

基于交叉结构光的物理驱动小波神经网络超分辨成像方法

李馨^{1) #} 陈翔^{1) #} 于鑫阳¹⁾ 刘显杰¹⁾ 黄焱¹⁾ 李想¹⁾ 聂守平¹⁾ 马

俊²⁾ 袁操今^{1†)}

1) (南京师范大学, 物态调控与先进材料江苏高校重点实验室, 南京 210023)

2) (南京理工大学, 电子工程与光电技术学院, 南京 210094)

摘要

结构光照明显微技术(SIM)因其较低光毒性和明场成像特性被广泛应用于超分辨成像。然而, 传统 SIM 通常需在每个方向上采集三幅相移图像, 并依据准确相移量实现重建; 同时, 对于具有一定厚度的样品, 离焦效应易引入重建伪影并降低对比度。为此, 本文提出一种物理驱动的小波神经网络(PIWNN)用于实现基于交叉结构光照明的超分辨重建。交叉结构光照明允许两个方向的高频信息同时被编码进莫尔条纹中, 提高数据获取的速度同时有效抑制不同照明条件下零级频谱对重建结果的影响, PIWNN 将 SIM 成像物理模型与小波网络相结合, 通过成像物理模型约束网络重建过程, 增强样品高频信息, 并利用小波变换代替池化进行上下采样, 以减少传统池化操作引起的信息损失同时扩大感受野。所提出方法能够在无先验系统参数和预训练数据的条件下, 使用 5 幅随机相移的原始图像即可完成交叉结构 SIM 重建, 成像速度与重建鲁棒性被显著提高。仿真与实验结果表明, 该方法能够有效实现分辨率的提升, 并验证了在低照度和噪声条件下仍能保持较高的结构相似性和信噪比。

关键词: 结构光照明, 超分辨率成像, 深度学习, 小波变换

PACS: 42.30.Ms, 42.30.Wb, 42.30.Tz, 07.05.Kf

基金: 国家自然科学基金(批准号: 62575141, 62375132)资助的课题.

同等贡献作者.

† 通信作者. E-mail: cjyuan@njnu.edu.cn

第一作者. E-mail: 231012006@njnu.edu.cn

1 引言

显微成像技术在生物学^[1,2]、医学^[3]与材料科学^[4]研究中具有重要作用, 提升成像系统的空间分辨率始终是该领域的核心目标之一。为突破传统光学系统的衍

射极限^[5]，研究人员发展了随机光学重建显微术 (STORM)^[6-8]、受激发射耗尽显微术 (STED)^[9] 以及结构光照明显微成像 (SIM)^[10-17] 等超分辨成像技术。其中，SIM^[18] 因具有光毒性低、视场大、时间分辨率高以及兼容常规荧光显微系统等优势，在生物成像^[19] 和动态过程观测^[20] 中展现出良好的应用前景。

传统 SIM 利用多幅相移图像并进行频域重建实现约两倍的分辨率提升，常用的重建方法包括基于频谱分离的标准 SIM、HiFi-SIM^[21]、JSFR-SIM^[22] 以及 PCA-SIM^[23] 等，然而，这些方法依赖精确的照明参数，计算复杂，对原始图像数量要求较高。为减少重建所需的图像采集帧数并避免不同方向零级频谱的重复提取，研究者提出了多种优化策略。

左超课题组通过建立各方向零级频谱之间的关系，仅需重建一次零级频谱，提高了重建效率；郇鹏课题组利用二维光栅产生晶格照明^[24]，利用 5 幅原始图像即可实现正交方向上的分辨率提升，并将成像速度提高了 17%。刘正君课题组提出基于棋盘格调制的四帧非迭代 SIM 重建方法^[25]，实现了仅 4 幅图像的超分辨重建。随着采集帧数不断减少，系统对参数估计精度、噪声抑制能力及算法鲁棒性提出了更高要求，因此深度学习逐渐被引入 SIM 重建。基于监督学习的网络可学习原始图像与超分辨结果的映射关系，从而减少输入帧数并提升重建质量^[26, 27]。然而，其通常依赖大量高质量配对数据，泛化能力受训练数据规模、分布及标签质量影响。为降低实验数据依赖，研究者将迁移学习^[28]、物理先验约束^[29] 与物理模型驱动的神经网络^[30] 引入 SIM 重建过程。在降低数据依赖和提高泛化能力方面取得了一定进展，但面对厚样品离焦背景、伪影抑制和高频细节恢复时，网络的多尺度特征表达能力仍有待提升。

小波变换具有良好的多尺度分解能力，同时能够表征图像的低频结构信息和高频细节信息，已经被广泛应用于光学成像领域，例如全息重建^[31, 32]，SIM 重建

等。在 SIM 重建领域, 杨建课题组提出快速轻量级单帧重建网络 (FLSN)^[33], 利用小波变换设计的带通注意力模块增强细节恢复, 并抑制背景噪声与重建伪影, 仅凭单幅原始结构光图像获得与传统 15 帧 SIM 相当的重建效果。然而, FLSN 仍属于数据驱动的监督学习方法, 其性能依赖训练过程及训练数据, 难以摆脱数据依赖。

针对上述问题, 本文提出一种基于物理驱动的小波神经网络 (PIWNN) 用于交叉结构光 SIM 重建。该方法采用两个正交方向、相同空间频率的结构条纹构成交叉结构光照明, 仅需 5 幅原始图像即可完成重建。相比传统物理驱动神经网络 (PINN), PIWNN 在保持物理约束和优化策略不变的基础上, 引入小波变换替代 U-Net 中的池化下采样, 并利用逆小波变换实现多尺度特征重建, 从而减少高频信息损失, 增强细节恢复和多尺度特征融合能力。与现有小波网络不同, PIWNN 无需预训练、训练数据及照明参数先验, 而是将 SIM 前向物理模型直接嵌入网络优化, 实现基于物理约束的高质量重建。实验结果表明, 所提方法在无需训练和无需优化照明参数的条件下, 可在 5 帧输入下实现高质量、低伪影的 SIM 重建, 并有效提升重建结果的细节信息, 同时, 在低照度成像、噪声干扰以及结构照明参数存在一定偏移的情况下, 仍能保持良好的重建鲁棒性。

2 基本原理

2.1 网络物理模型

PIWNN 所采用的交叉结构照明图案由两组偏振态正交的一维周期性条纹非相干叠加而成。与传统单条纹调制方法相比, 该设计不仅减少了一幅相移图的采集需求, 同时也无需对零级频谱进行额外校准。交叉结构照明条纹如公式 (1) 所示:

$$I(x, y) = I_0[1 + m_1 \cos(2\pi k_1 x + \varphi_{1,1}) + m_2 \cos(2\pi k_2 y + \varphi_{2,1})] \quad (1)$$

其中, x 和 y 表示正交的二维空间坐标, I_0 表示强度均值, m_1 和 m_2 表示调制深度,

k_1 和 k_2 表示结构条纹的空间频率， $\varphi_{1,1}$ 和 $\varphi_{2,1}$ 表示初始相位，相移值为 $[(\varphi_{1,2}, \varphi_{2,2})(\varphi_{1,3}, \varphi_{2,3})(\varphi_{1,4}, \varphi_{2,4})(\varphi_{1,5}, \varphi_{2,5})]$ 其中， $\varphi_{1,2} = \varphi_{2,4} = \frac{2}{3}\pi, \varphi_{1,3} = \varphi_{2,5} = \frac{4}{3}\pi$ ， $\varphi_{1,4} = \varphi_{1,5} = \varphi_{2,2} = \varphi_{2,3} = 0$ ，成像过程表示为：

$$D(x, y) = [I(x, y) \cdot S(x, y)] \otimes h(x, y) + D_{bg}(x, y) = D_{in}(x, y) + D_{bg}(x, y) \quad (2)$$

其中， $S(x, y)$ 为样本分布， $h(x, y)$ 为系统点扩散函数 (PSF)， $\otimes$ 表示卷积操作，上述过程也为 PIWNN 网络中模拟结构光成像过程的物理模型。由于离焦背景信息的存在，图像可以分解为焦平面信息 $D_{in}(x, y)$ 与背景离焦信息 $D_{bg}(x, y)$ 。

