

目录

Table of Contents

1. Fiji 基本功能介绍	2
1.1 什么是 Fiji?	2
1.2 如何下载、安装 Fiji?	2
1.3 如何学习 Fiji?	2
1.4 软件界面介绍	2
1.5 图像基础知识	3
2. Fiji 操作说明	5
2.1 文件操作——File	5
2.1.1 New——新建	5
2.1.2 Open	5
2.1.3 Open Samples:	6
2.1.4 Save as	6
2.2 文件编辑——Edit	7
2.2.2 Cut:	7
2.2.3 Copy:	7
2.2.4 Copy to System:	7
2.2.5 Paste:	7
2.2.6 Clear:	7
2.2.7 Clear outside:	7
2.2.8 Fill:	7
2.2.9 Invert:	7
2.2.10 Selection	7
2.2.11 Options:	8
2.3 文件性质——Image	9
2.3.1 Type	9
2.3.2 Adjust	9
2.3.3 Show Info	11
2.3.4 Properties	11
2.3.5 Color	11
2.3.6 Stacks	12
2.3.7 Crop	14
2.3.8 Duplicate	14
2.3.9 Transform	15
2.3.10 Lookup tables	15
2.4 工具栏	15

1. Fiji 基本功能介绍

1.1 什么是 Fiji?

Fiji is just ImageJ! ImageJ 是一款基于 Java、由 Natonal Institutes of Healh (NIH)开发的一款功能强大的图像处理软件，且完全免费。Fiji 自动包含了绝大多数有用的插件，而 ImageJ 需要手动安装插件。因此，建议大家安装 Fiji。

1.2 如何下载、安装 Fiji?

下载地址：<https://imagej.net/Fiji/Downloads>



图 1.1 下载版本展示

选择合适的版本下载、解压缩即可，无需安装。

1.3 如何学习 Fiji?

