

(c) Heribert Cypionka

[Ce texte est affiché dans la fenêtre d'aide de PICOLAY]

Veillez utiliser l'aide en ligne (brève référence, tutoriel, trucs et astuces) pour obtenir de l'aide avec des images et des exemples. Vous trouverez cette aide sous 'Help | Short reference (HTML)' ou sur [www.picolay.de](http://www.picolay.de) sous 'Manual' et 'Tutorial'.

PICOLAY (de PICtured OverLAY) est un programme pour ordinateurs Windows (TM) conçu pour la génération d'images améliorées et de projections tridimensionnelles à partir de séries d'images numériques.

PICOLAY est un logiciel gratuit sans aucune garantie. L'auteur n'est pas responsable de la perte de données ou de tout autre dommage causé par PICOLAY. Conservez toujours une sauvegarde de toutes les images que vous traitez avec PICOLAY. Les droits d'auteur restent la propriété de l'auteur.

Veillez citer le site web ([www.picolay.de](http://www.picolay.de)) lorsque vous utilisez PICOLAY pour la production d'images publiées.

---

### **[==>] Principales caractéristiques**

Bien que PICOLAY soit un petit programme très facile à utiliser, il possède des fonctions puissantes. Il permet

- la zédification (focus stacking) : Générer des images nettes avec une profondeur de champ accrue à partir de séries d'images prises à des niveaux de mise au point séquentiels (appelées piles z).
- l'empilement basé sur les couleurs de la cible plutôt que sur les zones nettes.
- la production d'images moyennées.
- l'ajout ou la soustraction d'images.
- l'alignement automatique des positions et de la taille si les images ne sont pas parfaitement congruentes.
- l'ajustement automatique de la luminosité des images d'une pile.
- la génération d'un champ plat avec un fond ou une balance des blancs réglable.
- l'ajout de texte et d'une échelle aux images.

- la génération d'animations de séries d'images sous forme de diaporama ou de fichier gif animé.

De plus, PICOLAY possède de nombreuses autres fonctions de retouche pour améliorer les images en modifiant des paramètres comme la netteté, le contraste, la taille, etc...

Les caractéristiques uniques de PICOLAY sont les diverses routines permettant de générer des vues, des projections et des animations en trois dimensions :

- La génération d'images tridimensionnelles à partir d'une seule pile prise avec une perspective constante.

- La génération d'images 3D rotatives, d'images superposées rouge-cyan et d'images pour une visualisation croisée ou parallèle, et de fichiers MPO ou d'images entrelacées pour les télévisions 3D.

- L' 'hologramme stacking', une routine qui rend visible des structures qui sont cachées par le processus normal d'empilement.

Ainsi, PICOLAY vous offre gratuitement un peu de 'microscopie confocale'. Il dispose également de plusieurs fonctions permettant de modifier les paramètres généraux de l'image, comme la netteté, le contraste, la luminosité, la saturation des couleurs, la correction gamma, le redimensionnement et le recadrage.

Veuillez consulter [www.picolay.de](http://www.picolay.de) pour plus d'informations.

---

### **[==>] Installation**

Téléchargez la dernière version de PICOLAY sur [www.picolay.de](http://www.picolay.de). La routine d'installation peut installer le programme dans n'importe quel dossier, carte SD ou clef USB. Les images d'exemples et les fichiers d'aide sont installés dans un sous-dossier. Si les fichiers d'aide ne sont pas trouvés pendant l'exécution, PICOLAY les recherchera sur Internet. **L'installation ne modifie aucun fichier système.**

### **ATTENTION :**

Il est recommandé d'installer PICOLAY dans un sous-dossier différent de celui du programme Windows. Sinon, il peut y avoir des conflits avec les droits d'administrateur ou vous devez lancer le programme en faisant un clic droit sur 'Exécuter en tant qu'administrateur'.

### **[==>] picolay.ini**

Le dernier dossier à partir duquel vous avez chargé des images est enregistré sous 'picolay.ini' et sera utilisé à nouveau lors de la session suivante.

---

### **[==> Focus stacking pour l'utilisateur impatient**

- Sélectionner les images 'Fichier | Ajouter des images' ou Ctrl-A
- Sélectionner 'Stack operations | Stack with current parameters' ou appuyez sur Ctrl-F1 pour lancer la routine d'empilage avec les paramètres standard pré-réglés.
- Si nécessaire, modifiez les paramètres comme décrit ci-dessous.

---

### **[==>] Fenêtre principale : File**

'Add image(s)' 'Ajouter une/des image(s) | Ctrl-A'

- Permet de sélectionner une liste d'images à traiter. Toutes les images doivent être sélectionnées dans le même dossier et les images résultantes y seront également enregistrées.

'Clear list' 'Effacer la liste'

- éliminera toutes les images de la liste sans les supprimer.

'Stack multiple sub-folders' 'Empiler plusieurs sous-dossiers'

- permet d'empiler des images dans plusieurs sous-dossiers en un seul clic. Les résultats seront enregistrés dans le dossier de niveau supérieur. Veillez à définir les paramètres "alignement de l'image" et "enregistrer les cartes de profondeur" avant de lancer cette routine.

'Save Result as', 'Save depth map as' and 'Print result window as'

'Sauvegarder le résultat sous', 'Enregistrer la carte de profondeur sous' et 'Imprimer la fenêtre de résultat sous'.

- permet de sauvegarder et d'imprimer les résultats de manière spécifique.

- 'Exit PICOLAY' 'Quitter PICOLAY' | Ctrl-Q

- quittera le programme. Il vous sera demandé si les nouveaux fichiers générés par PICOLAY doivent être conservés ou supprimés du disque.

---

## **[==>] Formats d'images que PICOLAY peut traiter**

PICOLAY peut (théoriquement) traiter jusqu'à  $2^{16}-1 = 65535$  images à la fois.

