

Construire une échelle graphique, sans calcul, sur les images de microscopie

Thierry Hatt¹, mars 2011

Géographe et informaticien de formation, photographe par passion, passé par l'astrophotographie, je me suis penché avec plaisir sur la microphotographie depuis un an. Assez rapidement s'est posée la question du calibrage des objectifs et de l'affichage de l'échelle graphique sur les images.

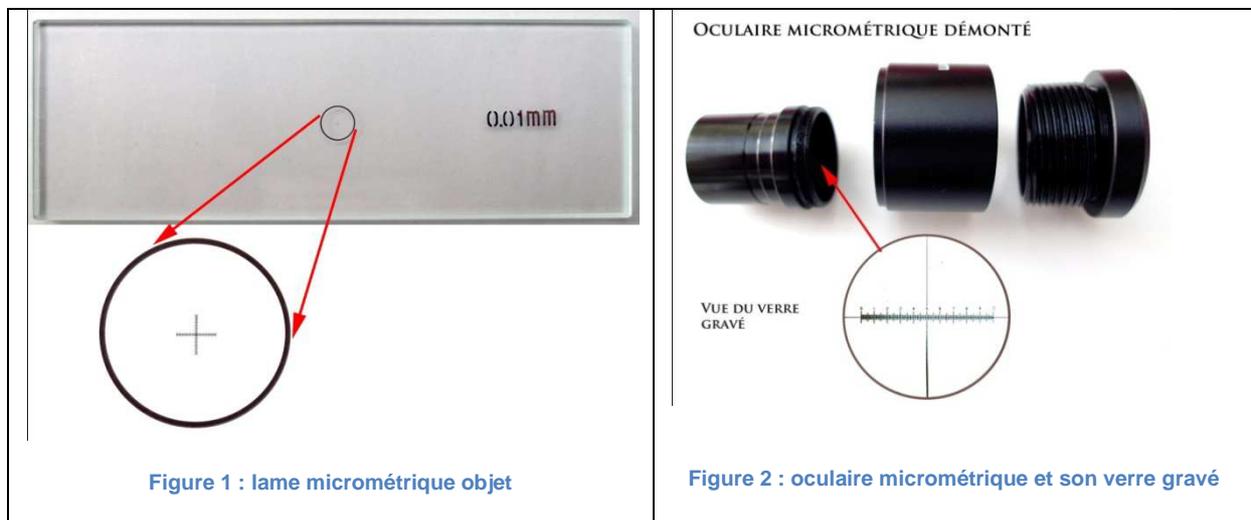
Mes recherches sur internet ont donné des résultats nombreux dont vous trouverez ici quelques exemples².

Pour la plupart, ces présentations proposent de faire des calculs parfois complexes, avec ou sans logiciel support ; on trouvera un exemple de ces calculs en annexe (figure 11).

Le calibrage suppose l'acquisition ou l'emprunt d'une LPO micrométrique (fig. 1) posée sous l'objectif, qui ne sert qu'une seule fois, et d'un oculaire micromètre gradué, représenté démonté (fig. 2).

Une fois le calibrage effectué, il suffit pour mesurer la taille d'un objet, – ici une diatomée (fig. 10, p.58), – de compter le nombre de crans du micromètre oculaire et de faire la multiplication indiquée (nombre de crans d'oculaire x valeur d'un cran pour l'objectif considéré).

Ces opérations donnent la taille d'un objet donné mais ne permettent pas d'enrichir l'image finale d'une échelle.



Je propose ici une approche sans calcul de l'affichage graphique d'une échelle sur les images photographiques numériques.

Équipement

On suppose qu'un équipement du type de la figure 3, est disponible, ainsi qu'une lame objet micrométrique (fig. 1). Il faut aussi disposer d'un logiciel de traitement d'images permettant la gestion des couches/calques : Photoshop, Gimp ou Image J.

¹ Thierry Hatt, Professeur agrégé de l'Université, Consultant auprès de la Ville, du Musée Historique, des Archives de la Ville et de la Communauté Urbaine de Strasbourg, Président du conseil syndical.
3, Boulevard de la Dordogne, F-67000 STRASBOURG thhatt@gmail.com

² Didier Baar, « Les mesures en mycologie » : <http://tinyurl.com/5u55zn6>
J. M. Cavanihac, « Microscopie quantitative » : <http://tinyurl.com/6bwsnk4>
Gilles Furelaud, « Échelles, grossissements, agrandissements » : <http://tinyurl.com/6y66wx9>
Walter Dioni, « A propos de microscopes, d'instruments et de mesures » : <http://tinyurl.com/5ua5jwn>
G. Fannechère, « A propos du calibrage du microscope » : <http://tinyurl.com/6b43xv5>
J. P. Gaveriaux, « L'utilisation du microscope optique en mycologie et lichénologie » : <http://tinyurl.com/6bfu3rx>

