ottenuto, riprendendo il caso precedente in cui si aveva '_ _ _ 1', sarà '0001'.

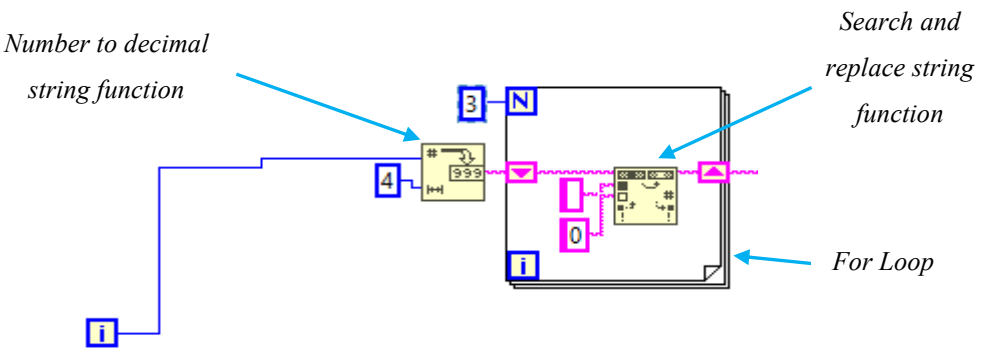


Fig. 19 - Seconda parte del programma VI

La terza parte del programma, come precedentemente anticipato, contiene una funzione di concatenazione di stringa.

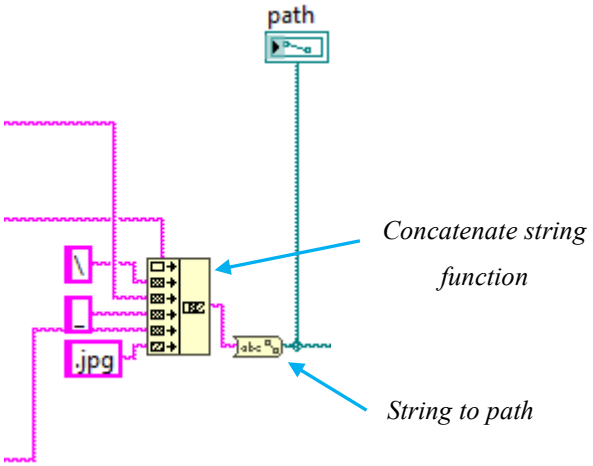


Fig. 20 - Terza parte del programma VI

Alla funzione di concatenazione di stringa vengono date sei sottostringhe (come visibile in maniera più ampia in Fig.17). La prima sottostringa è quella uscente dal primo blocco e contiene il nome della cartella in cui verranno salvate le immagini. La seconda contiene uno slash di separazione (‘\’), la terza deriva da una combo box in cui è possibile selezionare il genere del grillo (maschio o femmina) mentre la quarta contiene uno spazio (‘_’). La quinta sottostringa deriva dal ciclo for descritto nella seconda parte del programma (quindi è costituita da un numero progressivo rappresentante il campione di grillo che si sta acquisendo) e infine la sesta contiene il formato dell’immagine (‘.jpg’). In uscita dalla funzione di concatenazione si avrà un’intera stringa che viene data in ingresso

ad una ‘string to path’ che traduce la stringa ottenuta in un path visualizzabile nel panello frontale di LabVIEW.

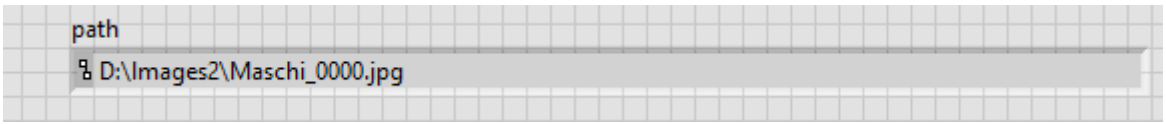


Fig. 21 - Percorso relativo a ciascuna immagine acquisita

La quarta parte del programma di acquisizione corrisponde al blocco in cui viene indicato quello che sarà il dispositivo NI Acquisition Express (ovvero il teleobiettivo Teledyne DALSA Nano-M2420 “H2064523”). Le immagini acquisite tramite tale dispositivo verranno sia visualizzate nel pannello frontale (‘Image out 2’) sia inviate ad un blocco chiamato ‘IMAQ write file’. Quest’ultimo salva l’immagine nel formato richiesto (JPEG) esattamente nella cartella indicata nella prima parte del programma e associata al path in uscita dallo ‘string to path’.

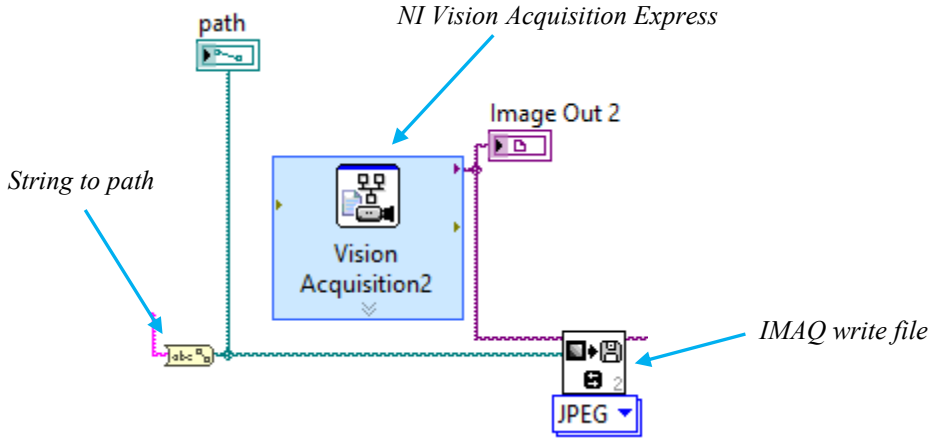
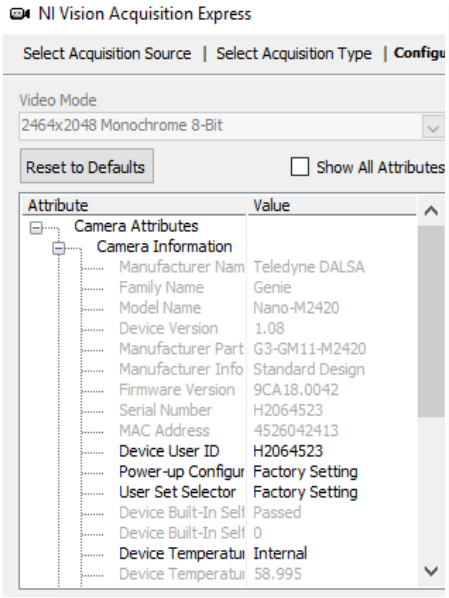


Fig. 22 - Quarta parte del programma VI

Andando a selezionare il DAQ express Vision Acquisition2 sarà possibile visualizzare il tipo di telecamera utilizzata e i settaggi scelti per le acquisizioni. Inoltre è stata selezionata la modalità ‘Single acquisition with processing’ che permette di acquisire una sola immagine alla volta senza la necessità di definire dei cicli o loop specifici. Di seguito sono riportate una serie di immagini che rappresentano i settaggi scelti e selezionati:



Sensor Control	
Device Scan Type	Areascan
Sensor Color Type	Monochrome Sensor
Input Pixel Size	12 Bits/Pixel
Sensor Width	2464
Sensor Height	2056
Acquisition Frame Rate Control Mode	Programmable
Acquisition Frame Rate	20.0000000
Auto-Brightness	
Auto-Brightness Mode	Off
Auto-Brightness Sequence	
Auto-Brightness Target Source	
Auto-Brightness Target	
Auto-Brightness Target Variation	
Auto-Brightness Algorithm	
Auto-Brightness Minimum Time Activation	
Auto-Brightness Convergence Time	
Auto-Exposure	
Auto-Exposure Time Min Value	
Auto-Exposure Time Max Value	
Automatic Gain Control	
Auto-Gain Source	
Auto-Gain Max Value	
Auto-Gain Min Value	
Exposure Mode	Timed
Exposure Alignment	Synchronous

Exposure Time	9741.00000
Actual Exposure Time	9741.40000
Sensor Shutter Mode	Global
Gain Selector	Sensor
Gain	1.00000000
Gain (Raw)	0
Black Level Selector	Analog
Black Level	0.000000000
I/O Controls	
Trigger Selector	Single Frame Trigger(Start)
Trigger Mode	Off
Trigger Frames Count	
Software Trigger	
Trigger Source	
Trigger Input Line Activation	
Trigger Overlap	
Trigger Delay	
Line Selector	Line 1
Line Name	Input 1
Line Format	Opto-Coupled
Line Mode	Input
Line Status	☐
Line Inverter	☐
Input Line Detection Level	Threshold for TTL
Input Line Debouncing Period	0
Output Line Source	
Output Line Pulse Signal Activation	
Output Line Pulse Delay	
Output Line Pulse Duration	
Output Line Value	
Output Line Software Latch Control	Off
Line Status All	0x0
Output Line Software Command	0

Counter And Timer Control	
Counter Selector	Counter 1
Counter mode	Off
Counter Status	Counter Idle
Counter Start Source	Line 1
Counter Start Line Activation	Rising Edge
Counter Incremental Source	Internal Clock
Counter Incremental Line Activation	
Counter Reset Source	Reset Cmd
Counter Reset Input Line Activation	
Counter Duration	1
Counter Value	0
Counter Value At Reset	0
Counter Reset	
Timer Selector	Timer 1
Timer mode	Off
Timer Status	Timer Idle
Timer Start Source	Line 1
Timer Line Activation	Rising Edge
Timer Duration	1
Timer Value	0
Timer Reset	
Advanced Processing	
LUT Mode	Off
LUT Type	User Defined
Gamma Correction	
LUT Selector	Luminance 1
LUT Size	12 Bits/Pixel
LUT Index	0
LUT Value	0

Cycling Preset	
Cycling Preset Mode	Off
Cycling Preset Count	2
Cycling Preset Incremental Source	Start of Frame
Trigger Input Line Activation	
Cycling Preset Repeater	1
Cycling Preset Reset Source	Acquisition End
Cycling Preset Reset Cmd	
Cycling Preset Current Active Set	1
Cycling Preset ROI Source	In-FPGA
Features Activation Selector	Exposure Time
Features Activation Mode	Off
Preset Configuration Selector	1
Cycling Preset Repeater	1
Exposure Time	9741
Exposure Delay	
Gain Selector	Sensor
Gain	1.00000000
Horizontal Offset	0
Vertical Offset	0
Binning Horizontal	1
Binning Vertical	1
Line Selector	Line 3
Output Line Source	
Output Line Value	
Image Format Controls	
Data Stream Selector	Stream1
Data Stream Type	Image
Pixel Format	Monochrome 8-Bit
Pixel Size	8 Bits/Pixel

Horizontal Offset	0
Vertical Offset	0
Width	2464
Height	2056
Horizontal Flip	☐
Vertical Flip	☐
Multiple ROI Mode	Off
ROI Count Horizontal	
ROI Count Vertical	
ROI Count	
ROI Selector	
ROI Offset X	
ROI Offset Y	
ROI Width	
ROI Height	
Binning Selector	In Digital Domain
Binning Mode	Sum
Binning Horizontal	1
Binning Vertical	1
Test Image Selector	Off
Metadata Controls	
Metadata Mode	☐
Chunk Compatibility Mode	GenAPI
Metadata Selector	
Metadata Enable	☑
Chunk Parser	
Chunk Exposure Time	
Chunk Cycling Preset Current Active Set	
Chunk Line Status All	
Chunk Gain Selector	Digital

Acquisition and Transfer Control		PTP Mode	Off
Acquisition Status Selector	Acquisition Active	PTP Status	Disabled
Acquisition Status	☐	PTP Servo Status	Not Applicable
Acquisition Mode	Continuous	PTP Master Clock Identity	
Acquisition Frame Count	1	PTP Master Offset (in ns)	
Acquisition Arm Cmd		PTP Port Last Event	None
Internal Acquisition FPS	20.0000000	PTP Transport Protocol	UDP_IPV4
Internal Acquisition Frame Drop Count	0	PTP Servo Step Threshold (in us)	Threshold_10
Resulting Frame Rate	20.0000000	Timestamp Modulo Event	0
Transfer Control	Basic	Timestamp Modulo Event Frequency	
Transfer Mode		Timestamp Modulo Start Time	0
Transfer Block Count		Timestamp Modulo Actual Start Time	0
Transfer Queue Mode		**GigE Vision Transport Layer**	
Transfer Queue Current Block Count	0	Device Link Selector	0
Transfer Queue Memory Size	79.0000000	Device Link Throughput Limit	On
Transferred Image Max Data Size	0.000000000	Device Link Throughput Limit	115000000
Transferred Image Min Data Size	0.000000000	Device Link Speed	1000
Transferred Image Average Data Size	0.000000000	Packet Resend Buffer Size	11.0000000
Transfer Start		IP Configuration Status	DHCP
Transfer Stop		Primary Application IP Address	169.254.123.221
Transfer Abort		Device Access Privilege Control	Control Access
Maximum Sustained Frame Rate	21.7861826	GVCP Heartbeat Disable	
Action Control		**File Access Control**	
Action Selector	1	File Selector	Firmware
Action Group Key	0x0	File Operation Selector	Open
Action Group Mask	0x1	File Operation Execute	
Event Control		File Open Mode	Write
Timestamp Latch Cmd		File Access Offset	
Timestamp Value	0	File Access Length	4
Timestamp Source	Internal Clock	File Operation Status	Success
Timestamp Tick Frequency	1000000	File Operation Result	0
Timestamp Latch Source	Frame Start	File Size	0
Timestamp Reset Cmd			
Event Selector	Start of Frame		

Fig. 23 – Immagini relative ai settaggi selezionati sulla telecamera di acquisizione

La quinta e ultima parte del programma che è stato implementato per l'acquisizione delle immagini è formata da un 'While Loop'. L'utilizzo di tale ciclo while è fondamentale per far sì che, in qualsiasi momento, si possano interrompere le acquisizioni per poi riprenderle mantenendo il conteggio del campione di grillo a cui si era arrivati prima dell'interruzione. Il codice all'interno del diagramma definito dal loop viene ripetuto finché non si verifica una specifica condizione. Nel diagramma è sempre presente un valore 'i' che fornisce il conteggio delle iterazioni del ciclo corrente.

