

Milí studenti,

zde je návod k provedení domácího úkolu. Skládá se celkem **ze tří** úkolů. Budete k němu potřebovat hlavně programy **tpsUtil**, **tpsDig2**, **Notepad** a **Past**.

.....  
Mimo domácí úkol upozorňuji, že na adrese:

[http://books.google.cz/books?id=LKCVAGn8vkoC&pg=PA119&lpg=PA119&dq=Pinocchio+effect+morphometrics&source=bl&ots=oJwy3pTIIIm&sig=-Fjoy-30QVrbdaekYJI8BpcUDG0&hl=cs&ei=KKbsSdWRKYeQ\\_Qan2-3eAw&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=1#PPP1,M1](http://books.google.cz/books?id=LKCVAGn8vkoC&pg=PA119&lpg=PA119&dq=Pinocchio+effect+morphometrics&source=bl&ots=oJwy3pTIIIm&sig=-Fjoy-30QVrbdaekYJI8BpcUDG0&hl=cs&ei=KKbsSdWRKYeQ_Qan2-3eAw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1#PPP1,M1)

je k dispozici elektronická verze monografie Geometric Morphometrics for Biologists A Primer (Máme ji na ústavu v tištěné formě, ale elektronická někdy také není k zaholení).

.....

### Úkol č. 1: Demonstrace Pinocchiova efektu při superpozici GLS

1. Stáhnete si zip **Pinocchio**, který rozbalíte. Ve složce **Pinocchio** po rozbalení najdete obrázky prasátek (prohlédněte si je v nějakém prohlížeči), které se liší pouze v délce hlavy, zbytek těla má zcela stejný tvar. Vytvořil jsem je z jednoho obrázku, jen jsem protahoval a zkracoval prasátkům hlavu, měnil jsem polohu jediného bodu – na vrcholu rypáčku. Dále je ve složce soubor **pinocchio.tps**, což je digitalizace těchto 4 prasátek pomocí 11 význačných bodů.
2. Otevřete program **Past** a v něm otevřete soubor **pinocchio.tps**. Bude mít čtyři řádky (jedince) a 22 sloupců ( $x, y$  souřadnice 11 bodů). Nejprve zatrhnete do bloku celý soubor (kliknutím na roh tabulky vlevo nahoře) a znázorníte si surová data **Plot – Landmarks**. Vidíte, že tři prasátka byla přibližně stejně velká, a jedno bylo v původních datech o něco větší.
3. Zavřete graf a provedete standardizaci Booksteinovými souřadnicemi pomocí bodů 1 a 4 (délka trupu). To uděláte tak, že nejprve přetáhnete myší sloupce X4 a Y4 do polohy za X1Y1 (pořadí sloupců bude pak X1 Y1 X4 Y4 X2 Y2 X3 Y3 X5 Y5 atd...), opět zatrhnete celý soubor do bloku (kliknutím na roh tabulky vlevo nahoře) a zadáte **Transform – Bookstein2D**. Souřadnice prvních dvou bodů (nyní 1 a 4) program použije jako základnu pro superpozici. A opět si znázorníte **Plot – Landmarks** a popíšete, jak vypadá variabilita v jednotlivých význačných bodech po superpozici. (Můžete si vyzkoušet i jiné dvojice bodů jako základnu.)
4. Zavřete graf a provedete Prokrústovskou superpozici. Zatrhnete celý soubor do bloku (kliknutím na roh tabulky vlevo nahoře) a zadáte **Transform – Procrustes fit (Dimensionality 2D)**. Opět si znázorníte **Plot – Landmarks** a popíšete, jak vypadá variabilita v jednotlivých význačných bodech po superpozici, a jak se liší od superpozice předchozí.
5. Který z obou typů superpozice u tohoto morfometrického souboru lépe vystihuje tvarové rozdíly (ode mne víte, jak vznikly), Booksteinovy souřadnice nebo Prokrústovská superpozice (GLS)? Výsledky stručně sepište, uložte si obrázky superpozic a pošlete mi je e-mailem.