提供三种方式：

1) 查找官方介绍文档：

<https://imagej.nih.gov/ij/docs/guide/146-14.html#toc-Section-14>

2) 联系光学影像中心

3) 搜索网络资源

1.4 软件界面介绍

菜单栏：包含 Fiji 的全部功能

工具栏：常用工具的快捷方式，如选定 ROI

搜索栏：搜索插件位置，可直接运行

前置 Fiji 操作主界面：当活动窗口挡住 Fiji 主界面时，选中任一个活动窗口，“Enter”，即可将主界面至于最前。

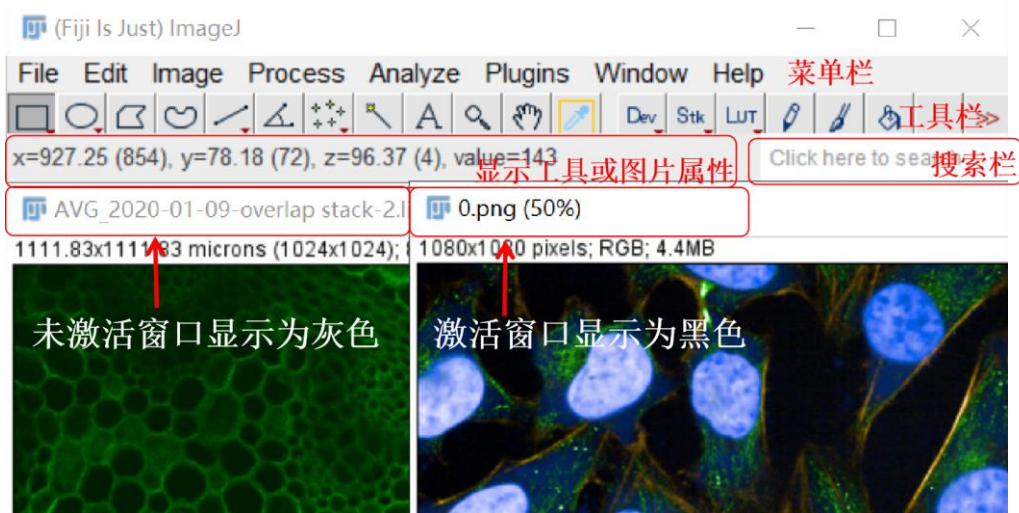


图 1.2 软件页面介绍

1.5 图像基础知识

1) 彩色图：每个像素含有红（R）、绿（G）、蓝（B）三种基色，每个基色分量直接决定显示设备的基色强度，RGB 也称作真彩色。

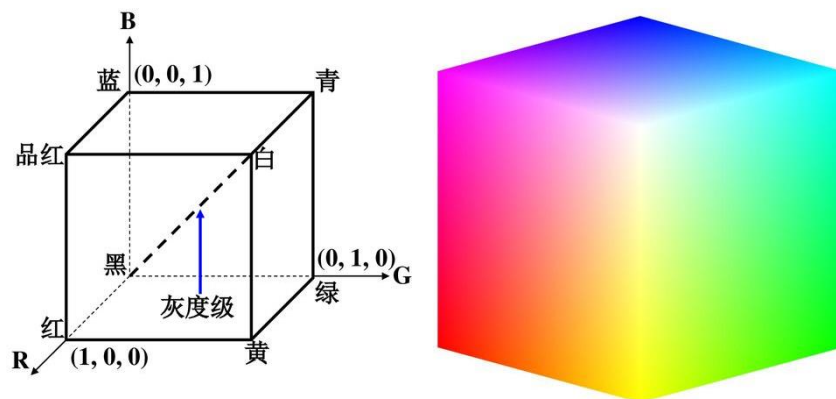


图 1.3 RGB 彩色立方体（图片来自网络）

2) 灰度图：每个像素只有一个采样颜色的图像。最暗处显示为黑色，最亮处显示为白色，中间是不同层次的灰色。常见的位数有 8 位、16 位，区别在于位数越高，灰色的层次越多，图像越细腻。

例子: 当我们把一个RGB图像转换为8-bit图像时, 每个像素仅仅只有一个通道。

[灰色= (红色+绿色+蓝色) / 3] 或 [灰色= 0.299×红色+ 0.587 ×绿色+ 0.114×蓝色]

4) 伪彩图: 基于一定的规则, 将灰度值赋以颜色的处理。这种方式显示的色彩是真的, 但没有完全反映原图的颜色。实际应用中, 普遍应用的是伪彩图。

5) 二值图 (binary): 每个像素的取值仅有 0、1 两种可能。

2. Fiji 操作说明

2.1 文件操作——File

2.1.1 New——新建

->**Image**: 创建新的单张图像 (Image) 或者含有多张图片的堆栈 (Stack)。可设置图片类型、填充颜色。宽 (Width) 和高 (Height) 表示图像的二维像素数。

->**Hyperstack**: 创建多维图片, 如多通道 (Channels)、多层 (Slices)、多帧 (Frames)。

->**Internal Clipboard**: 打开 *Fiji 剪贴板*。可以看到之前 Edit->Copy 保存在内部剪贴版的内容。

->**System Clipboard**: 打开 *系统剪贴板*。可以看到之前 Edit->Copy to System 保存在系统剪贴版的内容。例如, 将图片直接复制到 Office 文件中。

2.1.2 Open

A. 可以打开 **支持的文件格式**: TIFF, GIF, JPEG, PNG, BMP, DICOM, FITS、AVI, 以及多个显微镜制造商的原始文件格式, 如 .lif (Leica)、.nd2 (Nikon)、.czi (Zeiss), 也可以直接拖拽打开。

B. 对于 Fiji **不支持的文件格式**: .vsi, .mp4, 打开前需安装插件。

“vsi”阅读器插件下载地址与说明: 见“资料下载——VS120 数据处理方法”

“mp4”需要安装插件 FFmpeg:

- 1) Help->Update->Manage update sites
- 2) 勾选 FFMPEG->close
- 3) 点击 Apply changes
- 4) 重启 Fiji
- 5) 打开 mp4 文件: File->Import->movie (FFmpeg)

C. 如果打开 **包含多张图片的文件夹**, 可以将文件夹拖拽到 Fiji 中, 在弹出的对话框中选择独立打开每个图片 (NO), 或者合成一张多帧图片打开 (Yes)。

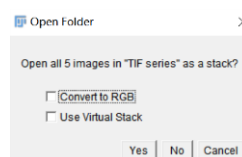


图 2.1 打开文件夹对话框

Convert to RGB: 转换图片类型

Use Virtual Stack: 大文件选择此项

2.1.3 Open Samples:

打开 Fiji 自带的样例图片

2.1.4 Save as

常见保存格式:

单张——**TIFF(无损压缩)**、PNG、JEPG (体积小)、Gif (动态图画, 播放速度设置 Image->Stacks->Animation->Animation Options)

多张——**TIFF (将 stack 保存成多页 TIFF)**、Image Sequences (将 stack 保存成多张 TIFF)

动画——**AVI** (设置 Frame Rate 调节播放速度)

注: 黄色高亮为推荐保存格式。

相关拓展:

图片文件格式可以分为压缩和未压缩。对于压缩文件, 分为无损压缩和有损压缩。无损压缩不会对图片质量产生任何损耗, 保留所有信息; 有损压缩则会不可逆地损失一部分图片的信息, 降低图片的质量。

TIFF——Tagged Image File Format, 支持 LZW 无损压缩和 ZIP 无损压缩, 支持 8 位、16 位、32 位等色彩深度, 可以保留图层, 一种**灵活通用的无损压缩**图像格式。

JPEG——Joint Photographic Experts Group, 有损压缩, 只支持 8 位的色彩深度, 使用与网络分享。

PNG——Portable Network Graphic Format, 无损压缩, 压缩比高体积小, 不支持动画, 适合在网络上传输。

BMP——Bitmap, 未经压缩的原始数据。

GIF——Graphics Interchange Format, 利用无损压缩技术将多幅图像保存为一个图像文件, 从而形成动画。

AVI——Audio Video Interleaved, 数字音频与视频文件格式, 图像质量好, 体积庞大。

MP4——Moving Picture Expert Group-Part 14, 兼容性好, 有损压缩方式。

2.2 文件编辑——Edit

2.2.1 Undo: (常用功能用黄色高亮标注)

撤销最后一次的操作，但只对某些编辑有效。当 Undo 没有作用时，试试 File->Revert，将图片还原为最近一次的保存状态。

2.2.2 Cut:

将当前选取中的内容复制到内部剪贴板，并用当前背景色填充选区。

2.2.3 Copy:

将当前选取复制到内部剪贴板（只能在 ImageJ 中粘贴）；如果没有选取，则复制整个图像。

2.2.4 Copy to System:

将当前选取内容复制到系统剪贴板（可以在 ImageJ 之外的文件进行粘贴）。

2.2.5 Paste:

将内部剪贴板的内容复制到当前图片中；如果内部剪贴板是空的，则从系统剪贴板中复制。复制后，可以利用鼠标拖拽复制来的图片，使位置恰当。

2.2.6 Clear:

将选区中的内容清除，替换为当前的背景色。快捷键是 backspace 和 delete。如果操作对象是一个 stack，快捷键只会把处理当前图片，而 Edit->Clear 会执行到整个 stack。

2.2.7 Clear outside:

将选区外的内容清除，替换为当前的背景色。

2.2.8 Fill:

用当前前景色填充选择区域。对于堆栈图片，如果只想对其中一张进行操作，则在确定选区后点击‘F’。

2.2.9 Invert:

对当前选区或图片进行取反（明暗颠倒）。对于 8-bit 和 RGB 图片，取反后最暗处是 0，最亮处是 255，不会和真实数据一致；对于 16-bit 和 32-bit，使用的是真实的最小值和最大值。