真实物体 $S(x, y)$ 经过成像物理模型 $y = D(x, y)$ 的前向传播，将转化为一组经过计算的结构化照明图像 $D_i(x, y)$ ，为获得最优的样本估计 $S(x, y)$ ，其优化目标为最小化模拟图像与实验图像 $D_0(x, y)$ 之间的误差，表达式为：

$$S(x, y) = \arg \min Q \left\{ \sum_{n=1}^n [D_i(x, y) - D_0(x, y)] \right\} + g(x, y) \quad (3)$$

其中， $D_0(x, y)$ 是实验获取的衍射受限的结构条纹图像， $g(x, y)$ 是正则化项，用于抑制过拟合并稳定重建过程，将物体信息 $S(x, y)$ 作为网络输出，通过网络反向传播，采用 Adam 优化器迭代更新网络权重，设置初始学习率为 0.001。

$$M_\theta = \arg \min Q \left\{ \sum_{n=1}^n [D_i(x, y) - D_0(x, y)] \right\} \quad (4)$$

其中， M_θ 表示用于最小化损失函数的最优模型参数。

2.2 网络结构及训练流程

本研究提出的物理驱动小波神经网络 (PIWNN) 能够在无真实高分辨率标签数据的情况下，将结构光照明显微成像中获取的衍射受限低分辨率图像通过自监督的方法重建为高分辨率图像。网络整体结构及其训练流程如图 1(a-b) 所示。

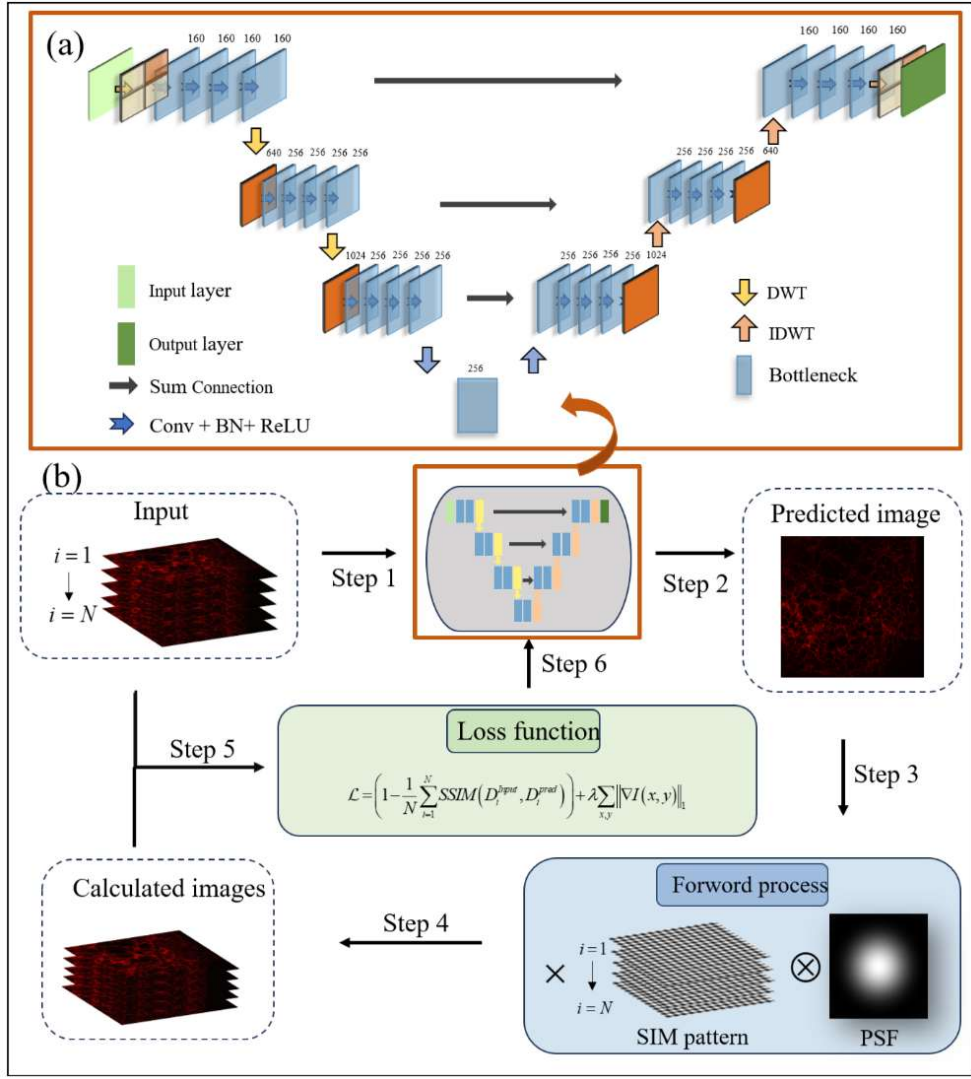


图 1 网络整体结构(a) 及其训练流程(b)

Figure 1. Network Architecture (a) and Training Workflow (b)

PIWNN 的具体结构如图 1(a)所示。网络输入为 480×480 的图像(输入图像的尺寸需满足为 2^n 的倍数, 以满足小波变换的要求, 本文由于进行了 $n = 3$ 次小波变换, 因此输入图像尺寸需为 8 的倍数), 整体采用三级编码—解码结构。在编码路径中, 输入图像首先经过浅层卷积模块提取初始特征, 随后依次经过三级 DWT 和 CNN block。每一级中, DWT 负责完成下采样和多子带分解, CNN block 则负责对当前层各子带信息进行融合, 并学习该层的紧凑表示, 再将其传递到下一层。经过三级小波分解后, 网络在最深层获得瓶颈特征(Bottleneck Feature), 该特征

既是编码端多尺度信息逐级压缩与整合后的结果，也是解码端恢复高分辨率图像的起始表示。解码路径与编码路径在整体上保持对称。每一级解码过程中，当前层特征首先经过 CNN block 进行重构与调整，随后通过 IDWT 恢复到上一尺度的空间分辨率，并与编码端对应层的特征采用逐元素求和 (Sum Connection) 的方式进行融合。

与传统 U-Net 中常用的通道拼接方式相比，该融合策略能够在减少特征冗余和计算量的同时，保持不同尺度特征分布的一致性，从而提高多尺度特征融合的稳定性和重建结果。

在网络训练阶段，如图 1(b) 所示，首先将结构光照明条件下采集得到的衍射受限 SIM 原始图像作为网络输入，神经网络生成一幅预测的高分辨率图像 (predicted image)，该预测图像可视为对真实样品高分辨率的估计结果，随后，利用已知的结构照明条纹图案以及系统光学传递函数 (OTF)，通过结构光成像的正向传播物理模型对预测图像进行前向模拟，计算得到对应的结构光调制图像 (calculated image)。为了约束网络输出结果与真实成像过程的一致性，将物理模型计算得到的结构光图像与实际输入的衍射受限结构光图像进行对比，并构建相应的损失函数，其表达式如下所示：

$$\mathcal{L} = \left(1 - \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N SSIM(D_i^{input}, D_i^{pred}) \right) + \lambda \sum_{x,y} \|\nabla I(x,y)\| \quad (5)$$

其中，第一项为结构相似性指标 (SSIM)，用于计算图像与输入图像在亮度、对比度及结构信息上的一致性，从而保证网络预测结果满足结构光成像的物理约束；第二项为图像梯度先验项，用以约束重建图像的梯度分布，抑制过度平滑现象并增强边缘与细节信息的恢复能力。参数 λ 用于平衡两项损失在整体优化过程中的

权重。

损失函数通过反向传播算法对网络参数进行更新，在每一轮迭代中，网络依次完成预测图像生成、物理模型前向传播以及损失计算(对应图 1(b)中 Step 2 - Step 6)，并通过梯度下降不断更新网络权重，直至损失函数趋于稳定。最终，网络输出的预测图像即为所需的高分辨率重建结果。在整个训练过程中，PIWNN 网络可视为一个生成器模型。通过将结构光显微成像的物理规律引入损失函数构建过程，网络能够在缺乏真实标签数据的情况下实现稳定有效的自监督学习，显著提高了方法在实际实验场景中的适用性和泛化能力。