### Úkol č. 2: Digitalizace souboru bází lebek primátů (HLAVNÍ ÚKOL)

1. Stáhněte si zip se složkou (složka **opice\_baze**, odkaz z úschovny vám přijde e-mailem), kterou odzipujete a najdete v ní obrázky standardizovaných snímků bází

lebek primátů ve formátu **jpg**. Obrázky si nechte v této složce, názvy souborů neměňte.

- Otevřete program **tpsUtil** a v „**select operation**“ vyberte **Build tps file from images**. Klikněte na **Imput** a otevřete složku se snímky lebek, kliknete na jeden ze snímků a zvolíte **Otevřít**. Pak kliknete na **Output** a napíšete název souboru dle svého jména, například: **kralik\_baze.tps** a zajistíte, aby byl uložen ve stejné složce, jako obrázky. Pak kliknete na **Setup** a zkontrolujete, že snímky jsou přesně v pořadí od 001 po 089 a že jsou všechny obrázky odfajfkované, a že v nabídce vpravo naopak **není** odfajfkované **Include path?** A kliknete na **Create**. Ve složce „**opice\_baze**“ se vám vytvořil soubor **tps**, který je zatím bez dat, který je navázaný na 89 obrázků. Můžete si ho otevřít v **NotePadu** a podívat se na jeho strukturu. Pořadí má význam, první část souboru jsou opice Starého světa, druhá část jsou opice Nového světa.

Soubor bude vypadat asi takto

```
LM=0  
IMAGE=001_Cercocebus albigena F 1725I.jpg  
LM=0  
IMAGE=002_Cercopithecus aethiops F 0039I.jpg  
LM=0  
IMAGE=003_Cercopithecus aethiops M 0036I.jpg  
LM=0  
...
```

Přitom LM označuje počet nadigitalizovaných význačných bodů (zatím žádné, tj. LM=0) daného případu, IMAGE označuje název obrázku, na kterém se body digitalizují. Jakmile později začnete digitalizovat (nebo v našem případě budete náhodně měnit pořadí), přiřadí se dále ID, což je číslo jedince.

- Otevřete **tpsUtil** a vyberete operaci **Randomly order specimens**. Jako **Imput** zadáte právě vytvořený soubor (např: **kralik\_baze.tps**) a jako **Output** zadáte tentýž název obohacený o „**\_ran**“ (u mě: **kralik\_baze\_ran.tps**). Pořadí obrázků se vám změní z 001 až 089 na náhodné, takže vám pak při digitalizaci nebudou vznikat efekty, spojené s tím, že první půlku (tj. převážně opice Starého světa) souboru nadigitalizujete přesněji, protože ještě třeba nejste unavení (nebo naopak méně kvalitně, protože ještě si nejste úplně jisti polohou význačných bodů). Do prázdného souboru bez dat se vám přidá řádek **VARIABLES**, označující původní pořadí snímků:

```
LM=0  
IMAGE=057_Papio hamadryas M 1351I.jpg  
ID=56  
VARIABLES=OrigNum=57  
LM=0  
IMAGE=072_Alouatta seniculus 0668I.jpg  
ID=71  
VARIABLES=OrigNum=72  
...  
...
```

Za ID se zařadil ještě údaj **VARIABLES** s proměnnou **OrigNum**, označující původní pořadí jedince před randomizací.