Il peut ouvrir et enregistrer des images au format suivant :

- JPEG (\*.jpeg, \*.jpg)
- Bitmaps (\*.bmp)
- PNG (\*.png)
- MPO (\*.mpo)

Les fichiers MPO peuvent être générés à partir des deux premières images jpg marquées dans la liste. Si vous ouvrez un fichier MPO, il sera divisé et les deux fichiers jpg qu'il contient seront affichés séparément.

- Gif (\*.gif)

PICOLAY peut générer des fichiers gif animés mais ne peut pas montrer l'animation.

- RAW (\*.dng, \*.CR2, \*.nef)

Pour les images RAW, vous devez avoir installé le CODEC approprié pour Adobe, Canon ou Nikon. Veuillez consulter les sites web correspondants pour le téléchargement.

- TIF (\*.tiff, \*.tif)

Les fichiers TIF peuvent être ouverts, mais seront changés en bitmaps 24 bits en interne. PICOLAY ne peut pas enregistrer les fichiers TIF.

## **[==>] Sélectionnez le format de fichier d'enregistrement**

Sélectionnez ce format sous 'Options' (voir ci-dessous).

Il est facile de transformer une liste d'images d'un format à un autre : Il suffit de cliquer sur 'Options' et de sélectionner le format cible sous [Save as=].

Cliquez ensuite sur 'Enhance' situé sur le bandeau en haut de l'image. Vous pouvez éventuellement changer des paramètres, sélectionnez 'Apply to all marked images' et démarrez la routine avec 'Apply'

---

## **[==>] Images résultantes générées par PICOLAY**

La plupart des routines PICOLAY génèrent des fichiers qui sont automatiquement enregistrés et ajoutés (sans marquage) à la liste d'images (voir ci-dessous). La plupart des nouveaux fichiers ont des noms commençant par 'py'. PICOLAY n'écrase pas les images originales, mais écrase les fichiers py sans demande préalable ! Les fichiers résultants sont générés dans le même répertoire que les images analysées. Il est donc **fortement recommandé** de copier les images de chaque pile à analyser dans un dossier séparé.

Lorsque vous quitterez PICOLAY, il vous sera demandé si tous les fichiers 'py' de votre liste doivent être effacés (ne laissant aucun résidu sur le disque). Si vous les effacez, assurez-vous d'avoir enregistré avant le résultat final sous un nom ne commençant pas par 'py' ! (Peut être réalisé sous 'Image list | Rename marked files').

**Exceptions :** fichiers clip, enhy, xy et by

Si vous décidez de recadrer un rectangle à partir de TOUTES LES IMAGES MARQUÉES 'edit | crop all marked images', les résultats seront enregistrés sous 'clip' + nom du fichier original. De même, les séries d'images améliorées seront enregistrées sous 'enhy' + nom de fichier original, les images traitées par les sous-programmes d'alignement automatique des positions x-/y- ou d'ajustement automatique de la luminosité seront enregistrées respectivement sous 'xy' et 'by' + nom de fichier original.

Si cette option est sélectionnée sous 'Options', le nom original de la première image marquée dans la liste sera ajouté aux noms de fichiers générés par PICOLAY.

---

## **[==>] Sélectionnez les images**

La première étape consiste à sélectionner des images. Cliquez sur 'File' et 'Add image(s)'. Cliquez ensuite sur la première image de la série, maintenez la touche SHIFT enfoncée et cliquez sur le dernier fichier image de votre série. Afin de ne sélectionner qu'une partie des fichiers de votre répertoire, vous pouvez maintenir la touche CTRL enfoncée et cliquer sur chaque fichier séparément.

Une fois que vous avez sélectionné les images, leur nom s'affiche dans la zone de liste située à gauche. PICOLAY trie les fichiers par ordre alphabétique. Veillez à ce que les noms aient la même séquence que les couches de votre z-stack. L'ordre peut être

inversé sous 'Image list |reverse order of images'.

**Conseil** : Pour vous familiariser avec PICOLAY, utilisez d'abord de petites images et copiez-les dans un répertoire séparé avant de commencer !

---

### **[==>] Navigation dans la liste des images**

Vous pouvez afficher les images sélectionnées en cliquant dans la liste déroulante ou à l'aide des touches fléchées haut et bas. En **double**-cliquant sur les noms, vous pouvez marquer [X] ... ou démarquer [\_] ... des fichiers pour un traitement ultérieur. Il est également possible de basculer toutes les marques, de supprimer des images sélectionnées, d'effacer la liste, etc. sous l'élément de menu 'Image list'.

Il est possible de faire un zoom avant ou arrière en cliquant sur [-] ou [+] dans la fenêtre d'image. Bien entendu, PICOLAY ne modifiera pas les images originales dans ce cas. Un clic sur le chiffre du milieu vous ramène à la vue à 100%.

**Caractéristique particulière de PICOLAY** : Lorsque vous avez zoomé ou que vous avez sélectionné une certaine partie d'une image, la position et la taille seront maintenues constantes pendant la navigation sur les autres images de la liste.

---

### **[==>] Traitement de la 'liste d'images'**

Dans le menu 'Image list', on peut inverser l'ordre des fichiers d'images. Ceci est pertinent parce que PICOLAY suppose que la première image montre la couche supérieure, et parce que seule la première image peut être ajoutée ou soustraite du reste de la liste. (Vous devrez éventuellement renommer le fichier à ajouter avant de le sélectionner).

Il est également possible d'inverser la marque (par un double-clic) et de supprimer du disque tout ou partie des fichiers sélectionnés. En outre, il est possible de renommer les fichiers marqués en remplaçant des caractères dans la chaîne de noms. Cette fonction est utile, par exemple pour échapper à la suppression automatique des fichiers 'py...' lorsque le programme est terminé.

Il est possible d'effacer la liste (sans supprimer de fichiers), d'ajouter de nouvelles images ou de générer des fichiers mpo pour les afficher, par exemple, sur une télévision en 3D.