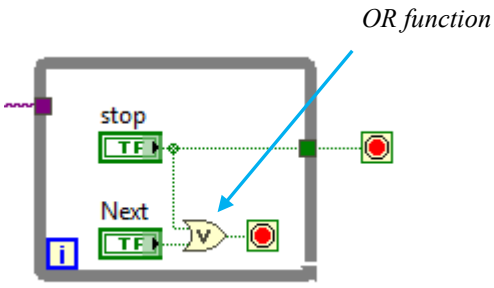


Fig. 24 - Quinta parte del programma VI

All'interno del ciclo while viene utilizzata una 'OR function' che calcola l' 'or' logico degli input (rappresentati in Fig.23 da 'next' e 'stop'). Gli ingressi devono essere dei valori

booleani, ovvero ‘true’ o ‘false’. Nel pannello frontale di LabVIEW sono presenti due tasti, appunto ‘next’ e ‘stop’, che permettono di continuare le acquisizioni oppure, nel caso dello ‘stop’, di interromperle per poi riprenderle in un secondo momento. Il pallino rosso presente nell’immagine soprastante indica la condizione di ‘stop if true’, cioè permette di interrompere il ciclo qualora siano finiti i campioni o si sia volontariamente interrotta l’acquisizione. Il funzionamento del comando ‘stop if true’ è strettamente legato alla tabella della verità dell’ ‘or’ logico (Fig.24).

x	**y**	x .or. y?
T	T	T
T	F	T
F	T	T
F	F	F

Fig. 25 - Tabella della verità dell’OR

2.3 Procedure seguite per l'acquisizione dei dati

In questo sotto capitolo verrà riportato l'insieme ordinato delle operazioni eseguite per l'ottenimento di immagini ad alta risoluzione relative a campioni di *acheta domesticus*:

- Ancor prima di iniziare ad acquisire immagini occorre organizzare il campo di misura disponendo nella maniera corretta i dispositivi hardware (come indicato nel capitolo 2.1). Quindi posizionare il sollevatore meccanico (rivestito di carta bianca) ad un'altezza dal piano di lavoro di 7 cm, disporre il Dome Led invece a 12 cm dal piano di lavoro (su cui è già stato inserito il 'COMPUTAR M2518-MPW2' che si troverà, quindi, a 18 cm rispetto al piano di lavoro). Una volta fatto, serve connettere il dispositivo di illuminazione alla rete elettrica e settare i valori di L1 e L2 (99 e 70 ÷ 80 rispettivamente). Infine, con apposite pinzette, riporre l'esemplare di grillo al centro del sollevatore.
- La seconda fase prevede il collegamento della telecamera al PoE e di quest'ultimo alla rete elettrica (una volta connesso alla rete, sul PoE si accenderà una spia di colore verde). In questo momento non è ancora possibile acquisire immagini ma servirà connettere il PoE all'elaboratore e aprire il software NI-MAX per valutare il corretto funzionamento del teleobiettivo e regolare la risoluzione (tramite diaframma e otturatore) dell'immagine, oltre che posizionare il campione di grillo al centro del campo visivo della camera.
- Una volta espletate le precedenti operazioni e visualizzata un'anteprima della possibile immagine acquisibile su NI-MAX, verrà aperto il software LabVIEW per iniziare il processo di acquisizione vero e proprio. Quindi nel pannello frontale premere il tasto 'run' e successivamente 'next' procedendo così all'acquisizione della prima immagine. Poi, dopo aver spostato leggermente il grillo per avere immagini da diverse angolazioni dello stesso campione, premere nuovamente il tasto 'next' per acquisire la successiva immagine e così via per tutti gli altri campioni. Il genere di grillo che si sta acquisendo è selezionabile all'interno di una 'Combo box' presente nel pannello frontale di LabVIEW. Inoltre, il software fornirà la possibilità di visualizzare a schermo l'immagine acquisita e di salvarla automaticamente in una cartella scelta all'inizio dell'implementazione dello schema a blocchi (capitolo 2.2.2).

- In ultima istanza è importante ricordare che non tutte le acquisizioni potranno essere fatte consecutivamente (in quanto si avranno 1000 campioni di grillo) e per questo motivo, qualora la telecamera dovesse riscaldarsi e non funzionare più nella maniera corretta, occorre premere il tasto 'stop' nel front panel di LabVIEW che permette di fermare il conteggio all'acquisizione corrente e di riprenderlo quando il processo acquisitivo verrà riattivato tramite il tasto 'next'.

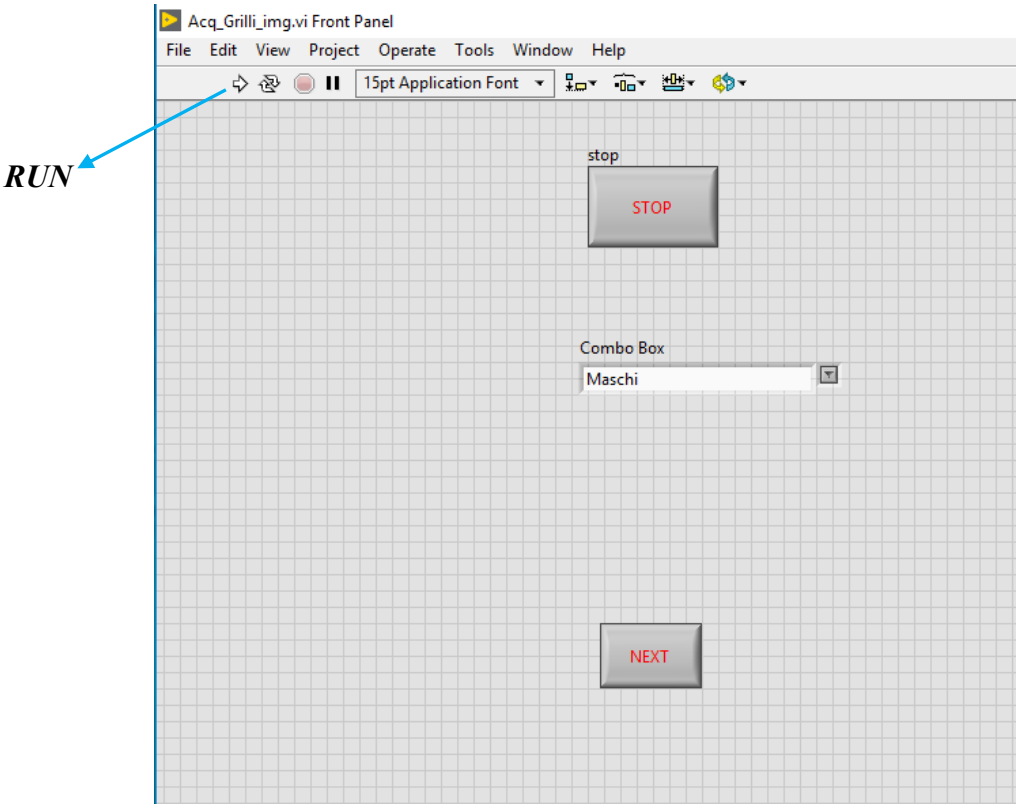


Fig. 26 - Pannello frontale di LabVIEW

3. ELABORAZIONE DEI DATI ACQUISITI

Una volta acquisite tutte le immagini, servirà andare ad eliminare quelle che presentino caratteristiche diverse dalle attese. In particolar modo, avendo acquisito cinque immagini per ogni campione e avendo mille campioni, nelle varie cartelle create per le acquisizioni si avranno 5000 immagini. Tra queste immagini, alcune potrebbero essere sfocate in quanto certi campioni risultavano non essere congelati correttamente e quindi non essere del tutto immobili. Quindi in questo capitolo verranno presentati due programmi implementati tramite il software MATLAB. Il primo servirà a riordinare e numerare le varie immagini acquisite in un'unica cartella (si hanno più cartelle in quanto non tutti i campioni sono stati fotografati consecutivamente), mentre il secondo andrà ad eliminare quelle immagini in cui il campione di grillo non risulti essere all'interno di una certa ROI (Region of interest), ovvero una certa area dell'immagine, che in questo caso corrisponde al centro del campo visivo del teleobiettivo, in cui il campione risulti essere ben visibile e non presenti sfocature.