本研究所提出的 PIWNN 网络基于 Python 3.8 和 TensorFlow 2.4.0 框架实现，所有训练与测试工作均在配备 AMD Ryzen 7 5800H CPU(3.2 GHz)和 40 GB 内存的笔记本计算平台上完成，并使用 NVIDIA GeForce RTX 3060 Laptop GPU(6 GB 显存)进行加速计算。实验中，PIWNN 网络共训练 1000 轮，每轮训练耗时约 94 ms。

2.3 小波变换网络原理

为了说明小波变换在 PIWNN 网络中的作用，通过对比传统神经网络中的池化操作和 PIWNN 中所采用的小波变换采样方式，说明小波变换多尺度分析、可逆重构的优势。传统卷积神经网络中常用的下采样方式主要包括最大池化和平均池化。如图 2(b)所示，池化操作通常以局部窗口为单位，对邻域特征进行统计压缩，其中最大池化保留局部区域内的最大响应，平均池化则保留局部区域内的平均值。池化虽然能够有效降低特征图空间分辨率，并减少后续计算量，但其本质上属于局部信息压缩，往往会在降采样过程中削弱甚至丢失部分高频细节信息，池化结果如图 2(c)所示。作为对比，二维离散小波变换(DWT)通过在行方向和列方向分别进行低通滤波与高通滤波，并结合下采样操作，将输入图像分解为四个子带，

即低频子带(LL)以及三个高频细节子带(LH、HL 和 HH)如图 2(e)。其中, LL 子带主要包含图像的整体轮廓和结构信息, LH、HL 和 HH 子带则分别表示不同方向上的边缘和纹理细节。本文采用 Haar 小波作为离散小波变换, 滤波器由 Haar 小波的一维低通滤波器和高通滤波器通过外积构造得到, 滤波器的表达式为:

$$\psi_{LL} = \begin{bmatrix} 1 & 1 \\ 1 & 1 \end{bmatrix}, \psi_{LH} = \begin{bmatrix} -1 & -1 \\ 1 & 1 \end{bmatrix}, \psi_{HL} = \begin{bmatrix} -1 & 1 \\ -1 & 1 \end{bmatrix}, \psi_{HH} = \begin{bmatrix} 1 & -1 \\ -1 & 1 \end{bmatrix}$$

因此将小波变换应用于图像网络中, 能够在降采样的同时兼顾结构信息与细节信息, 增强多尺度特征表达能力进而扩大感受野, 更适用于高分辨率图像重建、细节恢复和纹理增强等任务。

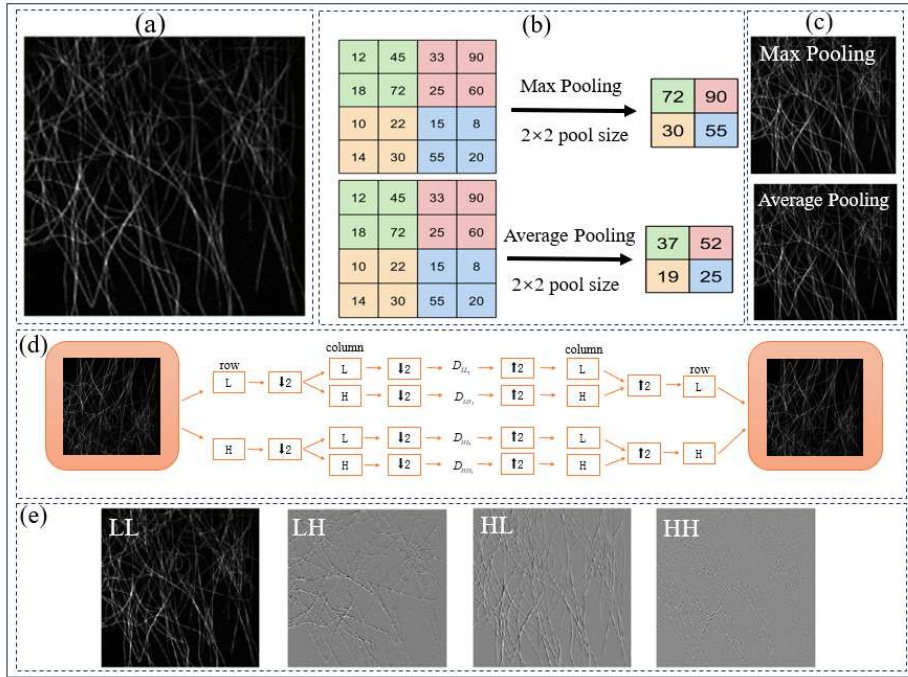


图 2 小波变换与池化操作示意图。(a) 原始图像; (b) 最大池化与平均池化原理图; (c) 池化结果图; (d) 二维离散小波变换 (DWT) 与逆小波变换 (IDWT) 原理图; (e) 小波变换结果图。

Figure 2. Schematic diagram of wavelet transform and pooling operations. (a) Original image; (b) Schematic of max pooling and average pooling; (c) Results after pooling operation; (d) Schematic of two-dimensional discrete wavelet

transform (DWT) and inverse DWT (IDWT); (e) Results after wavelet

decomposition.

3 仿真实验结果

为验证本文所提出 PIWNN 方法在衍射受限成像条件下的重建性能, 本文在与现有 PINN 方法进行对比实验, 实验结果如图 3 所示。仿真数据集基于 BioSR 数据集, 每个样本包含 6 帧结构光照明图像。

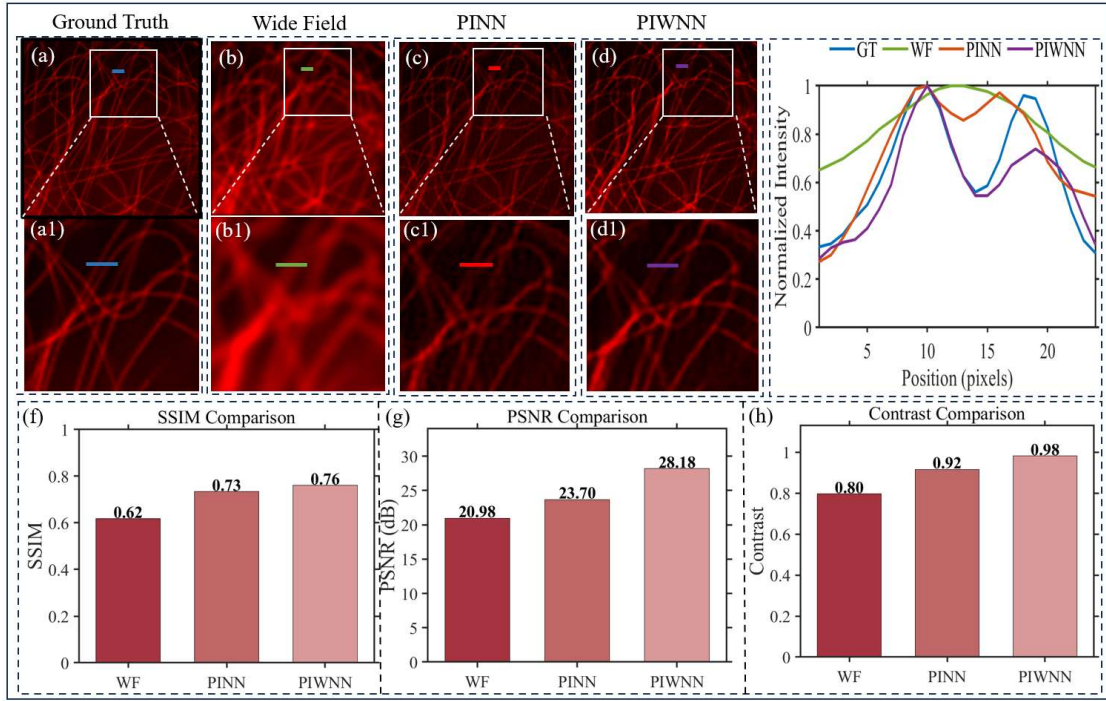


图 3 微管样本在不同方法下的重建结果。(a)Ground Truth 图像; (b)宽场图像; (c)PINN 方法和(d)PIWNN 方法的重建结果; (a1) - (d1)为对应白色方框区域的局部放大图; (e)沿水平线位置获得的归一化强度曲线; (f) - (h)分别表示不同方法在 SSIM、PSNR 和对比度指标上的定量比较结果。

Figure 3. Reconstruction results of microtubule sample under different methods. (a) Ground truth (GT) image; (b) wide-field (WF) image; reconstructed result by PINN (c) and PIWNN (d) method; (a1) - (d1) are

enlarged views corresponding the white boxed regions;(e) normalized intensity profiles along the horizontal line;(f) - (h) quantitative comparisons of SSIM, PSNR, and contrast for different methods.