### **[==>] 'Générer un fichier MPO'.**

Pour cette fonction, les deux premières images jpg marquées dans la liste seront utilisées. Le nouveau fichier mpo est enregistré dans le dossier actuel sans que son

nom ne figure dans la liste. (Avant de générer un fichier mpo, vous devrez utiliser les méthodes disponibles dans la fenêtre de vue en 3d ('3D view') pour obtenir les images jpg appropriées pour la vue de l'œil gauche et de l'œil droit, [R]+[L].

---

### **[==>] 'Générer une image gif animée' 'Generate animated gif image'**

Le diaporama peut être transformé en un seul fichier gif animé. Veuillez tenir compte du fait qu'un grand nombre d'images donne lieu à des fichiers volumineux (la taille du fichier augmente avec le carré des dimensions de l'image !) Ne lui donnez pas un nom sans le '.gif' à la fin.

Les images gif animées peuvent être ouvertes, mais l'animation ne sera pas (encore) affichée par PICOLAY. Les navigateurs Internet peuvent afficher l'animation sans avoir besoin d'un pilote spécial.

---

### **[==>] F12 Diaporama des images sélectionnées**

Avec la touche F12 ou sous 'Image list | Start slideshow', vous pouvez obtenir une présentation animée de toutes les images marquées. Sous 'Options', il est possible de régler la vitesse d'affichage des images. En outre, vous pouvez définir si le défilement des images doit effectuer un retour arrière ou recommencer à partir de la première image lorsque la fin de la liste est atteinte. En cliquant sur l'image ou sur la liste, vous arrêtez le défilement.

Cette fonction peut être utilisée pour la pile originale ainsi que pour les rotations 3D par étapes générées par PICOLAY, ou pour toute autre série d'images.

---

### **[==>] Fenêtre d'image : Modes d'affichage**

#### **[==>] [Plein écran] / [Demi-écran]**

Cliquer sur [Full] ou [half-screen] permet de changer la taille de l'affichage.

#### **[==>] [Ajuster à la fenêtre] / [Régler à 100%]**

Cliquer sur [Fit to window] ou [Set to 100%] permet de changer la taille des images.

#### **[==>] Zoom avant ou arrière**

En cliquant sur [+] ou [-] dans la fenêtre de l'image (ainsi que dans la fenêtre de résultat), le facteur de zoom sera modifié.

---

### **[==>] Fenêtre d'image : Fonctions d'édition**

Sous 'Edit', on peut copier une image ou des parties de celle-ci dans le presse-papiers. D'autres fonctions sont recadrer 'crop selection' ou coller une image du presse-papiers.

La fonction ' Recadrer toutes les images marquées - Crop all marked images' - peut être utilisée pour sélectionner la zone intéressante dans votre pile Z pour un traitement ultérieur. Dans ce cas, les nouveaux noms de fichiers seront 'clip' + <nom original>.

Le contenu de la fenêtre d'image peut être copié dans la fenêtre de résultat soit comme résultat 'Copy to result window' soit comme carte de profondeur 'copy to depth map'. Cette fonction peut être utilisée pour apporter des modifications aux résultats de l'empilage ou à la carte de profondeur, avant qu'ils ne soient utilisés pour des projections 3D.

---

### **[==>] Fenêtre d'image : Améliorer l'image 'Enhance image'**

Lorsqu'une image sélectionnée est affichée, vous pouvez modifier une série de paramètres de l'image en cliquant sur 'Enhance' sur le bord supérieur de la fenêtre. Vérifiez d'abord le résultat, puis appliquez les modifications. Ces fonctions ne peuvent pas être annulées comme dans les autres routines.

Cependant, un nouveau fichier sera généré. Si vous 'appliquez' l'amélioration à une seule image, le résultat sera automatiquement enregistré sous 'pyenhanced-01.jpg' (avec des chiffres croissants à la fin). En outre, il est possible d'enregistrer le résultat affiché en sélectionnant 'Enregistrer le résultat sous - Save as' ou en appuyant sur la touche Ctrl-S.)

Les transformations sélectionnées peuvent être appliquées à toutes les images marquées si la case correspondante est cochée. Dans ce cas, les résultats seront enregistrés sous 'enhy' + <nom original>.

Veuillez sélectionner le format de fichier des images générées sous 'Options | Save as'.

---

### **[==>] Fenêtre d'image : Fonctions de la souris**

La fonction standard est le 'Rectangle' utilisé pour sélectionner les zones à recadrer ou à copier dans le presse-papiers.

**Conseil** : réglez le facteur de zoom sur 100 % ou 50 % pour obtenir l'affichage le plus rapide des actions de la souris.

Il existe plusieurs autres 'fonctions de la souris - Mouse tools' sélectionnables :

### **[==>] Souris : Retouches au pinceau (paintbrush)**

Le 'pinceau' est utilisé pour peindre sur votre image. Un clic droit sur l'image permet d'alimenter la pipette avec la couleur sous la pointe, qui est indiquée dans la petite fenêtre de l'outil. En déplaçant la souris avec le bouton gauche de la souris (ou la touche Ctrl !) enfoncé, vous peindrez sur l'image avec des bords qui s'estompent. Vous pouvez restaurer l'image à la dernière situation d'effacement de la souris en cliquant sur 'Annuler - Undo' situé sur le bandeau en-haut de l'image ou en appuyant sur 'Ctrl-Z'.

L'épaisseur de la ligne de pinceau est indiquée par un cercle en pointillés et est ajustée dans la fenêtre d'outils supplémentaires. Enfin, il vous sera demandé si les modifications doivent être enregistrées en écrasant l'original 'Overwrite current image' ou avec un nouveau nom 'pyenhanced-...' en sélectionnant 'Save with a new name'.