4. Nastudujete si definice význačných bodů na bázi lebky primátů, které jsou uvedeny dále v tomto souboru.
5. Otevřete si program **tpsDig2** (čti: týpiesdydž2) a zadáte **Imput source – File** a zvolíte **tps** soubor, který jste vytvořili (např.: **kralik\_baze\_ran.tps**). Otevře se vám první obrázek a můžete začít digitalizovat body. Nejprve ale provedeme kalibraci snímku. Vyhledáte **Options – Image tools – Measure**, kliknete na **Set scale** a do snímku natáhnete na měřítko linii známé délky (např. 30 mm, pozor, jsou tam měřítka kalibrovaná i v palcích, používejte metrickou škálu), počáteční bod levým tlačítkem myši, pustíte a táhnete a konečný bod linie potvrdíte pravým tlačítkem myši. Pak se vrátíte do dialogu **Measure**, zapíšete hodnotu známé délky úsečky (např. 30 mm) a zmáčknete OK. Když pak soubor tps výše popsaným způsobem uložíte, objeví se vám u kalibrovaného obrázku hodnota SCALE s údajem, kolik milimetrů představuje jeden pixel na obrázku. SCALE=0.173456 pak znamená, že 1 pixel má při daném rozlišení délku strany 0.173456 mm. Program automaticky předpokládá, že kalibrace následujícího snímku je stejná jako u předchozího snímku – nezapomeňte tedy každý další snímek znovu nakalibrovat! (jinak budou mít všechny snímky kalibraci toho předcházejícího a to je špatně).
6. Před vlastní digitalizací bodů doporučuji si přečíst definici bodu a pak si prohlédnout jeho polohu u všech jedinců, ať máte představu, jaká je variabilita příslušných útvarů. Na horní liště ikon (když najedete myší, ukáže se vám, co která znamená) vyberete terčík (kříž a kolečko) s označením **Digitize landmarks**, umístíte ho do polohy příslušného význačného bodu a kliknete levým tlačítkem myši. Tím zaznamenáte – digitalizujete – polohu surových x,y souřadnic bodu ve středu kříže. Na každém snímku dodržujte přesně pořadí bodů, jaké je uvedeno v definici, na všech snímcích musí být např. čtvrtý digitalizovaný bod vždy Staphylion **ST** – bod na průsečíku mediasagitální roviny a tangenty spojující nejvíce vpředu umístěné body choan. Až nadigitalizujete všechny body na prvním snímku, kliknete na **červenou šipku** (v levé části horní lišty nástrojů a směřuje doprava) a posunete se k dalšímu obrázku (ten ihned nakalibrujte, ať na to nezapomenete). Pokud se spletete v digitalizaci (umístíte bod trochu špatně nebo spletete pořadí, vyberete **bílou šipku** (**Edit landmarks and curves**), bod s ní chytne a buď posunete nebo vymažete normálně **Delete**m. Až uděláte všechny snímky, uložíte soubor (**důrazně doporučuji ukládat i průběžně**, třeba po jedné lebce nebo i částěji) jako **Save data – Uložit – Overwrite**, čímž přepíšete původní soubor na soubor stejného názvu, ale již plný dalších souřadnic. Pokud vám není poloha nějakého bodu jasná, umístíte bod přibližně a zaznamenáte si někam případ a bod jako problematický. Později buď polohu bodu zpřesníte, nebo použijete omezený výběr bodů, nebo vyloučíte jedince. Oproti původní velikosti jsem všechny snímky zmenšil, protože později pro účely superpozice obrázků v **tpsSuper** (a vlastně i pro otevírání na slabších počítačích vůbec) byly příliš velké. Pokud u menších lebek nebude pro nalezení polohy příslušného bodu rozlišení dostačující, ověřte si polohu bodu na obrázcích původních, které vám rovněž ukládám do úschovny (složka **opice\_baze\_original**), ta je pouze pro prohlížení, NE pro digitalizaci. Pokud si třeba nebudete jistí průběhem švu, můžete si snímek prohnat nějakou úpravou v programu pro analýzu obrazu **ImageJ** (kontrast, barvy, .. zkoušejte).

7. Až budete mít hotovou kompletně celou digitalizaci (všechny body na všech lebkách), otevřete **tpsUtil** a vyberete operaci **Restore original order** a obdobným způsobem jako poprvé otevřete váš **tps** soubor (např.: **kralik\_baze\_ran.tps**) a uložte ho jako soubor s přidaným „\_re“ (např.: **kralik\_baze\_ran\_re.tps**). To vám vrátí náhodné pořadí do původního pořadí **jpg** souborů od 001 až 089. Podívejte se zase v **NotePadu**, jak po této operaci soubor vypadá.
8. Tento soubor **tps** mi společně s ostatními úkoly pošlete emailem na [kralik@sci.muni.cz](mailto:kralik@sci.muni.cz) ke kontrole. V příštím cvičení s ním budete dále pracovat – filtrovat, vybírat jedince a analyzovat. Protože máme celkem 89 lebek a na každé z nich 22 bodů, váš soubor bude obsahovat celkem 3916 souřadnic (po otevření v programu **Past** musí mít matice 89 řádků a 44 sloupců), žádný bod nesmí chybět, žádný přebývat ...

