

# Handleiding voor het analyseren van spreeuwen foto's

Het kwantificeren van vogels (spreeuwen) in groepen op digitale foto's met behulp van R of ImageJ

## Inhoud

- Inleiding
- Analyse in R
- Analyse met behulp van ImageJ

## Inleiding

Voor het kwantificeren van spreeuwen die in groepen vliegen op digitale foto's, genomen door vrijwilligers, zijn twee methoden ontwikkeld (zie het verslag: '[Towards a fully automated image analysis system applicable to ecological studies](#)'). De eerste methode is ontworpen in R, de tweede in het programma ImageJ. De applicatie in R is voor het grootste gedeelte zo gemaakt dat het proces zo veel mogelijk automatisch verloopt. Het uitgangspunt was dan ook om zo weinig mogelijk gebruikers input nodig te hebben om foto's te analyseren. In het geval van ImageJ was dit in niet mogelijk, deze methode vraagt dan ook meer interactie in vergelijking met de eerder genoemde methodiek, maar is daardoor wel meer inzichtelijker voor de wat nieuwere gebruiker. Resultaten voor beide applicaties zijn terug te vinden in het verslag, het betreft hier een bachelor stage verslag waarin beide methodes zijn ontwikkeld en waarbij meerdere foto's zijn geanalyseerd om de effectiviteit van beide methodes vast te stellen. Als voorbeeld zijn in de map '[Example images](#)' een aantal foto's toegevoegd die zowel voor applicatie in R als in ImageJ gebruikt kunnen worden om gewent te raken aan beide tools. De theorie achter beide methodieken wordt in detail behandeld in het eerder vernoemde verslag.

## Analyse in R

Voor het gebruik van de methode ontwikkeld in R is het script '[four steps and functions.R](#)' nodig en het package genaamd '[starling](#)', hierin staan de functies en stappen waarmee het mogelijk wordt om met behulp van R verschillende foto's te analyseren. Het analyse proces verloopt volgens vier eenvoudige stappen, zoals terug te vinden in het R script en in de geproduceerde package. Bij het gebruik van de volgende methode wordt geadviseerd R studio te gebruiken. Voor een gebruiker die onbekend is met het installeren van een package en het openen van een R script, kan de video '[Analyzing bird images inside R](#)' hulp bieden (<https://www.youtube.com/watch?v=rvBjsCJOjqk>). In deze video wordt het gehele proces doorlopen een rustige en eenvoudige stappen. Niet alleen de installatie van het package en het openen van de bestanden, maar ook de hieronder volgende vier stappen worden in de video behandeld.

1. Na het installatie proces (eindigt 1 min 15 van de tutorial video) kunnen de stappen voor het analyseren doorlopen worden, beginnende bij de eerste functie: '[listbirdfiles](#)'. Voor dat de functie gedraaid kan worden is het nodig om de juiste '[path](#)' te zetten naar een map die alle te analyseren foto's bevat, dit wordt gedaan achter '[directPictures=](#)'. Een voorbeeld is te zien in de figuur hieronder:

```
5 ~ #####
6 ### step 1: setting directory and opening file
7 # set directory images
8 direcPictures="/Users/Selwyn/Desktop/Images" # path to folder, between brackets
9 # function 1: list all files in folder choosen
10 listbirdfiles(direcPictures)
```

Vervolgens geeft de functie een lijst van alle bestanden die in de map aanwezig zijn. In de volgende functie kan vervolgens een van deze bestanden gekozen worden om geopend te worden (zowel .jpg als .png worden ondersteund).