---

### **[==>] Souris : Nettoyer le Fond (background)**

Cette fonction permet d'intégrer un objet dans un fond homogène sans qu'une utilisation très précise du pinceau soit nécessaire. Tout d'abord, faites un clic droit sur la couleur de votre image que vous souhaitez utiliser comme arrière-plan. Ensuite, cliquez (gauche) sur le bloc 'Couleur d'arrière-plan' dans 'Mouse Paintbrush | Paintbrush' tool pour définir cette couleur comme arrière-plan. Réglez maintenant la largeur du pinceau sur une valeur assez élevée (par exemple, de 16 à 64) et entourez votre objet avec la touche gauche de la souris. Si vous ne parvenez pas à surpeindre certaines parties de l'arrière-plan, cliquez sur ces parties avec le bouton droit de la souris et réessayez. Si des parties de votre objet sont surpeintes par erreur, vous pouvez utiliser la fonction Annuler et vous pouvez définir les plages de tolérance pour la luminosité et l'écart de couleur à des valeurs inférieures.

---

### **[==>] Souris : 'Clonage dans l'image résultat' (par exemple pour l'empilage manuel)**

La fonction 'Clone to result image' copie la zone située sous le cercle de la souris dans la fenêtre d'image à la même position de la fenêtre de résultat (indiquée par un anneau dans les deux fenêtres). Cela permet une zédification manuelle. La carte de

profondeur conserve les informations sur la couche utilisée pour le clonage, ce qui permet une projection 3D correcte. Seules les images originales utilisées pour l'empilement doivent être marquées lors du clonage dans la fenêtre de résultat. Pour un positionnement exact, la largeur du pinceau peut être ajustée comme décrit ci-dessus, et on peut zoomer en cliquant sur [+].

---

### **[==>] Souris : 'Le clonage dans l'image'**

Cette fonction 'Clone within image' permet de cloner des zones à l'intérieur d'une même image, par exemple pour écraser des éléments perturbateurs sur un fond non perturbé. Faites d'abord un clic DROIT sur la position de la cible. Ensuite, cliquez (GAUCHE) sur la source et déplacez doucement la souris dans la zone source tout en observant les changements dans la zone cible, qui est indiquée par un deuxième anneau.

---

### **[==>] Souris : 'Insérer un texte' 'Insert text'**

Cela ouvre une nouvelle fenêtre pour la sélection d'une chaîne de texte, d'une police, d'une couleur et d'une direction verticale ou horizontale.

Un clic ultérieur permet de placer le texte sur votre image. Utilisez 'Annuler - Undo' et répétez le placement du texte jusqu'à ce que vous soyez satisfait du résultat. Puis 'Enregistrez - Save' le résultat.

Vous pouvez ajouter le texte à toutes les images marquées si vous cochez la case correspondante.

---

### **[==>] Souris : 'Insérer une barre d'échelle'**

La fonction 'Insert scale bar' ouvre une nouvelle fenêtre pour la définition des dimensions et de la couleur d'un rectangle. Un clic ultérieur sur votre image dépose la barre. Utilisez 'Undo' et répétez le placement de la barre jusqu'à ce que vous soyez satisfait du résultat. Ensuite, 'Enregistrer' le résultat.

Vous pouvez ajouter la barre d'échelle à toutes les images marquées si vous cochez la case correspondante.

---

### **[==>] Opérations de zédification 'Stack operations'**

Une fois que vous avez sélectionné les images, diverses tâches sont activées. Les opérations de zédification peuvent être lancées au moyen des touches Ctrl-F1,

F2...F12 des éléments du menu correspondant. Les opérations sont appliquées uniquement aux images marquées.

---

### **[==>] Zédification basé sur les zones de netteté**

Il s'agit là de l'empilement standard. PICOLAY peut également effectuer un empilage basé sur les couleurs ou d'hogrammes, 'Colour-based' ou 'hologram-stacking' (voir ci-dessous).

### **[==>] Ctrl-F1 Pile avec les paramètres actuels**

La touche Ctrl-F1 ou le fait de cliquer sur 'Stack with current parameters - Empiler avec les paramètres actuels' lancera la routine de zédification en utilisant les paramètres actuels.

Dans la fenêtre de droite, vous pouvez suivre la composition séquentielle du résultat. Une fois l'opération terminée, une superposition de l'image nette et de la carte de profondeur est affichée dans la fenêtre de gauche. Cela devrait vous aider à évaluer la performance.

Le résultat ne sera pas toujours optimum. Souvent, on voudrait modifier certains paramètres pour l'améliorer. Cela peut également être fait avant de commencer la routine de zédification.

---

### **[==>] F2 Modifier les paramètres de zédification**

Appuyez sur F2 'Set stacking parameters' afin de régler les paramètres avant la zédification. Une nouvelle fenêtre s'ouvre sur la droite, où vous pouvez ajuster les paramètres suivants :

### **[==>] 'Suppression du bruit' 'Noise suppression'**

est fixé à une valeur qui permet de séparer un fond lisse des zones à structure nette. Cela permet d'éviter de sélectionner des perturbations ou des bruits mineurs au lieu de les filtrer. Les pixels de bruits (à faible contraste) seront moyennés, ce qui donne un arrière-plan lisse. Vous risquez de perdre des détails si la valeur est trop élevée.

### **[==>] 'Réduire ou élargir les zones'**

La fonction 'Narrow or widen patches' permet de déplacer les transitions entre les zones nettes et les zones floues. Cette fonction ne devient visible qu'à des valeurs de contraste minimales supérieures à 1. Les valeurs positives sont utilisées pour combler

les zones floues à l'intérieur d'un objet. Les valeurs négatives rétrécissent le bord extérieur d'une structure.

### **[==>] 'Filtre intelligent' smart ou réglable de 1 - 10**

définit le filtre pour la détection des détails de l'image. Avec 'Smart', le filtre sera flexible en fonction des structures des différentes zones de l'image. Vous pouvez également fixer le filtre à une valeur comprise entre 1 (fin, passe-haut) et 10 (grossier, passe-bas).

### **[==>] 'Préférer les images du bas ou du haut'**

définit dans quelle mesure les structures des cadres supérieurs doivent couvrir celles situées plus profondément dans la pile (et dans l'objet visualisé). Les valeurs négatives déplacent les zones peu contrastées vers l'arrière.