图 3 显示了对微管样本的重建结果,其中图 3(a-b)分别为真值(GT)图和宽场成像结果(WF),受显微物镜数值孔径限制,边缘扩散明显,细节丢失严重;图 3(c)为 PINN 重建结果,相较 WF 分辨率有所提升,但局部细节仍不足;图 3(d)为所提出的 PIWNN 重建结果,微管轮廓更清晰、分辨率进一步提高。(a1-d1)为对应区域的放大图,对比可见 PIWNN 在细小分支和交叉结构的保持方面优于 WF 和 PINN。图 3(e)展示了沿水平线处的归一化强度曲线,WF 变化平缓,难以区分相邻结构, PINN 可部分恢复起伏;PIWNN 能更准确重建多峰分布,整体趋势最接近 GT。为了定量的说明 PIWNN 网络在重建中的优势,图 3(f-h)展示了不同重建方法下的结构相似性指数、峰值信噪比及对比度。相比 PINN (SSIM=0.73、PSNR=23.70 dB、Contrast=0.92), PIWNN 分别提高至 0.76、28.18 dB 和 0.98,对应提升 4.11%、18.93%和 6.52%。结果表明,PIWNN 在结构保持、细节恢复和整体成像质量方面均优于 WF 和 PINN,验证了其在微管图像重建中的有效性。

由于实际实验过程中常常存在曝光时间变化、荧光信号衰减以及光源不稳定等因素,采集图像的光照强度往往会发生一定波动。同时,在荧光成像过程中,过高的激发光强还可能引起光漂白和光毒性效应,不利于长时间动态观测以及活细胞成像。因此,分析网络在不同光照强度条件下的重建鲁棒性,不仅有助于评估其在实际成像环境中的稳定性,也能够验证该方法在低照明剂量条件下实现高质量重建的潜力,从而体现其在降低光毒性方面的应用价值。基于此,本文在保持样品结构及空间分布不变的前提下,以原始亮度为基准(100%),分别将图像亮

度降低至 80%、60%和 40%，构建不同低照度条件下的测试数据。

如图 4 所示，图 4(a) 为不同光照强度条件下的输入图像；图 4(b) 为 PINN 方法对应的重建结果；图 4(c) 为 PIWNN 方法对应的重建结果；图 4(d) 与图 4(e) 分别给出了 PINN 与 PIWNN 在不同光照强度条件下的结构相似性指数。可以看出，随着光照强度逐渐降低，输入图像整体亮度明显减弱，微管边缘及细节结构逐渐变得模糊，部分结构信息容易被背景噪声掩盖。在 100%亮度条件下，两种方法均能够较好地恢复微管结构；而当亮度进一步降低时，PINN 方法的重建结果中逐渐出现结构细节减弱以及对比度下降。相比之下，PIWNN 方法在不同亮度条件下均能够较好地保持微管结构的连续性和边缘清晰度，即使在 40%亮度条件下，仍能够有效恢复主要结构特征，未出现明显的结构断裂或噪声放大现象。

从定量结果来看，图 4(d) 与图 4(e) 展示了 PINN 与 PIWNN 在不同光照强度条件下的结构相似性指数(SSIM)。宽场图像的 SSIM 仅为 0.5668，而在 100%亮度条件下，PINN 与 PIWNN 分别达到 0.7894 和 0.8172。随着亮度逐渐降低，两种方法的 SSIM 均有所下降，但 PIWNN 整体仍保持更高的结构相似性。例如，在 40%亮度条件下，PINN 与 PIWNN 的 SSIM 分别为 0.7698 和 0.7807，均优于宽场结果，并且 PIWNN 仍具有更好的结构保持能力。结果表明，PIWNN 在光照强度变化条件下具有较好的重建稳定性与结构恢复能力，体现出较强的低照度鲁棒性，能够在保证成像性能的同时，有助于降低样品的光漂白与光毒性风险。

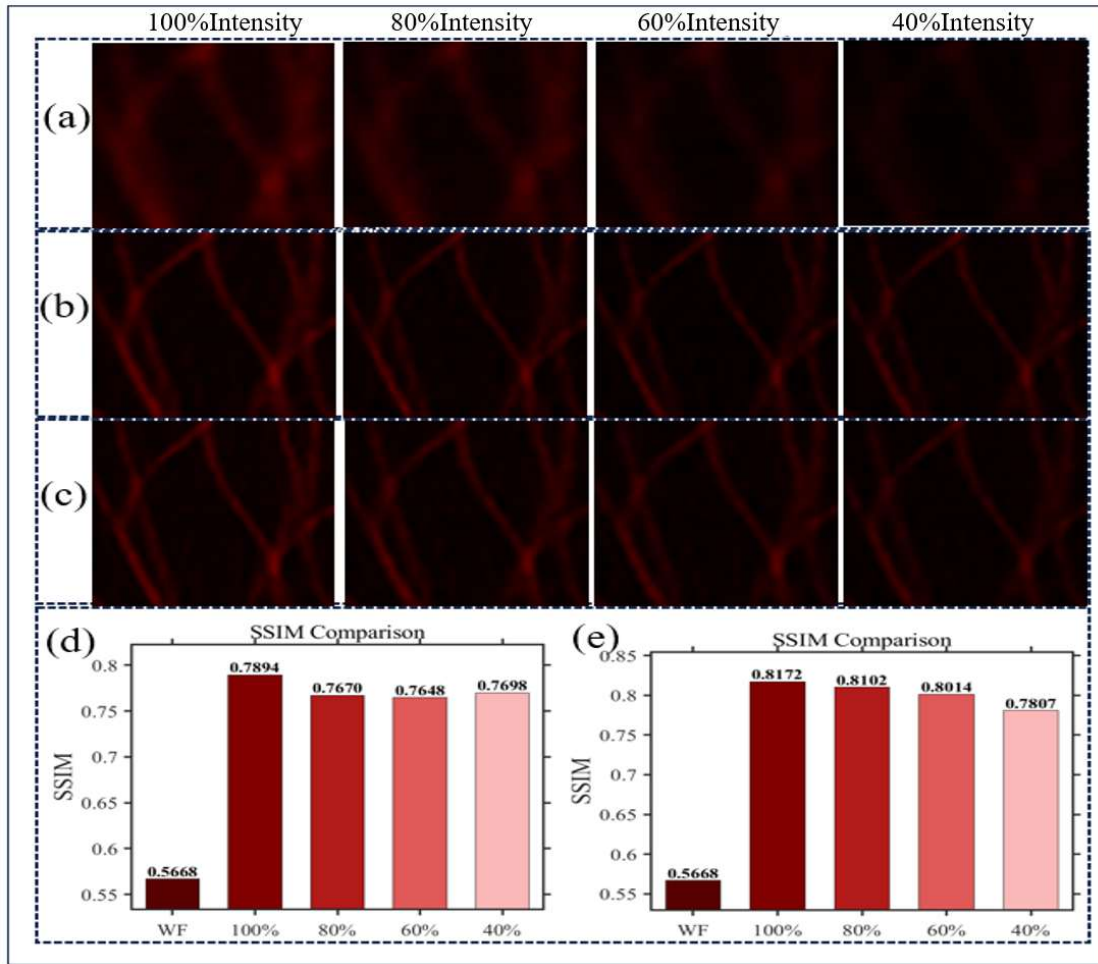


图 4 不同光照强度条件下的重建结果与 SSIM 对比。(a) 不同亮度条件下的输入图像；(b) PINN 方法对应的重建结果；(c) PIWNN 方法对应的重建结果；(d) PINN 方法在不同亮度条件下的 SSIM 对比；(e) PIWNN 方法在不同亮度条件下的 SSIM 对比。

Figure 4. Reconstruction results and SSIM comparison under different illumination intensity conditions. (a) Input images under varying brightness levels; (b) Reconstruction results by PINN method; (c) Reconstruction results by PIWNN method; (d) SSIM comparison of the PINN method under different brightness levels; (e) SSIM comparison of the PIWNN method under different brightness levels.

