

结合全局和局部灰度变化的显微图像自动聚焦函数

郑馨^{1,2}, 艾列富^{1,2}, 刘奎^{1,2}, 苏本跃^{1,2}

¹安庆师范大学计算机与信息学院, 安徽 安庆 246133;

²安徽省智能感知与计算重点实验室, 安徽 安庆 246133

摘要 显微图像自动聚焦的关键在于设计一个高灵敏度聚焦函数。由于显微图像细节多寡不确定, 传统的梯度函数对细节较少的图像的灵敏度不够高。针对该问题, 提出了一种结合全局和局部灰度变化的 VarGrad 显微图像自动聚焦函数。根据显微图像的特点, VarGrad 函数利用聚焦窗口将基于全局灰度变化的灰度方差函数与基于局部灰度变化的梯度函数有机结合, 无论图像细节是否丰富, 都呈现较高的灵敏度。实验利用两组细节丰富程度不同的外周血细胞图像序列对 VarGrad 函数进行了定量评估。实验结果表明, 与几种典型的聚焦函数相比, 在图像细节较丰富和图像细节较少两种情况下, VarGrad 函数在清晰度比率、陡峭度和清晰度变化率 3 种灵敏度指标上均提高了 30% 以上。

关键词 显微; 自动聚焦; 聚焦函数; 灵敏度

中图分类号 O439; TP391 **文献标识码** A

doi: 10.3788/LOP54.081801

Auto-Focusing Function for Microscopic Images Based on Global and Local Gray-Scale Variation

Zheng Xin^{1,2}, Ai Liefu^{1,2}, Liu Kui^{1,2}, Su Benyue^{1,2}

¹School of Computer and Information, Anqing Normal University, Anqing, Anhui 246133, China;

²Anhui Provincial Key Laboratory of Intelligent Perception and Computing, Anqing, Anhui 246133, China

Abstract The key to auto-focusing of microscopic images is to design a high sensitivity focusing function. Due to uncertainty of the details among different microscopic images, traditional gradient functions are less sensitive to less detailed images. To solve the problem, an auto-focusing function, VarGrad, combining global and local gray-scale variation, is proposed. According to the characteristics of microscopic images, VarGrad function combines the gray variance function based on global gray-scale variation with the gray gradient function based on local gray-scale variation by using focusing windows. The VarGrad function exhibits high sensitivity regardless of image detail. We carry out quantitative evaluation of the proposed VarGrad function using two different peripheral blood cell image sequences with different image details. The experimental results show that three sensitivity indices, sharpness rate, steepness, and rate of change of sharpness, are improved by over 30% for detailed images and less detailed images, compared with that of several traditional typical focusing functions.

Key words microscopy; auto-focusing; focusing function; sensitivity

OCIS codes 180.5810; 100.2000; 110.1085

1 引言

显微镜作为一种光学仪器, 广泛应用于生物医疗、地质考古及工业制造等多个领域。由于放大倍数高, 显微镜景深非常小, 只有在聚焦平面附近很小的范围内才能获取清晰的图像, 因此, 显微镜成像系统对快速

收稿日期: 2017-03-01; **收到修改稿日期:** 2017-04-10

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(61603003)、安徽省自然科学基金(1608085MF144)、安徽高校自然科学研究重点项目(KJ2016A439)、“智能感知与计算”安徽省高效科研创新平台团队项目

作者简介: 郑馨(1987—), 女, 博士, 讲师, 主要从事医学图像处理及显著性计算方面的研究。

E-mail: zxaoyou@gmail.com

而精确的自动聚焦技术要求很高。随着数字图像和多媒体技术的快速发展,基于图像处理的被动式自动聚焦受到越来越多的关注^[1-2],即利用聚焦函数对不同离焦位置(通常为离焦→聚焦→离焦的过程)采集到的图像进行清晰度评价,清晰度最大值即对应聚焦平面。因此,聚焦函数的好坏直接决定了自动聚焦的精度和速度。