3.1 MATLAB

MATLAB[12] (abbreviazione di Matrix Laboratory) è un ambiente per il calcolo numerico e l'analisi statistica scritto in linguaggio C. Il software consente di manipolare matrici, visualizzare funzioni e dati, implementare algoritmi, creare interfacce utente e interfacciarsi con altri programmi. MATLAB è sia un linguaggio di programmazione interpretato (non si compila) che un ambiente grafico di lavoro; entrambi gli aspetti sono molto integrati tra loro così da fornire un supporto potente e intuitivo per il calcolo numerico. È sviluppato dalla MathWorks, utilizza numerose librerie di calcolo (in particolar modo di algebra lineare) ed è considerato uno standard in ambienti universitari e professionali, in particolar modo nell'ambito ingegneristico volto all'analisi di dati, lo sviluppo di algoritmi e la creazione di modelli. Il software, inoltre, è corredato da una famiglia di soluzioni specifiche per varie applicazioni denominate Toolbox. Si tratta di insiemi di funzioni MATLAB aggiuntive che estendono l'ambiente di lavoro per risolvere determinate operazioni come ad esempio l'elaborazione immagini. L'interfaccia principale

[12] MATLAB. 9.7.0.1190202 (R2022b). Natick, Massachusetts: The MathWorks Inc.; 2018. Available: www.mathworks.com

di MATLAB è composta da diverse finestre che è possibile affiancare, spostare, ridurre a icona, ridimensionare e così via. Le finestre principali, più usate, sono tre:

- Command window: è una finestra dell'interfaccia principale di MATLAB nella quale è possibile digitare comandi supportati e visualizzare a schermo in tempo reale i risultati. Se si scrivono più comandi su una stessa linea è necessario separarli con una virgola. Se un comando è terminato con un punto e virgola (;), i risultati ottenuti non verranno visualizzati immediatamente.
- Workspace: è lo spazio di lavoro (o spazio di memoria) contenente le variabili dichiarate. Per visualizzare tutte le variabili utilizzate si utilizza il comando 'who'. È inoltre possibile stampare l'elenco delle variabili attuali od eliminarne una direttamente dalla finestra (senza scrivere nessun comando). Per visualizzare nella command window il valore di una variabile memorizzata nello workspace è sufficiente scrivere il nome della variabile stessa.
- Current directory: permette di esplorare il contenuto delle cartelle sul proprio supporto di memoria. Da questa finestra è possibile aprire direttamente file compatibili con MATLAB ed è possibile esplorare cartelle.

