#### How to generate stereoscopic images using focus bracketing

### Stereoskopische Bilder basierend auf Fokus-Bracketing





microbial-world.com

Heribert Cypionka Workshop ISU Congress Lübeck 2019



Bracketing: Shoot the same subject multiple times, automatically varying the exposure settings for each image. Bracketing: Belichtungsreihe mit automatisch variierten Aufnahmeeinstellungen.

Focus bracketing: Focusing series, sequence from close to far

Why focus stacking?

- $\rightarrow$  Highest resolutiom
- $\rightarrow$  Higher depth of focus

Fokus-Bracketing: Fokussierreihe, Sequenz von nah nach fern

Weshalb Fokus-Stacking?

- → Höchste Auflösung
- → Höhere Schärfentiefe

## What I am using / Was ich benutze



Raynox

MT-250

N TUBE DG 10mm

CTEANS, AT BI - 1 ST







### Lumix GX80 Lumix G9

Q focus bracketing

G Suchen mit Google

focus bracketing sony focus bracketing olympus focus bracketing nikon focus bracketing panasonic focus bracketing canon focus bracketing fuji

1x, 2x, 4x microscopic lenses  $\infty$ -corrected, Adapter: RMS $\rightarrow$  52mm

## Useful helpers / Nützliche Helfer



#### Rail slider / Fokussierschiene



Adjustable stage / Hebebühne



Helping hand / Dritte Hand



Positioning globe / Positionierkugel

#### What you do not need anymore $\odot$ / Was man alles nicht mehr braucht $\odot$









Working distances and image factors with various lens combinations					© Heribert Cypionka 2019		
Arbeitsabstände un	d Abbildung	smaßstäbe bei	verschiedenen L	insenkombinat	ionen		
µFT Cameras (Sens	or 17.31 x 1	2.98 mm^2)					
		-					
Objective	Focal length	Combination	Minimum distance	Depth range	Image width	Image factor	
Objektiv	Brennweite	Kombination	<b>Minimaler Abstand</b>	Arbeitstiefe	Bildweite	AbbMaßstab	
	mm		~cm	~cm	~cm		
Lumix Zoom 12-60							
	12		5.5	œ	11	~ 1:6	
	25		9	00	9		
	60		11	00	6	~ 1:4	
	60	+10 mm extension	4	20	3.5		
		+16 mm extension	2	10	3	~ 1:2	
	60	Raynox 250	5	7	3.2	~ 1:2	
Olympus Macro 60 mm	60		24	00	7	~ 1:4	
	60	10 mm extension	14	26	4	~ 1:3	
		16 mm extension	11	12	3.2	~ 1:2	
		26 mm extension	8.6	5.5	2.5		
		Raynox 250	7	5	2.5	~ 0.7 : 1	
		Raynox + 10 ext.	6	3	2		
		Raynox + 16 ext.	5	2.5	1.7	~ 1:1	
		Raynox + 26 mm	4	1.5	1.4		
Lumix Zoom 45-200	200		85	00	9	~ 1:5	
		+10 mm	66		6		
		+16 mm	60	> 2m	5.5	~ 1:3	
		Raynox	10.2	1.8	1.2	~ 1.4 : 1	
		Ray + 16mm	9.5	2.0	1		
		1x objective (∞ corr.)	2.8	2.8	1.3	~ 1.3 : 1	
		- · · · ·					
		2x objective (∞ corr.)	4.5	1.0	0.9	~2:1	
		4x Nikon Plan ∞	2.7	0.3	0.5	~4:1	

## Camera settings / Kamera-Einstellungen

- Mount camera with slider on stable tripod / Kamera mit Schiene auf stabilem Stativ montieren
- Silent electronic shutter, no image stabilizer/ Elektronischer Verschluss, geräuschlos, keine Bildstabiliserung
- Picture format 16:9 / Bildformat 16:9
- ISO 200, open aperture / ISO 200, offene Blende



Step size10Number of frames13Sequence0/+ (not -/0/+)

- Focus Bracketing: O/+ / Fokus-Bracketing: O/+
- Set step size (1 to 10) & number of frames (30 to 120) / Einstellung der Schrittgröße (1 bis 10) und Anzahl Schritte (30 – 120)

- Manual focus  $\rightarrow$  set to nearest possible position / Manueller Fokus  $\rightarrow$  auf den minimalen Nahpunkt setzen
- Place specimen a bit behind the nearest focus position / Objekt etwas hinter dem nächstmöglichen Fokuspunkt platzieren
- Take focus series #1 / 1. Fokussierreihe aufnehmen
- Shift camera on the slider by 20-30 % of image width / Kamera auf der Schiene um 20-30% der Bildweite verschieben
- Take focus series #2 / 2. Fokussierreihe aufnehmen
- Process images ... / Bildbearbeitung ...