从频域角度看,离焦是一个光学低通滤波的过程,离焦量越大,图像高频分量流失越严重^[3];从空域角度看,离焦量越大,图像细节越不明显,灰度变化越小。据此,现有的图像聚焦函数可以分为频域函数和空域函数两大类,空域函数又可以细分为基于局部灰度变化的梯度函数和基于全局灰度变化的统计函数。这些聚焦函数在特定的应用背景下具有非常好的性能,但在其他应用对象下性能差异非常大。

1) 频域函数。主要有傅里叶变换、离散余弦变换(DCT)变换和小波变换^[4]等,该类函数具有很高的灵敏度,但计算量较大,并不适用于大分辨率图像的快速调焦,实际应用不多。

2) 梯度函数。主要有灰度差分绝对值之和(SMD)^[5]、Brenner 函数^[6]、图像灰度梯度能量函数(Tenengrad)^[7]、拉普拉斯能量(EOL)^[8]及拉普拉斯能量和(SML)^[9]等。在这些函数的研究基础上有大量的改进函数,如改进的拉普拉斯算子(LAP)^[10]、改进的 SML^[11]、灰度差分乘积^[12]、八方向 Sobel 算子^[13]及改进的 Brenner 函数^[14]等。梯度函数计算量适中,灵敏度很高,适用于细节丰富的图像;但其在充分利用局部灰度变化的同时增大了噪声,特别是当图像细节较少时,背景噪声的影响增大,真实的梯度能量易淹没在背景噪声的干扰中,导致函数在严重离焦时性能显著下降。

3) 统计函数。主要有灰度方差和归一化灰度方差等。该类函数计算量较小,不易受噪声的影响,即使在严重离焦时也具有较好的性能,适用于细节较少的图像。对于细节丰富的图像,由于缺乏对局部灰度变化的描述,统计函数的灵敏度不够高。显微图像恰恰是一种特殊的图像,由于视场小,图像细节多寡并不确定:当视场内存在大量目标时,图像细节较多;而当视场内目标极少或不存在时,图像细节很少。

综上所述,频域函数受计算量限制,实际应用不多;空域函数中,仅描述图像全局灰度变化的统计函数或仅描述图像局部灰度变化的梯度函数,均不能同时适用于各类具有不同图像细节的显微图像。为了解决该问题,一些粗精结合的图像自动聚焦方法在粗、细两个调焦阶段分别使用不同的清晰度评价函数^[15-17]。然而,这些聚焦方法的性能会受到聚焦策略的影响,如粗调焦阶段步长的选取和搜索策略等,很难有一种清晰度评价函数对细节丰富和细节较少的图像都具有足够高的灵敏度。针对此问题,本文通过统计函数和梯度函数的对比,提出一种结合图像全局和局部灰度变化的 VarGrad 聚焦函数,无论图像细节多寡所提函数都能表现出很高的灵敏度。

2 典型聚焦函数

2.1 梯度函数

梯度函数种类最多,通常利用能反映图像局部梯度变化的算子与图像中每个像素点进行邻域卷积来实现。

1) 灰度差分绝对值之和 SMD 函数^[5](F_{SMD})

对每个像素点及其邻近点的灰度作差分运算:

$$F_{\text{SMD}} = \sum_{x,y} [|I(x,y) - I(x,y+1)| + |I(x,y) - I(x+1,y)|], \quad (1)$$

式中 $I(x,y)$ 为图像在像素 (x,y) 点处的灰度值。

2) SML 函数(F_{SML})

SML 函数是在拉普拉斯算子基础上的改进:

$$F_{\text{SML}} = \sum_{x,y} [|2I(x,y) - I(x-1,y) - I(x+1,y)| + |2I(x,y) - I(x,y-1) - I(x,y+1)|]^2. \quad (2)$$

3) Brenner 函数(F_{Brenner})

Brenner 函数计算水平方向相差两个单元的像素的灰度差,即二阶梯度:

$$F_{\text{Brenner}} = \sum_{x,y} [I(x+2,y) - I(x,y)]^2. \quad (3)$$

4) Tenengrad 函数($F_{\text{Tenengrad}}$)