2.2.10 Selection

->Select all: 创建一个与当前图片大小相同的矩形选区

->Select none: 使当前图片的选区失效

->Restore selection: 恢复之前的 ROI 位置, 快捷键 shift+E。适用于: 1) 不小心使 ROI 消失; 2) 在不同图片传递位置相同的 ROI (or Analyze->Tools->Synchronize Windows/Analyze->Tools->ROI manager) (遗憾的是不能同时限定 ROI 大小)。

ROI 形状设定: 如图所示

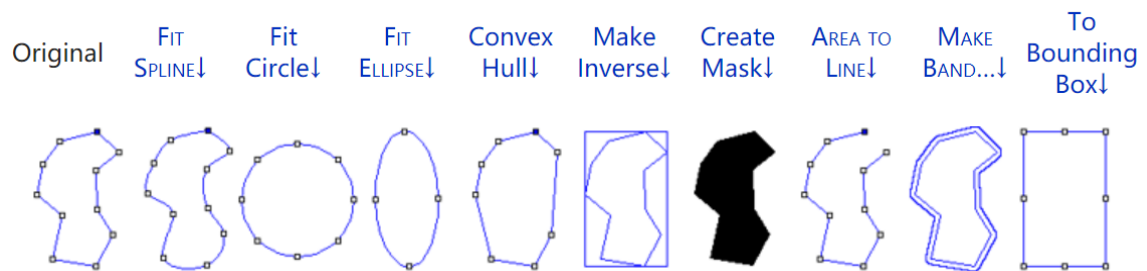


图 2.2 Edit->Selection 选取 ROI 介绍

->Create Selection: 从一个做过阈值化处理或者二值图中创建选区

->Make Inverse: 创建一个与当前 ROI 互补的选区

->Enlarge: 在现有选区的基础上, 基于像素数目等比例扩大 (正数) 或缩小 (负数) 选区。

->Specify: 准确定义选区的大小和位置, 也可以在 ROI manager 中进行 (Analyze->Tools->ROI manager->More->Specify)。

->Strengthen: 将多点工具标记的选区转为一条直线。

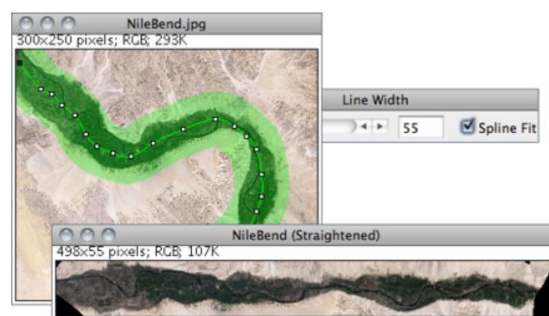


图 2.3 ->Strengthen 效果示意图

->To Bounding Box: 将一个非矩形选区转为包含它的最小的矩形选区。

->Image to Selection: 选区左上角开始的所有区域, 被另一张图片填充。

->Add to Manager: 将选区添加到 ROI Manager, 并弹出 ROI Manager (之前未打开)。

2.2.11 Options:

根据用户的喜好设置参数。例如，工具栏各工具的线条颜色、粗细、字体、输入、输出。

2.3 文件性质——Image

2.3.1 Type

显示当前图像的类型，或者更改其类型。

2.3.2 Adjust

->**Brightness/Contrast (Ctrl+Shift+C)** :



图 2.4 亮度/对比度对话框

直方图：显示像素值到 8-bit 的映射。

Minimum/Maximum：控制要显示的最小值/最大值。按住 **Shift** 可以调节复合图片的所有通道。

Brightness/Contrast 滑条：通过改变最小值/最大值调整图片亮度/对比度。**Shift** 键效果同上。对 **Contrast**，显示区域越小，对比度越大。