### **[==>] 'Aligner les images'**

'Align images' corrigera le mauvais alignement et les variations de taille de vos images. Il faut vérifier si votre pile a été générée à faible grossissement, et surtout si elle a été prise au stéréomicroscope. Il existe deux possibilités : '1x' effectuera l'alignement pendant le processus d'empilement, en commençant par la dernière image de la liste. '2x' générera d'abord les images alignées, en commençant par le milieu de la pile. Les images alignées seront enregistrées sous de nouveaux noms (xy...). Sous 'Options', vous pouvez désactiver la correction de taille et/ou activer une correction de rotation supplémentaire dans votre pile.

### **[==>] 'Tester 4 paramètres de filtrage'**

'Test 4 filter settings' génère quatre résultats d'empilement différents en faisant varier la taille du filtre et la suppression du bruit. Cela peut aider à trouver facilement les paramètres parfaits... Les paramètres appliqués sont documentés dans les noms de fichiers (voir paragraphe suivant).

### **[==>] 'Amélioration automatique'**

'Auto-enhance' augmente la netteté et le contraste de votre résultat.

En cliquant sur 'Go', la routine d'empilage commence. Vous pouvez suivre le processus dans la fenêtre de résultat. Finalement, un fichier non marqué nommé par exemple

pysharp\_min6\_pa3\_pr5\_fil50\_fr.jpg' sera enregistré et ajouté à la liste des fichiers avec 'pysharp' signifiant fichier PICOLAY basé sur la netteté, et 'sup6\_pa3\_pr5'

décrivant les paramètres appliqués pour la suppression du bruit, l'agrandissement du patch et la préférence des images supérieures, respectivement. '\_en' indique que l'image résultante a été automatiquement améliorée.

### **[==>] 'carte de profondeur'**

En même temps que l'image nette, une carte (depth map) est générée, montrant de quelle couche chaque pixel est dérivé. La carte de profondeur est utile pour trouver les paramètres d'empilement parfaits. Les zones grises indiquent l'endroit où la moyenne des pixels a été calculée, car aucune structure nette n'a été détectée. Les informations contenues dans la carte sont utilisées pour générer des images et des projections en trois dimensions (voir ci-dessous). Pour enregistrer automatiquement la carte de profondeur, activez cette fonction dans le panneau des paramètres de zédification 'Set stacking parameters'.

Pour voir la carte et passer de l'image empilée à la carte de profondeur, cliquez sur '[Flip view=] Result' (ou '[Flip view=] Depth map', respectivement). Le jaune indique le niveau le plus élevé et le bleu le niveau le plus bas de la pile. Si l'option de sauvegarde est sélectionnée sur le panneau des paramètres (F2), la carte de profondeur est automatiquement enregistrée comme 'pysharpmap...' et ajoutée à la liste des images (non marquées).

N.B. : On peut améliorer l'image résultante en cliquant sur [Améliorer l'image] [Enhance image] comme décrit ci-dessus.

---

### **[==>] F3 Zédification basée sur la couleur**

Lancer 'Color-based stacking' dans la fenêtre principale ou 'F3' ouvre la routine d'empilage basé sur les couleurs. Un nouveau panneau intitulé : 'Set target color for stacking - Sélectionner les couleurs cibles' apparaît. Vous pouvez définir une couleur cible en cliquant dans l'image originale avec le bouton droit de la souris, ou en entrant la valeur des canaux RGB dans les champs correspondants du panneau, ou en cliquant sur les carrés rouge, vert, bleu, noir et blanc.

Le noir et le blanc en particulier (R/G/B = 0/0/0 et 255/255/255, respectivement) donnent des informations intéressantes sur votre pile d'images !

En cliquant sur 'Go', vous obtiendrez une image composée des pixels ORIGINAUX de la pile Z qui sont les plus proches de la couleur cible. Cette fonction est

particulièrement utile pour les images à contraste de phase et les objets colorés (chromophores fluorescents par exemples).

L'empilement basé sur la couleur génère également une carte de profondeur (voir ci-dessus) et ouvre les possibilités tridimensionnelles décrites ci-dessous.

Si vous cochez la case 'Bande de la partie non cible' - Strip non-target part' votre couleur cible sera filtrée de la pile tandis que les autres couleurs seront négligées. L'image résultante est enregistrée sous le nom de 'pycolour\_r0\_g0\_b0.jpg' (avec des numéros indiquant les valeurs RGB) et ajoutée à la liste des images (sans marquage). Si elle est sélectionnée sous 'Options', la carte de profondeur est enregistrée sous la forme 'pycolour2Dmap\_r0\_g0\_b0.jpg'.

---

#### **[==>] F4 Images moyennes** 'Average marked images'

L'image moyenne est obtenue en appuyant sur la touche F4 de la fenêtre principale 'Stack operations'. L'image résultante est enregistrée sous le nom de 'pymean.jpg' et ajoutée à la liste des images (non marquées).

! Les fichiers plus anciens portant le même nom seront écrasés !

Pour améliorer la qualité du résultat, on peut augmenter la netteté et le contraste en utilisant [Enhance image]. Dans certains cas, cela donne un excellent résultat, comparable à l'empilement basé sur la netteté.

La moyenne peut également être utile, si vous souhaitez combiner différentes images produites par PICOLAY. Par exemple, essayez de voir ce qui se passe si vous faites la moyenne des images résultantes pour les pixels les plus sombres et les plus clairs...

---

#### **[==>] F5 Insérer des images intermédiaires**

Cette fonction 'Insert intermediate images' génère des images supplémentaires insérées entre vos originaux. Cela peut être utile pour des transitions fluides dans un diaporama ou pour des projections en 3D si vous souhaitez augmenter le nombre de couches. Un 'i' est ajouté à la fin du nom des nouvelles images.