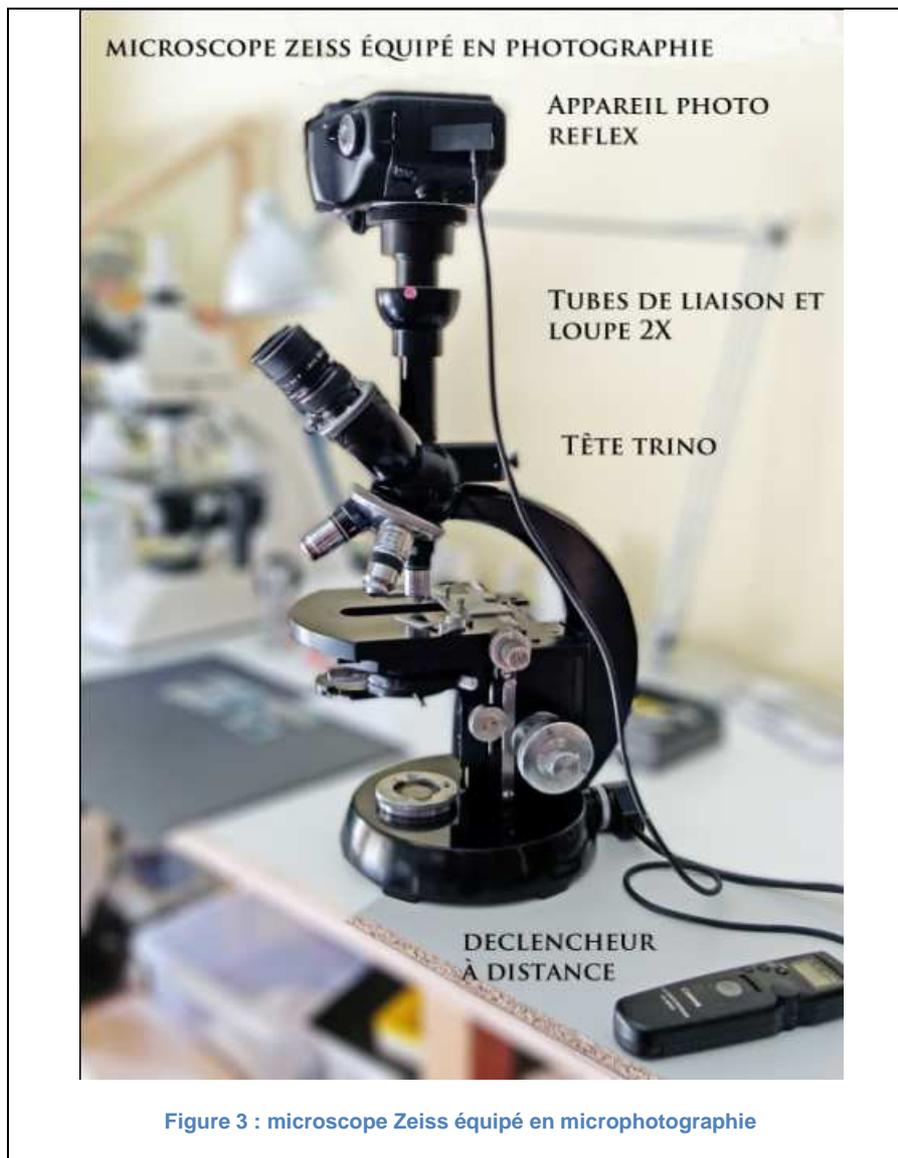
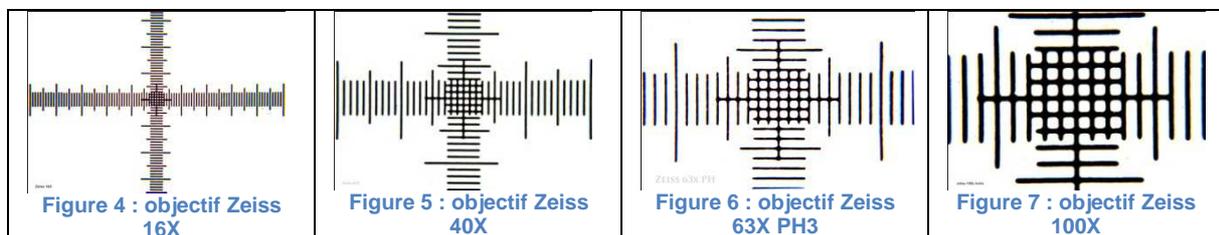


Figure 3 : microscope Zeiss équipé en microphotographie

Méthode

La première démarche consiste à photographier la mire objet avec chacun des objectifs disponibles. Voici les résultats, stockés sur disque. Il faut maintenir la taille originale en pixels X/Y des images fournies par l'appareil photographique, sans la modifier.



La deuxième étape consiste à charger dans le logiciel de traitement d'images, dans un premier calque de fond, l'image de la mire objet. Il faut ensuite dessiner, dans un deuxième calque, l'échelle graphique avec sa légende, par exemple le nom et les caractéristiques de l'objectif.