Auto：基于直方图分析自动优化亮度和对比度。

Reset：恢复图片原来的亮度/对比度。

Set：输入直方图最小值和最大值的显示范围。

Apply：应用当前的设置。

->**Color Balance**：独立调节 RGB 图片每个颜色或者多通道 Stack 图片的每个通道。对话框与->**Brightness/Contrast** 作用一致。

注意：在从一个颜色切换到另一个时，如果没有先点击“**Apply**”，则之前的调节会丢失。

->**Threshold**: 设定**灰度图**阈值的上下限，分割目的区域和背景。

展示方式: 1) Red, 目的区域显示为红色; 2) B&W, 黑色为目的区域, 白色为背景; 3) Over/Under, 阈值以下为蓝色, 阈值内为灰色, 阈值以上展示为绿色。

Dark Background: 背景如果比目标颜色深, 则需要勾选。

Stack histogram: 勾选则会对整个 stack 的直方图进行计算, 不勾选只计算当前的 slice。

Apply: 将阈值内的像素设为黑色, 其余则为白色。

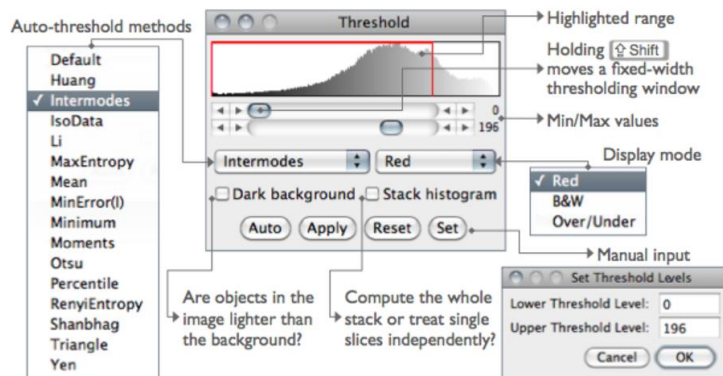


图 2.5 阈值调节对话框

Pass: 勾选则范围内的值被选定和展示, 不勾选则反之。

Original: 还原图像。

Filtered: 显示滤波后的图片。

Select: 基于现有设置创建选区。

Sample: 基于选区的像素值定义滤波的范围。

Stack: 对所有 slice 进行相同的处理。

Macro: 在开启宏记录器的情况下 (Plugins->Macros->Record), 将当前操作添加进去。

->**Size**: 将图片或选区放大或缩小到特定像素的 Width、Height。

Constrain aspect ratio: 不改变原图片比例时勾选。

Average when downsizing: 勾选的效果更好

“Bilinear”算法: 可以扩大像素, 在不增加信息的基础上扩大面积, 方便打印或者展示; 或者**缩小像素, 减小尺寸。**

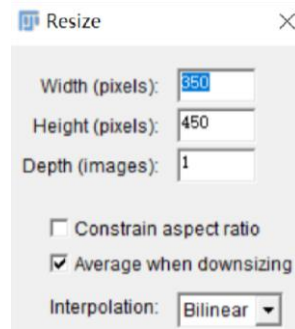


图 2.6 ->Size 调节对话框

->**Canvas Size:** 调整画布尺寸，而不缩放真实图片。若画布尺寸放大，边界会用背景色填充；如果勾选“Zero Fill”，则会用像素值为 0（黑色）进行填充；若画布尺寸减小，相当于进行裁剪。

->**Scale to DPI:** DPI 是印刷用计量单位，表示每英寸上所能印刷的网点数(Dot Per Inch)。如果想保证图像像素大小不变，可用 Photoshop 调节。

若图片尺寸为 512×512 ，若转为 300dpi，尺寸为 $4.33\text{cm} \times 4.33\text{cm}$ 。（ $2.54\text{cm} \times \text{像素数}/300$ ）