---

#### **[==>] F6 Alignement automatique des images et redimensionnement**

Si certaines de vos images originales sont déplacées par rapport à leur position horizontale et verticale, à la rotation, ou si la taille de l'objet varie, vous pouvez

compenser cela en utilisant la fonction d'alignement automatique 'Auto-align and resize'. Cette routine sera particulièrement utile pour les photos prises au moyen d'un stéréomicroscope, où l'objet semble bouger avec la mise au point, ainsi que pour les images macro, où les objets semblent plus grands lorsque l'objectif se rapproche. Les images résultantes seront enregistrées sous 'xy' + <nom du fichier original>.

Utilisez cette fonction avant l'empilage.

Sous 'Options', la fonction de redimensionnement peut être désactivée ou réactivée. Si une correction de la rotation est nécessaire, elle doit également être activée sous 'Options'.

ASTUCE : si l'alignement n'est pas parfait, une deuxième exécution peut donner un meilleur résultat.

ASTUCE : si vous avez des pixels défectueux sur votre capteur ou de la poussière dans votre système optique, il est recommandé de prendre des images floues au-dessus et en dessous de l'objet, de les moyenner et de les soustraire via la routine 'Set background/flat field' (F10), voir ci-dessous. Sinon ces particules pourraient se transformer en lignes gênantes.

Remarque : si les images de votre pile ne sont pas déplacées, la fonction 'Alignement automatique et redimensionnement' peut nuire au résultat de la pile.

---

### **[==>] F7 Réglage automatique de la luminosité**

Si la luminosité de certaines photos de votre pile diffère, essayez le réglage automatique de la luminosité 'Auto-adjust brightness' pour compenser cette différence. Les images résultantes seront enregistrées sous 'par '+ <nom du fichier original>. Utilisez cette fonction avant la zédification.

---

### **[==>] F8 Définir la balance des blancs**

Si vous utilisez cette fonction 'Set white balance', vous pouvez corriger la balance des blancs de votre/vos photo(s). Il suffit de cliquer avec le bouton droit de la souris sur l'arrière-plan et ensuite sur 'Go'.

Les images corrigées seront enregistrées automatiquement avec 'py' inséré devant le nom du fichier original. Ces fichiers peuvent être utilisés pour un traitement PICOLAY ultérieur après avoir modifié la marque de sélection [X] en conséquence.

---

### **F9 Ajouter ou soustraire une image**

PICOLAY permet d'ajouter (ou de soustraire) la première image de votre liste à toutes les images suivantes avec la fonction 'Add or subtract image'. Tenez compte du fait que les valeurs RVB supérieures à 255 et inférieures à 0 ne sont pas autorisées et seront éliminées automatiquement.

---

### **[==>] F10 Correction du fond / du champ plat**

Si vous sélectionnez cette fonction 'Set background /flat field correction' et un 'facteur' de -1 (un facteur négatif signifie soustraire), cette fonction peut être utilisée pour éliminer les éléments perturbateurs présents dans toutes les images de votre pile (par exemple, les 'anneaux Coolpix', les vignettes ou les particules de poussière sur vos objectifs). La fonction ne se contente pas de soustraire la première image (ce qui donnerait des images presque noires) mais ajoute les valeurs RVB nécessaires pour atteindre la couleur de fond que vous avez sélectionnée en cliquant dans l'image avec le bouton droit de la souris. Le meilleur résultat est généralement obtenu lorsque vous sélectionnez la couleur de fond naturelle.

---

### **[==>] F11 Diviser par la 1ère image**

Cette fonction 'Divide by 1st image' a été mise en œuvre pour diviser toutes les images marquées par la première image marquée de la liste. Cette opération est effectuée sur la base des couleurs en utilisant les valeurs RVB 0-255 pour chacune des chaînes. Par exemple, si la première image (diviseur) a une valeur de 127 dans le canal rouge, alors le canal R des autres images sera divisé par  $255/127$  (c'est-à-dire multiplié par  $127/255$ ).

---

### **[==>] 'Monter deux images côte à côte' 'Mount 2 images side by side'**

Crée et enregistre un bitmap nommé "sbs...(nom original).bmp" à partir des deux premières images sélectionnées dans la liste. Cette fonction est parfois utile pour combiner la vue gauche et droite des images stéréo dans un seul fichier.

---

### **[==>] Fenêtre principale : Options**

Sous 'Options', vous pouvez choisir

'Save as'

- définit le format utilisé pour les images générées par PICOLAY (bmp, jpg, gif, png, ou le même que l'original).

'Fichiers de noms avec horodatage' `Name files with time stamp`

- ajoute un code temporel de 5 caractères au début du nom du fichier (augmentant par ordre alphabétique toutes les 1/10 sec)

'Ajouter le nom original au fichier py' `Add original name to py file`

- ajoute le nom de la première image marquée dans la liste au fichier py

'Redimensionnement en cours d'alignement' `Resize during alignment`

- permet de désactiver la correction de taille lors de l'alignement, ce qui est utile pour les piles de macrophotographies, mais pas pour les piles de microphotographies. (Le réglage standard est : ON)

'Rotation correcte avec alignement' `Correct rotation w/alignment`

- doit être activé si vos images nécessitent des corrections de rotation dans votre pile. (Le réglage standard est : OFF)

'Rapport largeur/hauteur des recadrages' `Cropping ratio width:height`

- permet un recadrage manuel (préréglé) ou des rapports fixes de largeur et de hauteur, lorsque vous recadrez une seule ou toutes les images marquées de votre liste.

'Arrière-plan' `Background`

- vous permet de définir un fond bleu foncé ou gris pour les fenêtres PICOLAY.

'Paramètres du diaporama' `Slide show parameters`

- vous permet de définir la durée d'affichage (en msec) de chacune des images d'un diaporama (et d'un gif animé), et si le diaporama recommence à partir de la première diapositive ou s'il revient en arrière, lorsque la fin de la liste est atteinte.

'Retournez la carte de profondeur' `Flip depth map`

- inversera les couleurs de la carte de profondeur de haut en bas à bas en haut. (Vous

obtiendrez des résultats similaires si vous utilisez 'Liste d'images | Ordre inverse des images' avant le processus d'empilage).