2. In de tweede stap is het nodig om het nummer van de gewenste afbeelding in te voeren uit de lijst die eerder werd gemaakt bij stap 1. Achter '[image\\_to\\_open](#)' moet het juiste nummer van de afbeelding komen, zoals bijvoorbeeld te zien in de onderstaande afbeelding:

```

12  ### step 2: setting threshold
13  # settings
14  image_to_open=3 # choose image to open from list (state number of image in list)
15  Threshold=0.0 # Threshold is set automatically but can be altered for better res
16  # function 2: setting threshold
17  setThreshold(image_to_open,Threshold)

```

Het

Het is tevens mogelijk om de '*threshold*' (uitgelegd in het eerder genoemde verslag) aan te passen. Dit is in de meeste gevallen niet nodig, maar soms kunnen foto's echter zo afwijkend zijn dat aanpassing nodig is. Het verhogen van de threshold zorgt ervoor dat meer objecten in de selectie worden mee genomen, een verlaging minder. Zowel de originele foto als een foto met een threshold worden geopend na het uitvoeren van de tweede stap. Door deze twee met elkaar te vergelijken kan worden bepaald of de threshold juist is bepaald door de functie.

3. In de derde stap worden objecten op de achtergrond (zoals bomen en gebouwen) van de foto verwijderd, hoe dit precies gebeurt staat beschreven in het eerder genoemde verslag. De derde stap hoeft niet perse uitgevoerd te worden en kan worden overgeslagen als er geen objecten in de achtergrond aanwezig zijn. Om objecten succesvol te verwijderen kan het soms nodig zijn om de maximale en minimale grote van de vogels aan te passen (zie de onderstaande foto; '*maxsize*' en '*minsize*'), vooral als foto's onder een bepaalde resolutie zijn (bijvoorbeeld onder 1000x700).

```

19  ### step 3: creating layer with unwanted objects (if necessary, otherwise continue with the ne
20  # settings
21  maxsize=0 # max size bird patches, see histogram for possible adjustment (200=default, if wher
22  minsize=0 # min size bird patches (0=default, if when 0 is entered as value)
23  # function 3: creating layer with unwanted objects
24  backgroundObjects(maxsize,minsize)

```

Maar in de meeste gevallen doen de default instellingen het prima. Twee foto's worden na de uitvoering van de derde stap, namelijk één met alleen de vogels resterend en één met de verwijderde objecten. Aan de hand van deze twee foto's is het mogelijk indien nodig de maximale en minimale grote aan te passen.

4. In de laatste stap worden de resterende vogels verdeelt in twee groepen, één groep met patches die bestaan uit één vogel en één groep met patches die bestaan uit meerdere vogels doordat deze zijn samengesmolten in de foto. De verdeling van deze twee groepen kan soms wat aanpassing nodig hebben. In de onderstaande afbeelding is te zien dat de vierde functie twee waarden nodig heeft namelijk een mogelijke aanpassing aan de eerder genoemde verdeling ('*adjustdivision*') en of stap 3 wel of niet is uitgevoerd ('*step3*') .

```

26  ### step 4: dividing remaining patches in two groups and displaying results
27  # settings
28  step3=1 # 1 for if step 3 was used, 0 when skipping the 3rd step
29  adjustdivision=0 # may need adjustment when not choosing size catagories correct (0=default,
30  # function 4: dividing remaining patches in two groups and displaying results
31  divideResults(step3,adjustdivision)

```

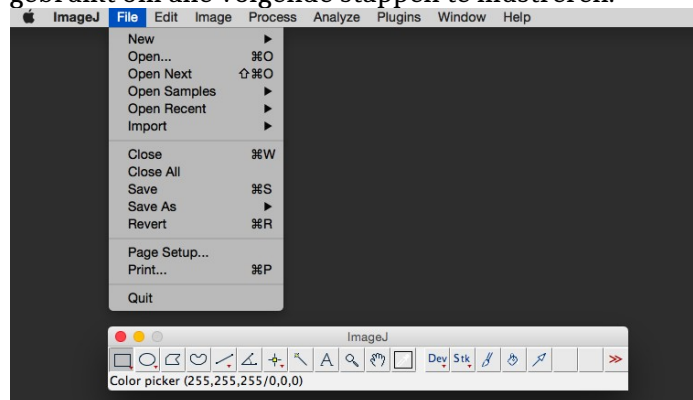
De laatste stap geeft een foto waarop het uiteindelijke resultaat zichtbaar is. In rood zijn patches weer gegeven die een spreekwoord vertegenwoordigen en in blauw twee spreekwoorden. Tevens geeft R een histogram weer van de verdeling van verschillende groottes van alle patches die spreekwoorden vertegenwoordigen (in pixel aantallen). Hierdoor is het makkelijker om te zien of R een juiste verdeling heeft gemaakt, de gekozen verdeling door R is weergegeven in het console gebied samen met het totale aantal van aanwezig spreekwoorden.