2.3.3 Show Info

显示图片信息

2.3.4 Properties

展示并设定图片的信息：通道数目（c）、层数（z）、帧数（t）、测量单位、像素点尺寸、两帧间隔时间（这两处比较重要，像素点尺寸的修改会影像）。

2.3.5 Color

->**Split Channels:** 将 RGB 图片或者 stack 图片拆分成含有红、绿、蓝三原色的灰度图。

->**Merge Channels:** 将不多于 7 张图片合成 RGB 图像后者多通道复合图像，并添加伪彩。

Create composite: 勾选则合成多通道复合图像

Ignore source LUTs: 大多数情况需要勾选，忽视原图像的 LUTs

这一功能是日常保存伪彩图片的操作。不要勾选“Create composite”，保存成 PNG 即可。如果要保存成 Tiff，则需要先将图片类型转为 RGB (Image->Type)。

->**Arrange Channels:** 更改通道的伪彩展示顺序。

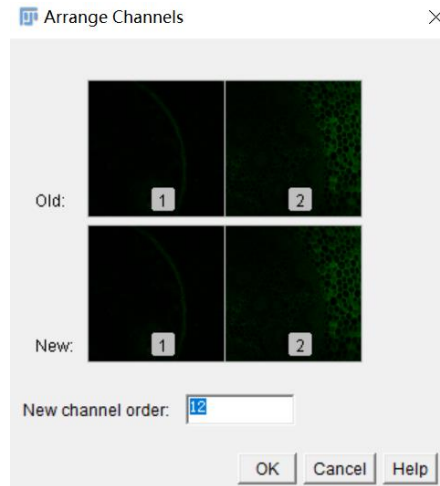


图 2.7 ->Arrange Channels 对话框

->**Channel Tools**: 调节图片的显示方式（灰度/复合/彩色），可以通过对话框中的“more”设置伪彩，快捷键 Shift+Z。

->**Stack to RGB**: 将 8 位或 16 位灰度图的 stack 图形转为 RGB 图像，默认 slice 的顺序是 R、G、B。也可以将复合图像转为 RGB 图像。

->**Make Composite**: 将 RGB 图片、多层或多通道图片转化为复合图片。Shift+Z 快捷进行符合图片的转换，Shift+C 调节当前通道的亮度和对比度。

2.3.6 Stacks

->**Add Slice**: 在当前 slice 之后增加空白 slice; 对于多维图像，还可以增加 channel 后者 frame。

Prepend: 勾选则在当前层之前增加空白 slice。

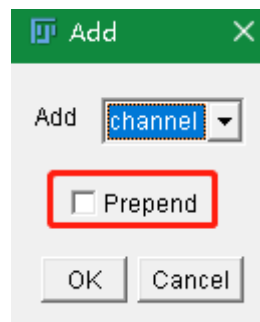


图 2.8 -> Add Slice 对话框（stack 或多维图像）

->**Delete Slice**: 删除当前层或者当前通道

->**Set Slice**: 展示特定的一张 slice。

->**Images to Stack**: 将在不同窗口展示的图片创建一个 slice。

1) 当图片尺寸一致时，可通过“Title Contains”筛选要合并的图片；

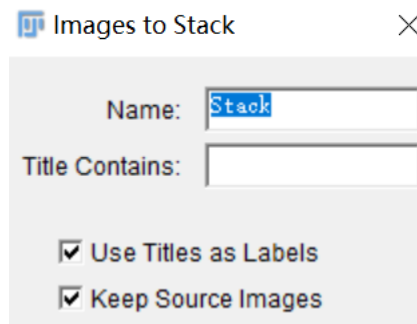


图 2.9 ->Images to Stack 对话框（图片尺寸一致）

2) 当图片尺寸不一致时，要选择合并的方式；

Copy (center)/Copy (top-left): 新建的 stack 选取图片最宽、最高的尺寸，小于该尺寸的图片会显示在画布中央/左上方，边界由像素 0 填充。

