

## **MorphCol\_supplement # 26:** **Korrekturen fehlerhaftes Trace\_AMOR1\_batch.out Programm**

### **Extracted from „Weitergehende Pläne für die Entwicklung von AMOR“**

From 15. März 2018

Mittlerweile habe ich eine korrigierte Version Trace\_AMOR2\_batch.out gemacht, welche ab sofort verwendet wird. Programm-Code und Notizen siehe bei den Unterlagen MorphCol Suppl.#4 [MK 2682].

Ebenso hat Jean den Vorzeichenfehler in der Konvertierung Pixel-Mikrometer in AVM2 korrigiert.

Email Michael mit Jean:

Donnerstag, 15. März 2018 09:22  
From: Eisenecker Jean [jean.eisenecker@fhnw.ch]  
An: Michael Knappertsbusch  
Anlagen: [Vergleichstest\\_AVM2.docx](#)

Hallo Michael

Ich habe die Umrechnungsformel Pixel zu Mikrometer im AVM2 korrigiert mit Vorzeichen – anstatt +, und gleich getestet. Im Anhang sind die Ergebnisse für drei Bilder ersichtlich. Der Fehler bei der Höhe ist kleiner als 0,2%, hat also keinen Einfluss auf deine Auswertungen.

Was mich lediglich erstaunt, ist dass wir von einem Fehler von 2% bis 5%, je nach Partikelgrösse, gesprochen haben, bedeutend mehr als bei meinen Messungen. Haben wir noch etwas übersehen?

Bye

Jean

Die original Mac Bilder, welche für obigen Test verwendet wurden befinden sich im Ordner „[Mac Bilder Vergleichstest\\_AVM2](#)“.

### **Weitergehende Pläne für die Entwicklung von AMOR**

Doku Konfigurationen für AMOR 3.28: [Settings.doc](#)

Doku Testen Motorfokus und Motorzoom (für AMOR 4.xx): [Anleitung separates Testen Motorfokus und Motorzoom.rtf](#)  
[Anschlüsse AMOR4 PC \(Dell\)](#)

### **13. März 2018 - Fehlerhaftes Trace\_AMOR1\_batch.out Programm !!!**

Während Verbesserung von AVM haben wir gemerkt, dass in der Version Trace\_AMOR1\_batch.out Programm die Y-Konvertierung von Pixeln in Mikrometer falsch implementiert ist !!! Dieselbe Konvertierung wird auch im AVM Programm verwendet.

Für die Kalibrierung des alten AMOR Systems (Leica MZ6, Achromat 1x oder 2x Objektiv, frame grabber IMAQ 1405, Cmount 1x, Ring-Illumination, Pol Filter, PC, Hitachi Monitor, alter AMOR Rechner) für die Sony DXC-390P Kamera gilt folgende Pixel-Mikrometer Konvertierung (siehe Original-Unterlagen Calibration AMOR imaging system vom 11 April 2007):

$$X_{\text{prec}} (\text{pixel per Mikrometer}) = 0.12986 * \text{MAG} + 0.000223 \quad (\text{I})$$

$$Y_{\text{prec}} (\text{pixel per Mikrometer}) = 0.15742 * \text{MAG} - 0.00023756 \quad (\text{II})$$

Diese Konvertierung wurde im Trace\_AMOR1\_batch.out Programm *fälschlicherweise mit einem positiven Vorzeichen* für die Konstante 0.00023756 in Gleichung (II) implementiert. Richtig sollte (II) folgendermassen implementiert sein:  $Y_{\text{prec}} = 0.15742 * \text{MAG} - 0.00023756$ . Entsprechend muss auch in AVM die korrekte Gleichung verwendet werden. Achtung: Auch die Beschreibung auf Seite 5 in MorphCol Supplement 4 hat einen Tippfehler: Dort ist die Gleichung (I) mit einem falschen Vorzeichen für die Konstante versehen.

Dieser Fehler wird nun in der korrigierten Version Trace\_AMOR2\_batch.out behoben.

#### **Abschätzung der Konsequenzen dieses Fehlers:**

Für grosse Vergrößerungen wirkt sich die fehlerhafte Y-Konvertierung nicht so stark aus. Bei einem MAG=4x und bei einer Y-Koordinate von 400 Pixeln wird der Unterschied zwischen richtiger und falscher Version 7 Mikrometer gross (respektive, 514 µm [richtig], 507 µm [falsch] ), was eine Abweichung von 1.4% vom richtigen Wert bedeutet.

