

Morphométrie sur les invertébrés marins des expéditions du Muséum national d'Histoire naturelle

Routine d'extraction de caractères morphologiques
(longueurs, angles, formes)



Photographies :

- Récupération des spécimens d'expéditions à la zoothèque
- Utilisation d'un banc photographiques
- Angles de photographies à définir
e.g. Faces ventrales, dorsales, latérales, apicales...
- Nombre de spécimens à prendre en photos à définir
e.g. 30 spécimens par espèce, 4 spécimens (2 mâles, de 2 femelles) par espèce...
- Standardisation des photos afin de les mettre en ligne
e.g. orientations, échelle...
- Stockage dans un disque dur externe puis dans la base de la médiathèque du Muséum avant envoi sur science.mnhn.fr

Mesures morphologiques : Logiciel ImageJ

ImageJ est un logiciel de traitement d'images à des fins scientifiques, notamment utilisé en biologie cellulaire.

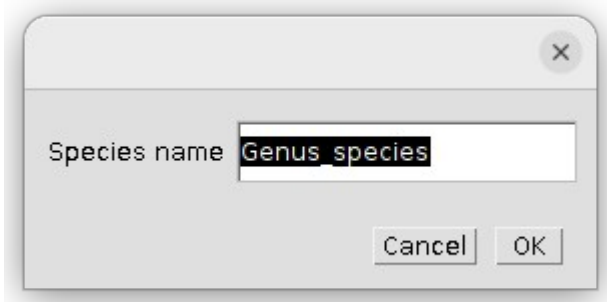
Toutes les infos et liens de téléchargements accessibles depuis la page wiki du projet : <https://imagej.net/>

Ce logiciel permet de coder des macros (fonction) en java afin de contrôler un enchaînement de traitement sur les photos. Cela permet de faciliter le traitement d'un grand nombre de photos.

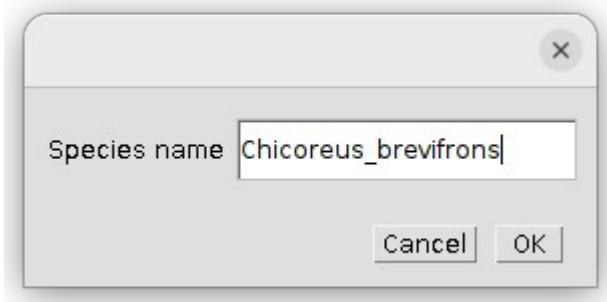
La fonction "Plugins" > "Macros" > "Record..." permet d'ouvrir une fenêtre qui affichera la traduction en java de toutes les opérations réalisées avec l'interface utilisateur. Cet outil permet d'identifier les fonctions utiles et leur retranscription dans une macro personnalisée.

Mesures morphologiques : Logiciel ImageJ

Un exemple de macro permettant de mesurer des caractères morphologiques sur des espèces de Muricidae (Néogastéropodes) est détaillée ci-dessous.



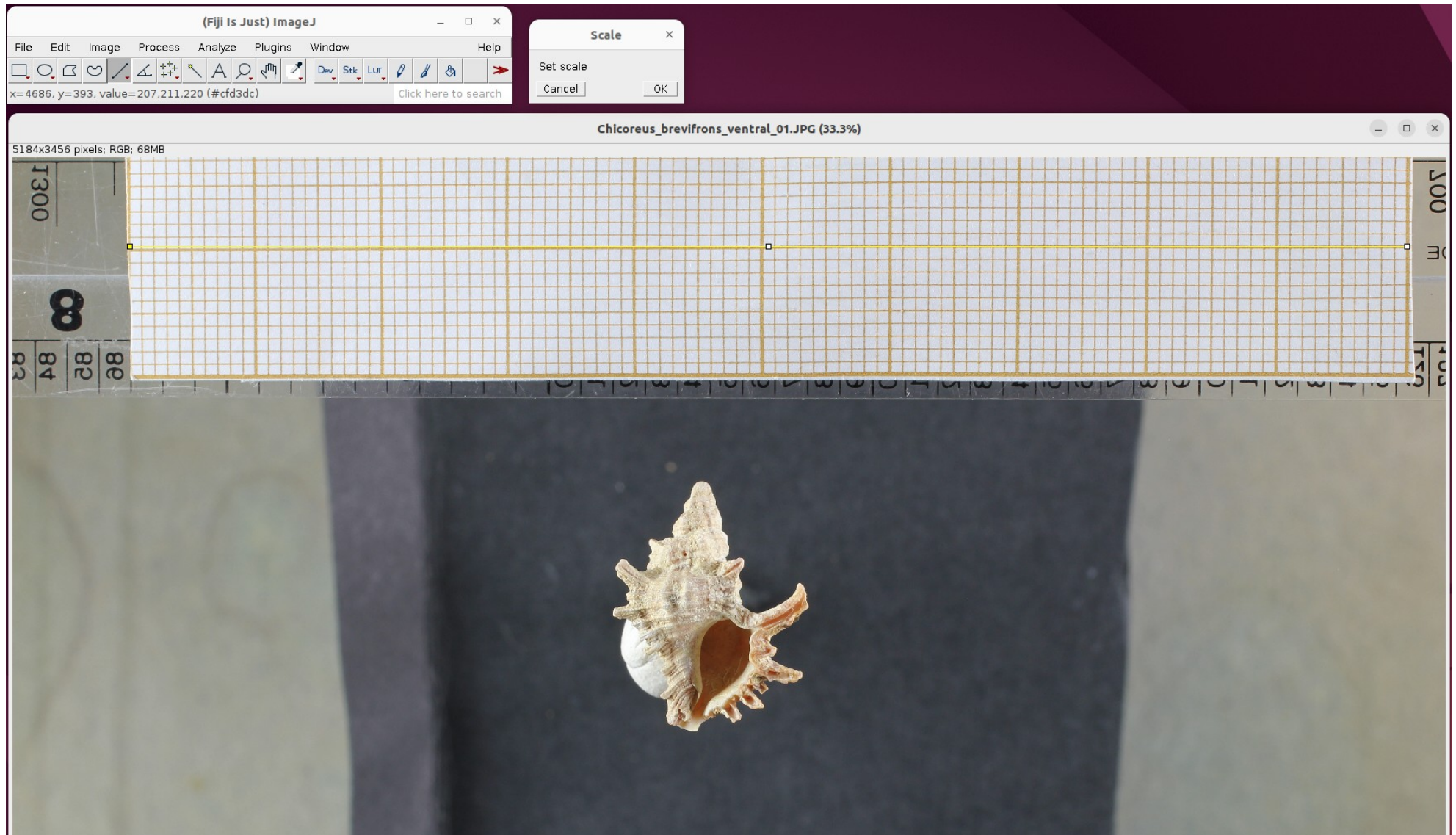
La macro est codée pour prendre en compte toutes les photos d'une seule espèce présente dans un dossier. La première fenêtre demande donc d'explicitier le nom de l'espèce au format "Genre_espèce".



La macro ouvre alors la première image du dossier et répétera les traitements pour toutes les images du dossier.

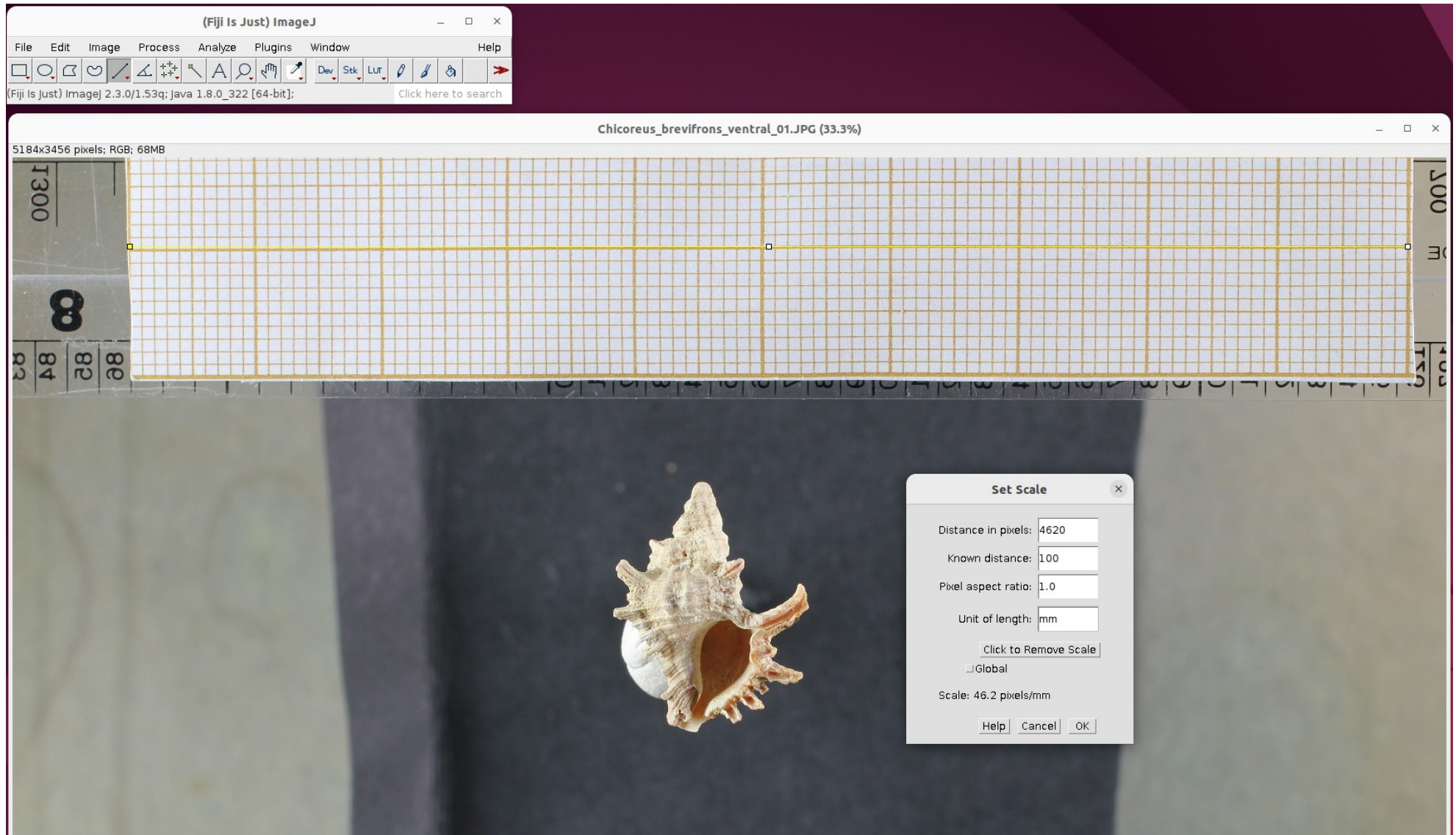
Mesures morphologiques : Logiciel ImageJ