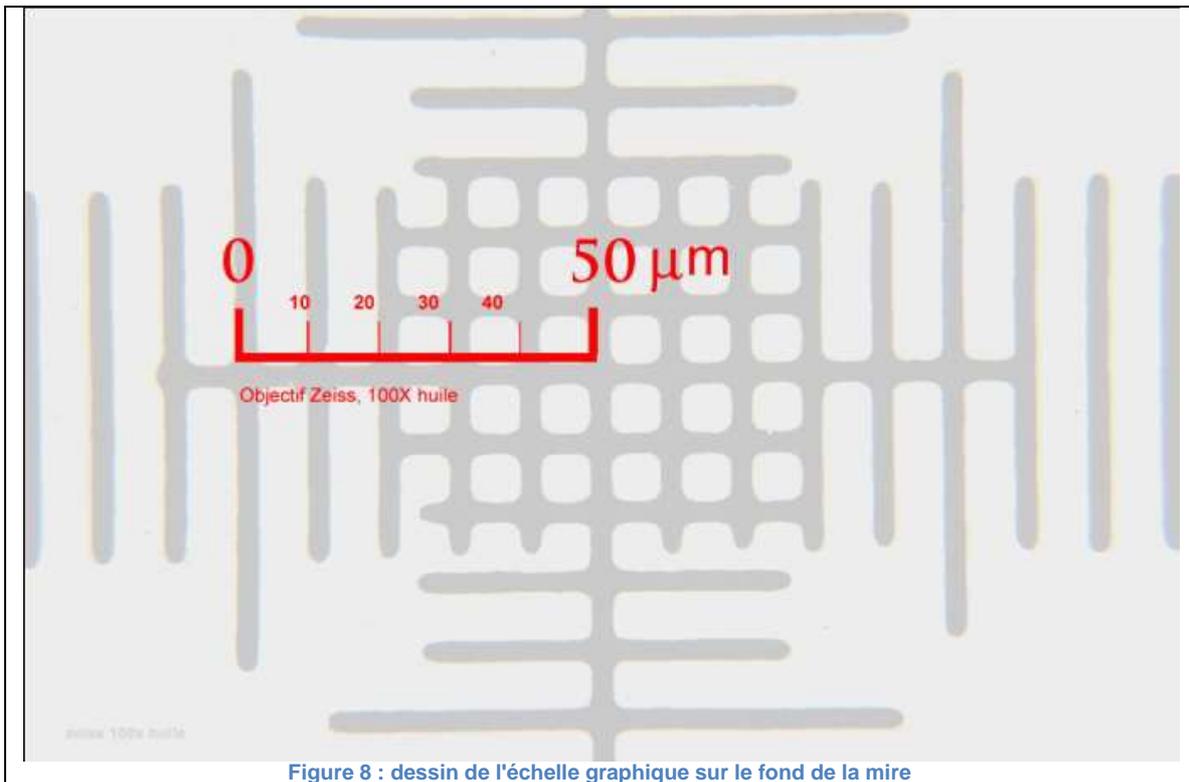


Figure 8 : dessin de l'échelle graphique sur le fond de la mire

Une fois cette opération menée, il faut sauvegarder l'échelle sans le fond en recadrant au plus près.

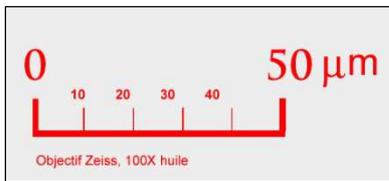


Figure 9 : échelle sauvegardée

A l'étape suivante, la photographie des objets observés – des diatomées par exemple – remplace dans le logiciel graphique la photo de la mire objet et il suffit de déplacer l'échelle graphique à sa place, ou bien on peut récupérer l'échelle graphique sur le disque et la mettre en place comme seconde couche (fig. 10, page suivante).

suivante).

Il est impératif de garder la même taille, pour l'image de la mire, pour l'image de l'observation avant de placer l'échelle. Ce n'est qu'après qu'on peut faire les adaptations de taille d'image nécessaires pour les sites Internet ou l'intégration à un document texte.

Annexe : figure 10 : exemple de calcul de calibration d'objectifs

Calibrage des objectifs du microscope BK5000					
Calibrage				Exemple de la mesure d'une diatomée centrale	
Puissance de l'objectif	X 1/1000° de mm du micromètre objet	Y crans du réticule de l'oculaire	X/Y Valeur étalon d'un cran d'oculaire en microns	M Mesure de l'objet en crans d'oculaire	M*(X/Y) Taille de l'objet calculée en microns
10	1000,0	98	10,204	6	61,22
20	500,0	98	5,102	12	61,22
40	258,0	100	2,580	25	64,50
60	170,0	100	1,700	37	62,90
100	103,0	100	1,030	60	61,80
				Erreur +/-	1,64



Figure 11 : intégration de l'échelle à l'image d'observation