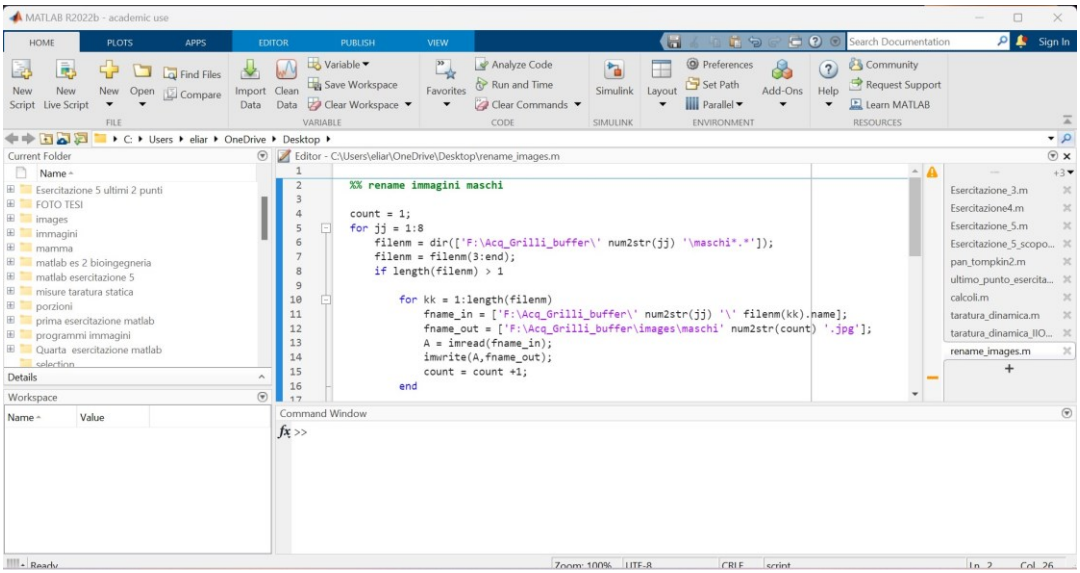


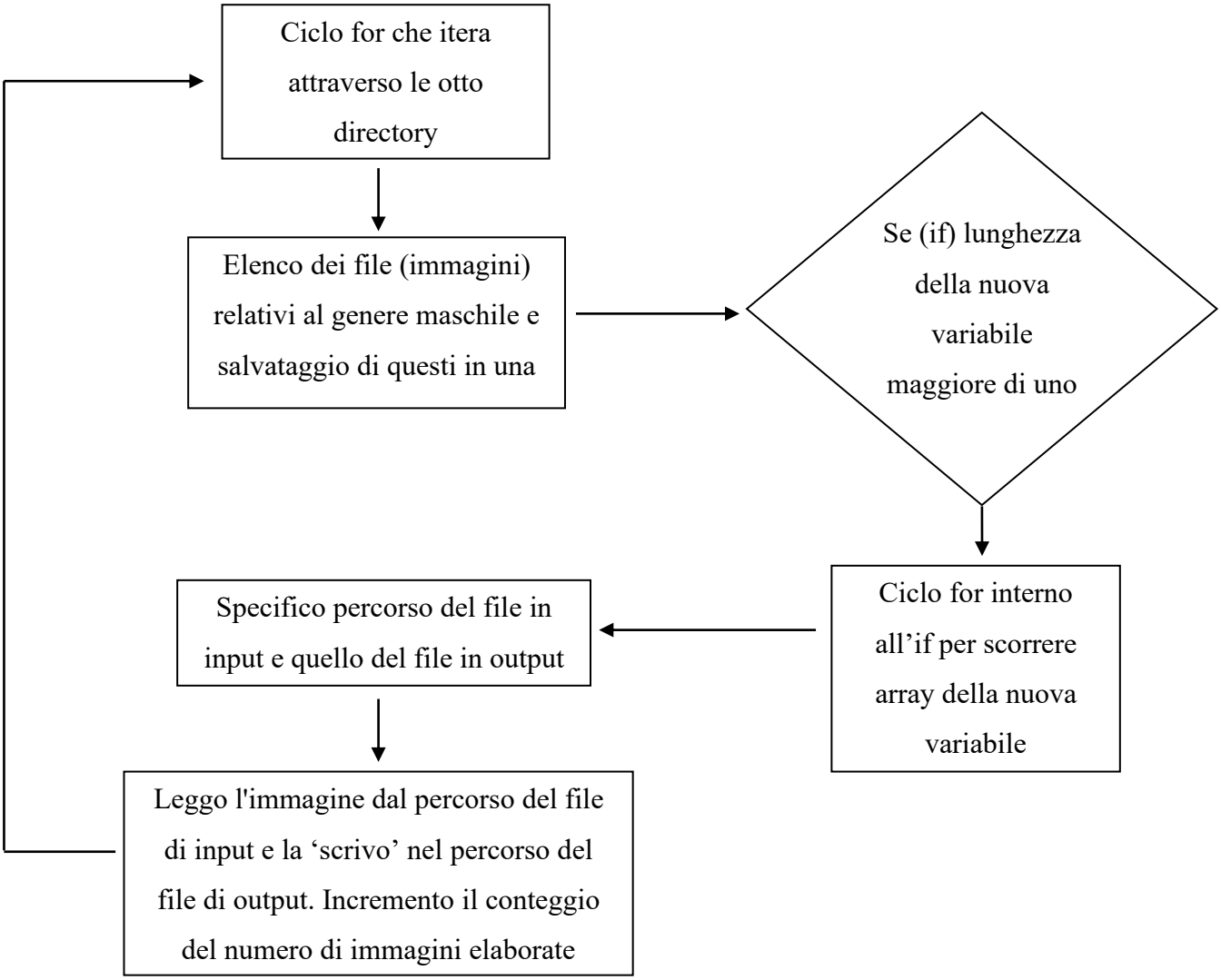
Fig. 27 - Interfaccia MATLAB

3.1.1 Programma di ridenominazione delle immagini

Il primo programma implementato è quello di 'rename', utile per poter assegnare un nuovo nome a ciascuna immagine acquisita. Tale programma, inoltre, ci permetterà di

rinumerare correttamente tutte le acquisizioni fatte e presenterà due parti: la prima costituita dal codice per la ridenominazione delle immagini relative al genere maschile e la seconda per le immagini del genere femminile. In realtà i codici delle due sezioni, che verranno compilate separatamente ma in sequenza, sono i medesimi se non per piccole variazioni. Ciascuna sezione utilizzerà due cicli for che permetteranno di lavorare su tutte le cartelle contenenti le immagini acquisite (8 in totale) scorrendole ciclicamente e di andare ad incrementare il conteggio di ciascuna immagine riordinata e salvata in un'unica nuova cartella (quindi si passerà dalle 8 cartelle iniziali ad un'unica directory finale). La nuova cartella, sulla quale verranno salvate tutte le immagine su cui il programma è stato applicato, deve essere creata prima dell'implementazione in MATLAB in maniera tale da poter inserire nel codice il suo percorso.

Verrà presentato un flow chart riguardante il programma che elaborerà i diversi file di immagini, appartenenti al genere maschile, presenti nelle otto diverse directory.



Una volta presentato il diagramma di flusso del programma di ‘rename’, si andranno ad analizzare i comandi utilizzati e le funzioni scelte all’interno del codice implementato in MATLAB.

```
count = 1;
for jj = 1:8
    filenm = dir(['F:\Acq_Grilli_buffer\' num2str(jj) '\maschi*.*']);
    filenm = filenm(3:end);
```

La prima riga di codice inizializza una variabile count per tenere traccia del numero di file immagine che vengono elaborati e parte da uno. Successivamente viene implementato il primo ciclo for che utilizza il contatore ‘jj’ che va da uno ad otto, il che significa che itera attraverso le directory contenti le immagini che sono etichettate da 1 a 8. La funzione ‘dir’ serve invece ad elencare i file corrispondenti al pattern ‘\maschi*.*’ nella directory ‘F:\Acq_Grilli_buffer\’. Il risultato viene memorizzato nella variabile ‘filenm’ e il codice suddivide l’array di tale variabile dal terzo elemento fino alla fine. Questo viene fatto per escludere i primi due elementi, che in genere sono la directory corrente e la directory padre. Come è possibile notare in questa prima parte del codice si tiene conto solamente del genere maschile perché l’operazione di ridenominazione verrà fatta separatamente per i due generi. Per il genere femminile verrà ripetuto lo stesso codice andando semplicemente a sostituire il termine ‘maschi’ con il termine ‘femmine’.

```
if length(filenm) > 1

for kk = 1:length(filenm)
    fname_in = ['F:\Acq_Grilli_buffer\' num2str(jj) '\' filenm(kk).name];

    fname_out = ['F:\Acq_Grilli_buffer\images\maschi' num2str(count) '.jpg'];

    A = imread(fname_in);
    imwrite(A,fname_out);
    count = count +1;

end
```

La seconda parte del codice viene eseguita solamente se la condizione espressa dalla funzione ‘if’ è vera. In particolare controlla se c'è più di un file nella directory: se c'è un solo file o non ne è presente alcuno, il codice all'interno del blocco if non verrà eseguito

per quella directory. Qualora, invece, la condizione espressa dall'if risulti essere vera si va ad implementare un secondo ciclo for (interno al ciclo presente nella prima parte) che utilizza come contatore 'kk' e scorre l'array 'filenm' dalla prima fino alla sua ultima componente (tramite la funzione 'length'). Vengono poi definiti due percorsi:

- 'fname_in' è costruito come percorso del file di input (ottenuto concatenando il percorso della directory, su cui si sta applicando il ciclo for, con il nome del file da filenm(kk).name)
- 'fname_out' è costruito come percorso del file di output utilizzando la variabile count per generare un nome file univoco ('maschi1.jpg', 'maschi2.jpg', ecc.). Le immagini elaborate verranno salvate nella directory 'F:\Acq_Grilli_buffer\images'.

Successivamente la funzione 'imread' legge l'immagine dal percorso del file in input e la salva nella generica variabile 'A', mentre la funzione 'imwrite' salva l'immagine contenuta in 'A' nel percorso del file di output (specificato da 'fname_out'). Infine viene incrementata la variabile 'count' fondamentale per tener traccia del numero di immagini elaborate.

Nel complesso, il codice mira a trovare file immagine con il nome pattern '\maschi*.*' nelle directory da 1 a 8 sotto il percorso 'F:\Acq_Grilli_buffer\' (dove sono presenti tutte le acquisizioni), quindi salva queste immagini nella directory 'F:\Acq_Grilli_buffer\images' con nomi di file come 'maschi1.jpg', 'maschi2.jpg' e così via.