Echelle : l'outil "Line" est sélectionné, il suffit de créer une ligne sur une distance connue puis d'appuyer sur "OK".



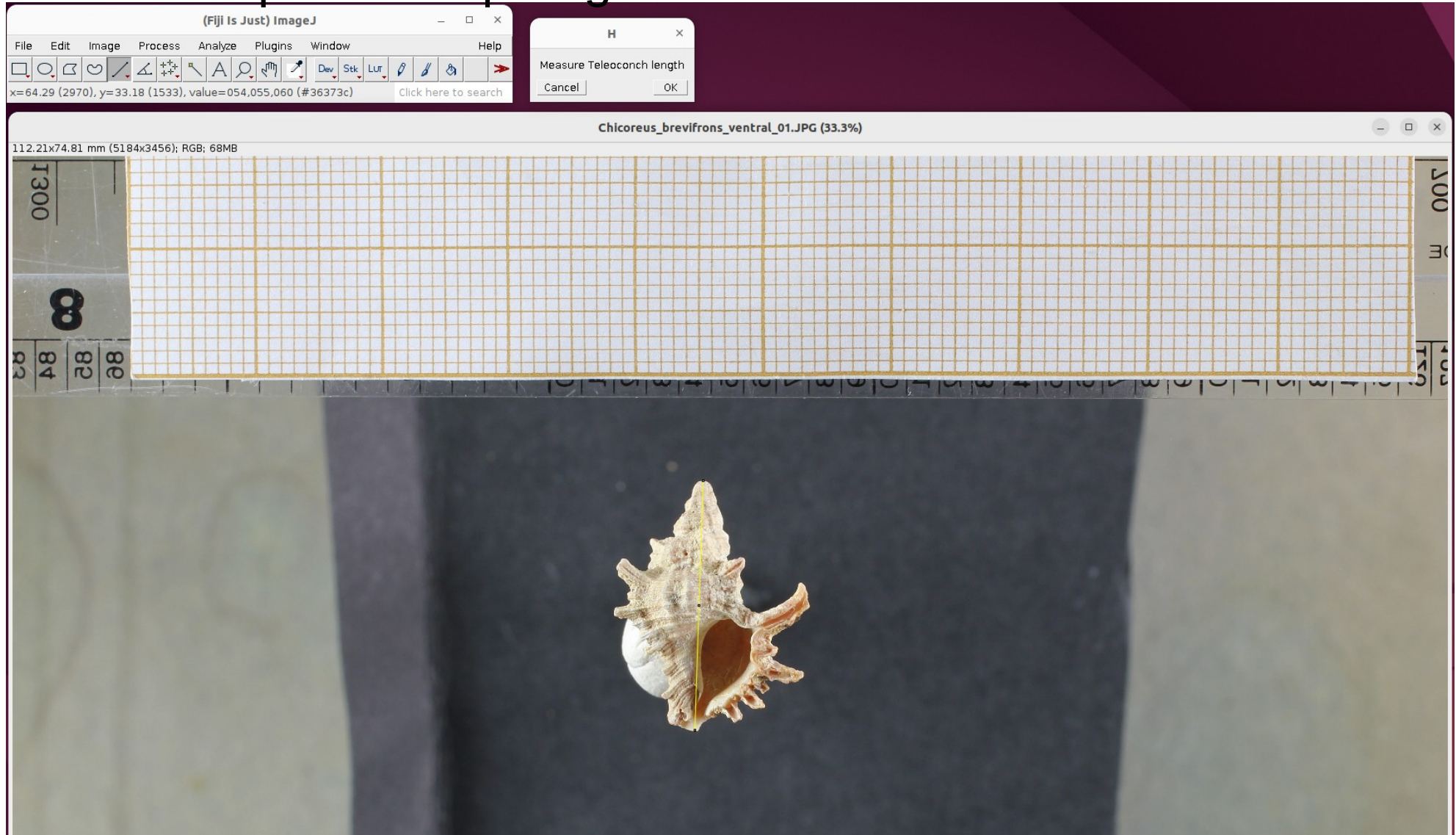
Mesures morphologiques : Logiciel ImageJ

Echelle : Une fenêtre de dialogue s'ouvre alors, renseignez la distance connue ainsi que son unité. Cliquez sur "OK".



Mesures morphologiques : Logiciel ImageJ

Mesures : Selon les mesures pré-établies, plusieurs traitements sont alors possible. Ici, une mesure linéaire pour la longueur de la téléoconque du coquillage.



Mesures morphologiques : Logiciel ImageJ

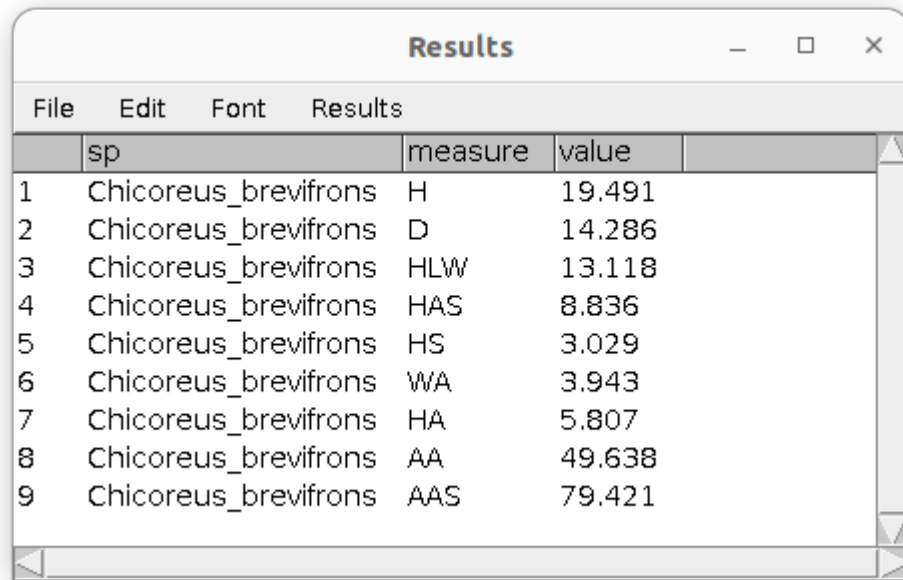
Mesures : La mesure peut-être une ligne brisée (ici, longueur de l'ouverture et du canal siphonal) ou un angle (mesure de l'angle apical).



Pro-tips : Le dernier point de la ligne brisée doit être validé avec le clic droit de la souris.

Mesures morphologiques : Logiciel ImageJ

Mesures : Les mesures sont alors consignés dans un tableau dont la forme est établie dans la macro, puis sera enregistré au format .csv.