为验证所提出方法在噪声条件下的稳定性与鲁棒性,本文对不同噪声水平下的图像重建效果进行了分析。本文在原始微管图像上叠加标准差分别为 5、8、10 和 15 的高斯噪声,以构建不同噪声水平下的测试数据。其中,标准差越大表示噪声强度越高。根据噪声强度的不同, $\sigma=5$ 可视为轻微噪声,主要模拟实验成像过程中较弱的随机扰动; $\sigma=8$ 和 $\sigma=10$ 对应中等噪声水平,此时图像中已经出现较明显的随机噪声干扰; $\sigma=15$ 则属于较强噪声,会对图像细节及结构连续性产生较明显影响。

如图 5 所示,图 5(a) 为加入不同高斯噪声后的输入图像;图 5(b) 为 PINN 方法对应的重建结果;图 5(c) 为 PIWNN 方法对应的重建结果;图 5(d) 与图 5(e) 分别给出了 PINN 与 PIWNN 在不同噪声水平下的 PSNR 定量结果。可以看出,随着噪声强度逐渐增大,输入图像中的随机干扰明显增强,微管结构的连续性以及边缘清晰度均受到一定程度影响。当噪声水平较低时,两种方法均能够较好地恢复微管结构;而随着噪声进一步增强,PINN 方法的重建结果中逐渐出现较明显的结构模糊与噪声残留现象。相比之下,PIWNN 方法在不同噪声条件下均能够较好地保持微管结构的完整性与连续性,在高噪声条件下仍能够有效抑制噪声干扰,恢复主要结构特征,未出现明显的结构断裂或噪声放大现象。

从定量结果来看,随着噪声标准差由 5 增加至 15,两种方法的 PSNR 均呈下降趋势,这表明噪声增强会导致重建质量下降。然而,相较于 PINN 方法,PIWNN 在各个噪声水平下均取得了更高的 PSNR 值,并且其下降趋势更加平缓。在 $\sigma=5$ 时,PINN 与 PIWNN 的 PSNR 分别为 30.49 dB 和 30.65 dB;当噪声增大至 $\sigma=15$ 时,PINN 的 PSNR 下降至 19.64 dB,而 PIWNN 仍保持 20.93 dB。结果表明,PIWNN 在高噪声条件下仍具有较好的重建性能与稳定性。

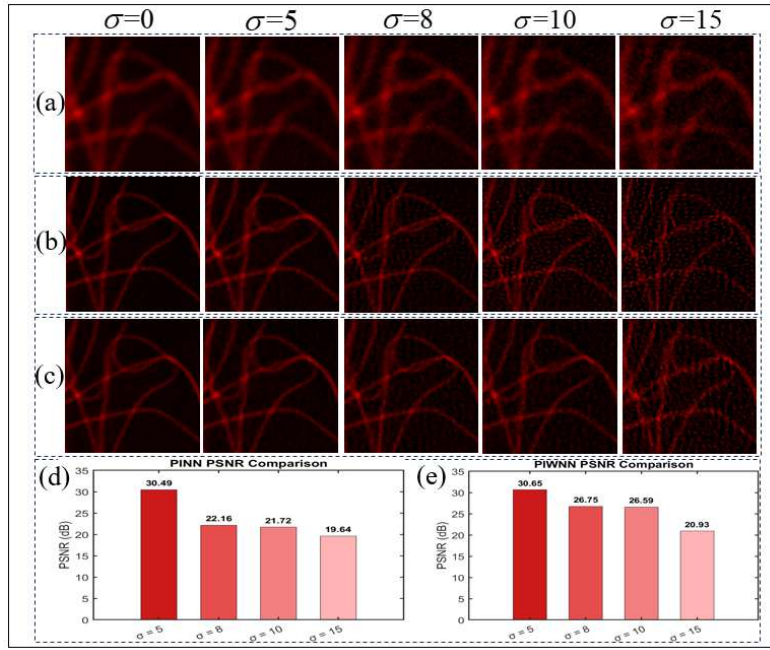


图 5 不同高斯噪声水平下的重建结果与 PSNR 对比。(a)加入不同高斯噪声后的输入图像；(b)PINN 方法对应的重建结果；(c)PIWNN 方法对应的重建结果；(d)PINN 方法在不同噪声水平下的 PSNR 对比；(e)PIWNN 方法在不同噪声水平下的 PSNR 对比。

Figure 5. Reconstruction results and PSNR comparison under different levels of Gaussian noise. (a) Input images with Gaussian noise at various levels; (b) Reconstruction results using PINN method; (c) Reconstruction results using PIWNN method; (d) PSNR comparison of the PINN method under different noise levels; (e) PSNR comparison of the PIWNN method under different noise levels.

为验证所提出方法在实际照明变化条件下的适用性与稳定性，本文开展了网络在不同结构照明参数偏移条件的鲁棒性分析。由于 PIWNN 网络在重建过程中需要输入与成像过程中相对应的结构照明条纹信息作为先验，然而，在实际实验过程中，结构照明条纹可能由于系统误差、环境扰动等因素导致条纹频率、方向

等参数发生一定偏移。本文在三种不同结构照明条件下对微管样本进行了对比实验。如图 6 所示，图 6(a-c) 分别展示了三组不同结构照明条纹条件下的重建结果及其局部放大图。每组图中，左侧为重建图像，黄色方框标出了局部放大区域；下方为对应的结构照明条纹图，彩色短线表示用于强度曲线分析的位置；右侧为黄色方框区域的放大结果。图 6(a) 对应标准结构照明条纹条件，图 6(b) 和图 6(c) 分别对应条纹参数发生偏差后的重建结果。图 6(d) 给出了三组结构照明条纹在选定位置处的归一化强度分布曲线，用于比较不同条纹之间的变化。图 6(e) 为宽场成像结果的局部放大图，作为结构照明重建结果的对照。图 6(f) 比较了三组结构照明重建图像与宽场图像在相应标线处的归一化强度曲线。结果表明，宽场图像的强度变化较为平缓，峰谷区分不明显，难以准确表征微管的细节结构；相比之下，在三种不同结构照明条件下，重建结果均能够恢复出较清晰的强度峰值分布，峰值位置整体保持一致，说明所提出方法在条纹频率发生小范围偏移以及条纹方向出现轻微旋转时，仍能够较稳定地恢复微管结构信息。