Scale (smallest)/Scale (largest): 新建的 stack 与图片中尺寸最小/最大的尺寸一致，其余图片缩放到新的尺寸。

Bicubic Interpolation: 一种 Scale 算法

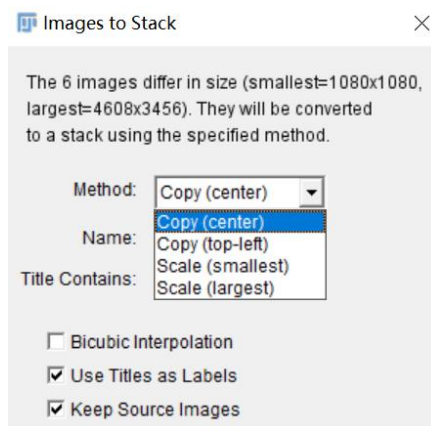


图 2.10 ->Images to Stack 对话框（图片尺寸不一致）

->Stack to Images: 将 stack 拆分成独立的窗口图片。

->Make Montage: 将 stack 图片转为一个窗口，以拼接集的形式展示 slice。

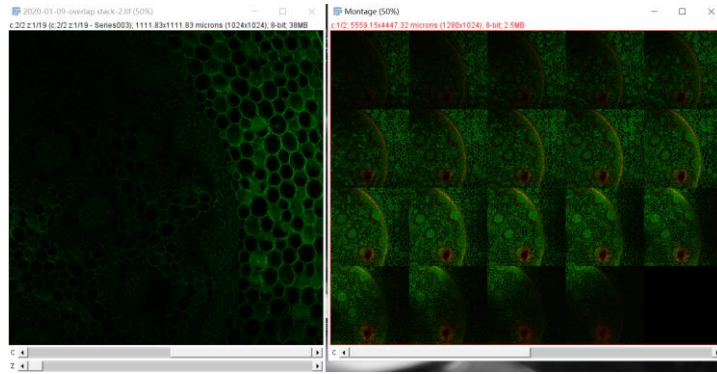


图 2.11 ->Make Montage 效果图

->**Orthogonal Views**: 显示正交图，快捷键 Shift+H。

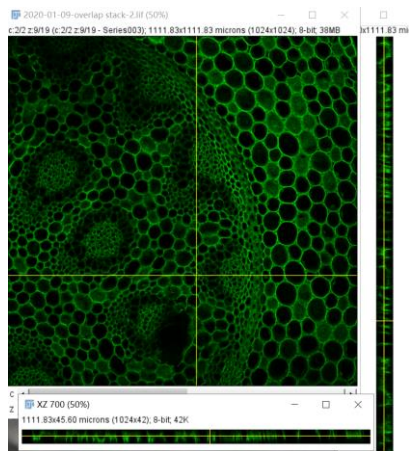


图 2.12 ->Orthogonal Views 效果图

->**Z project**: 将多层图片合为一张，投射类型多选择“Max intensity”。

->**Plot Z-axis Profile**: 测量 stack 图片的平均灰度值。

->**Tools->Combine**: 将 2 张图片或者 2 个 stack 水平或垂直方向平铺合成一个新的图片或 stack，原图片大小不变，间隙由背景色填充。组合的图片需类型相同，stack 需要有一致的 slice。

->**Tools->Concatenate**: 将多张图片或者 stack 连结为一张。具有相同层数的 stack 可以合为多维图片。

->**Tools->Slice Keeper**: 将指定的层重新生成一个 stack。

2.3.7 Crop

以包含当前选区的最小矩形为范围，裁剪图片。

2.3.8 Duplicate

复制当前图片或者包含 ROI 的最小矩形选区。

2.3.9 Transform

->**Flip Horizontally**: 水平翻转

->**Flip Vertically**: 垂直翻转

->**Flip Z**: 将 stack 图片的 slice 顺序翻转

->**Rotate 90 Degrees Right**: 顺时针旋转 90 度

->**Rotate 90 Degrees Left**: 逆时针旋转 90 度

->**Rotate**: 顺时针旋转特定角度。

Grid Lines: 显示网格。

Fill with Background Color: 对于 8 位或 RGB 图片, 勾选则使用背景色填充间隙。

Enlarge Image to Fit Result: 缩放图片尺寸, 避免被修剪。

->**Translate**: X 和 Y 方向整体移动特定的像素值, 间隙用像素 0 填充。对于 Stack 图片, 可以选择只处理移动 slice 或是整体移动。