Bei kleinen Vergrößerungen wird der Fehler grösser. Bei einem MAG=0.8x und einer Y-Koordinate von 400 Pixeln wächst der Unterschied zwischen der richtigen und falschen Version auf 82 Mikrometer an (respektive, 2562µm [richtig], 2480 µm [falsch] ), was eine Abweichung von 3.2% von der richtigen Grösse bedeutet. Die Interpretation der publizierten Daten muss dementsprechend Rechnung getragen werden.

Alle Arbeiten mit Version Trace\_AMOR1\_batch.out (bis zum 13. März 2018) beinhalten also diesen Fehler. Insbesondere betrifft dies die Dissertation und sämtliche Publikationen von Yannick Mary, ebenfalls jene von Knappertsbusch (2016) über Site 925B, und die Daten, welche auf Pangaea plziert wurden sowie die bisherigen Angaben über MorphCol. Ebenfalls betrifft es die am Museum bis zum 13. März 2018 hinterlegten Daten (CDs, Medienserver, CDs in den Sammlungen, wo Trace\_AMOR1\_batch.out verwendet wurde). Die vorherigen Arbeiten (Knappertsbusch 2007 auf DSDP Site 502 und 503, und jene von Kevin Brown betrifft es nicht, weil dort mit einer anderen Version des Trace Programmes (für Mac, mit der Kappa-Kamera) gearbeitet wurde.

Die bisherigen Berechnungen von Thore Friesenhagen von Site 667A müssen mit der verbesserten Version Trace\_AMOR2\_batch.out wiederholt werden. Ebenso jene aus Site 806C (die jüngste Probe) sowie die Holozän-Daten (noch unpubliziert), wo das falsche Trace\_AMOR1\_batch.out auch angewendet wurde.

```

PROGRAM TRACE
C
C      !!! Processing in batch mode. !!!
C      Version 1.2.3, April 28, 1997 by M. Knappertsbusch,
C      modified to batch mode on 21.12.1999
C      modified to write erroneous images to external file. 21.1.2000
C      modified to record missing images, that are read from FILE_LIST. 24.1.2000
C      modified by changing MAG from INTEGER to REAL. 18.12.2000
C      modified by changing the calibration (New XPREC and YPREC). 22.12.2000
C      modified from Trace33_batch.f for application with AMOR using Sony DXC-390P camera. 30.5.2007
C      Modified from Trace_AMOR1_batch.f to Trace_AMOR2_batch.f: Correction of wrong YPREC. 13.03.2018
C
C      Program to trace the outline of a series of digitized light images
C      in batch mode. Input images are grey-level pictures with 480 lines
C      and 680 pixels per line.
C
C      !!!!! Output are the X,Y coordinates of the outline
C      in COUNTER-CLOCKWISE direction !!!!!
C      Program includes conversion of pixels in micrometers.
C      Program calibrated to the Leica MZ6 binocular stereo microscope.
C
C      Input files are:
C      - A File with name FILE_LIST containing a list of all
C        names of the input images (filename) to be traced,
C        and the magnifications, that were applied to each image.
C        FILE_LIST is a character variable and can bear any name
C        up to 20 characters in length.
C
C      - All image files to be traced. The names of these raw images
C        are interpreted through the character variable INPUT.
C        INPUT is exactly 5 characters long.
C
C      - The program calls for the sample name through the
C        character variable SAMPLE. SAMPLE is exactly 11 characters
C        long (including orientation codes K or U for Keel or Umbilical).
C
C      INPUT and SAMPLE are used to compose the name of the corresponding
C      output file (suffix _T).
C
C      Output files are:
C      - One file OUTPUT for every traced sample, containing the x,y
C        coordinates of the outline. The character variable OUTPUT is
C        17 characters long (including the suffix _T).
C
C      Note: All file handling for morphometric analyses follows a name convention:
C
C      filename   = Name of sample, 15 characters long.
C      filename_T = Input file for raw curves with cartesian coordinates, 17 characters long.
C      filename_POL = Polar coordinates of filename, 19 characters long.
C      filename_INT = Interpolated (cartesian) coordinates of filename, 19 characters long.
C      filename_NORM = Normalized curve, 20 characters long.
C
C***      Note: MAG must be real, otherwise results may be wrong !
C
C      INTEGER I,N,N0,X,Y,THRES,NPTS,NF
C      INTEGER GREY(1:8), K(1:8), A(1:8,1:8)
C      LOGICAL IMAGEX
C      REAL MAG
C      DOUBLE PRECISION XPREC,YPREC,XRES,YRES
C      CHARACTER*1 CHAR(1:8),ANSWER,COMMA
C      CHARACTER*5 INPUT
C      CHARACTER*17 OUTPUT
C      CHARACTER*11 SAMPLE
C      CHARACTER*20 FILE_LIST
C      PARAMETER (THRES=49)
C
C      In A(I,J) is the local numbering of points:
C
C      DATA ((A(I,J),I=1,8),J=1,8)/1,
C      * 2,3,4,5,6,7,8,
C      * 2,3,4,5,6,7,8,1,
C      * 3,4,5,6,7,8,1,2,
C      * 4,5,6,7,8,1,2,3,
C      * 5,6,7,8,1,2,3,4,
C      * 6,7,8,1,2,3,4,5,