Tenengrad 函数基于 Sobel 算子提取梯度:

$$F_{\text{Tenengrad}} = \sum_{x,y} [G_x(x,y)^2 + G_y(x,y)^2], \quad (4)$$

式中 $G_x(x,y)$ 和 $G_y(x,y)$ 分别为横向和纵向的一阶 Sobel 算子微分,

$$G_x(x,y) = [I(x+1,y-1) + 2I(x+1,y) + I(x+1,y+1)] - [I(x-1,y-1) + 2I(x-1,y) + I(x-1,y+1)], \quad (5)$$

$$G_y(x,y) = [I(x-1,y+1) + 2I(x,y+1) + I(x+1,y+1)] - [I(x-1,y-1) + 2I(x,y-1) + I(x+1,y-1)]. \quad (6)$$

2.2 统计函数

1) 灰度方差(Var)

灰度方差用图像灰度变化的平均程度(方差)来衡量图像的聚焦程度:

$$F_{\text{Var}} = \sum_x \sum_y [I(x,y) - \bar{I}]^2, \quad (7)$$

式中 F_{Var} 为灰度方差, \bar{I} 为图像的灰度均值。

2) 归一化灰度方差(NormVar)

归一化灰度方差即灰度方差归一化后的结果, 计算公式为

$$F_{\text{NormVar}} = \frac{1}{\bar{I}} \sum_x \sum_y [I(x,y) - \bar{I}]^2, \quad (8)$$

式中 F_{NormVar} 为归一化灰度方差。

3 VarGrad 显微图像聚焦函数

在显微图像采集过程中, 由于视场小, 图像细节多寡并不确定。当视场内恰好包含大量目标时, 图像细节较多, 基于局部灰度变化的梯度函数比基于全局灰度变化的统计函数更适用于此类图像; 而当视场内目标极少或不存在时, 图像细节很少, 此时统计函数比梯度函数的性能更优。因此, 只有结合局部和全局灰度变化才能更好地适应图像细节不定的显微图像。

此外, 由于显微成像中的光照控制非常复杂, 光照不均匀现象难以避免。所以, 边缘视场常会出现过度曝光或曝光不足, 显微图像四角区域内的全局灰度变化明显; 而中央区域内光照较为均匀, 畸变较小, 该区域内的目标多位于同一个聚焦平面中, 显微图像中心区域内的局部灰度变化明显。因此, 重点考虑显微图像四角区域和中心区域的局部和全局灰度变化将会事半功倍。

提出的 VarGrad 函数利用图像中心区域和四角区域的灰度方差与梯度的乘积作为整幅显微图像的聚焦函数。如图 1 所示, 原始图像按尺寸等分为 16 个子图, 每个子图大小为 $W/4 \times H/4$ 。图像中心点相邻的 4 个子图和图像四角的 4 个子图构成聚焦窗口 W 。VarGrad 函数计算公式为

$$F_{\text{VarGrad}} = \sum_{i=1}^8 F_{\text{Var}}^{(W_i)} \times F_{\text{Grad}}^{(W_i)}, \quad (9)$$

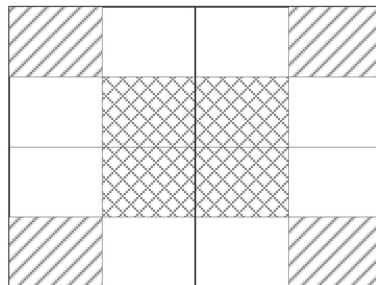


图 1 VarGrad 函数的聚焦窗口示意图

Fig. 1 Schematic of focusing windows of VarGrad function

式中 W_i 为聚焦窗口中的 8 个子图之一, $F_{\text{Var}}^{(W_i)}$ 为 W_i 内所有像素的灰度方差, $F_{\text{Grad}}^{(W_i)}$ 为 W_i 内每个像素的梯度值之和, 计算公式为

$$F_{\text{Grad}}^{(W_i)} = \sum_{x,y} [|I(x+2,y) - I(x,y)| \times |I(x,y+2) - I(x,y)|]. \quad (10)$$

相比 Brenner 函数, 改进后的梯度函数不仅考虑了水平方向的二阶梯度, 还考虑了垂直方向的二阶梯度, 因此, 在不增加计算量的前提下, 梯度函数能更全面地反映整幅图像的局部梯度变化。