The screenshot shows the 'Results' window in ImageJ. The window has a menu bar with 'File', 'Edit', 'Font', and 'Results'. Below the menu bar is a table with four columns: 'sp', 'measure', and 'value'. The table contains nine rows of data, all for the species 'Chicoreus_brevifrons'. The measurements are H, D, HLW, HAS, HS, WA, HA, AA, and AAS, with corresponding numerical values.

	sp	measure	value
1	Chicoreus_brevifrons	H	19.491
2	Chicoreus_brevifrons	D	14.286
3	Chicoreus_brevifrons	HLW	13.118
4	Chicoreus_brevifrons	HAS	8.836
5	Chicoreus_brevifrons	HS	3.029
6	Chicoreus_brevifrons	WA	3.943
7	Chicoreus_brevifrons	HA	5.807
8	Chicoreus_brevifrons	AA	49.638
9	Chicoreus_brevifrons	AAS	79.421

Un script R permet ensuite de regrouper ces tables sous R et d'utiliser les valeurs pour des analyses ultérieures.

(aggregation_mesures_imagej.R)

Le script doit être adapté pour convenir aux mesures morphométriques désirée, pour adapter le tableau de résultat en conséquence et pour choisir les bons dossiers d'entrée et de sortie.

Extraction des formes : Logiciel SHAPE

- Nécessité de disposer d'un fichier au format .chc afin de pouvoir le traiter dans l'écosystème R.

- Recours au logiciel libre *SHAPE* :

- <http://lbm.ab.a.u-tokyo.ac.jp/~iwata/shape/>

- Iwata, H., and Y. Ukai (2002) SHAPE: A computer program package for quantitative evaluation of biological shapes based on elliptic Fourier descriptors. *Journal of Heredity* 93: 384-385.

Extraction des formes : Pré-requis SHAPE

- Extraction d'une forme à partir d'une photographie :
e.g. *Photoshop*, ImageJ, tablette graphique...
- À savoir sur l'utilisation du logiciel *SHAPE* :
 - Ne lit que les images en extension .bmp 24-bit **couleur**, un pré-traitement de l'image (diapo suivante) est donc nécessaire ;
 - Peut traiter à la chaîne plusieurs images dans un même dossier ;
 - Le logiciel peut prendre en compte une échelle ;
 - Il enregistre des enchaînements de nombre indiquant une direction permettant de recréer un contour. Ces chaînes de caractères sont sauvegardées dans un fichier .chc (*chain code*). Si le nom du fichier est inchangé et que plusieurs images sont traitées à la suite, chaque contour sera **ajouté** dans le même fichier.

Extraction des formes : Pré-traitement ImageJ

Objectif : Obtenir le contour d'une forme qui se détache bien du reste de l'image au format .bmp sur une image couleur.

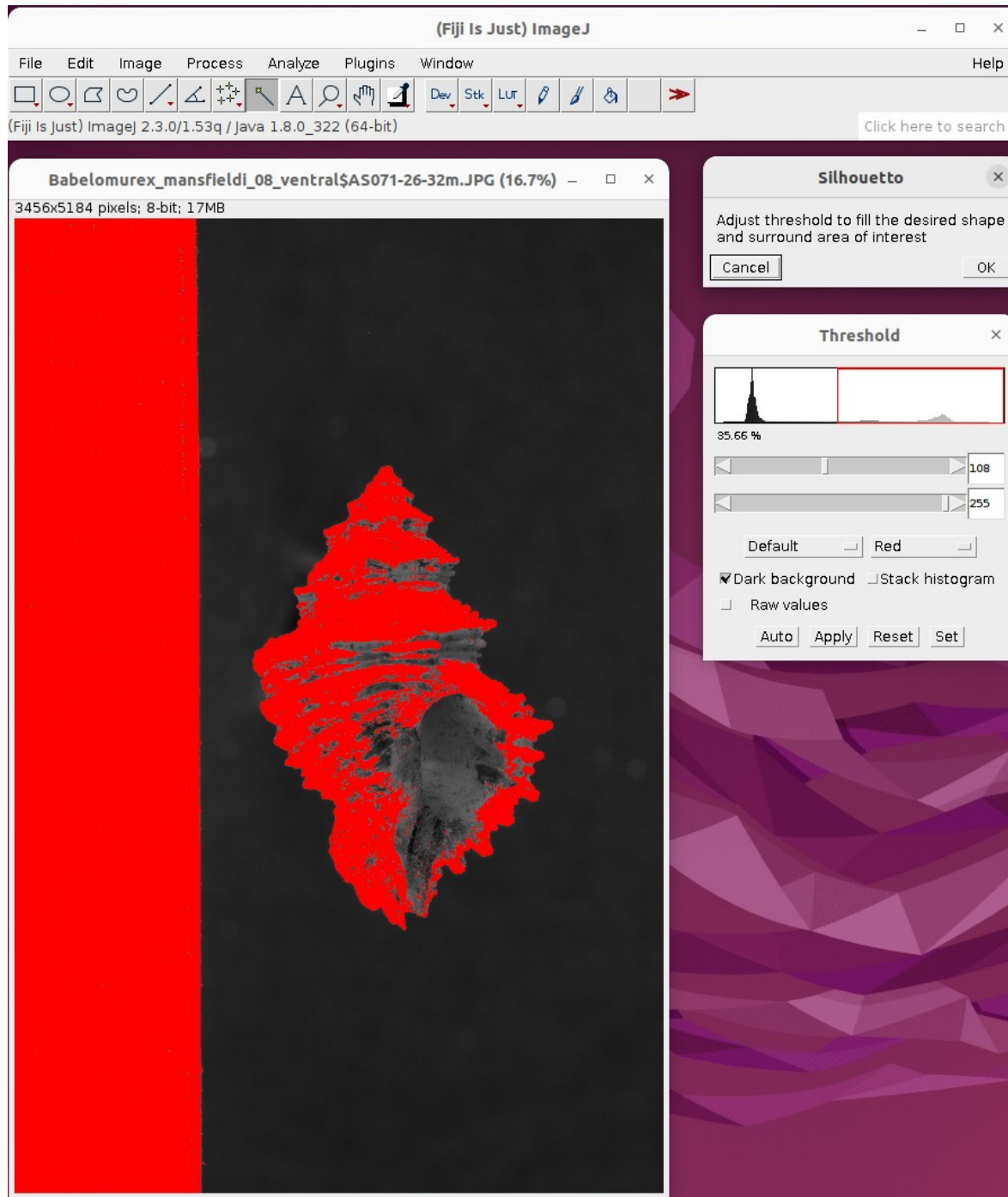
La macro *extraction_silhouette_bmp.ijm* permet de sélectionner le contour d'une forme et d'en extraire un contour accessible pour *SHAPE*.

Paramètre à ajuster :

- Chemin du dossier avec les fichiers d'entrée (images à “découper”)
- Chemin du dossier de sortie (images découpées au format .bmp)
- La couleur de fond selon si l'arrière-plan de la photo est clair ou sombre.

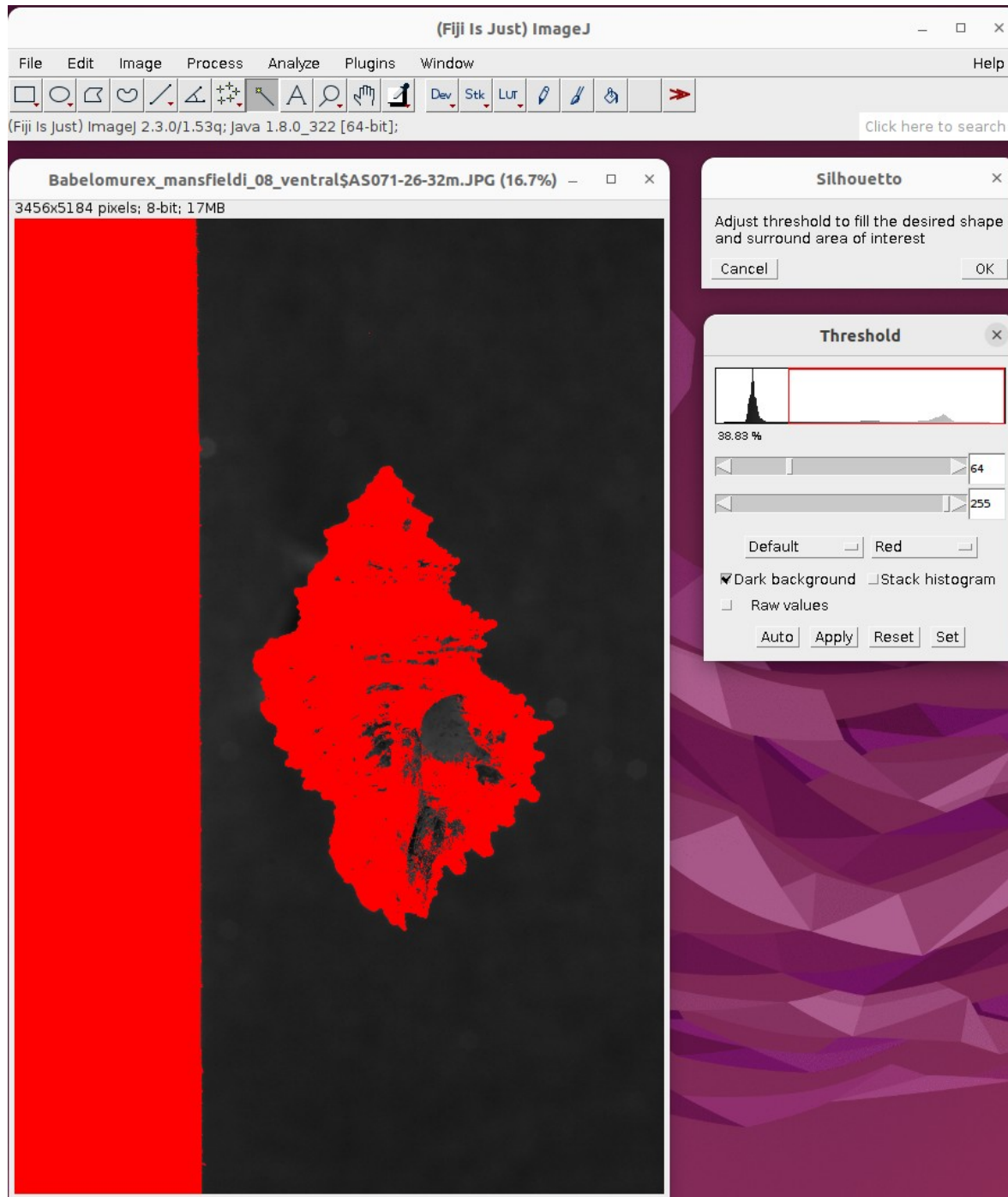
Dans ImageJ, Ctrl + O permet d'ouvrir le code, exécutable avec la touche “Run” ou Ctrl + A puis Ctrl + K