->**Bin**: 通过合并 X、Y 方向像素, 或者 Z 层数达到缩小图像文件大小。对二维图像的操作可以通过 Edit->Undo 撤回。

对 Z 轴的合并也可以通过 Image->Stacks->Tools->Grouped Z Project 进行。二者的区别是, ->Translate 会替代原文件, Z 轴的缩减可以是任意值; ->Grouped Z Project 会生成一个新的文件, Z 轴的是特定数值。

2.3.10 Lookup tables

选择伪彩。

2.4 工具栏



: 创建矩形选区

若图标右下角有红色箭头, 表明有其他类似可选形状, 右键单击即可选择。

Shift: 选区为正方形;

Alt: 与上一个矩形选区等比例;

Ctrl: 以起始点为中心。




: 创建椭圆选区

Shift: 选区为圆形;


Alt: 与上一个椭圆选区等比例;


Ctrl: 以起始点为中心。

: 创建多边形选区，通过点击起始点或者双击完成，可通过鼠标移动选区。

Shift+点击多边形的一个点=将这一点变得更光滑

Alt+点击多边形的一个点=删除这个点

: 自由形状选区，可自由勾勒选区边界。

: 直线工具


Shift: 使直线保持水平或者竖直；


Alt: 移动直线的一点改变长度或者角度，直线的另一个定点位置不变；


Ctrl: 移动直线的一点改变长度或者角度，原直线的中心不变。

Ctrl+M: 测量。

Edit+Draw (Ctrl+D): 永久保存直线。

: 勾勒要测量的角度，点击 M (或 Analyze->Measure) 显示结果。双击图标，可选择测量优角 (大于 180° 而小于 360° 的角)。


: 在图片上选择多个点，每个点有顺序标记。Alt 可以删除标记的点。


: 魔术棒工具。可以自动发现目标的边界并勾勒出形状，当图像对比明显时尤为适用。双击图标可设定参数。

Shift: 增加新选区的同时保留已有选区；


Alt: 删除已有选区。

Tolerance: 与起始点像素数的偏差。假定设置为 A，则像素数为“起始值-A一起始值+A”。

: 在图片上添加文本框。双击图标可以修改字体、颜色、大小等参数。属于完毕，通过 Image->Overlay->Add Selection 保存。Ctrl+B，不改变原图；Ctrl+D，文本框永久保留在图片上。

: 左键放大，右键缩小，双击图标大小复原。

Shift+鼠标选区=放大选择区域

: 手型选项，当图像区域超过窗口时，可拖动图片。快捷键：空格。



: 取色器，图标内的颜色显示为当前前景色，外框为当前背景色。可通过图片提取前景色，点击 Alt 则选取背景色；或者双击图标在标准颜色中选区。



: 包含一系列对编写宏、插件的网络资源和指令。



: 包含一系列设计 stack 和 hyperstack 的指令（尤其是没有快捷方式的）。



: 启动 Image->Lookup Tables 的快捷方式



: 以毛刷的质感自由线条绘画，不会对原图产生影响。颜色为前景色，按住 Alt 则选取背景色；粗细可双击图标改变。



: 与毛刷的功能类似，以铅笔的质感自由线条绘画，颜色为前景色，粗细可双击图标改变。



: 填充点击的像素点或者画布。默认以前景色填充，按住 Alt 则以背景色填充。双击图标可以选择填充方式。