从(9)式可以看到, VarGrad 函数采取相乘的策略将基于全局灰度变化的统计函数与基于局部灰度变化的梯度函数相结合。由于梯度函数和统计函数都具有无偏性, 即函数最大值恰好与聚焦平面一致, 可以得出, 二者乘积的最大值也与聚焦平面重合。因此, VarGrad 函数具有无偏性。梯度函数和统计函数都具有单调性, 即随着离焦量的增加, 函数值单调下降, 且二者在相同区间的单调性相同, 由此可以得出, 二者乘积在相同区间也具有相同的单调性, 且在离焦量相同的情况下, 乘积单调下降的幅度更大。因此, 从理论上分析可知, VarGrad 函数应具有更高的灵敏度。

当图像细节较少时, VarGrad 函数性能主要由灰度方差决定; 当图像细节丰富时, VarGrad 函数值的变化率主要由梯度值决定。因此, VarGrad 函数还可以有效解决图像细节丰富程度不同时聚焦性能不稳定的问题。由于全局灰度变化值和局部灰度变化值的量纲不同, 将二者相乘还可以有效避免加权叠加的权重系数不易确定的问题。在实时性方面, 由于聚焦窗口的面积为原图面积的 $1/2$, 灰度方差和梯度函数本身运算速度较快, 因此 VarGrad 函数的计算量较小。

4 实验结果与分析

4.1 定量评价指标

一个好的图像聚焦函数应当具备无偏性、单峰性、锐利性(灵敏度)、抗噪性和实时性等特性。一般情况下, 只要不存在多个清晰层面, 一个正确的图像聚焦函数都满足无偏性和单峰性。因此, 实验重点为灵敏度、抗噪性和实时性的定量评估。设计 5 个定量评价指标: 清晰度比率、陡峭度、清晰度变化率、局部波动量和算法耗时。

为了减少背景噪声对聚焦函数性能评价的干扰, 设定阈值 $T=10$, T 是根据大量不同类型图像的聚焦实验结果得出的经验值。为了公平评价各类聚焦函数, 实验中只统计大于 T 的函数值的总和。另外, 由于各类不同的聚焦函数具有不同的量纲, 为了便于比较, 对所有函数进行归一化处理, 使每个函数的最大值均为 1。归一化处理后的函数值为

$$f'_i = \frac{f_i}{f_{\max}}, \quad (11)$$

式中 f_i 为第 i 幅图像的聚焦函数值, f_{\max} 为图像序列中所有聚焦函数的最大值。

1) 清晰度比率

清晰度比率 R 定义为聚焦函数最大值与最小值的比率:

$$R = \frac{f_{\max}}{f_{\min}}, \quad (12)$$

式中 f_{\max} 和 f_{\min} 分别为聚焦函数最大值和最小值。清晰度比率越高, 说明清晰图像和模糊图像的区别越大, 聚焦性能越优。

2) 陡峭度

陡峭度 S 定义为聚焦函数最大值与离焦量 δ 处函数值的变化率:

$$S = \frac{2f_{\max} - f_{\max+\delta} - f_{\max-\delta}}{2\delta}, \quad (13)$$

式中 $f_{\max\pm\delta}$ 为横坐标变化 δ 时的函数值。 S 越大, 说明聚焦平面附近的函数值变化越剧烈, 越容易找到最佳聚焦平面, 即灵敏度越高。实验中 $\delta=3$ 。

3) 清晰度变化率

清晰度变化率 G 定义为聚焦位置某个邻域 $[-\delta, \delta]$ 内聚焦函数值斜率的平均值:

$$G = \frac{1}{\delta} \sum_{i=-\delta+1}^0 (f_{\max+i} - f_{\max+i-1}) + \frac{1}{\delta} \sum_{i=0}^{\delta-1} (f_{\max+i} - f_{\max+i+1}), \quad (14)$$

式中 $f_{\max+i}$ 为横坐标变化 i 时的函数值。 G 越大,说明聚焦平面邻域内函数值的综合变化越快,灵敏度越高。与陡峭度相比,清晰度变化率能更精细地反映聚焦平面附近函数值的变化情况。实验中 $\delta=2$ 。