# Image processing (1) / Bildbearbeitung (1)

- Check all images (e.g. with freeware FastStone Image viewer) / Alle Bilder prüfen (z.B. mit Freeware FastStone Image viewer)
- Delete fully unsharp images (first and last ones) /
  Durchgehend unscharfe (die ersten und letzten ) Bilder löschen
- Move the others into new folders / Die anderen in neue Verzeichnisse verschieben
- Start PICOLAY / PICOLAY starten :)

PICC	LAY (64 bit)	Version: 2019-08-04	(c) Heribert Cyp	ionka	
File	Image list	Stack operations	Options	Help	
0 file(s)					Set stacking parameters
					Noise suppression (030) 0
		Diana addimaa(a)			
Please add image(s)				Filter: Smart 🗹	
	(Fi	ile   Add image(s) or Ctrl-A	4)		Prefer high 🔄 / 🔄 low frames
					Align images 🗹 Test 4 filter settings 🗌
					1x ●  Auto-enhance □    Back  2x ○  Save depth map ✓

# Image processing (2) / Bildbearbeitung (2)

- PICOLAY:  $\rightarrow$  Stack operations  $\rightarrow$  Set Stacking parameters / PICOLAY  $\rightarrow$  Stapel-Operationen  $\rightarrow$  Stacking Parameter einstellen
- → [X] Align images (1x) & [X] Save depth map /
  → [X] Bilder ausrichten (1x) & [X] Tiefenkarte speichern

•	PICOLAY (64 bit) Version: 2019-08		PICOLAY Stack multiple subfolders	PICOLAY Stack multiple subfolders			×
File	Image list Add image(s) Clear list	Stack operation Strg+A Strg+C	Current folder: E:\Bilder\Mikroskop\2019\2019-07-17 1st level subfolders (un/mark by double-clicking or to	Select upper-level folder Toggle marks			
	Stack multiple subfolders			Help:			
	Save result as Save depth map as	Strg+S	[_] \/A12 [X] \/A2 [X] \/B1	This routine will perform stacking of images in first-level subfolders (not in the current folder)			
*	Print result window Exit PICOLAY	Strg+P Strg+Q	[_] \B12 [X] \B2 [_] \Originale	- Selected subfolders image files of one sta	bfolders shall contain only one stack.		

# Image processing (3) / Bildbearbeitung (3)

- → File → Stack multiple sub-folders → Select upperlevel folder / → Datei → Stacken von mehreren Unterverzeichnissen → Übergeordnetes Verzeichnis auswählen
- Double-click on [X] folders to be stacked  $\rightarrow$  Go / Doppelklick auf [X] Verzeichnisse, die gestapelt werden sollen  $\rightarrow$  Go

Image processing (4) / Bildbearbeitung (4)

- Stacking results are saved in the upper-level folder/ Die Stapel-Ergebnisse werden im übergeordneten Verzeichnis gepeichert
- Move pairs of results from corresponding stacks to a new folder / Korrespondierende Stapel-Ergebnisse in ein neues Verzeichnis kopieren...
- Retouch images with your favourite app, e.g.
  PICOLAY / Korrigieren Sie ggf. Bilder mit Ihrer
  Lieblings-App, z.B. PICOLAY
- Make a stereoscopic picture with Method 1 or 2 / Erzeugen Sie ein Stereobild mit Methode 1 oder 2



3D-Method 1 / 3D-Methode 1

1 Stacked Depth image map

- Use 1 stacked image & depth map / Verwendung von 1 Stapelbild & Tiefenkarte
- PICOLAY (Freeware) / PICOLAY (Freeware)



Left Right Stacked Stacked image image

# 3D-Method 2 / 3D-Methode 2

- Use a pair of 2 stacked images with camera shift / Verwendung von 2 Stapelbildern mit Kamera-Shift

- StereoPhoto Maker (Freeware) / StereoPhoto Maker (Freeware) Advantages of Method 1 / Vorteile von Methode 1

- Only 1 stack and 1x retouching needed / Nur 1 Stack und 1 x Bildkorrektur nötig
- No cropping due to camera shift / Kein Beschnitt wegen Kamera-Shift
- No discrepancies as found mostly between 2 stacks / Keine Unstimmigkeiten, wie oft zwischen 2 Stapeln
- Perfect 3D parameters parameters adjustable / Perfekte
  3D-Parameter einstellbar
- Particularly good at high image ratios / Besonders gut bei großen Abbildungsmaßstäben

Issues of Method 1 / Probleme mit Methode 1

- Far from neighbouring structures → depth map inaccurate / Ohne Strukturen in der Nähe → Tiefenkarte ungenau
- Overlapping details might cause interferences / Überlappende Feinstrukturen können Interferenzen erzeugen

# Alternative method

- 'Post focus' processing, might even include focus stacking

- Disadvantages: Based on 4k Video (mp4)  $\rightarrow$  Lower resolution, more light required (30 frames per s), no RAWs possible

## Alternative Methode

- Post-Fokus-Funktion, kann evtl. sogar Bilder stapeln

- Nachteile: Arbeitet mit 4 k Video (mp4)  $\rightarrow$  Geringere Auflösung, mehr Licht nötig (30 Bilder pro sec), RAW nicht möglich



Moving snail → Video-Stacking :)

See video-stacking workshop on www.picolay.de Announcements

 Invitation to visit the Microbiological Garden (2D, a few in 3D)

 Exhibition 'The smallest beauties of the ocean in 3D: Diatoms, Radioloria and Foraminifers' seeks suited places to be shown.

→ www.microbial-world.com

## Anzeigen

 Einladung in den Mikrobiologischen Garten (2D, ein wenig in 3D)

 Für die Ausstellung 'Die kleinsten Schönheiten des Meeres in 3D: Diatomeen, Radiolorien and Foraminiferen' suchen wir weitere geeignete Ausstellungsorte.

 $\rightarrow$  www.microbial-world.com



microbial-world.com



Impressum:

0002114



© Heribert Cypionka 2019 www.picolay.de www.microbial-world.com