Extraction des formes : Pré-traitement ImageJ



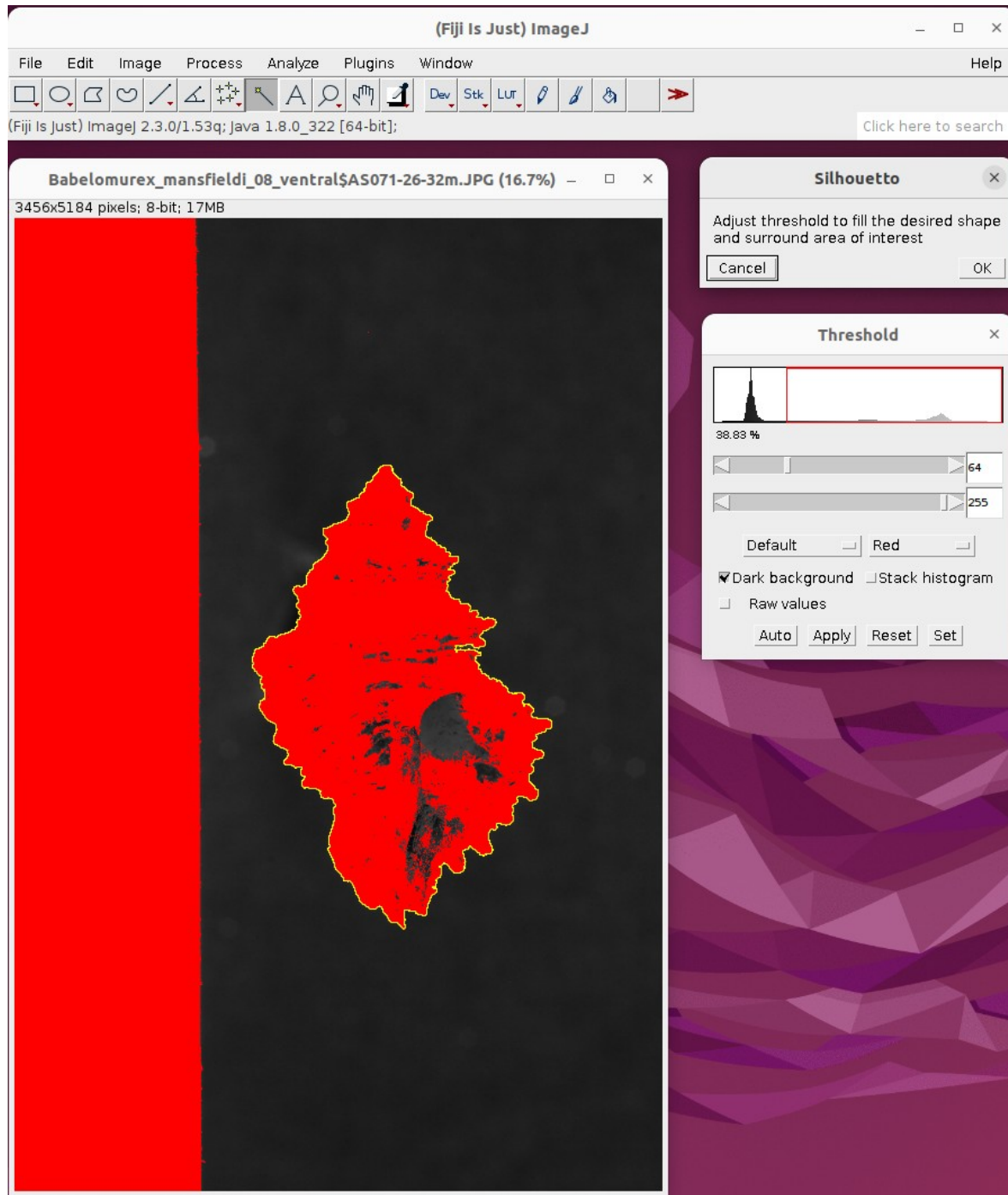
La macro ouvre le premier fichier du dossier et active la fonction “Threshold” pour colorer les zones d’un certain niveau d’intensité.

Extraction des formes : Pré-traitement ImageJ



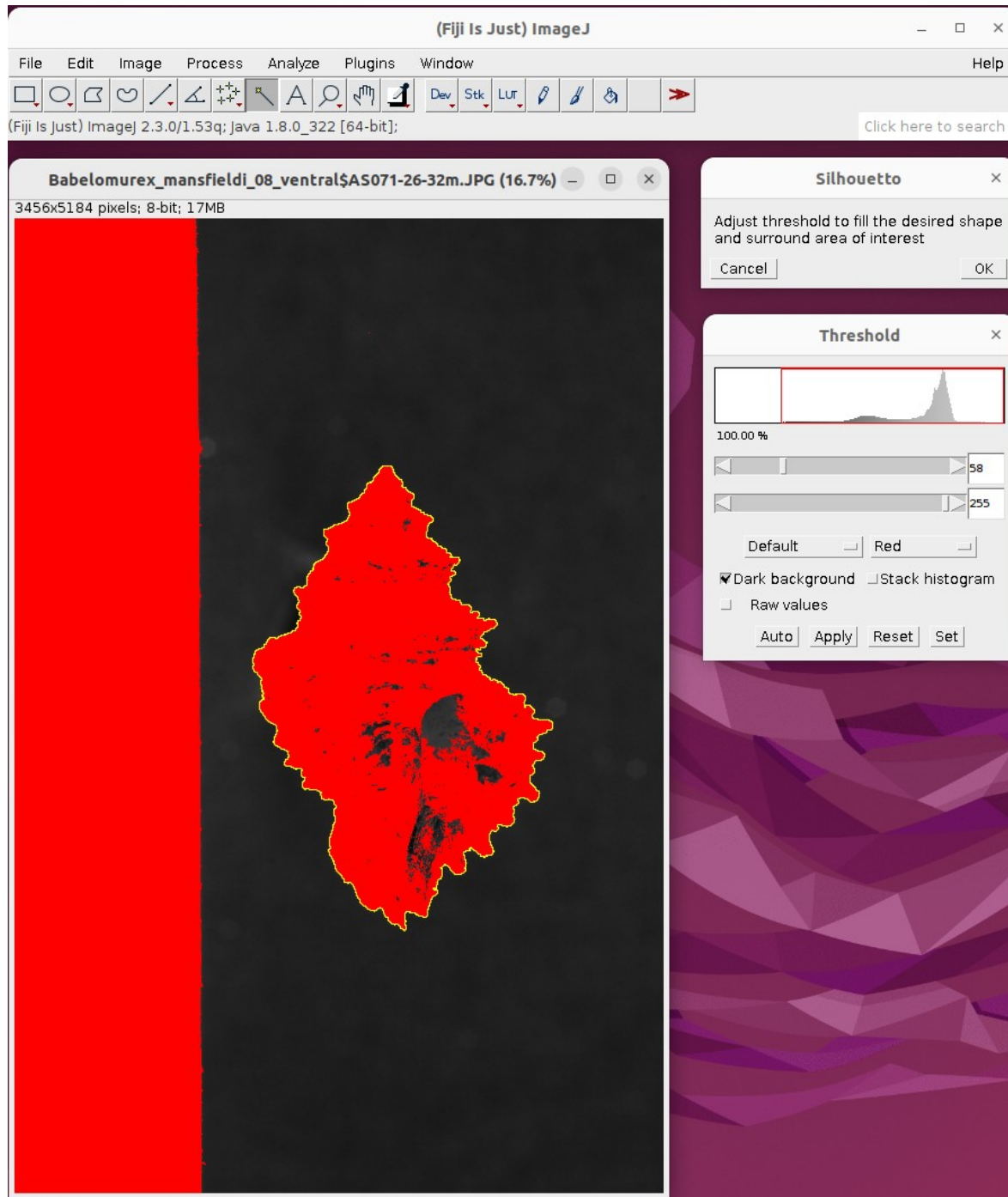
Dans un premier temps, ajuster le *Threshold* pour qu'il dessine un contour continu autour de la forme, peu importe si elle est pleine ou non.