Analogamente verrà fatto con il genere femminile e una volta ridenominate tutte le immagini acquisite verranno aggiunte tre righe di codice molto importanti soprattutto nel processo di elaborazione che verrà presentato nel capitolo successivo.

```
imshow(A)
bwA = im2bw(A);
figure
```

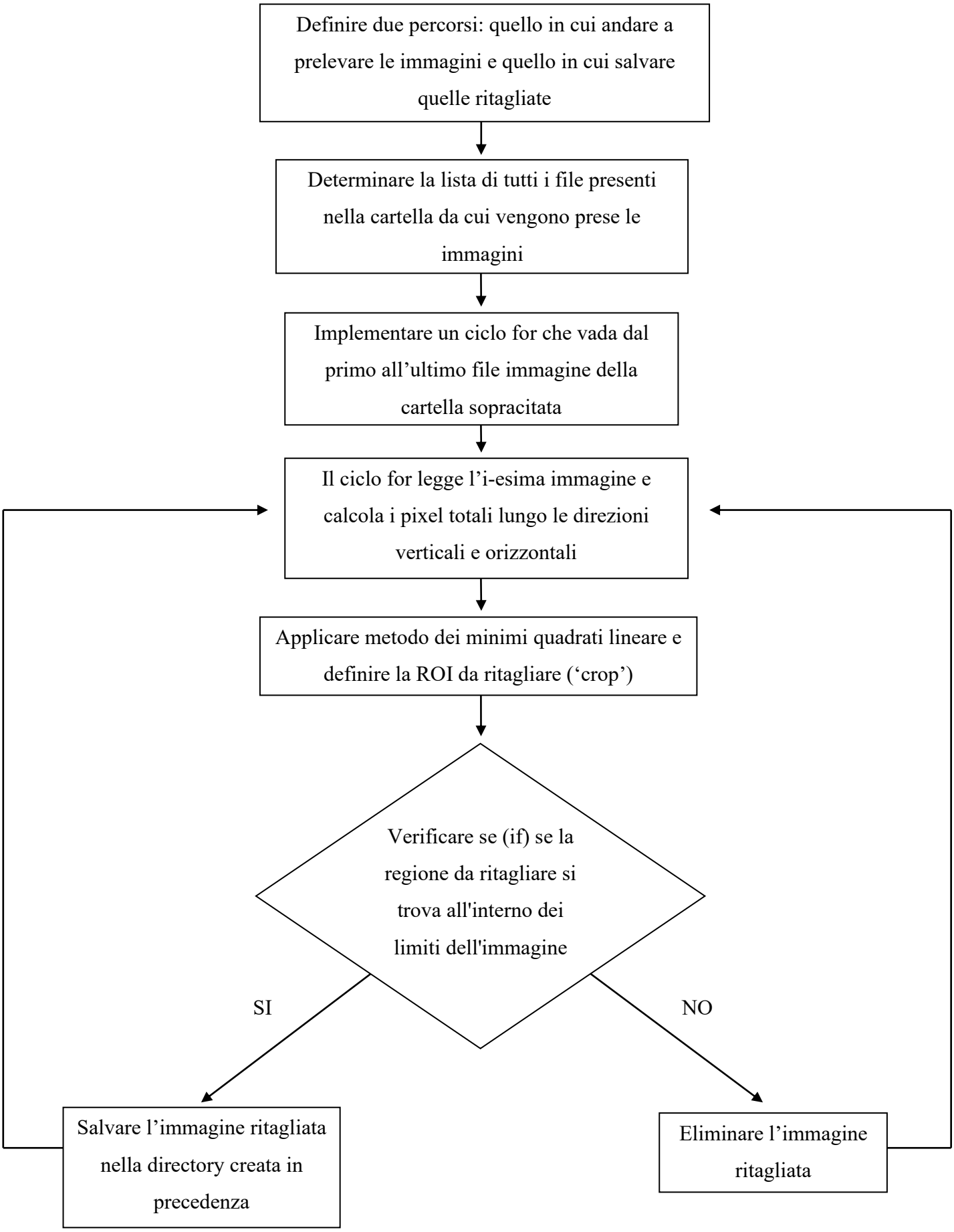
La funzione 'imshow' permette di visualizzare l'immagine che era stata precedentemente salvata nella variabile 'A' mentre la funzione 'im2bw' trasforma l'immagine in un'immagine binaria, in bianco e nero. Tale conversione avviene tramite l'utilizzo di una soglia (theshold), ovvero un valore compreso tra 0 e 1 che determina il cutoff per la trasformazione. I pixel con valori di intensità maggiori o uguali alla soglia verranno

impostati su bianco (1) e i pixel con valori di intensità inferiori alla soglia verranno impostati su nero (0).

3.1.2 Programma di eliminazione delle immagini

Il secondo programma implementato, grazie all'ausilio del software MATLAB, permette di ritagliare tutte le immagini acquisite andando a mantenere solamente l'area in cui è contenuto il campione di grillo. Tale area prende il nome di ROI, ovvero Region of Interest. Quindi, dopo aver ridenominato e trasformato in bianco e nero le immagini acquisite, servirà andare ad eliminare tutte le immagini che non siano interamente contenute nel campo visivo della camera o in cui il soggetto acquisito si trovi ai bordi dell'area di acquisizione. Servirà implementare un programma che crei un rettangolo interattivo in posizione predefinita su ogni immagine e in modo tale che quest'ultimo contenga il campione di grillo acquisito, che rappresenta appunto la ROI (la regione di interesse). La modalità con la quale è possibile operare è quella che utilizza la scala dei grigi. Quest'ultima permette di delimitare i contorni della ROI grazie alla possibilità di assegnare ai pixel dell'immagine un valore (compreso tra 0 ad 1) in base all'intensità di grigio del pixel stesso. In particolare le aree esterne alla regione di interesse saranno molto chiare, vicine al colore bianco con valore del pixel tendente a 0, mentre invece l'area contenente l'immagine del grillo ha colorazione tendente al nero e con valore del pixel di 1. Muovendosi, da destra verso sinistra (e viceversa) e dall'alto verso il basso (e viceversa), sull'immagine che si sta analizzando si avrà la possibilità di andare ad identificare i contorni della ROI in corrispondenza dei primi pixel neri (alta intensità di grigio) che vengono individuati dopo una schiera di pixel bianchi (bassa intensità di grigio). Una volta definito il rettangolo interattivo, diverso per ogni immagine, sarà compito del programma andare ad eliminare quelle immagini in cui il campione di grillo non sia completamente contenuto nel riquadro e salvare, invece, le altre ritagliate in una nuova cartella. In questa maniera sulle 5000 acquisizioni fatte si avranno 3600 immagini di buona qualità, senza sfocature e con alta risoluzione.

Verrà presentato un flow chart riguardante il programma che analizzerà e ritaglierà le diverse immagini acquisite, andando poi ad eliminare quelle in cui il soggetto di misura non sia completamente contenuto all'interno della ROI individuata.


Definire due percorsi: quello in cui andare a prelevare le immagini e quello in cui salvare quelle ritagliate
Determinare la lista di tutti i file presenti nella cartella da cui vengono prese le immagini
Implementare un ciclo for che vada dal primo all'ultimo file immagine della cartella sopracitata
Il ciclo for legge l'i-esima immagine e calcola i pixel totali lungo le direzioni verticali e orizzontali
Applicare metodo dei minimi quadrati lineare e definire la ROI da ritagliare ('crop')
Verificare se (if) se la regione da ritagliare si trova all'interno dei limiti dell'immagine
SI
NO
Salvare l'immagine ritagliata nella directory creata in precedenza
Eliminare l'immagine ritagliata

Una volta presentato il diagramma di flusso del programma di ‘crop’, si andranno ad analizzare i comandi utilizzati e le funzioni scelte all’interno del codice implementato in MATLAB.

```
% Directory delle immagini
img_dir = 'F:\Acq_Grilli_buffer\images\';
mod_dir = 'F:\Acq_Grilli_buffer\img_cropped\'
roi_dim = 640;
```

Nelle prime righe di codice vengono definiti due percorsi di directory: ‘img_dir’ è il percorso in cui si trovano le immagini originali, mentre ‘mod_dir’ è il percorso in cui verranno salvate le immagini ritagliate. Il valore associato alla variabile ‘roi_dim’ rappresenta la dimensione del rettangolo che verrà ritagliato dall'immagine.

```
% Ottieni la lista di tutte le immagini nella cartella
img_list = dir(fullfile(img_dir, '*.jpg'));
```