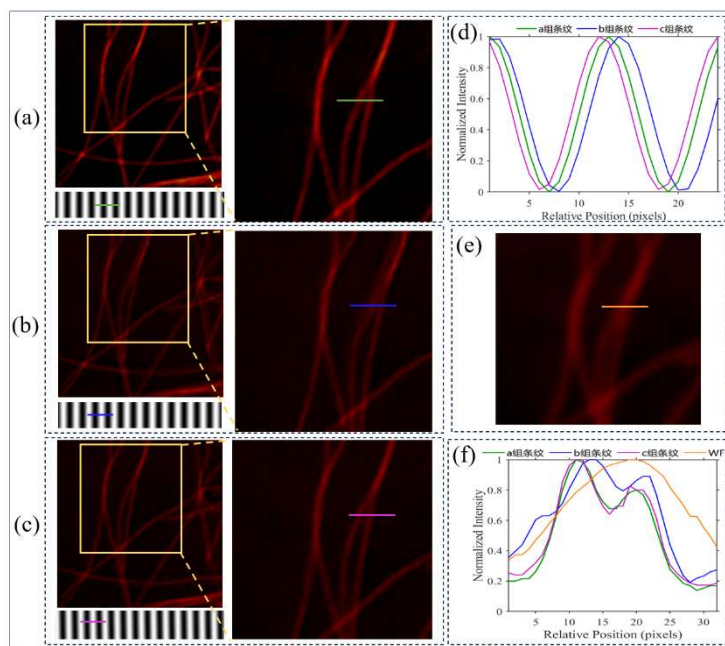


图 6 不同结构照明条件下的重建结果。(a - c) 标准条纹、频率变化 5%及方向

旋转 1° 条件下的条纹图案、重建结果与局部放大图。(d) 三种条纹的归一化强度曲线。(e) 宽场图像局部放大图。(f) SIM 重建结果与宽场图像的归一化强度剖面。

Figure 6. Reconstruction results under different structured illumination conditions. (a–c) Fringe patterns, reconstruction results, and magnified views under standard, 5% frequency-shifted, and 1° direction-rotated conditions, respectively. (d) Normalized intensity profiles of the three fringe patterns. (e) Magnified wide-field image. (f) Normalized intensity profiles of the SIM reconstruction and wide-field image.

4 实验结果

所提出的 PIWNN 网络能够应用于基于结构照明的透射式显微成像系统和反射式荧光成像系统，以提高成像分辨率。其实验装置及典型成像结果如图 7 和图 8 所示。

4.1 透射式实验装置和实验结果

在透射式显微成像系统中，632.8nm 的氦氖激光器作为照明光源，激光束首先经过扩束准直系统(BEC)获得平面光波。随后，准直后的光束通过偏振片(P)，其作用是调节入射光的偏振态，以满足空间光调制器(SLM, PFSLM-055-6.37V)的工作要求。经过偏振调节后的激光束入射到分束棱镜(BS)后，被反射至预先加载结构照明图案的 SLM 表面上，所加载的条纹空间频率设置为 347 lp/mm 。SLM 反射后的调制光束再次返回 BS，并沿光路传播。经透镜(L)后，调制光束通过自制偏振滤光片(Filter)进行级次选择并进行偏振调制，其偏振态分布形式如图 7(b)所

示。随后，光束经物镜 M01(10X, 数值孔径为 0.25)汇聚并照射到样品 S 表面，对样品进行结构光调制照明。样品响应信号经成像物镜 M02(10X, 数值孔径为 0.25)收集后，继续通过管透镜(TL)传输，最终由 CMOS(DMK 33UX183, 像素间距为 2.4 微米，总像素数 1920*1080)相机记录。通过在 SLM 上加载不同的正交结构条纹图案并结合相应的相移控制，系统能够完成交叉结构光超分辨重建所需的多帧图像采集。

在透射式实验中，使用 USAF 1951 分辨率版进行测试(图 7(b))，宽场成像仅能分辨第八单元第四组线对，而 PIWNN 方法能够清晰恢复第九单元第三组线对，实现约 1.6 倍分辨率提升(实验受限于分辨率板最高线对)。放大图及沿指定方向的归一化强度曲线显示，宽场成像的条纹强度变化平缓，难以分辨高频线对，而 PIWNN 能够清晰分离多个独立峰值，并且不依赖传统 SIM 的频域重建和精确相位估计，降低了系统误差敏感性。

为验证 PIWNN 在真实生物组织成像中的性能，本文对肺组织样本进行了实验(图 7(c))。宽场成像下，组织边界和细微结构不清晰；而 PIWNN 重建图像中，组织轮廓更清晰，背景抑制有效，局部边界和纹理细节得到增强。沿标示方向提取的归一化强度曲线显示，宽场成像峰值变化平缓，而 PIWNN 重建结果的峰谷结构更清晰，组织界面对应的强度差异更加显著，表明该方法在分辨率和成像对比度提升方面具有明显优势。

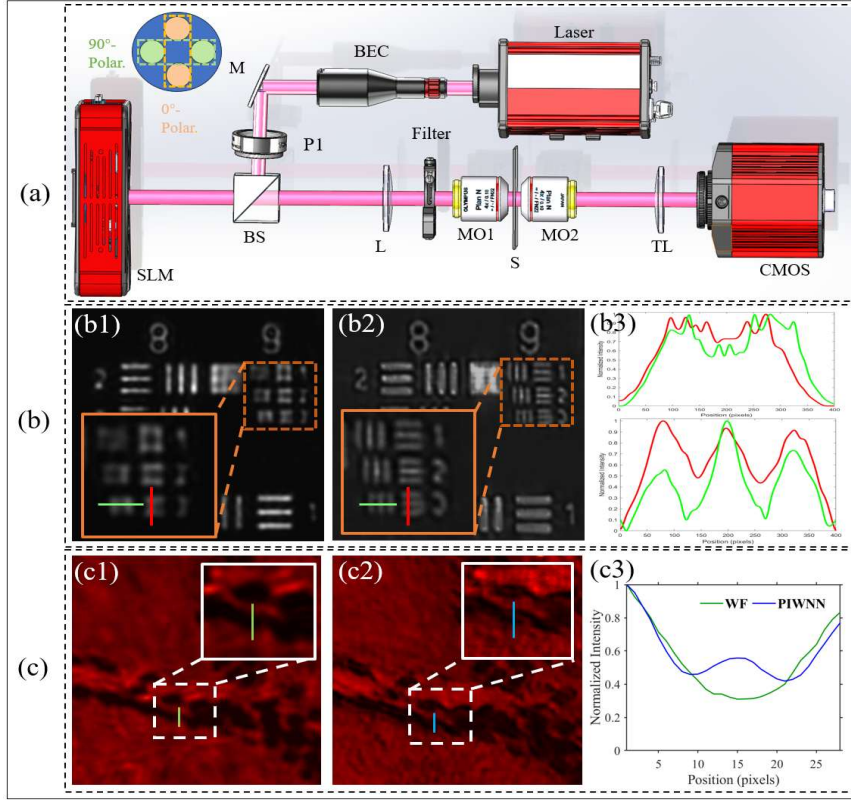


图 7 透射式成像系统实验装置及成像结果。(a) 实验装置示意图；(b) 分辨率板成像结果；(b1) 为宽场成像结果；(b2) 为 PIWNN 重建结果；(b3) 为沿指定方向提取的归一化强度曲线；(c) 肺组织样本成像结果；(c1) 为宽场成像结果；(c2) 为 PIWNN 重建结果；(c3) 为沿标示线提取的归一化强度曲线。

Fig. 7. Experimental setup and imaging results of the transmission imaging system. (a) Schematic of the experimental setup. (b) Imaging results of the resolution target: (b1) wide-field imaging result, (b2) PIWNN reconstruction result, and (b3) normalized intensity profile extracted along the indicated direction. (c) Imaging results of the lung tissue sample: (c1) wide-field imaging result, (c2) PIWNN reconstruction result, and (c3) normalized intensity profile extracted along the marked line.

