

2 : сб. материалов VI Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 20-21 мая 2020 г. / ред. кол.: В. А. Богуш. – Минск : Бестпринт, 2020. – С. 350-361.

3. Залого, А. Ю. Аффинитивный анализ данных. Поиск ассоциативных правил / А. Ю. Залого, Н. В. Марковская // BIG DATA Advanced Analytics = BIG DATA и анализ высокого уровня : в 2 ч. Ч. 2 : сб. материалов V Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 13-14 марта 2019 г. – Минск : БГУИР, 2019. – С. 20-26.

УДК 004.89

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА БАКТЕРИЙ *BACILLUS THURINGIENSIS* НА ИЗОБРАЖЕНИЯХ ПОЛУЧЕННЫХ С ПОМОЩЬЮ ЦИФРОВОГО МИКРОСКОПА**

*Ю. С. Башаримов*

*Гомельский государственный технический университет, Гомель, Беларусь  
Научный руководитель: К. С. Курочка, канд. техн. наук, доцент*

### **Введение.**

*Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* – это бактерия, которая вырабатывает токсин, убивающий некоторых насекомых, особенно гусениц бабочек и молей. [1] Она используется как биологический пестицид для борьбы с вредителями на сельскохозяйственных культурах и лесах, который нуждается в количественной оценке.

Качество обработки напрямую связано с количеством бактерий, так как оно влияет на эффективность и безопасность биологического пестицида, а также на срок его хранения и применения. Не корректная концентрация бактерий для обработки может быть опасной для жизни и здоровья людей и животных, а также для окружающей среды.

Если концентрация бактерий слишком низкая, то она может не обеспечить достаточную эффективность биологического пестицида и не уничтожить вредителей, которые могут повредить урожай или распространить инфекции. Если концентрация бактерий слишком высокая, то она может привести к избыточному загрязнению почвы и воды, а также к риску интоксикации или аллергических реакций у людей и животных, которые контактируют с обработанными растениями или продуктами.

Поэтому важно соблюдать рекомендованные дозы и способы применения бактерий для обработки, а также контролировать их концентрацию с помощью специальных методов и оборудования.

**Способы подсчёта бактерий.** Существует несколько способов подсчёта бактерий, в зависимости от цели, типа и концентрации бактерий, квалификации персонала, а также доступности оборудования и реактивов. Ниже приведены наиболее распространённые способы подсчёта бактерий.

Подсчёт в счётной камере заключается в непосредственном подсчёте клеток бактерий под микроскопом с использованием специального предметного стекла с нанесённой сеткой. Этот способ прост, быстр и дешёв, но имеет низкую точность и не различает живые и мёртвые клетки.

Метод титра. Этот способ заключается в серийном разведении образца бактерий и посеве его на селективные питательные среды. Затем подсчитывают количество колоний, выросших на каждом разведении, и определяют концентрацию бактерий в исходном образце. Этот способ точен и позволяет учитывать только жизнеспособные клетки, но требует много времени, материалов и условий стерильности.

Нефелометрия – измерение светорассеяния бактериальной взвеси при прохождении через неё луча света. Чем больше концентрация бактерий, тем больше светорассеяние. Этот способ быстр и не требует разведения образца, но имеет низкую чувствительность и не учитывает жизнеспособность клеток.

Подсчёт жизнеспособных при использовании специальных реактивов, которые окрашивают только живые клетки бактерий, а мёртвые остаются без окраски. Затем подсчитывают количество окрашенных и неокрашенных клеток под микроскопом или с помощью автоматического счётчика. Этот способ точен и позволяет определить жизнеспособность клеток, но требует дорогих реактивов и оборудования.

Не каждый сельскохозяйственный деятель, особенно мелкий может самостоятельно подсчитать количество бактерий. Поскольку методы подсчёта дорогие, сложные, так как они требуют специального оборудования, реактивов, времени и условий.

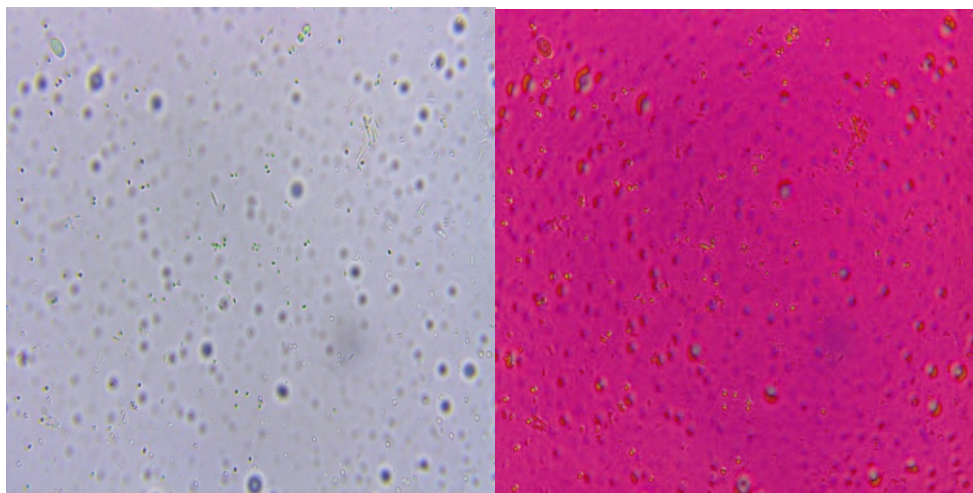
Поэтому предлагается использовать легковесное программное обеспечение на основе пороговых фильтров, которое не требует специальных условий и оборудования кроме цифрового микроскопа и позволит в полевых условиях подсчитать количество бактерий.