La funzione ‘dir’ viene utilizzata per ottenere una lista di tutti i file con estensione ".jpg" nella cartella specificata in ‘img_dir’.

```
% Loop attraverso tutte le immagini nella cartella
for ii = 1:numel(img_list)
    % Leggi l'i-esima immagine
    img_path = fullfile(img_dir, img_list(ii).name);
    img = imread(img_path);

    sx = sum(img,2);
    sy = sum(img,1);
```

Successivamente viene implementato un ciclo for che iteri attraverso un elenco di immagini, legga ciascuna immagine e quindi calcoli le somme dei valori dei pixel lungo le righe (sx) e le colonne (sy) dell'immagine. In particolare la prima parte del loop utilizza un contatore ‘ii’ esegue un’iterazione sugli elementi dell'array ‘img_list’ (la funzione ‘numel’ restituisce il numero di elementi nell'array). All’interno del ciclo si accede al nome dell’immagine in posizione ‘ii’ nell’elenco e si costruisce il percorso completo dell'immagine combinando ‘img_dir’ (la directory delle immagini) con il nome dell'immagine. La funzione ‘imread’ permette di leggere l’immagine dal percorso

specificato (‘img_path’) e la memorizza nella variabile ‘img’. Dopo aver letto l’immagine il codice calcola due somme:

- sx = sum(img, 2) calcola la somma dei valori dei pixel lungo ciascuna riga dell'immagine. Il risultato è memorizzato nella variabile sx.
- sy = sum(img, 1) calcola la somma dei valori dei pixel lungo ciascuna colonna dell'immagine. Il risultato è memorizzato nella variabile sy.

```
% Set up fittype and options.
    ft = fittype( 'poly2' );
    opts = fitoptions( 'Method', 'LinearLeastSquares' );
    opts.Robust = 'LAR';

    % Fit model to data.
    [fitresult_x, gof] = fit( (1:length(sx))', sx, ft, opts );
    res_x=sx-fitresult_x(1:length(sx));
    [m,ind_x] = min(res_x);
    [fitresult_y, gof] = fit( (1:length(sy))', sy', ft, opts );
    res_y=sy'-fitresult_y(1:length(sy));
    [m,ind_y] = min(res_y);
```

La seconda parte del ciclo for permette di adattare un modello polinomiale di secondo grado alle somme dei valori dei pixel delle immagini, sia lungo le righe che lungo le colonne, inoltre calcola le deviazioni residuali e gli indici associati ai minimi di tali deviazioni. La funzione ‘fittype’ definisce il tipo di modello di adattamento come un polinomio di secondo grado, mentre ‘fitoptions’ imposta le opzioni per l’adattamento del modello utilizzando il metodo dei minimi quadrati lineari. La sigla ‘LAR’ identifica specificatamente il metodo robusto di adattamento dei minimi quadrati lineari con l’ausilio della regressione lineare dei minimi scarti. Nella seconda sezione (‘Fit model to data’) si adatta il modello polinomiale di secondo grado ai dati delle somme lungo le righe (‘sx’) tramite la funzione ‘fit’. Si calcolano poi, le deviazioni residuali tra i dati originali e i valori stimati dal modello per le somme lungo le righe e si salvano i risultati nella variabile ‘res_x’. Successivamente la funzione ‘min’ trova il valore minimo e l’indice corrispondente nella deviazione residua lungo le righe. Analogamente vengono ripetute le medesime righe di codice per le colonne (‘sy’) al fine di andare ad identificare il pixel (tramite l’utilizzo dell’indice ottenuto sia lungo le righe che lungo le colonne) in cui si abbia una gradazione di grigio più scura rispetto ai precedenti, tale da identificare la

presenza del campione di grillo acquisito. In questa maniera sarà possibile individuare la ROI da ritagliare in quanto già precedentemente ne erano state definite le dimensioni (‘roi_dim = 640’) ed ora ne sono stati individuati i vertici.

```
% crop image

 if ind_x-roi_dim > 0 && ind_x+roi_dim-1 < length(sx) && ind_y-roi_dim > 0 &&
    ind_y+roi_dim-1 < length(sy)

    img_crop = img(ind_x-roi_dim:ind_x+roi_dim-1,ind_y-roi_dim:ind_y+roi_dim-1);

% Salva l'immagine nella nuova cartella

        mod_path = fullfile(mod_dir, img_list(ii).name);
        imwrite(img, mod_path);

 end

end
```

Nell’ultima parte del ciclo for viene eseguito il ritaglio dell’i-esima immagine in base agli indici minimi trovati precedentemente (‘ind_x’ e ‘ind_y’) e viene poi salvata l'immagine ritagliata in una nuova cartella. Il ritaglio dell’immagine avviene solo se risulta essere vera la condizione posta nell’if clauses. La condizione verifica se è possibile eseguire il ritaglio dell'immagine senza eccedere i limiti dell'immagine stessa e ‘roi_dim’ rappresenta, appunto, la dimensione della regione di interesse (ROI) da ritagliare attorno al punto minimo trovato precedentemente. Se la condizione è soddisfatta, il codice esegue il ritaglio dell'immagine utilizzando l'operatore di indicizzazione ‘img(ind_x-roi_dim:ind…….)’. L'immagine ritagliata viene quindi salvata in una nuova cartella utilizzando la funzione ‘fullfile’ per creare il percorso completo in cui salvare l'immagine (‘mod_path’) e la funzione ‘imwrite’ per salvare effettivamente l'immagine nel path implementato.

4. CONCLUSIONI

4.1 Considerazioni finali

La campagna sperimentale presentata in questa tesi ha riguardato l'acquisizione di immagini ad alta risoluzione di 1000 campioni di '*acheta domesticus*' suddivisi per genere. L'ottenimento di immagini di alta qualità è stato reso possibile dall'utilizzo di un teleobiettivo non grandangolare che evitasse vignettature e soprattutto sfocature ai bordi oltre che da un'illuminazione diffusa fornita da un Dome Led. Alla base del processo di acquisizione c'era la necessità di individuare l'ovopositore, ovvero la componente anatomica che differenzia i due generi di grillo domestico. Grazie ad un accurato utilizzo dei dispositivi di acquisizione il lavoro sperimentale ha dato i risultati attesi, in quanto su un totale di 5000 immagini raccolte solamente un quinto sono state scartate per problemi di illuminazione, sfocatura o non corretto posizionamento del campione da misurare al centro del campo di osservazione. Inoltre in ogni immagine si è ottenuto un livello di contrasto tale da poter ben evidenziare la prominenza presente solamente nei generi femminili legata alla presenza dell'ovopositore.

La necessità di acquisire 5 immagini per ogni campione di grillo nasce da quello che è stato poi il successivo utilizzo dai dati raccolti. Infatti le immagini sono state utilizzate per allenare una rete neurale a riconoscere i due diversi generi di '*acheta domesticus'* basandosi solamente sulla presenza o meno dell'ovopositore. Il Machine Learning (o apprendimento automatico) è una variante alla programmazione tradizionale nella quale in una macchina si predispone l'abilità di apprendere qualcosa dai dati in maniera autonoma, senza istruzioni esplicite. E' quindi evidente che per permettere alla rete di avere un buon numero di campioni e dati su cui lavorare fosse necessario acquisire immagini del medesimo campione anche in diverse posizioni. In particolare in questo caso è stato utilizzato un approccio di Machine Learning supervisionato ('labeling') in cui l'algoritmo apprendeva da un set di dati già etichettato e con un output predefinito, ovvero in cui a ciascuna immagine veniva prima assegnato il genere e poi veniva data in ingresso alla 'black box'. Il risultato ottenuto è stato di buon livello anche grazie alle ottime immagini realizzate durante il lavoro presentato in questa tesi e ai programmi MATLAB atti a selezionare solo le immagini di maggior qualità. L'unica miglioria apportabile riguarda la luminosità, in quanto il programmatore che si è occupato dell'implementazione della rete neurale ha riscontrato che le immagini risultassero leggermente poco luminose ('scure').