```

- \* 7,8,1,2,3,4,5,6,
- \* 8,1,2,3,4,5,6,7/

```

C      Experimental setup and calibration:
C
C      A Leica MZ6 Stereo-Binocular equipped with a Sony DXC-390P colour
C      camera and using the AMOR imaging system (PC based). The camera is connected to the
C      microscope via a 1x Cmount, and Achromat 1x and 2x objectives.
C      The magnification to be entered is calculated as the product
C      of the objective lens inserted (1x or 2x) times the number indicated
C      at the zoom-knob. Example: if the objective lens is 1x and the
C      number at the zoom-knob indicates 4.0 then the magnification to be
C      entered is 4.0.
C
C      In the following factors are calculated to convert pixels into µm with the
C      CCD camera, using the NTSC (640x480 pixels format in NIH):
C      (XPREC and XRES are in horizontal, YPREC and YRES are in vertical direction).
C      This calibration includes now a newer one, which was done with the 0.01mm scale
C      (=small scale) and the 0.1mm scale (large scale from Leica). This has not much
C      changes in the final result but the linearity of XPREC and YPREC over the entire
C      range of magnifications from 0.63x to 8x could so be demonstrated (see Knappertsbusch
C      2004-2007, MorphCol supplement #4, @ conclusion 7.
C      Equation (II) was wrongly implemented in Trace_AMOR1_batch.out.
C      See especially note "Fehlerhaftes Trace_AMOR1_batch.out Programm", in docu
C      "Weitergehende Pläne für die Entwicklung von AMOR" from 13 March 2018.
C
C      XPREC = 0.12986 * MAG + 0.00022300   (in pixel/µm), equation (I)
C      YPREC = 0.15742 * MAG - 0.00023756   (in pixel/µm), equation (II)
C
C      The necessary resolutions XRES and YRES are calculated as
C
C      XRES = 1/XPREC   (in µm/pixel)
C      YRES = 1/YPREC   (in µm/pixel)
C
C      Specifications on computer side (PC with AMOR program):
C      Frame grabber: IMAQ 1405 from National Instruments.
C      Video control: Grey-scale, full-size, NTSC format
C      Digital image: resolution: 72 pixel per inch, image size: 640x480 pixel
C
C
C      WRITE(9,*) '          Program Trace'
C      WRITE(9,*) 'Trace_AMOR2_batch.out, calibration from 11.04.2007'
C      WRITE(9,*) '          Processing in batch mode'
C      WRITE(9,*) ''
C      WRITE(9,*) ' . . .Enter sample name (11 chars, with K or U). . .'
C      READ(9,102) SAMPLE
102  FORMAT(A11)
C
C      WRITE(9,*) ' . . .Output in Pixels (1) or Microns (2) ? . . .'
C      READ(9,4) ANSWER
4      FORMAT(A1)
C      IF (ANSWER.EQ.'1') THEN
C          WRITE(9,*) 'Output is in pixels'
C      ELSE
C          WRITE(9,*) 'Output is in µm'
C          WRITE(9,*) ''
C      END IF
C
C      Get filenames of images and magnifications from FILE_LIST, and start opening
C      and reading for first image:
C
C      WRITE(9,*) ' . . .Enter list containing image
1 names (20 chars) and MAG. . .'
C      WRITE(9,*) 'Format: 5 chars, comma ,1 real value (2 decimals)'
C      WRITE(9,*) 'Note: MAG=Objective lens x zoom factor'
C      WRITE(9,*) 'Example: 0101r,3.20 (specimen=0101r,
2 magnification=3.20x)'
C      READ(9,101) FILE_LIST
101  FORMAT(A20)
C
C
C      Initialization of NF (NF= number of files traced):
C
C      NF=0