4) 局部波动量

局部波动量 N 定义为局部极值与其邻域 $[-\delta, \delta]$ 内均值的偏移量。由于图像中存在噪声,部分聚焦函数会出现局部极值,特别是远离聚焦位置时不再满足单调性。通过计算局部波动量衡量其抗噪性。 N 可表示为

$$N = \sum_{j=1}^n \left| f_j - \frac{1}{2\delta} \sum_{i=j-\delta, i \neq j}^{j+\delta} f_i \right|, \quad (15)$$

式中 j 为聚焦函数呈现局部极值(可能为局部极小值或局部极大值)的图像序号, f_j 为局部极值, i 表示第 j 幅图像邻域范围内的图像序号, n 为局部极值的个数。实验中 $\delta=1$ 。 N 越大,说明函数波动越剧烈,抗噪性越差,反之则抗噪性越强。

5) 算法耗时

理想的聚焦函数应当满足实时性,即算法耗时 t 越小越好。

$$t = t[f(x)]. \quad (16)$$

4.2 实验分析

为了说明 VarGrad 函数在图像细节丰富和细节很少时都具备很好的性能,实验采用两组不同的外周血细胞图像序列。样本 A 共 31 幅图,步长为 $0.4 \mu\text{m}$,聚焦位置在第 19 幅图像;样本 B 共 19 幅图,步长为 $2 \mu\text{m}$,聚焦位置在第 10 幅图像;图像大小均为 $2048 \text{ pixel} \times 1536 \text{ pixel}$ 。图 2 所示为每组图像序列中的 3 幅典型图像,分别为深度离焦图像、离焦图像和聚焦图像,来自样本 A 和样本 B。测试条件:CPU Intel © Core(TM) i5 5200U @ 2.20 GHz;内存 4 GB;软件采用 VC++6.0 编程实现。

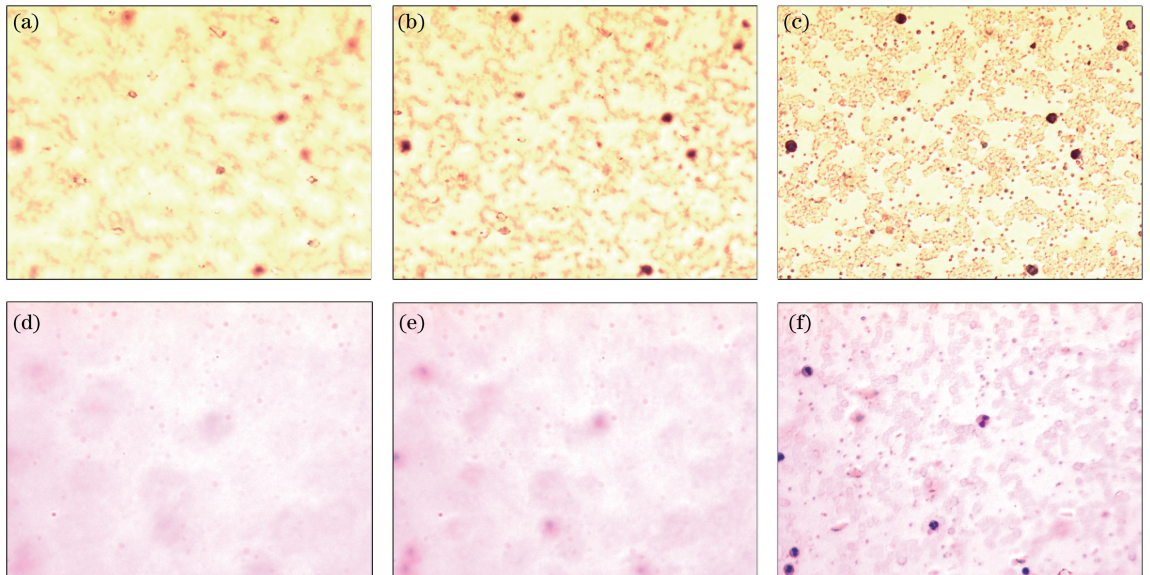


图 2 两个样本不同离焦程度下的图像。(a)样本 A 的深度离焦图像;(b)样本 A 的离焦图像;(c)样本 A 的聚焦图像;
(d)样本 B 的深度离焦图像;(e)样本 B 的离焦图像;(f)样本 B 的聚焦图像

Fig. 2 Images from two different samples with different defocus degrees.