**Пороговый фильтр.** Пороговый фильтр – это один из методов обработки изображений, который позволяет разделить пиксели изображения на две группы по заданному уровню яркости (порогу) и присвоить им разные цвета [2]. Пороговый фильтр может помочь выделить интересующие объекты на изображении на фоне других объектов. Пороговый фильтр может быть простым или сложным, в зависимости от того, как выбирается порог и какие цвета присваиваются пикселям. Пороговый фильтр может быть полезным для анализа, сегментации, классификации или распознавания изображений в разных областях науки и техники [3, 4].

Пороговый фильтр может быть использован для выделения и подсчёта бактерий *Bacillus thuringiensis* из изображений микроскопа. Для этого необходимо выбрать такой порог, чтобы бактерии были хорошо видны на изображении, а затем подсчитать количество пикселей, соответствующих бактериям.

Для этого был написан пороговый фильтр на языке Python с использованием библиотеки OpenCV.

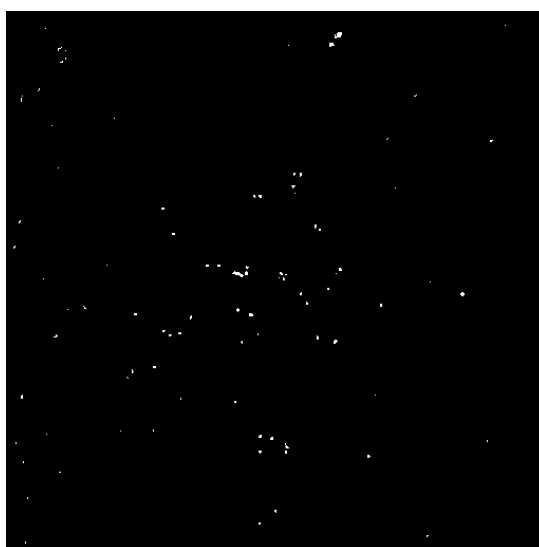
Преобразует исходные изображения с цифровой камера для микроскопа Levenhuk 510 из цветового пространства BGR (рисунок 1 слева), используемого по умолчанию в OpenCV, в HSV (рисунок 1 справа), которое лучше подходит для работы с цветами.



*Рисунок 1 – Исходное изображение и преобразованное в HSV*

Далее определяем диапазон зелёного цвета, который соответствует бактериям, который содержит три значения: оттенок (hue), насыщенность (saturation) и яркость (value) в диапазоне от 0 до 255. Диапазон зелёного цвета был выбран экспериментально, основываясь на визуальном анализе изображений микроскопа.

Создаём маску (рисунок 2) для зелёного цвета, которая будет содержать только пиксели, попадающие в заданный диапазон, а маска – это бинарное изображение, где белые пиксели соответствуют интересующему цвету, а черные – фону.



*Рисунок 2 – Маска*

После подсчитываем количество ненулевых пикселей в маске, которое соответствует площади бактерий возвращая число, равное количеству белых пикселей в маске.

Далее считаем площадь и количество бактерий, предполагая, что одна бактерия занимает примерно 5 пикселей. Это предположение основано на среднем размере бактерии, который составляет около 1 мкм, и разрешении изображения микроскопа, которое составляет около 0.2 мкм на пиксель.

**Заключение.** Таким образом, использование порогового фильтра представляет собой эффективный, быстрым, точным и дешевый, метод выделения бактерий *Bacillus thuringiensis* на изображениях микроскопа. Этот подход может значительно упростить и ускорить процесс анализа бактерий, а также не требовать специальных условий и оборудования.

В ходе данного процесса, изображения, полученные с помощью микроскопа, подвергаются обработке с использованием порогового фильтра. Этот фильтр преобразует изображение таким образом, что пиксели, значения которых не входят в диапазон, становятся черными, а нужные пиксели становятся белыми.

Результатом является бинарное изображение, на котором бактерии *Bacillus thuringiensis* хорошо видны на фоне. Это изображение затем можно использовать для дальнейшего анализа, такого как подсчёт количества бактерий или измерение их размеров.

### Список литературы

1. Sedlackova, V. The detection and quantification of *Bacillus thuringiensis* spores from soil and swabs using quantitative PCR as a model system for routine diagnostics of *Bacillus anthracis* / V Sedlackova, R Dziedzinska, V Babak, P Kralik – J Appl Microbiol. – 2017. P. 116-123
2. Guruprasad P. Overview of different thresholding methods in image processing / Guruprasad P. – TEQIP Sponsored 3rd National Conference on ETACC – 2020.
3. Kurochka K., Panarin K. Algorithm for real-time binary classification of adenomas and norms images obtained by confocal microscopy //15th International Conference Mechatronic Systems and Materials, MSM 2020. – 2020. – С. 9202107-9202107.
4. Kurachka K. S., Tsalka I. M. Vertebrae detection in X-ray images based on deep convolutional neural networks //2017 IEEE 14th International Scientific Conference on Informatics. – IEEE, 2017. – С. 194-196.