**Význačné body na bázi lebky primátů** (vítejte do světa reálné biologické variability :-)

(číslování naše 1-22, původní číslování v závorkách, název bodu, zkratka a definice)

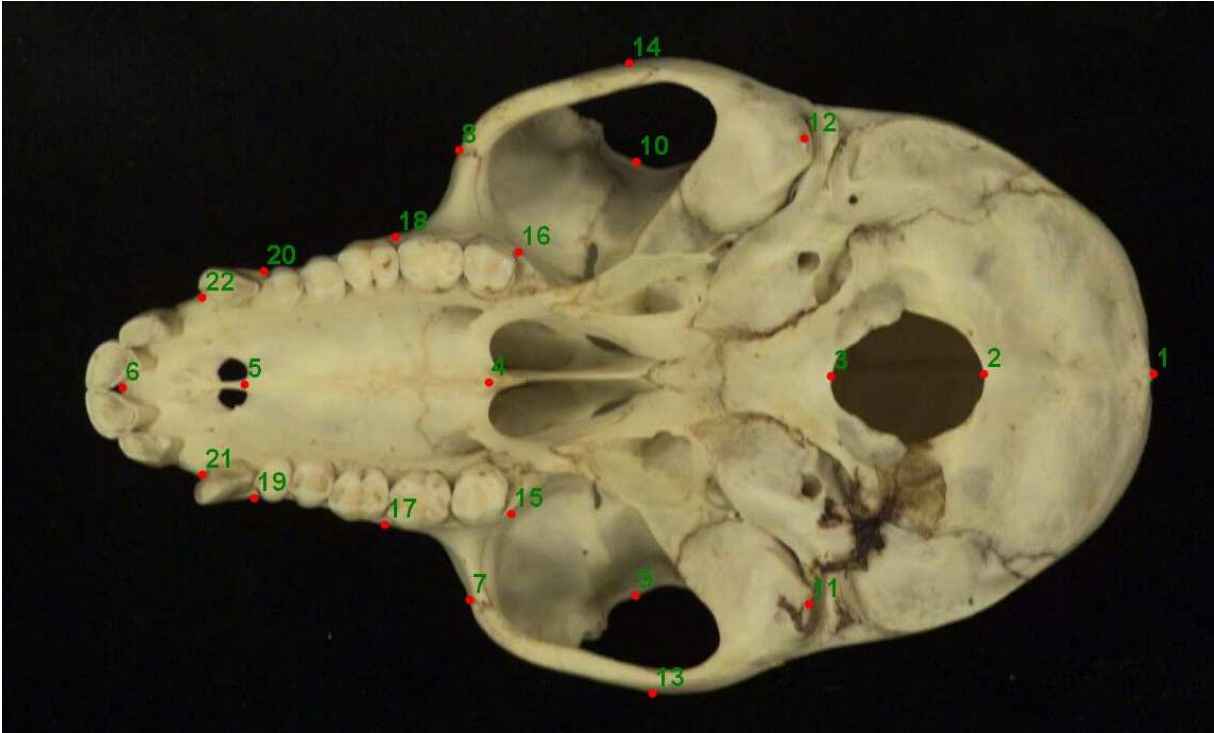
Modifikace vyplývají z toho, že si nemůžeme prohlédnout lebky ze všech stran, takže např. při pohledu zesponu nelze hodnotit nejnižší bod.