(a) Deeply defocused image of sample A; (b) defocused image of sample A; (c) focused image of sample A;
(d) deeply defocused image of sample B; (e) defocused image of sample B; (f) focused image of sample B

将提出的 VarGrad 函数与典型的几种聚焦函数进行对比实验。选取 SMD、SML、Brenner 和 Tenengrad 这 4 种梯度函数;统计函数中归一化灰度方差与灰度方差的性能十分相近,因此只选用 Var 函数进行对比。分别从

归一化聚焦函数曲线和单项性能评价指标两方面对这 6 种聚焦函数进行评价。样本 A 和样本 B 的归一化聚焦函数曲线分别如图 3(a)、(b)所示;样本 A 和样本 B 在清晰度比率、陡峭度、清晰度变化率、局部波动量和算法耗时 5 种定量评价指标上的对比结果分别如表 1 和表 2 所示,其中的最佳结果数据均用粗体标出。

如图 3(a)所示,当图像细节丰富时,几种归一化后的函数值在聚焦曲线峰值左侧比较接近,但在聚焦曲线峰值右侧的差异较明显。VarGrad 函数曲线位于最内侧,说明在聚焦平面附近具有最佳灵敏度, Tenengrad 和 Brenner 函数的灵敏度次优,SMD 和 SML 的灵敏度较差,而 Var 函数的灵敏度最差。表 1 所示的定量评价结果与图 3(a)所示的定性评价结果相似,VarGrad、Tenengrad、Brenner、SMD、SML 和 Var 函数的 R 、 S 、 G 这 3 个指标均依次递减;VarGrad 函数具有明显的优势, R 、 S 、 G 这 3 个指标分别比次优的 Tenengrad 函数高出 4870%、31.2%、53.4%;从算法耗时 t 的对比结果来看,VarGrad 函数的实时性仅次于 Var 函数;4 种梯度函数的性能均优于 Var 函数。图 3(a)和表 1 数据说明,当图像细节丰富时,基于局部灰度变化的梯度函数的灵敏度比基于全局灰度变化的统计函数更高;与仅基于局部灰度变化的梯度函数相比,结合局部和全局灰度变化的 VarGrad 函数的灵敏度更高,更能反映图像的清晰度变化。

从图 3(b)可以看出,VarGrad 函数的灵敏度最高;尽管 Tenengrad 函数和 Brenner 函数在聚焦平面附近灵敏度较高,但随着离焦量的增大,4 种梯度函数的曲线形态都趋于平缓;Var 函数虽然在聚焦平面的灵敏度不高,但在离焦位置仍呈现明显的单调性。从表 2 也可以看出,VarGrad 函数的 R 、 S 、 G 仍具有明显的优势,分别高出次优指标 255.3%、46.9%、48.5%;除 G 指标低于 Tenengrad 函数和 Brenner 函数之外,Var 函数在其他 4 种指标上均超过了 4 种梯度函数,这与图 3(b)的结果是一致的。因此,图 3(b)和表 2 数据均说明,当图像细节较少时,基于全局灰度变化的统计函数的抗噪性比基于局部灰度变化的梯度函数更强;与仅基于全局灰度变化的统计函数相比,结合局部灰度变化和全局灰度变化的 VarGrad 函数的灵敏度更高,更适用于评价图像的清晰度。

综上所述,从图 3 定性评价结果来看,VarGrad 函数在两组实验中的曲线形态最为理想:聚焦位置附近形状最尖锐,远离聚焦位置时函数值接近于零,且曲线整体位于其他所有曲线的内侧。从 5 个定量评价指标对比结果来看,综合局部和全局灰度变化的 VarGrad 函数无论图像细节是否丰富都具有最佳的清晰度比率、陡峭度、清晰度变化率和局部波动量。在算法耗时方面,VarGrad 函数也优于传统的梯度函数,仅在图像细节较少时略次于灰度方差函数,满足显微镜成像系统自动聚焦的实时性需求。