'Sauvegarder la carte de profondeur en gris bitmap' 'Save depth map as grey bitmap'  
- générera une carte de profondeur en échelle de gris qui pourrait être utilisée par d'autres programmes comme Stereophoto Maker.

'Mode anaglyphe' 'Anaglyph mode'

- permet de traiter les problèmes de couleur des images anaglyphes. Vous pouvez réduire de moitié l'intensité des couleurs ou appliquer l'algorithme de Dubois qui déplace les couleurs vers un motif plus confortable (mais pas réaliste).

---

### [==>] **Fenêtre principale : Aide**

Ce manuel est affiché sous 'Help| Manual'. Vous pouvez passer de la version allemande à la version anglaise ou française. Pour plus de conseils et d'exemples, consultez la 'Référence sommaire (HTML)' ou visitez [www.picolay.de](http://www.picolay.de).

- Veuillez prendre soin de télécharger la version la plus récente. La date de sortie de la version de PICOLAY que vous utilisez est affichée en haut de la fen<sup>e</sup>tre principale.

- je suis encore en train de développer le programme. Faites-moi part de vos commentaires, problèmes et suggestions.

---

### [==>] **Fenêtre de résultats**

La fenêtre de droite est utilisée pour afficher les résultats. On peut modifier la taille de la fenêtre et la résolution de l'image comme pour la fenêtre d'image à gauche.

'Flip view' basculement

En cliquant sur [Flip view=], on passe du résultat à la carte de profondeur.

'Edit'

La fonction 'Edit' permet de limiter la copie de l'image dans la fenêtre d'image ou dans le presse-papiers.

'Synopsis' vue d'ensemble

La fonction [Synopsis=]ON force la fenêtre de droite à prendre la même position et la même taille que la fenêtre d'image de gauche. Ceci est particulièrement utile si vous avez des images séparées pour l'œil gauche et l'œil droit et que vous souhaitez faire un zoom avant.

'3D view'

- La 'Vue 3D' ouvre une nouvelle fenêtre qui permet de régler les paramètres 3D.

---

### **[==>] Générer des images tridimensionnelles**

Comme décrit ci-dessus, les routines de zédification (basées sur la netteté et la couleur) génèrent des cartes de profondeur (du bleu au jaune, les pixels de fond étant en gris si on en fait la moyenne), indiquant la couche utilisée à chaque position. Les informations de profondeur de cette carte peuvent être utilisées pour produire diverses projections tridimensionnelles et de véritables images en 3D.

### **[==>] Introduction aux fonctions 3D**

Alors que les projections en 3D sont assez courantes et faciles à observer, les véritables images en 3D nécessitent la génération de deux images différentes pour l'œil droit et l'œil gauche, respectivement, et une technique spéciale pour l'observation. Cependant, elles donnent une impression complètement différente et fascinante !

Certaines personnes peuvent fixer avec des yeux parallèles (regard au loin) les deux images présentant l'objet à des angles légèrement différents (2 - 4°). Au bout d'un certain temps, vous verrez trois images, celle du milieu donnant l'effet 3D. D'autres personnes utilisent la vision croisée, c.à.d. regarder l'image de gauche avec l'œil droit et vice versa. Finalement, elles peuvent aussi voir trois images et celle du milieu en trois dimensions, mais les plans avant et arrière sont alors inversés.

Alors qu'il est difficile de regarder au loin (vision parallèle) avec des images plus larges que la distance entre nos yeux (environ 6,5 cm), la vision croisée permet de voir l'effet avec des images plus grandes. De nombreuses personnes sont incapables de voir l'effet 3D sur deux images adjacentes. Dans ce cas, les lunettes rouge-cyan (ou rouge-vert) et la superposition des différentes vues (méthode anaglyphe) est probablement la solution.

En se basant sur une seule série d'images prises à une perspective constante, PICOLAY génère des projections 3D à rotation libre qui peuvent donner une

impression spatiale naturelle (surtout si elles sont animées), ainsi que des images adaptées à la visualisation parallèle et croisée et des superpositions anaglyphes rouge-vert.

Une caractéristique particulière est la zédification par hologramme 'hologram stacking'- c.à.d. la visualisation des structures qui sont couvertes par les opérations d'empilement courantes : Si un objet a plus d'une couche avec des structures intéressantes, seule celle qui présente le contraste le plus élevé reste généralement visible. En utilisant des projections 3D avec un angle de vue variable, ce problème peut être surmonté grâce à PICOLAY.

---

### **[==>] Utilisation de PICOLAY pour la génération de vues en 3D**

Cliquer sur 'Générer des vues 3D - Generate 3D views' dans le menu principal ou sur [3D view] dans la fenêtre de résultat (après les opérations d'empilage) ouvre une nouvelle fenêtre qui permet de produire différents types d'images 3D : des paires d'images stéréo réelles pour une stéréoscopie par vision croisée ou parallèle, une superposition anaglyphe pour l'utilisation de lunettes rouge-vert, des fichiers MPO pour les télévisions 3D, des paysages 3D à rotation libre dérivés de la carte de profondeur, et ce qu'on appelle l'empilage d'hologrammes (hologram stacking). Les dimensions (largeur et hauteur) des images 3D seront les mêmes que celles des images originales. Toutefois, les projections laisseront un certain espace inutilisé. Celui-ci sera rempli par la couleur de fond que vous aurez sélectionnée dans le panneau correspondant.

### **[==>] Longueur de l'axe Z**

L'axe Z est défini par rapport à la hauteur de l'image (axe Y). Si la couche inférieure et la couche supérieure de votre pile Z ont une distance de 100 µm et que la hauteur de votre image est de 200 µm, la valeur correcte serait de 50 (%). Une valeur de 0 ne donnera aucun effet 3D. Une valeur trop élevée entraînera une séparation des couches de l'objet.