```

```

C
C      Recording errors during program run:
C
      OPEN(21,FILE='Image_Errors',STATUS='NEW')
      WRITE(21,96) SAMPLE
96      FORMAT('Errors in Images of Sample: ',A11)
      OPEN(17,FILE='Missing_images',STATUS='NEW')
C
C      Now reading filenames etc:
C
      OPEN(20,FILE=FILE_LIST,STATUS='OLD')
100     READ(20,110,END=999) INPUT,COMMA,MAG
110     FORMAT(A5,A1,F4.2)
C
C      Check first, whether image with name INPUT exists or not. If it does not exist:
C      print a message and continue reading next image.
C
      INQUIRE(FILE=INPUT,EXIST=IMAGEX)
      IF (.NOT.IMAGEX) THEN
        WRITE(9,*) 'Error: image ',INPUT,' is missing'
        WRITE(17,97) INPUT
97      FORMAT(A5)
        WRITE(9,*) '...Program continues. ...'
        GOTO 100
      END IF
C
C      Counting the number of images (=NF) treated:
C
      NF=NF+1
C
C      Initialization of NPTS: (=Number of points in outline):
C
      NPTS=1
C
C      Determination of the names of the OUTPUT files (17 chars long), and
C      writing information to screen:
C
      OUTPUT=(SAMPLE(1:11)//INPUT(1:4))//'_T'
      WRITE(9,111) OUTPUT,MAG
111     FORMAT(' Specimen: ',A17,' at magnification: ',F4.2,'x')
C
C      Determination of XRES and YRES (has been calibrated using the NTSC
C      (640x480 pixel) format in NIH-Image:
C
      XPREC = 0.12986*MAG+0.000223
      YPREC = 0.15742*MAG-0.00023756
C
      XRES=1/XPREC
      YRES=1/YPREC
C
C      WRITE(9,*) '...calculating. ...'
C
      OPEN(15,FILE=INPUT,ACCESS='DIRECT',
* RECL=1,FORM='FORMATTED',STATUS='OLD')
      OPEN(16,FILE=OUTPUT,STATUS='NEW')
C
C      Find first point of outline in the middle of the
C      TV-screen (this is line 240; its record is calculated
C      as 152960=(240-1)*640):
C
      DO 1, I=1,640
        N=152960+I
        READ(15,50,REC=N) CHAR(1)
        GREY(1)=ICHAR(CHAR(1))
        IF (GREY(1).GE.THRES) THEN
          N0=N
          GOTO 5
        END IF
1      CONTINUE
C
5      CALL COORD(N,X,Y)
C      WRITE(9,*) X,Y
C
C      Output of results to file:
C

```

Search algorithm for the next point of the outline: The algorithm searches first for the local point to start with: This first point has the grey-level <sup>3</sup> Threshold. From this initial local point it searches the next point, where the greylevel is lower than Threshold. The pixel, which is previous to that point is the next point of the outline (i.e. the next center for the search algorithm).

```

C
C      Look for first point of lokal environment-search:
C
      DO 20, I=1,8
        IF (GREY(I).GE.THRES) THEN
C
C          First point of search path found. Check every next surrounding point in
C          clockwise direction:
C
          DO 30, J=1,8
            IF (GREY(A(I,J)).LT.THRES) THEN
              IF (A(I,J).EQ.1) THEN
                N=K(8)
              ELSE
                N=K(A(I,J)-1)
              END IF
C
C              Stop-Criterium:
C
              IF (N.EQ.N0) THEN
C
                WRITE(9,*) 'Outline closed'
                CLOSE(16)
                CLOSE(15)
C
C                Reading next file:
C                GOTO 100
C
              END IF
C
              GOTO 5
            END IF
          30    CONTINUE
        END IF
      20    CONTINUE
C
999    WRITE(9,*) ' '
      WRITE(9,*) NF,' images traced and written to files'
      WRITE(9,*) 'One file "Image_Errors" written'
      WRITE(9,*) 'One file "Missing_images" written'
      WRITE(9,*) 'Enter a key to end the program'
      PAUSE 888
888    CONTINUE
C
      STOP
      END

```

```

      SUBROUTINE COORD(M,U,V)
C
C      Determines the cartesian coordinates U and V as a function of
C      the record number M representing a pixel in the image.
C      The image has 480 lines and 640 pixels per line.
C
C      The record number starts with M=1 (representing the first
C      pixel in line 1).
C
      INTEGER M,U,V
C
C      This determination of U and V is valid for all pixels except those
C      that are at the end of each line (i.e. pixel no. 640, 1280,...).
C
      U=MOD(M,640)
      V=479-INT(M/640)
C
      RETURN
      END

```