Extraction des formes : Pré-traitement ImageJ



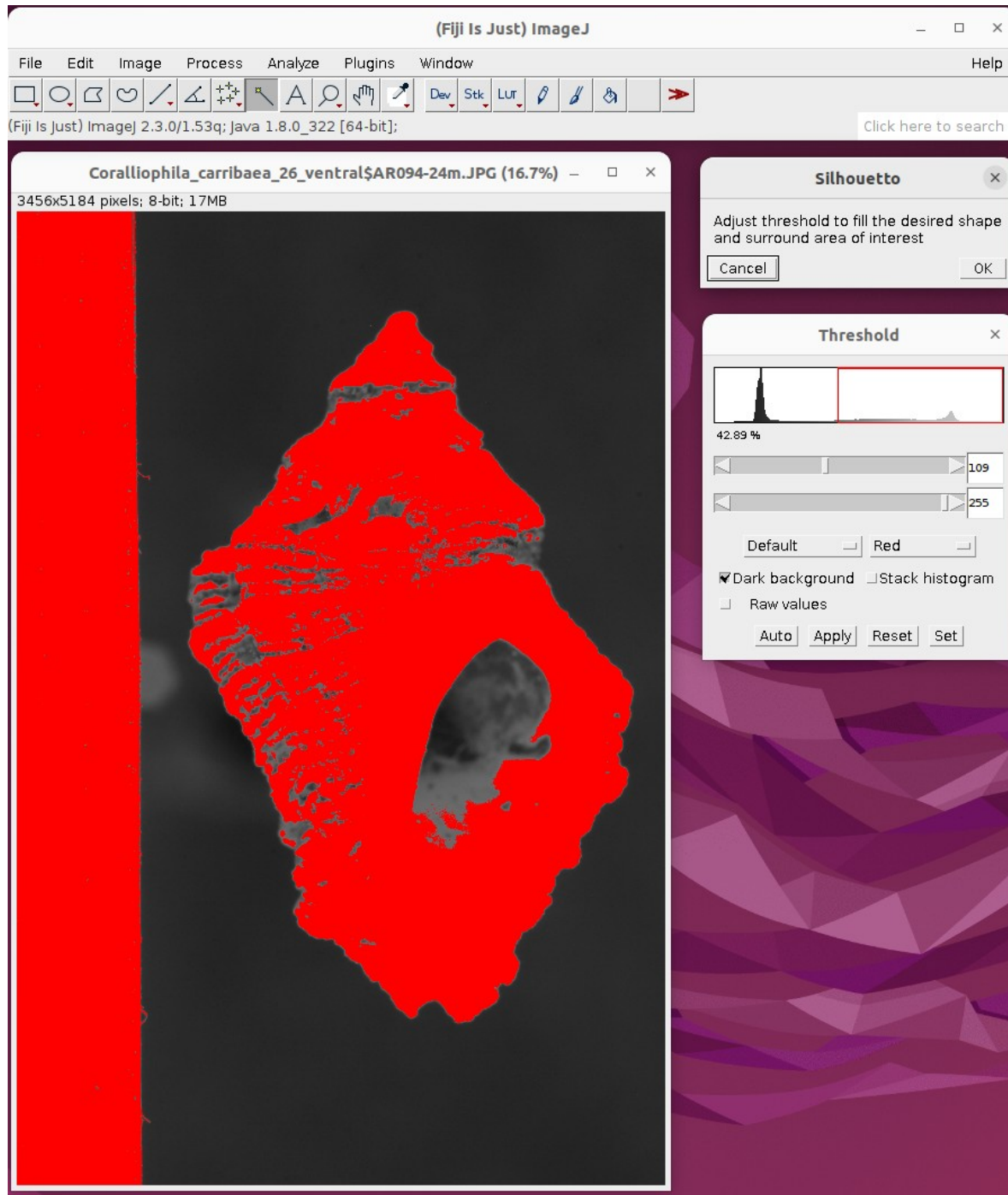
Cliquer sur la couleur du *Threshold* pour faire apparaître le contour de la forme. Si le résultat n'est pas satisfaisant, cliquer autre part pour faire disparaître la sélection, ajuster de nouveau le *Threshold* puis sélectionner de nouveau.

Extraction des formes : Pré-traitement ImageJ



Lorsque le résultat est satisfaisant, sélectionner “Ok” dans la boîte de dialogue.

Extraction des formes : Pré-traitement ImageJ



Des opérations sont effectuées avant que l'image suivante dans le dossier ne soit affichée pour recommencer l'opération.

Extraction des formes : Pré-traitement ImageJ



La sortie de cet algorithme est une silhouette unie sur un fond coloré, sauvegardé au format .bmp, lisible par le logiciel *SHAPE*.

Extraction des formes : Pré-traitement ImageJ

Objectif : Obtenir le contour d'une forme qui se détache bien du reste de l'image au format .bmp sur une image couleur.

Cette macro simple permet d'automatiser l'extraction de formes mais possède plusieurs inconvénients : perte de l'échelle si présente, approximation de la forme, nécessité d'agir en amont sur la photographie (choix de l'arrière plan) et perte du calque de sélection qui pourrait être une donnée utile.

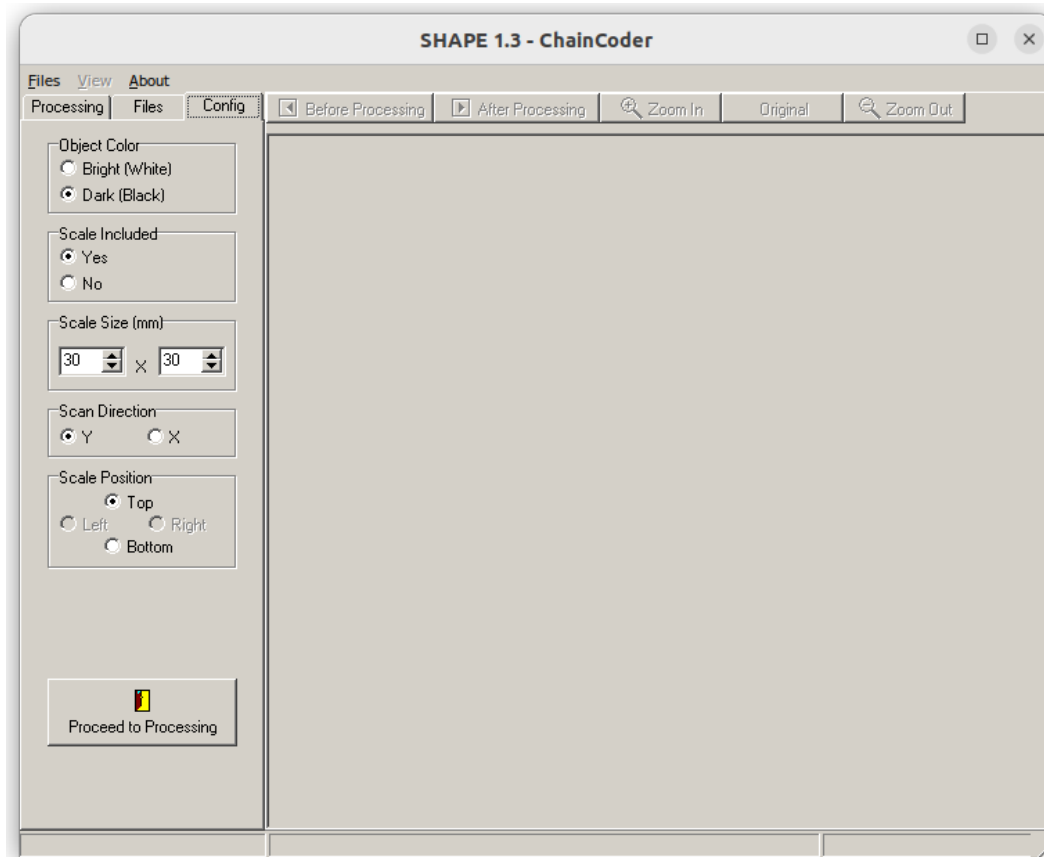
Préparer les images avec un logiciel de traitement d'image type *photoshop* ou *gimp* permet d'outrepasser ces problèmes.

Rajouter la méthode de Ju : conservation des calques, beaucoup plus flexible, il y a sûrement un moyen d'automatiser ça aussi.

Extraction des formes : Utilisation de *SHAPE*

Objectif : Obtenir un fichier regroupant les *chain codes* de nos images découpées, correspondant aux formes que l'on souhaite extraire.