#### **Body v mediosagitální rovině**

- 1 (1) Inion **IN** – nejvíce vzadu umístěný bod na lebce v Frankfurtské horizontále; může se vyskytovat na nuchálním/sagitálním hřebenu
- 2 (30) Opisthion **OP** – nejzadnější bod na *foramen magnum*
- 3 (31) Basion **BA** – bod nejvíce vpředu na *foramen magnum*
- 4 (32) Staphylion **ST** – bod na průsečíku mediosagitální roviny a tangenty spojující nejvíce vpředu umístěné body obou *choanae*
- 5 (33) Incisivion **IV** – bod na maxile nejvíce vpředu ve střední rovině.
- 6 (nový) – **PM** bod nejvíce vpředu na praemaxile ve střední rovině (**neodpovídá přesně bodu prostion**)

#### **Body párové (na pravé a levé straně)**

- 7 a 8 (10/21) – Zygo-maxilare inferior (modifikovaný) **ZMI** – nejvíce vpředu ležící bod na sutura zygomaticomaxillaris při pohledu zesponu.
- 9 a 10 (16/27) – Frontomalare temporale **FMT** – bod v místě, kde *sutura frontozygomatica* kříží laterální roh zygomatu; pokud neprobíhá šev rovně, leží bod na projekci střední části švu na laterální okraj kosti
- 11 a 12 (34/40) – Postglenoidale **PG** – bod v místě vrcholu či středu oblasti
- 13 a 14 (35/41) – Zygo-temporale inferior (modifikovaný) **ZTI** – bod, kde se *sutura zygomaticotemporale* setkává s laterálním obvodem jářmového oblouku
- 15 a 16 (36/42) – Distale M3 **M3D** – projekce středního distálního bod 3. stoličky na laterální okraj alveolárního oblouku
- 17 a 18 37/43 M 1-2 contact **M12** – projekce kontaktu 1. a 2. stoličky na okraj alveolu
- 19 a 20 38/44 mesiale P3 **MP3** – projekce nejmesialnějšího bodu prvního premoláru na laterální okraj alveolárního oblouku
- 21 a 22 39/45 Praemaxilare-maxilare inferior **PMI** – bod v místě, kde se *sutura praemaxillomaxillaris* stýká s alveolárním okrajem