4.2 反射式实验装置和实验结果

将所提出的 PIWNN 网络应用于基于结构照明的反射式荧光成像系统。为评估其在反射式成像系统中的性能，本文搭建了反射式荧光结构照明显微成像平台，并进行了聚苯乙烯小球与木槿花粉样本实验。实验装置及成像结果如图 8 所示。

图 8(a) 为反射式荧光结构照明显微成像系统示意图。系统采用 532 nm 激光器作为光源。激光经扩束准直系统(Beam Expander Collimation, BEC)后形成均匀平面光波，随后入射至数字微镜器件(DMD, F6500 TYPE A 1060P VIS)，DMD 上加载预设结构条纹图案以实现结构化照明。经 DMD 调制的光束通过二向色镜(Dichroic Mirror, DM)反射，由物镜 MO 聚焦照射至样品表面，激发荧光信号。样品产生的荧光由物镜 M 收集，经二向色镜透过管透镜(Tube Lens, TL)及滤光片 2(Filter 2)后，由 CMOS (DMK 33UX183) 相机记录。图 8(a) 左上角插图显示了自制偏振滤光片的偏振分布形式，包括 0° 和 90° 两种偏振方向，用于实现级次选择与偏振调制。通过在 DMD 上加载不同方向的结构条纹并结合相移控制，可获得 PIWNN 网络重建所需的多帧图像。

为验证 PIWNN 方法在反射式成像系统中的分辨率增强能力，本文选用 $1\ \mu\text{m}$ 的聚苯乙烯小球作为成像样本。实验结果如图 8(b) 所示。图 8(b1) 为宽场成像结果，可见小球区域存在明显模糊，相邻小球边界难以区分，反映出系统原始横向分辨率的限制(系统理论极限分辨率约为 $1.745\ \mu\text{m}$)。图 8(b2) 为 PIWNN 重建结果，显示小球轮廓显著清晰化，相邻小球得以有效分离。图 7(b3) 为沿图中绿色线段提取的归一化强度曲线，宽场成像曲线变化平缓，峰值区分度较低，说明横向分辨能力有限；而 PIWNN 重建曲线呈现明显峰谷波动，相邻小球的局部峰值得以清晰分离，峰间过渡区域更为显著。可以得出 PIWNN 方法将相较原始宽场成像提升约 1.745 倍，充分表明该方法在反射式成像系统中可显著增强分辨率并恢复

微小结构信息。此外，对重建后的聚苯乙烯小球进行了尺寸测量，得到其直径约为 $1.2\ \mu\text{m}$ ，与样品直径 ($1\ \mu\text{m}$) 较为接近，说明 PIWNN 能够较准确地恢复目标尺寸，并有效提高系统的横向分辨能力。

为验证 PIWNN 方法在厚生物样品成像中的适用性，本文对木槿花粉样本进行了成像实验，结果如 8(c) 所示。图 8(c1) 为实验采集的原始图像，其中蓝框标注聚焦区域，绿框标注离焦区域。聚焦区域中可观察到清晰的结构照明条纹，而离焦区域条纹明显减弱。图 8(c2) 为宽场成像结果，显示样本整体轮廓，但离焦背景及花粉刺结构较模糊，细节信息不足。图 8(c3) 为 PIWNN 重建结果，可明显恢复焦平面内花粉刺结构，同时抑制离焦背景信号，体现出良好的光切片成像效果。图 8(c4) 为局部放大图及沿白色线段提取的强度曲线，对比宽场成像与 PIWNN 重建结果。结果显示，宽场成像下花粉刺结构边缘模糊，强度分布平缓；而 PIWNN 重建结果中边缘清晰，强度峰形尖锐，进一步验证了该方法在厚样品中可有效区分聚焦与离焦信息，实现光切片成像效果，同时提升结构信息恢复能力。

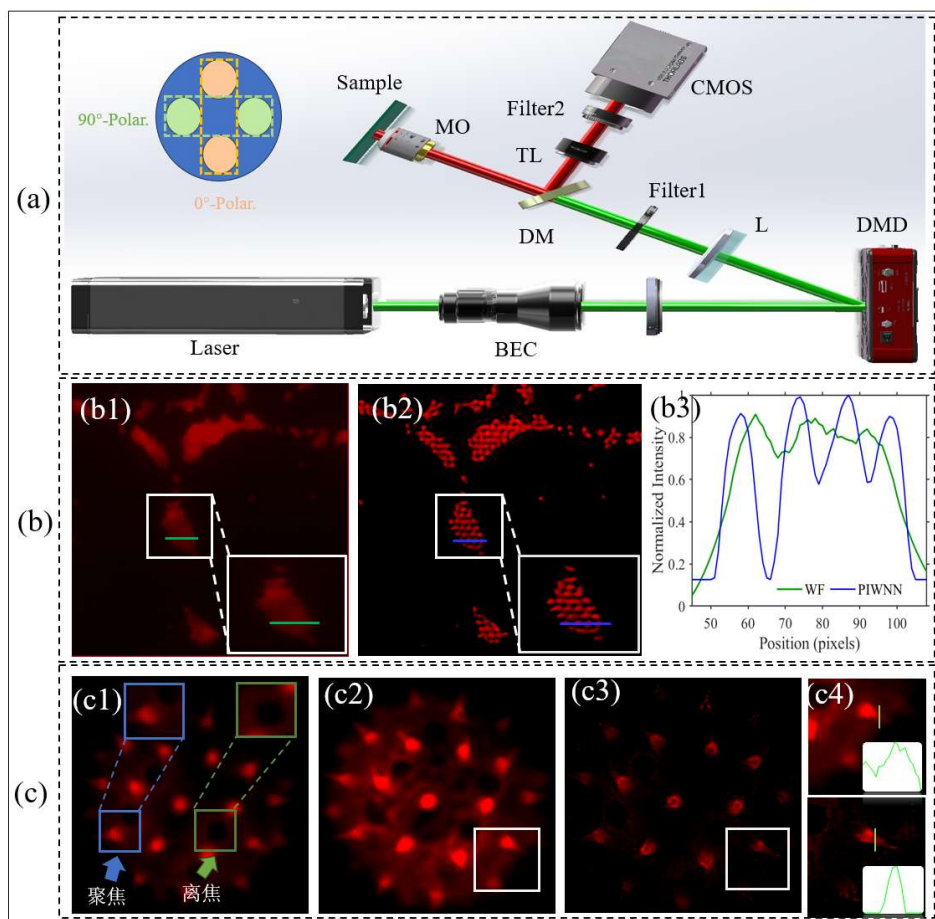


图 8 反射式荧光结构照明显微成像系统及实验结果。(a) 实验装置图；(b) 聚苯乙烯小球实验结果，(b1) 宽场成像结果，(b2) PIWNN 重建结果，(b3) 沿绿色线段提取的归一化强度曲线；(c) 木槿花粉实验结果，(c1) 实验采集的原始图像，(c2) 宽场成像结果，(c3) PIWNN 重建结果，(c4) 局部放大图及沿白色线段提取的强度曲线。

Fig. 8. Reflective fluorescence structured illumination microscopy system and experimental results. (a) Schematic of the experimental setup. (b) Experimental results of polystyrene microspheres: (b1) wide-field imaging result, (b2) reconstruction result by PIWNN, and (b3) normalized intensity profile extracted along the green line. (c) Experimental results of hibiscus pollen: (c1) experimentally acquired raw image, (c2) wide-field imaging result, (c3) PIWNN reconstruction

result, and (c4) locally enlarged view together with the intensity profile extracted along the white line.

5 结 论

本文提出并验证了一种基于物理驱动的小波神经网络 (PIWNN) 的交叉结构光超分辨重建方法。该方法面向传统 SIM 在多帧采集、参数依赖以及厚样品离焦伪影等方面的局限, 采用两个正交方向、相同空间频率的交叉条纹照明方案, 在仅需 5 幅原始图像的条件下实现了兼顾超分辨重建与背景抑制的成像效果。PIWNN 将 SIM 前向物理成像模型引入重建过程, 在无需标注训练数据与无需照明参数先验的前提下完成交叉结构 SIM 重建, 从而降低了对数据集与系统标定的依赖并提升了重建鲁棒性; 进一步地, 小波网络代替传统的池化操作, 能够提高网络的多尺度分解能力, 增强细节恢复能力, 从而提升图像对比度并减少伪影。仿真与实验结果表明, 本文方法在透射式系统中实现约 1.6 倍分辨率提升, 在反射式系统中实现 1.75 倍分辨率提升, 同时显著改善重建质量; 并且在低照度和噪声条件下仍能保持较高的结构相似性和信噪比。此外, 在不同条件及分辨率测试样品与生物组织样品的实验中, PIWNN 均表现出良好的细节提升能力与背景抑制效果, 验证了其在复杂成像场景下的适用性与稳定性。该方法有望与结构光定量相位成像相结合, 实现非染色样品的超分辨成像, 进一步拓展其在生物显微成像中的应用, 未来工作将进一步结合更丰富的成像条件与样品类型, 对算法效率与三维动态成像开展研究, 以推动其在生物显微成像及相关应用中的进一步发展。