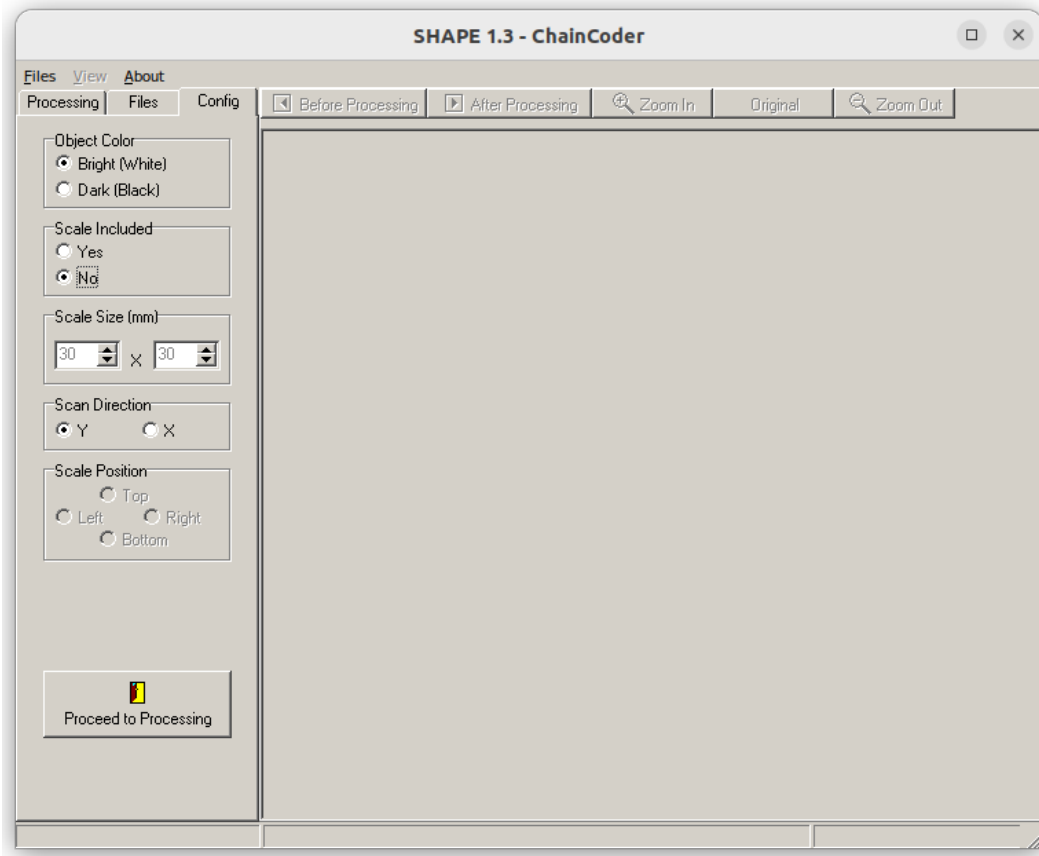
Une fois les silhouettes obtenues, le logiciel *ChainCoder.exe* du paquet *SHAPE* est notre recours pour extraire des *chain codes*.



Extraction des formes : Utilisation de *SHAPE*

Le logiciel s'ouvre sur la fenêtre de configuration.

Il s'agit de choisir dans un premier temps :

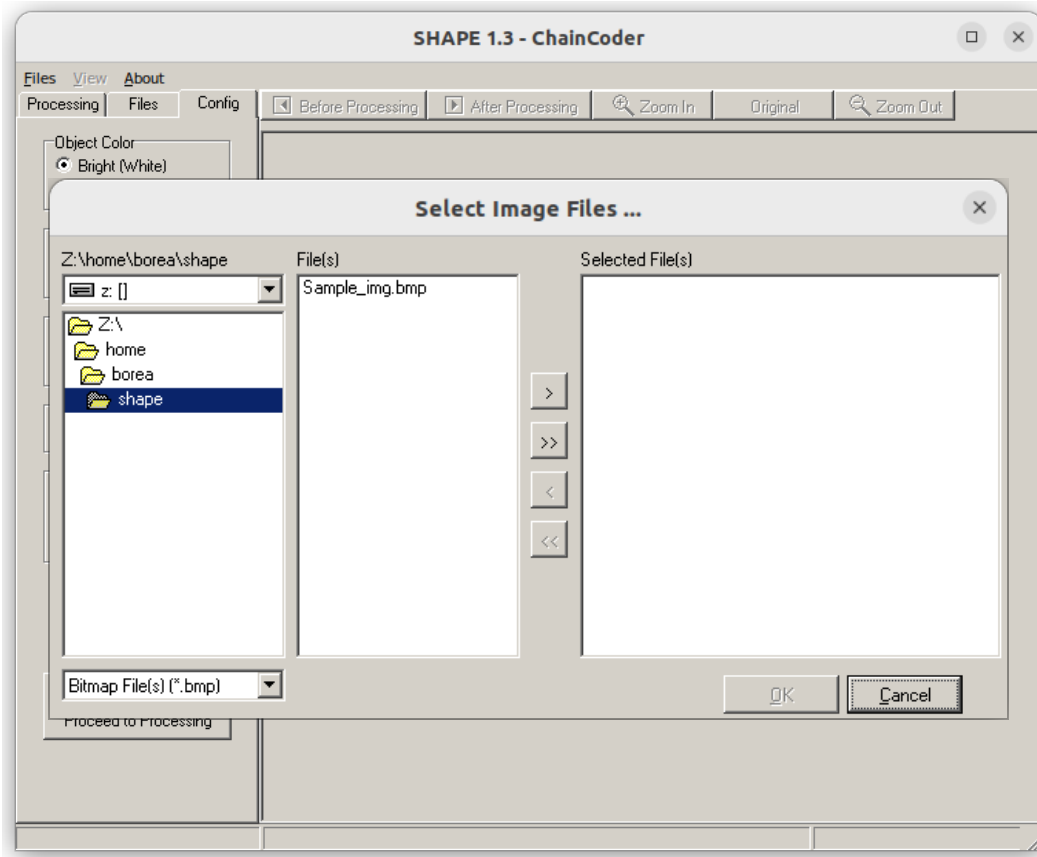


- La couleur de l'objet (selon la couleur qui remplit notre silhouette, dans notre cas ce sera blanc)
- Si l'échelle est incluse ;
- Sa taille (longueur x largeur) ;
- L'axe de scan qui sera utilisé pour détecter les formes ainsi que la position de l'échelle par rapport à la forme.

Un fois configuré, on peut cliquer sur "Proceed to Processing"

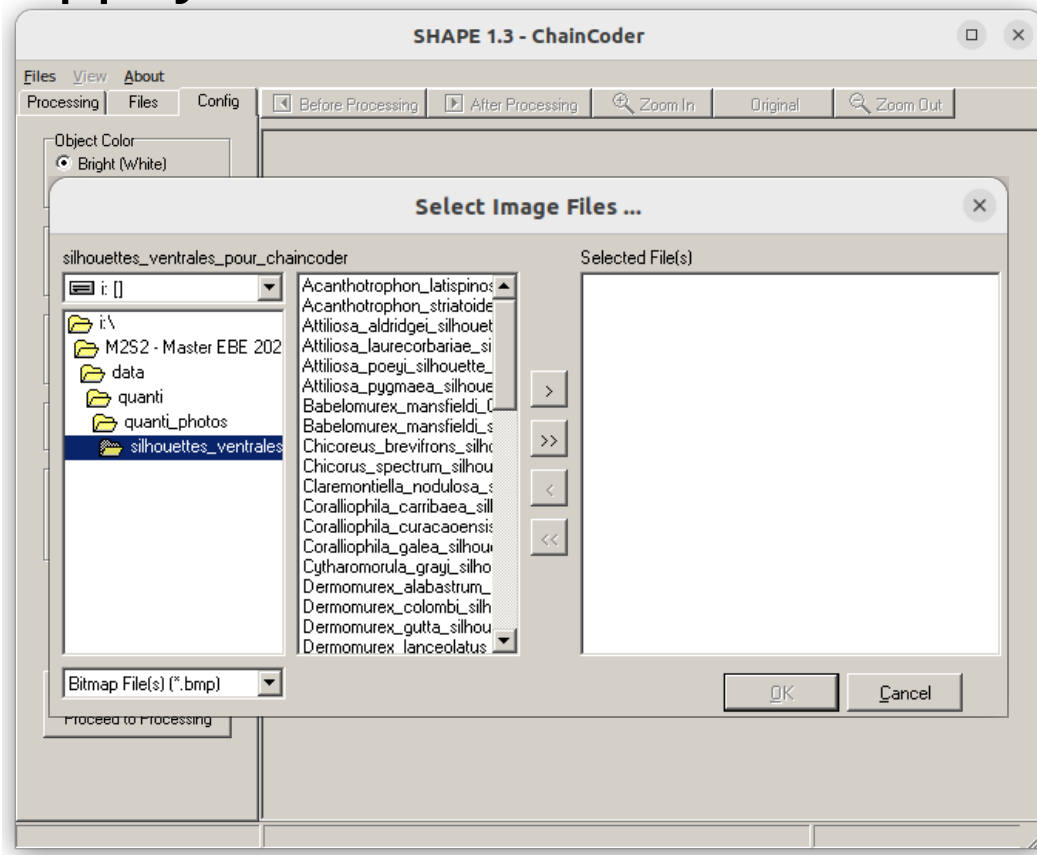
Extraction des formes : Utilisation de *SHAPE*

Une fenêtre de sélection s'ouvre alors. Il s'agit de sélectionner le dossier où se trouvent les fichiers .bmp.