### **[==>] Agrandir les pixels (Enlarge pixel depth)**

L'agrandissement des pixels est utilisé pour remplir les fissures horizontales et verticales dans les images 3D. Des valeurs plus grandes pour la longueur de l'axe Z et l'angle de vision (panneau de droite) nécessitent des valeurs plus importantes et vice versa.

### **[==>] Projection basée sur la carte de profondeur (Projection based on depth map)**

Les routines suivantes généreront des projections 3D basées sur la carte de profondeur bidimensionnelle générée lors du processus d'empilage précédent. La qualité dépendra des paramètres que vous avez utilisés pour cela.

### **[==>] Empilage d'hologrammes (hologram stacking)**

Cela nécessitera une nouvelle lecture de toutes les images -> voir ci-dessous.

### **[==>] Images à générer (images to be generated)**

Définit le format des images 3D à générer. Si la vue 3D est désactivée, des images uniques seront produites qui pourront être tournées autour des 3 axes.

Les images produites sont nommées, par exemple, 'pyred-cyan\_x0\_y0\_z0.jpg' avec les chiffres après x, y et z indiquant les angles de rotation des trois axes.

### **[==>] Stéréo**

Si vous cochez 'Stereo', deux images avec des angles de vue légèrement différents (pour votre œil gauche et votre œil droit) seront générées. L'angle de vision est réglé sur la droite.

Les images produites peuvent être superposées comme images rouge-cyan. On peut également produire deux images séparées, les combiner en tant qu'image MPO ou jps, ou en tant que 2 ou 3 images combinées ou un panneau avec 4 images de taille réduite pour l'œil droit et l'œil gauche, respectivement gauche et droit combinés.

Cette dernière solution présente l'avantage de permettre de voir les effets 3D indépendamment de la question de savoir si quelqu'un regarde le panneau avec la vision croisée ou parallèles. Les images du haut donneront une impression convexe, celles du bas une impression concave - ou vice versa.

### **[==>] Relief**

La fonction de relief ajoute de la lumière (pixels brillants provenant du coin supérieur gauche) et des ombres à la projection. Cela peut être utile si un affichage stéréo n'est pas possible. L'ombrage est basé sur la carte de profondeur, qui peut être superposée à la structure (en noir et blanc). La densité des points et l'intensité des ombres sont ajustées dans une fenêtre séparée.

### **[==>] Angle de vue Viewing angle**

Notre angle de vue en 3D est plus grand lorsque nous sommes assis près d'un écran

que dans une salle de conférence. Par conséquent, une valeur de 3° peut être bonne pour un moniteur de télévision, tandis que pour un public plus large, la valeur devrait être réduite à 1,5 ou 2°.

### **[==>] Distance**

PICOLAY place la couche intermédiaire d'une pile d'images au niveau de la surface de l'écran. Des structures plus proches apparaissent en avant de la surface de l'écran. Pour éviter que celles-ci ne touchent cette surface (violation de l'image 3D), il faut augmenter la valeur de la distance, ce qui déplace l'objet vers l'arrière.

### **[==>] Images d'anaglyphes**

Les anaglyphes sont des images montrant un effet 3D en utilisant différents filtres de couleur pour l'œil gauche et l'œil droit. Ceux-ci peuvent provoquer des écarts de couleur, en particulier si des couleurs similaires à celles des filtres sont présentes dans l'objet. Pour remédier à ce problème, on peut essayer trois jeux de filtres différents [Full colour, Half colour et Optimised (Dubois)], que l'on peut sélectionner sous Options.

### **[==>] Empilage d'hologrammes (basé sur la netteté)** (sharpness-based hologram stacking)

L'empilement des hologrammes nécessite une valeur seuil pour s'assurer que seuls les pixels les plus nets restent visibles tandis que les autres sont supprimés. Souvent, le contraste minimum doit être fixé à une valeur supérieure à celle utilisée pour l'empilement normal basé sur la netteté. Vous devez également définir une taille de filtre (le filtre 'sharp' n'est pas utilisable ici). Pour rendre toutes les couches visibles dans une série d'images résultantes, il faut utiliser la 'rotation par paliers' - 'stepwise rotation'.

### **[==>] Empilage d'hologrammes (basé sur la couleur)** (colour-based hologram stacking)

Pour l'empilement d'hologrammes basé sur la couleur, la couleur cible et la tolérance doivent être définies. Pour définir la couleur, cliquez avec le bouton droit de la souris sur l'image originale ou utilisez la fonction de définition des couleurs dans la fenêtre d'empilement des couleurs.

Si vous sélectionnez le noir ou le blanc comme couleur cible, une grande tolérance peut être nécessaire. Là encore, vous pouvez également produire des paires d'images pour une visualisation stéréo ou des images superposées rouge-cyan.

---

### **[==>] Fond (background)**

Comme fond utilisé pour les pixels en dessous du contraste minimum, on peut utiliser soit la moyenne de toutes les images, soit une couleur sélectionnée. Après avoir cliqué sur 'Colour', vous pouvez définir cette couleur soit par un clic droit sur une image originale, soit en cliquant sur la barre de couleur. Une couleur de fond fixe est utile si vous souhaitez faire pivoter le spécimen dans l'espace.

---

### **[==>] Remerciements**

Eberhard Raap a apporté de nombreuses améliorations au programme provenant de critiques constructives et suggestions utiles de la part des utilisateurs. Je remercie Jöran März, Wolfgang Ebenhöf et Cora Kohlmeier pour leur soutien mathématique, Stefan Layer pour plusieurs bonnes suggestions, et Wolfgang Franke pour son aide précieuse dans le déchiffrement du format MPO. Bernard Jenni a suggéré de nombreuses améliorations du manuel et a produit sa version française - un grand merci !

Heribert Cypionka

Institut für Chemie und Biologie des Meeres

Universität Oldenburg, Allemagne

[==>] courriel : [heribert.cypionka\[at\]uni-oldenburg.de](mailto:heribert.cypionka@uni-oldenburg.de)

[==>] Internet : [www.picolay.de](http://www.picolay.de) and [www.microbial-world.com](http://www.microbial-world.com)

---