### Analyse met behulp van ImageJ

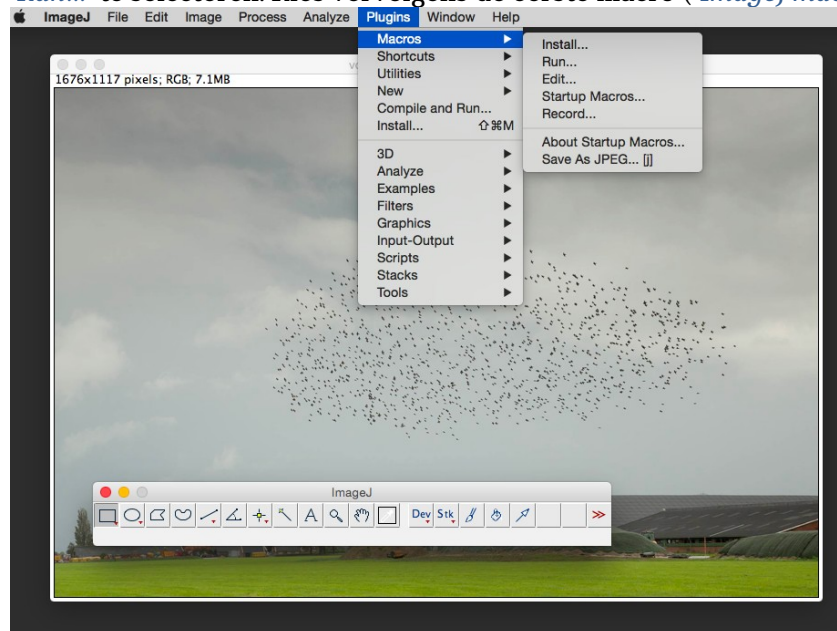
ImageJ is een gratis software programma bedoelt om foto's te analyseren, het kan gratis gedownload worden van <http://imagej.nih.gov/ij/download.html>. Het is zowel beschikbaar voor Windows als Linux en Mac besturingssystemen. Het is gebaseerd op een coderingstaal in Java, vandaar de naam Image "J". Java heeft dan wellicht ook updates nodig om ImageJ goed te laten functioneren. De functies binnen ImageJ kunnen

worden uitgebreid met 'packages' van het internet, deze methode is echter zo gemaakt dat geen extra functies nodig zijn binnen ImageJ. Met ImageJ is het mogelijk om zo gehete macro scripts te maken, waardoor verschillende functies binnen het programma automatisch en volgens plan verlopen. Om de analyse voor de gebruik zo simpel mogelijk te maken zijn voor deze methode in ImageJ twee macro scripts gemaakt. Deze 2 macro's zijn te vinden in de bijgeleverde folder '*ImageJ scripts*' ('*ImageJ macro part 1*' en '*ImageJ macro part 2*'). Het analyse proces verloopt volgens de volgende vier simpele stappen (waarbij de eerder genoemde 2 macro scripts gebruikt worden). De voorbeelden zijn geïllustreerd in op een Mac, maar voor Windows en Linux besturingssystemen gelden dezelfde ondernomen stappen. Het gehele proces is ook te zien in een video op you tube ([https://www.youtube.com/watch?v=tHJKjWOD\\_kk](https://www.youtube.com/watch?v=tHJKjWOD_kk))

1. Na een succesvolle installatie van ImageJ, is het mogelijk een foto in te laden door te navigeren naar '*Open...*' via het menu genaamd '*File*'. Kies vervolgens de foto die geanalyseerd dient te worden. In dit geval is een van de voorbeeld foto's gebruikt om alle volgende stappen te illustreren.