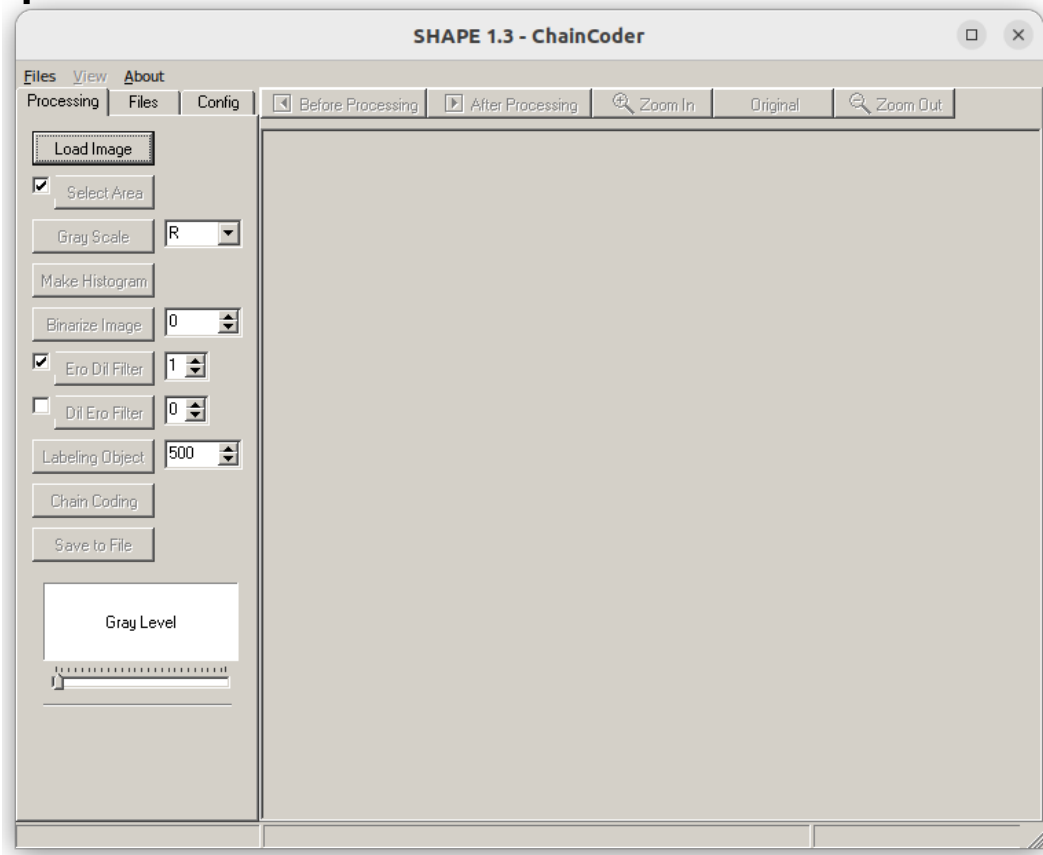
Extraction des formes : Utilisation de *SHAPE*

Sélectionnez tout les fichiers que vous voulez traiter puis la flèche “>”. La touche “>>” sélectionnne tous les fichiers puis appuyer sur “OK”.



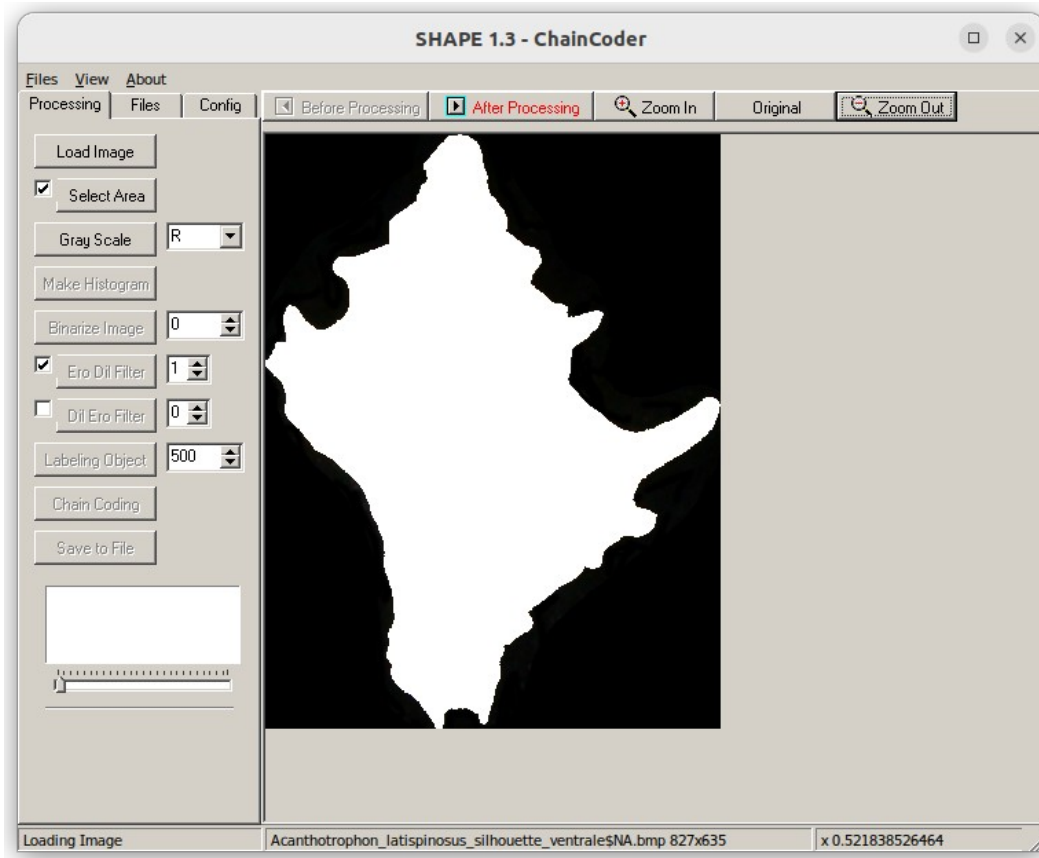
Extraction des formes : Utilisation de *SHAPE*

S'ouvre alors la fenêtre principale de *SHAPE*. Comme dans la configuration initiale, les traitements d'images se feront par une successions de boutons sur la gauche.



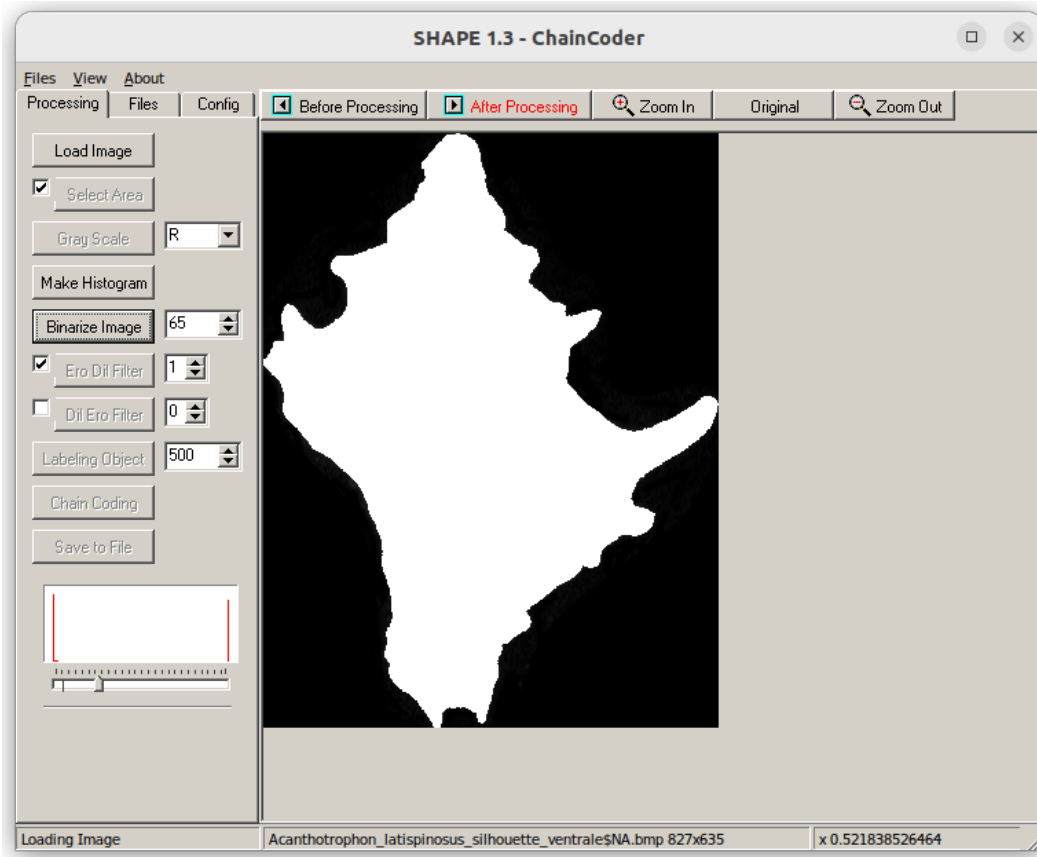
Extraction des formes : Utilisation de *SHAPE*

Charger l'image puis ajuster la hauteur avec les “Zoom In” / “Zoom Out” en haut à droite.