参考文献

- [1] Pan T, Lu D, Xin H, Li B 2021 *Light Sci Appl* **10** 124
- [2] An S, Guo X, Cai Z, Lei Y, Wen K, Suo H, Kong X, Nienhaus G U, Gao P 2026

- [3] Miccio L, Mugnano M, Marchesano V, Calabuig A, Wang Z, Giordano G, Borrelli F, Grilli S, Ferraro P 2026 *Adv. Funct. Mater.* **36** e18941
- [4] Xie Z, Tang Y, Zhou Y, Deng Q 2018 *Opt. Express* **26** 2944
- [5] Abbe E 1873 *Archiv für mikroskopische Anatomie* **9** 413
- [6] Wang Z H, Shan L K, Weng T T, Chen T L, Chen X D, Wang Z Y, Guo G C, Sun F W 2024 *Photon. Res.* **12** 7
- [7] Bates M, Huang B, Dempsey G T, Zhuang X 2007 *Science* **317** 1749
- [8] Huang B, Wang W, Bates M, Zhuang X 2008 *Science* **319** 810
- [9] Willig K I, Keller J, Bossi M, Hell S W 2006 *New J. Phys.* **8** 106
- [10] Gustafsson M G L 2000 *J. Microsc.* **198** 82
- [11] York A G, Parekh S H, Nogare D D, Fischer R S, Temprine K, Mione M, Chitnis A B, Combs C A, Shroff H 2012 *Nat. Methods* **9** 749
- [12] Lim D, Ford T N, Chu K K, Metz J 2011 *J. Biomed. Opt.* **16** 1
- [13] Wicker K, Mandula O, Best G, Fiolka R, Heintzmann R 2013 *Opt. Express* **21** 2032
- [14] Lal A, Shan C, Xi P 2016 *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.* **22** 50
- [15] Ge Y Y, He Z F, Huang L L, Lin D Y, Cao H Q, Qu J L, Yu B 2022 *Acta Phys. Sin.* **71** 048704 (in Chinese) [葛阳阳, 何灼奋, 黄黎琳, 林丹樱, 曹慧群, 屈军乐, 于斌 2022 物理学报 **71** 048704]
- [16] Yang H Z, Nie M J, Ma G P, Cao H Q, Lin D Y, Qu J L, Yu B 2024 *Acta Phys. Sin.* **73** 098702 (in Chinese) [杨浩智, 聂梦娇, 马光鹏, 曹慧群, 林丹樱, 屈军乐, 于斌 2024 物理学报 **73** 098702]

-
- [17] Qian J, Dang S P, Zhou X, Dan D, Wang Z J, Zhao T Y, Liang Y S, Yao B L, Lei M 2020 *Acta Phys. Sin.* 69 128701 (in Chinese)[千佳, 党诗沛, 周兴, 但旦, 汪召军, 赵天宇, 梁言生, 姚保利, 雷铭 2020 物理学报 69 128701]
- [18] Chen X, Zhong S, Hou Y, Cao R, Wang W, Li D, Dai Q, Kim D, Xi P 2023 *Light Sci Appl* **12** 172
- [19] Wu Y, Shroff H 2018 *Nat. Methods* 15 1011
- [20] Ward E N, Hecker L, Christensen C N, Lamb J R, Lu M, Mascheroni L, Chung C W, Wang A, Rowlands C J, Schierle G S K, Kaminski C F 2022 *Nat. Commun.* 13 7836
- [21] Wen G, Li S, Wang L, Chen X, Sun Z, Liang Y, Jin X, Xing Y, Jiu Y, Tang Y, Li H 2021 *Light Sci Appl* **10** 70
- [22] Wang Z, Zhao T, Hao H, Cai Y, Feng K, Yun X, Liang Y, Wang S, Sun Y, Bianco P R, Oh K, Lei M 2022 *Adv. Photon.* **4**
- [23] Qian J, Cao Y, Bi Y, Wu H, Liu Y, Chen Q, Zuo C 2023 *eLight* **3** 4
- [24] Zheng J, Fang X, Wen K, Li J, Ma Y, Liu M, An S, Li J, Zalevsky Z, Gao P 2022 *Opt. Express* **30** 27951
- [25] Wang Y, Ji Y, Zhou X, Wen X, Li Y, Liu Z, Liu S 2024 *Opt. Lasers Eng.* 174 107938
- [26] Jin L, Liu B, Zhao F, Hahn S, Dong B, Song R, Elston T C, Xu Y, Hahn K M 2020 *Nat. Commun.* 11 1934
- [27] Shah Z H, Müller M, Wang T C, Scheidig P M, Schneider A, Schüttpelz M, Huser T, Schenck W 2021 *Photon. Res.* **9** B168
- [28] Christensen C N, Ward E N, Lu M, Lio P, Kaminski C F 2021 *Biomed. Opt.*

- [29] Liu X, Li J, Fang X, Li J, Zheng J, Li J, Ali N, Zuo C, Gao P, An S 2023 *Opt. Commun.* **537** 129431
- [30] Burns Z, Liu Z 2023 *Opt. Express* **31** 8714
- [31] Ou Z, Liu X, Tang J, Mehmood M Q, Tauqeer T, Dou J, Di J, Qin Y 2026 *Opt. Lett.* **51** 1784
- [32] Li X, Han C, Zhang C 2024 *Opt. Commun.* **557** 130353
- [33] Cheng X, Li J, Dai Q, Fu Z, Yang J 2022 *IEEE Trans. Instrum. Meas.* **71** 1

Physics-Informed Wavelet Neural Network for Super-Resolution Imaging Based on Crossed Structured Illumination

Xin Li¹⁾# Xiang Chen¹⁾# Xinyang Yu¹⁾ Xianjie Liu¹⁾ Yi Huang¹⁾ Xiang Li¹⁾ Shouping
Nie¹⁾ Jun Ma²⁾ Caojin Yuan¹⁾ [†]

1) (Key Laboratory of State Manipulation and Advanced Materials in Provincial
Universities, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

2) (School of Electronic Engineering and Optoelectronic Techniques, Nanjing University of
Science and Technology, Nanjing 210094, China)

Abstract

Structured Illumination Microscopy (SIM) has been widely used in super-resolution imaging owing to its low phototoxicity and wide-field imaging capability. However, traditional SIM requires three phase-shifted images for each illumination direction and relies on accurate phase-shift estimation. Meanwhile, for samples with a certain

thickness, reconstruction artifacts are easily introduced and image contrast is reduced due to out-of-focus effects. To address these issues, this paper proposes a physics-informed wavelet neural network (PIWNN) for super-resolution reconstruction based on crossed structured illumination. Crossed structured illumination enables high-frequency information from two directions to be simultaneously encoded into Moiré fringes, thereby improving data acquisition speed while effectively suppressing the influence of the zero-order spectrum under different illumination conditions on the reconstruction results. PIWNN combines the SIM physical model with wavelet network. The physical model is used to constrain reconstruction process and enhance high-frequency information of sample, while wavelet transform is employed to replace pooling operation for upsampling and downsampling, thereby information loss can be reduced and the receptive field can be enlarged. The proposed method can complete crossed-illumination SIM reconstruction using only five raw images with random phase shifts, without prior system parameters and pretraining datasets, imaging speed and reconstruction robustness can be improved significantly. Simulation and experimental results demonstrate that the proposed method effectively improves resolution and maintains high structural similarity and signal-to-noise ratio under low-illumination and noisy conditions.

Keywords: Structured illumination, Super-resolution imaging, Deep learning, Wavelet

transform

* Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 62575141, 62375132)

These authors contributed equally.

† Corresponding author.E-mail: cjyuan@njnu.edu.cn

The first author.E-mail: 231012006@njnu.edu.cn

录用稿件，非最终出版稿