## Původní definice bodů (pro srovnání)

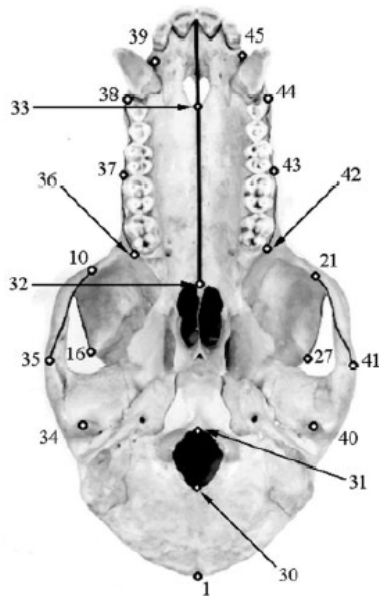


TABLE 2. Landmarks collected for all specimens\*

No.	Point	SF	W00	Definition
<b>Midline</b>				
1.	Inion	IN	i	Most posterior point of cranium, when viewed in the Frankfurt horizontal, be it on sagittal/nuchal crest or not.
2.	Bregma	BR	b	Junction of coronal and sagittal sutures, on sagittal crest if necessary.
3.	Glabella	GL	g	As viewed in Frankfurt horizontal.
4.	Nasion	NA	n	Fronto-nasal suture in midline.
5.	Rhinion	RH	rhi	Most anterior point in midline on nasals.
6.	Nasospinale	NS	ns	Inferiormost midline point of piriform aperture.
7.	Prosthion	PR	pr	Anteroinferior point on projection of premaxilla between central incisors.
30.*	Opisthion	OP	o	Posterior most point of foramen magnum.
31.	Basion	BA	ba	Anterior most point of foramen magnum.
32.	Staphylion	ST	sta	Midline point on palate on line tangent to anterior most points on choanae.
33.	Incisivion	IV		Midline point at the anterior most point of the maxilla (=posterior end of the incisive foramen), extrapolated if broken or asymmetrical.
<b>Bilateral (right/left)</b>				
8./19.	Prosthion2	PR2		Antero-inferiormost point on pre maxilla, equivalent to prosthion, but between central and lateral incisors.
9./20.	Premax-max superior	PMS		Where premaxillo-maxillary suture meets nasal bone, or aperture, if it does not continue to the nasal bone.
10./21.	Zygo-max inferior	ZMI		Anteroinferior point of zygomaticomaxillary suture, in antero-lateral view.
11./22.	Zygo-max superior	ZMU		Anterosuperior point of zygomaticomaxillary suture (taken at orbit rim).
12./23.	Dacryon	DAC	d	Junction of frontal, lacrimal and maxilla.
13./24.	Mid-torus inferior	MTI		Point on inferior margin of supraorbital torus (superior margin of orbit) roughly at middle of orbit.
14./25.	Mid-torus superior	MTS		Superior to MTI on superior most point of supraorbital torus when viewed in Frankfurt horizontal (see Line D).
15./26.	Frontomalare orbitale	FMO	fmo	Where frontozygomatic suture crosses the inner orbital rim.
16./27.	Frontomalare temporale	FMT	fmt	Where frontozygomatic suture crosses lateral edge of zygoma (LEZ) if suture isn't straight, project course of middle third laterally to LEZ.
17./28.	Porion	PO	po	(In Frankfurt horizontal-defines) top of auditory meatus.
18./29.	Zygo-temp superior	ZTS		Superior point of zygomatico-temporal suture on lateral face of zygomatic arch.
34./40.	Postglenoid	PG		Tip (or midpoint of area).
35./41.	Zygo-temp inf	ZTI		Inferolateral point of zygomaticotemporal suture on lateral face of zygomatic arch.
36./42.	Distal M3	M3D		Distal midpoint projected (laterally) onto alveolar margin.
37./43.	M1-2 contact	M12		Projected (laterally) onto alveolar margin.
38./44.	Mesial P3	MP3		Most mesial point on P3 alveolus, projected onto alveolar margin.
39./45.	Premax-max inf	PMI		Where premaxillomaxillary suture crosses alveolar margin.

\*The number corresponds to the order in which they are collected, and matches those of Figure 2. Landmark abbreviations in the SF column are those used here. Those in the W00 column are the equivalents in White (2000). Landmarks numbered 30 and higher are collected in the ventral orientation, all others are collected in the dorsal orientation.