Extraction des formes : Utilisation de *SHAPE*

Passer en “Gray Scale”, générer l’histogramme des intensités de couleur dans l’image.

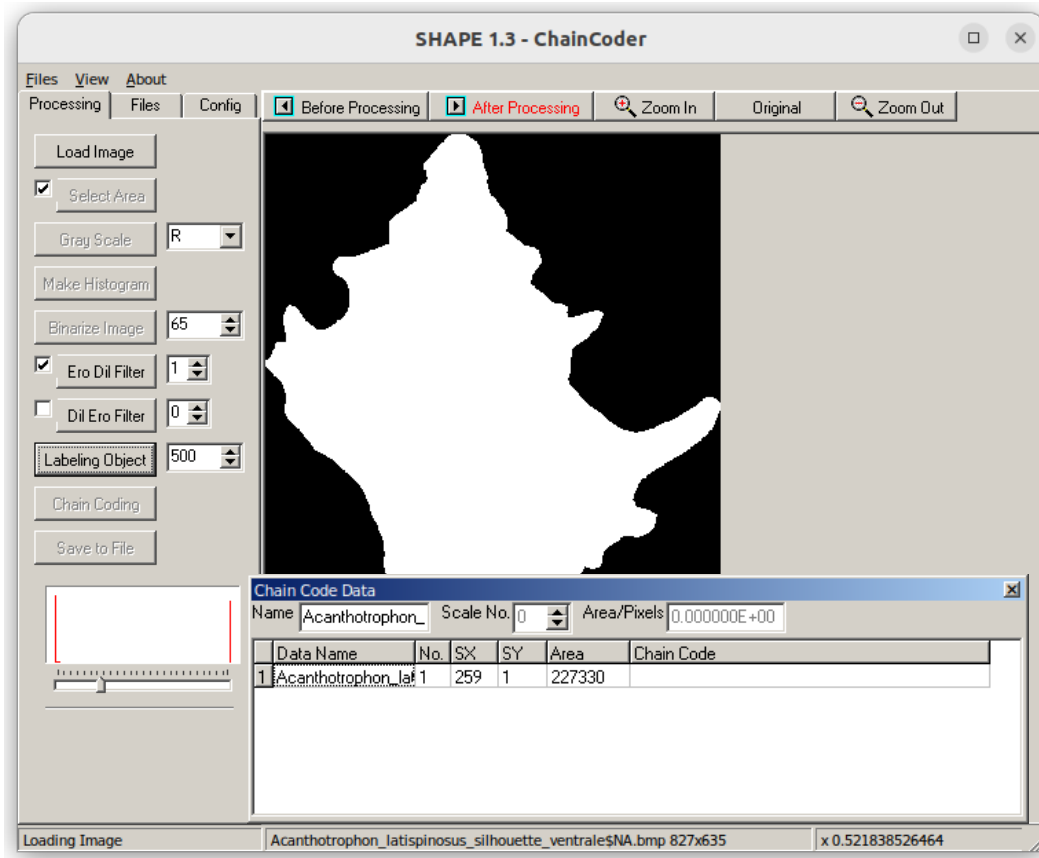


Dans notre cas, peu de pics d'intensités se démarquent. Dans tous les cas, l'objectif est d'identifier la position du curseur qui permettra, lors de la phase de binarisation, d'obtenir une image bichromatique avec exactement la forme souhaitée.

Si une étape n'est pas satisfaisante, il est possible de recommencer toutes les opérations sur l'image en cours en cliquant de nouveau sur “Load image”.

Extraction des formes : Utilisation de *SHAPE*

Les filtres “Ero Dil Filter” et “Dil Ero Filter” permet d'affiner l'image bichromatique obtenu (pour gommer les impuretés).



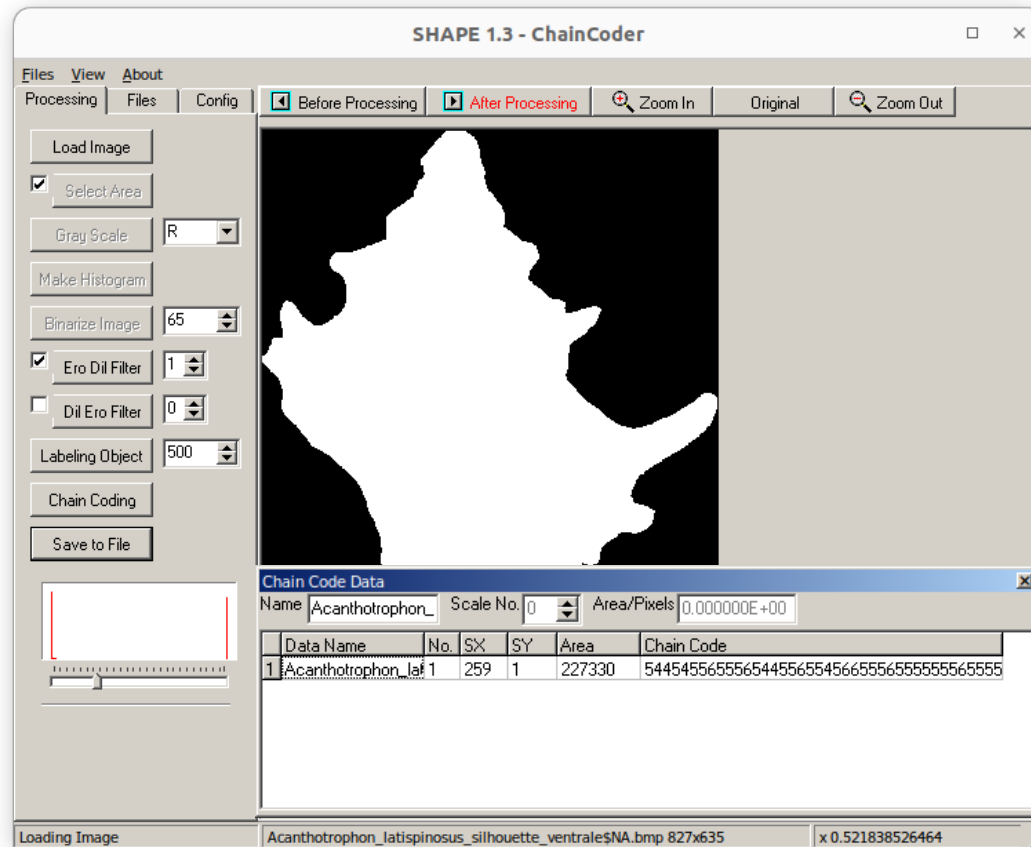
Dans notre cas, le pré-traitement est assez satisfaisant pour qu'il n'y ait pas de différence apparente.

La touche “Labelling Object” effectue un scan de l'image pour identifier les formes (de couleur définie dans la configuration initiale).

S'affiche alors un tableau avec une ligne pour chaque forme détectée et son aire. Il est possible de changer le nom de la forme détectée, modification qui se verra dans le fichier .chc.

Extraction des formes : Utilisation de *SHAPE*

Enfin, “Chain Coding” génère la chaîne de caractère de sortie qui peut alors être sauvegardée dans un fichier.



Le nom de la chaîne sera celui spécifié durant l'étape “Labeling Object”. La nom du fichier .chc est fixé une seule fois pour le dossier d'image traitée.

Extraction des formes : Utilisation de *SHAPE*

Le fichier .chc se présente de cette manière, avec chaque ligne associée à une image avec ses métadonnées :

- Nom de l'image
- Etendue sur la première dimension (x)
- Etendue sur la seconde dimension (y)
- Echelle (aire par pixel)
- Aire (en pixel)
- *Chain Code* (chaque chiffre indiquant une orientation)

[illegible]

Ces informations sont exploitables sous R

Extraction des formes : Traitement sous R

Le paquet Momocs permet de réaliser du traitement morphométrique sous R.

https://momx.github.io/Momocs/articles/Momocs_intro.html

En important le fichier .chc créé à l'aide des étapes détaillées plus haut, il permet de manipuler les contours sous la forme d'objet de classe *coo* ou *coe*.

Concernant nos analyses la génération d'un espace morphométrique est notre objectif (voir code dans *scripts* et papier de Vincent Bonhomme dans *refs*).