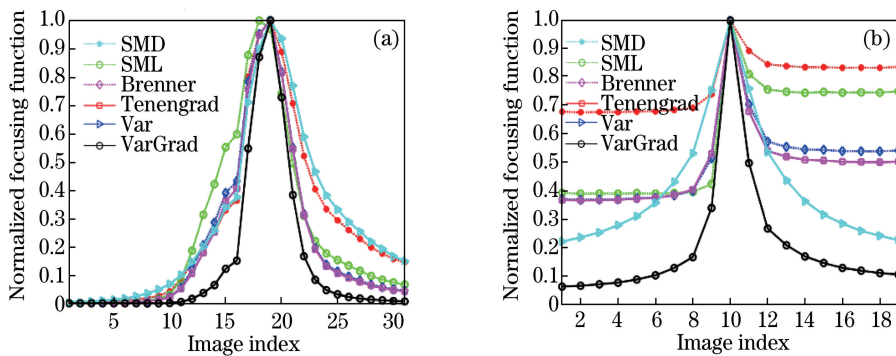


图 3 归一化聚焦函数曲线。(a)样本 A;(b)样本 B

Fig. 3 Normalized focusing function curves. (a) Sample A; (b) sample B

表 1 单项评价指标(样本 A)

Table 1 Evaluation indexes of sample A

Function	R	S	G	N	t /ms
SMD	313	1.16	0.123	0	35
SML	678	0.95	0.165	0	54
Brenner	1342	1.25	0.167	0	22
Tenengrad	1454	1.28	0.174	0	61
Var	234	1.04	0.130	0	17
VarGrad	72506	1.68	0.267	0	21

表 2 单项评价指标(样本 B)
Table 2 Evaluation indexes of sample B

Function	R	S	G	N	t /ms
SMD	1.48	0.48	0.115	0.016	42
SML	2.57	0.86	0.211	0.024	55
Brenner	2.71	1.06	0.257	0.009	35
Tenengrad	2.73	1.09	0.264	0.007	63
Var	4.52	1.13	0.233	0	17
VarGrad	16.06	1.66	0.392	0	24

5 结 论

根据显微图像的特点,提出的 VarGrad 函数综合了梯度函数和统计函数的优势,既提高了函数的灵敏度,又减少了计算量。由于综合考虑了图像的全局和局部灰度变化,当图像细节丰富时,局部灰度变化剧烈;当图像细节较少时,全局灰度变化更显著。因此,无论图像细节是否丰富,VarGrad 函数都呈现非常高的灵敏度。实验结果表明,在两组图像细节丰富程度不同的显微图像序列上,VarGrad 函数的灵敏度高于典型的梯度函数和统计函数。VarGrad 函数已应用于显微镜自动调焦系统中。