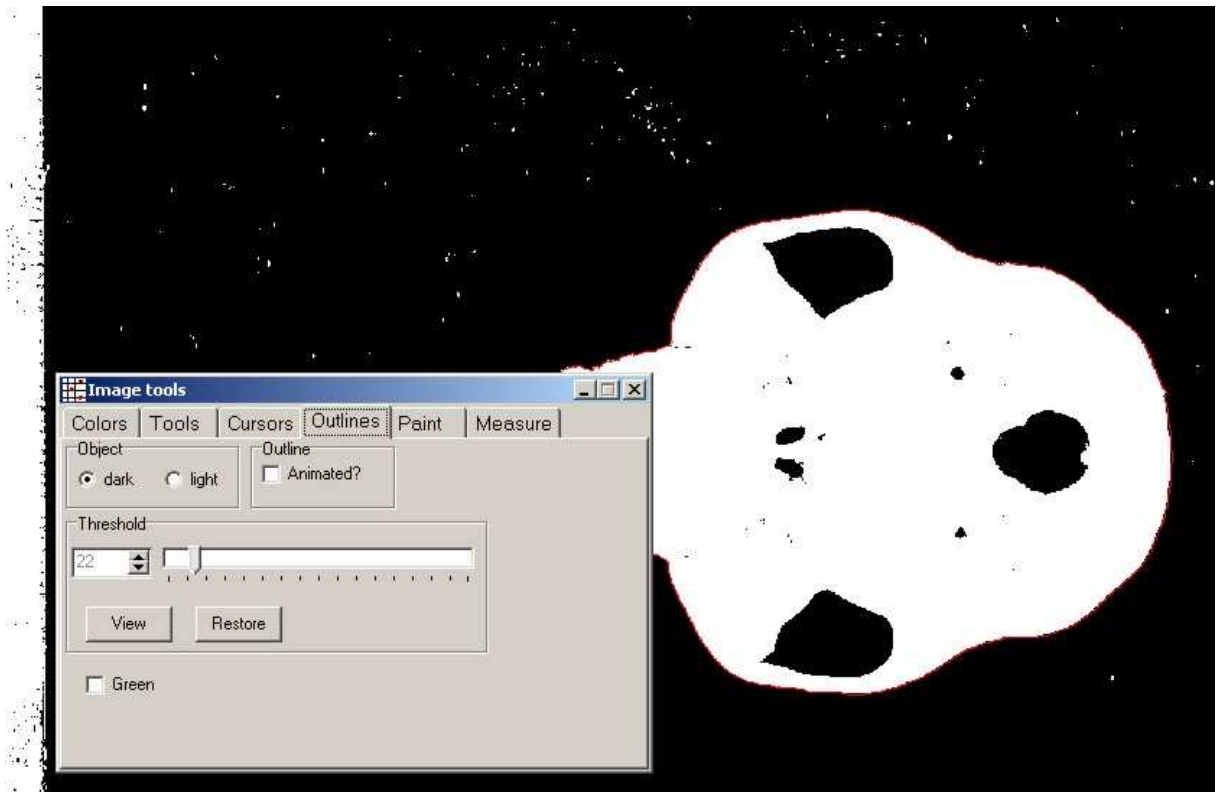


### Úkol č. 3: Digitalizace kontur

1. Požijeme stejný souborází lebek primátů. Obrázky si nechte v této složce, názvy souborů neměňte.
2. Otevřete program **tpsUtil** a v „select operation“ vyberte **Build tps file from images**. Klikněte na **Imput** a otevřete složku se snímky lebek, kliknete na jeden ze snímků a zvolíte **Otevřít**. Pak kliknete na **Output** a napíšete název souboru dle svého jména, například: **kralik\_baze\_outline.tps**. Zase vyberete všech 89 popořadě stejně jako před tím vytvoříte prázdný **tps** soubor.
3. Otevřete si program **tpsDig2**, zadáte **Imput source – File** a zvolíte **tps** soubor, který jste vytvořili (např.: **kralik\_baze\_outline.tps**). Otevře se vám první obrázek a můžete začít digitalizovat kontury. Kalibrovat ani randomizovat nebudeme, i když by to bylo vhodné také. (Kalibraci v případě potřeby pro každý snímek můžeme jako text zkopírovat ze souboru **tps** s digitalizovanými body, u mě **kralik\_baze\_ran\_re.tps**).
4. Zvolte nástroj na horní liště nástrojů označený **Outline object**. Kliknete levým tlačítkem myši do černé oblasti **vpravo** od lebky a lebka se vám obtáhne žlutě.



5. Kliknete pravým tlačítkem myši a zadáte (**Save as XY coord.**), zadáte **300 bodů** a červeně se vám označí oblast digitalizovaná do kontury. Pokud neodpovídá žlutá oblast obrysu lebky kvůli intenzitě jasu (neobtahuje se vnější obrys ale nějaké vrstevnice v objektu nebo pozadí), upravte v nabídce **Image tools – Treshold** hranici obtaženého objektu. Vyzkoušejte si různá nastavení. Uložte soubor **tps** výše popsaným způsobem. Dokud neuložíte konturu pomocí **Save as XY coord.**, překliknutím na další obrázek všechno zrušíte a můžete se vrátit zpět do původního stavu.



6. Také si můžete zvětšit zobrazení kontury (+) až bude jako jednotlivé body, vyberete bílou šipku (Edit landmarks and curves), bod s ní chytnete a buď posunete, nebo vymažete, nebo přidáte chybějící, prostě upravujete ručně.



7. Nezapomínejte ukládat. Do **tps** souboru se vám pak k lebkám s digitalizovanými konturami přidá 300 řádků souřadnic bodů jedné kontury

```
LM=0
OUTLINES=1
POINTS=300
1438 842
1437 848
.....
1440 835
```



1438 841  
IMAGE=067\_Procolobus verus M 0366.jpg  
ID=66

8. Uložíte a pošlete mi soubor se všemi konturami ke kontrole.

To je prozatím všechno, zkuste se tím poprat, příště budete analyzovat tato a další data.  
Kdyby něco nešlo, napište.

M.K.