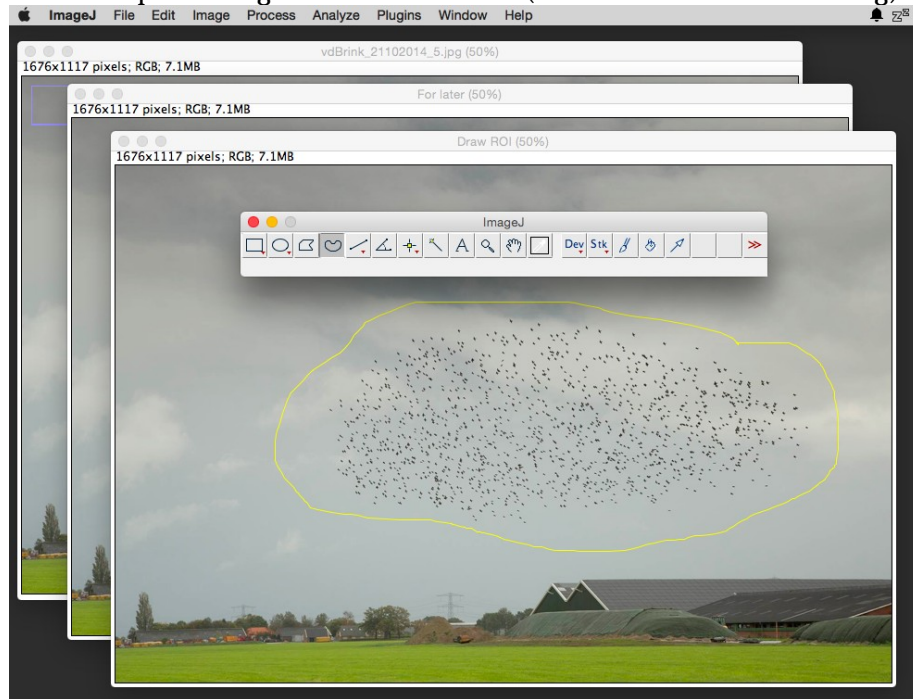
2. Vervolgens is het tijd om de eerste macro te gebruiken. Dit kan worden gedaan door onder het menu '*Plugins*' voor '*Macros*' te kiezen en vervolgens de optie '*Run...*' te selecteren. Kies vervolgens de eerste macro ('*ImageJ macro part 1*').



Vervolgens openen er twee duplicaten van de eerder geselecteerde foto. Eén daarvan is nodig voor de volgende stap (met de titel '*Draw ROI*'), de tweede is nodig voor later, vandaar de titel '*For later*'.

3. Bij de derde stap is het nodig om met de hand de '*Region of interest*' (ROI) te selecteren. Dit is het gebied waar alle objecten zich bevinden die later gekwantificeerd dienen te worden. Het selecteren van de ROI gaat met behulp van de '*Freehand selection tool*' (het vierde knopje van links zoals te zien in de onderstaande afbeelding). Vervolgens is het mogelijk om met behulp van de

muis het specifieke gebied te omcirkelen (zie onderstaande afbeelding).



Hierbij helpt het als de ROI zorgvuldig wordt bepaald, zo dat het een gesloten vorm is die alle vogels omvat.

5. Vervolgens kan de tweede macro ('*ImageJ macro part 2*') gestart worden op dezelfde manier zoals beschreven in stap 2 voor de eerste macro.

Vervolgens wordt automatisch het eindresultaat bepaald en geïllustreerd (in zwart wit) zoals te zien in de onderstaande afbeelding. De tabel 'Summary' geeft het totaal aantal gevonden objecten weer binnen de ROI (onder het kopje '*Count*'), daarnaast bevat de tabel '*Results*' alle oppervlaktes van de verschillende gevonden objecten (onder het kopje '*Area*'). Beide tabellen kunnen als Excel tabellen worden geëxporteerd.