参 考 文 献

- [1] Zhai Yongping, Zhou Dongxiang, Liu Yunhui, *et al.* Design of evaluation index for auto-focusing function and optimal function selection[J]. Acta Optica Sinica, 2011, 31(4): 0418002.
翟永平, 周东翔, 刘云辉, 等. 聚焦函数性能评价指标设计及最优函数选取[J]. 光学学报, 2011, 31(4): 0418002.
- [2] Wang Yeru, Feng Huajun, Xu Zhihai, *et al.* Autofocus evaluation function based on saturate pixels removing[J]. Acta Optica Sinica, 2016, 36(12): 1210001.
王烨茹, 冯华君, 徐之海, 等. 基于饱和像素剔除的自动对焦评价函数[J]. 光学学报, 2016, 36(12): 1210001.
- [3] Hong Yuzhen, Ren Guoqiang, Sun Jian. Analysis and improvement on sharpness evaluation function of defocused image [J]. Optics and Precision Engineering, 2014, 22(12): 3401-3408.
洪裕珍, 任国强, 孙 健. 离焦模糊图像清晰度评价函数的分析与改进[J]. 光学 精密工程, 2014, 22(12): 3401-3408.
- [4] Liu Xingbao, Yuan Daocheng. Research on image definition criterion using wavelet transform based on the texture analysis[J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2007, 28(8): 1508-1513.
刘兴宝, 袁道成. 基于纹理分析的小波变换图像清晰度评价方法研究[J]. 仪器仪表学报, 2007, 28(8): 1508-1513.
- [5] Jarvis R A. Focus optimization criteria for computer image-processing[J]. Microscope, 1976, 24(2): 163-180.
- [6] Brenner J F, Dew B S, Horton J B, *et al.* An automated microscope for cytologic research: A preliminary evaluation [J]. Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 1976, 24(1): 100-111.
- [7] Tenenbaum J M. Accommodation in computer vision[D]. Stanford: Stanford University, 1970.
- [8] Subbarao M, Choi T, Nikzad A. Focusing techniques[J]. Optical Engineering, 1993, 32(11): 2824-2836.
- [9] Nayar S K, Nakagawa Y. Shape from focus[J]. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 1994, 16(8): 824-831.
- [10] Jiang Zhiguo, Han Dongbing, Yuan Tianyun, *et al.* Study on auto focusing algorithm for automatic microscope[J]. Journal of Image and Graphics, 2004, 9(4): 396-401.
姜志国, 韩冬兵, 袁天云, 等. 基于全自动控制显微镜的自动聚焦算法研究[J]. 中国图象图形学报, 2004, 9(4): 396-401.
- [11] Li Lihong, Zhang Minglu. Research of focusing evaluation function under a strong shot-noise background[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2012, 49(11): 111103.
李丽宏, 张明路. 强散粒噪声下聚焦评价函数的研究[J]. 激光与光电子学进展, 2012, 49(11): 111103.
- [12] Li Yufeng, Chen Niannian, Zhang Jiacheng. Fast and high sensitivity focusing evaluation function[J]. Application Research of Computers, 2010, 27(4): 1534-1536.
李郁峰, 陈念年, 张佳成. 一种快速高灵敏度聚焦评价函数[J]. 计算机应用研究, 2010, 27(4): 1534-1536.

- [13] Jiang Ting, Tan Yuegang, Liu Quan. Research of a clarity-evaluation function of image based on Sobel[J]. Computer and Digital Engineering, 2008, 36(8): 129-131.
蒋 婷, 谭跃刚, 刘 泉. 基于 SOBEL 算子的图像清晰度评价函数研究[J]. 计算机与数字工程, 2008, 36(8): 129-131.
- [14] Wang Jian, Chen Hongbin, Zhou Guozhong, *et al.* An improved Brenner algorithm for image definition criterion[J]. Acta Photonica Sinica, 2012, 41(7): 855-858.
王 健, 陈洪斌, 周国忠, 等. 改进的 Brenner 图像清晰度评价算法[J]. 光子学报, 2012, 41(7): 855-858.
- [15] Xu Bohong, Jiang Heping. An auto-focus algorithm based on fine and rough adjustment for visual optical measurement imaging system of shooting range[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2010, 47(12): 121203.
徐博泓, 江和平. 一种粗细结合的图像式靶场测量系统自动调焦算法[J]. 激光与光电子学进展, 2010, 47(12): 121203.
- [16] Lin Zhaohua, Mi Yang, Ge Bing. Algorithm of rapid auto-focus combing rough and fine adjustment[J]. Foreign Electronic Measurement Technology, 2015, 34(10): 28-31.
林兆华, 米 阳, 葛 兵. 一种粗细结合的快速图像自动调焦算法[J]. 国外电子测量技术, 2015, 34(10): 28-31.
- [17] Chen Jian, Zheng Shaohua, Pan Lin, *et al.* Fine and rough combined auto-focusing method for non-mydratic fundus camera[J]. Acta Optica Sinica, 2014, 34(11): 1110003.
陈 健, 郑绍华, 潘 林, 等. 免散瞳眼底照相机中粗细结合自动聚焦方法[J]. 光学学报, 2014, 34(11): 1110003.