4.2 Raccomandazioni per studi futuri

In questa tesi è stata definita e descritta una procedura sperimentale di acquisizione delle immagini e di elaborazione dei dati acquisiti che non aveva alcun progetto precedente su cui basarsi. Pertanto, per una ancor migliore riuscita, è bene rendere noti quelli che sono i dettagli del lavoro svolto, proponendo anche alcuni pratici consigli. Per prima cosa si suggerisce di compiere la campagna di acquisizione delle immagini in intervalli di tempo tra loro separati, permettendo alla telecamera di non surriscaldarsi troppo andando incontro a possibili risultati indesiderati o non ottimali. Quindi dopo alcuni campioni acquisiti è bene disconnettere la telecamera e lasciarla raffreddare, ricordando sempre che, grazie al programma implementato in LabVIEW, il conteggio ripartirà esattamente dal campione a cui si era arrivati. Gli intervalli di tempo di cui si è parlato però, non devono essere suddivisi su più di due giornate di lavoro. Il motivo è molto semplice ed è legato al fatto per cui, pur essendo congelato, l'esemplare di grillo tende a perdere la sua forma naturale e tende a degradarsi, non essendo così più adatto per le acquisizioni. Altrettanto importante è cercare di mantenere i campioni in luoghi freddi e asciutti, in quanto uno sbalzo termico significativo potrebbe far sì che il grillo riacquisisca, seppur limitatamente, la sua mobilità, rendendo la realizzazione delle immagini molto complessa. Alla base del processo c'è anche la capacità di saper riconoscere il genere del campione da acquisire e per questo motivo è stato molto importante l'ausilio di una biologa, che grazie alla sua esperienza e competenza ha reso il lavoro più rapido e certosino. Sempre in funzione di quello che è il campione e la sua delicatezza, è bene maneggiarlo con apposite pinzette da laboratorio di biologia che evitano di esercitare troppa pressione sull'esemplare di grillo domestico. L'ultimo accorgimento da considerare riguarda il rivestimento bianco, fatto con un generico foglio di carta A4, del sollevatore da laboratorio su cui si va a posizionare il campione di grillo. Lo sfondo bianco permette un contrasto maggiore con il grillo domestico in quanto si sta lavorando con immagini in scala di grigi ed è bene che il foglio sia il pulito possibile, infatti per questo motivo lo si va a sostituire dopo un certo numero di acquisizioni. Infine come è stato affermato nel paragrafo precedente, per ottenere dei risultati ancora migliori, occorre andare a modificare la luce emessa dal Dome Led per ottenere immagini ancora più luminose di quelle ottenute nel processo di acquisizione presentato in questa tesi.

INDICE DELLE FIGURE

Fig. 1 - Rappresentazione schematica della differenza di ombre create da una sorgente puntiforme.…….3

Fig. 2 - Esemplare femminile di *acheta domesticus*……..6

Fig. 3 - Esemplare maschile di *acheta domesticus*…….6

Fig. 4 - I tre parametri dell'esposizione fotografica……...8

Fig. 5 - Telecamera utilizzata per le acquisizioni da due diverse prospettive.....11

Fig. 6 - Obiettivo per le acquisizioni 'COMPUTAR M2518-MPW2'…….13

Fig. 7 - Obiettivo per le acquisizioni 'COMPUTAR M2518-MPW2' dall'alto……..13

Fig. 8 - PoE……...14

Fig. 9 - Immagine del Dome Led utilizzato in laboratorio……...16

Fig. 10 - Immagine del regolatore di intensità luminosa del Dome Led……..17

Fig. 11 - Disposizione del sollevatore a vite e del Dome Led……..18

Fig. 12 - Disposizione della strumentazione di misura con relative distanze……..19

Fig. 13 - Immagine raffigurante la strumentazione di misura attiva……20

Fig. 14 - Esempio di interfaccia NI-MAX……...22

Fig. 15 - Esempio di Pannello Frontale in LabVIEW.....23

Fig. 16 - Esempio di schema a blocchi LabVIEW……...24

Fig. 17 - Programma LabVIEW utilizzato per le acquisizioni…….26

Fig. 18 - Prima parte del programma implementato in LabVIEW……...27

Fig. 19 - Seconda parte del programma implementato in LabVIEW……...28

Fig. 20 - Terza parte del programma implementato in LabVIEW……...28

Fig. 21 - Path associato a ciascuna immagine acquisita……...29

Fig. 22 - Quarta parte del programma implementato in LabVIEW…….29

Fig. 23 - Immagini relative ai settaggi selezionati sulla telecamera di acquisizione.....30

Fig. 24 - Quinta parte del programma implementato in LabVIEW…….31

Fig. 25 - Tabella della verità dell'OR……..32

Fig. 26 - Focus su pannello frontale di LabVIEW……...34

Fig. 27 - Interfaccia MATLAB……36

INDICE DEI GRAFICI

Grafico 1 - Flow chart relativo al programma di acquisizione delle immagini……...25

Grafico 2 - Flow chart relativo al programma di ridenominazione delle immagini acquisite……37

Grafico 3 - Flow chart relativo al programma di ritaglio e eliminazione delle immagini acquisite……41

BIBLIOGRAFIA

[1] S. Sontag, “Sulla fotografia”, ed. Einaudi, Febbraio 2004

[2] C. Zarpellon, P. Tenti, “Proprietà illuminotecniche delle lampade a led”, Università degli studi di Padova, Settembre 2010

[3] A. Servadei, S. Zangheri, L. Masutti, “Entomologia generale ed applicata”, Padova, CEDAM, 1972

[4] D. Harman, L. Stellato, “Manuale di fotografia digitale”, ed. Contrasto, Settembre 2013

[5] G. Santagata, “L’esposizione in fotografia”, Corso di fotografia Istituto Italiano di Fotografia di Milano, 2019

[6] “Teledyne DALSA catalog”, Teledyne Technologies, Canada, 2023

[7] “Computar Lens Catalog”, CBC AMERICA Group certified by ISO company, Torrance (California), 2022

[8] SCHAEFER-TEC ITALIA, “Catalogo Sorgenti Luminose”, Rovigo, 2020

[9] Peter H. Kerr, Eric M. Fisher, Matthew L. Buffington, “Dome lighting for insect imaging under a microscope”, American Entomologist, Volume 54, Issue 4, pagg. 198–200, Novembre 2008

[10] NI-MAX. ‘MAX 18.0’ (versione 2018). Austin, Texas, Stati Uniti, National Instruments, 2018. Available: ‘NI-MAX Download’ on ni.com

[11] LabVIEW. ‘18.0’ (versione maggio 2018). Austin, Texas, Stati Uniti, National Instruments, 2018. Available: ‘LabVIEW Download’ on ni.com

[12] MATLAB. ‘9.7.0.1190202’ (R2022b). Natick, Massachusetts: The MathWorks Inc.; 2018. Available: www.mathworks.com