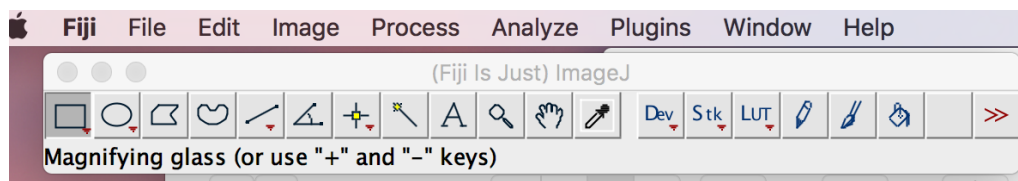


I. Contando Organismos Creciendo en un Disco Usando ImageJ (Manual)

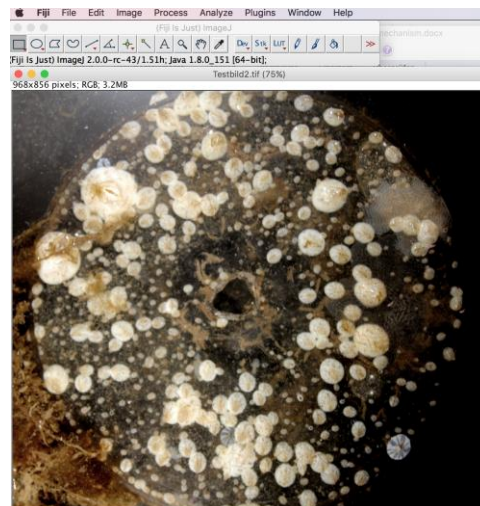
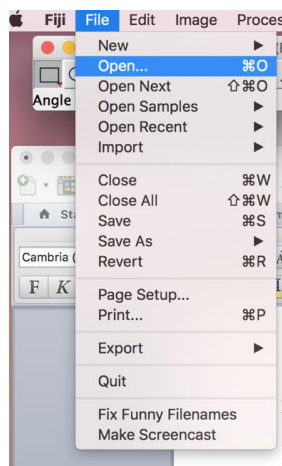
Sally Soria-Dengg, GEOMAR Helmholtz Centro de Investigación Oceánica Kiel
Düsternbrookerweg 20 24105 Kiel, Alemania

1. Descargue la versión de Fiji ImageJ que sea compatible con el sistema operativo de su ordenador en esta web: <https://imagej.net/Fiji/Downloads>
2. Abra el Programa Fiji y verá esta barra de selección de herramientas bajo la barra del menú.

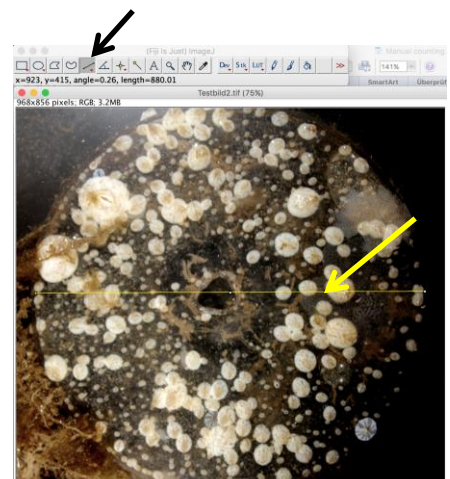


3. Abra la imagen clicando en **File - Open**. Alternativamente, también puede abrir una imagen en ImageJ arrastrando el archivo directamente a la barra de selección de herramientas.

Como ejemplo, tenemos una imagen de un disco cubierto por percebes, que están distribuidos irregularmente. Queremos contar los percebes individuales en el disco.

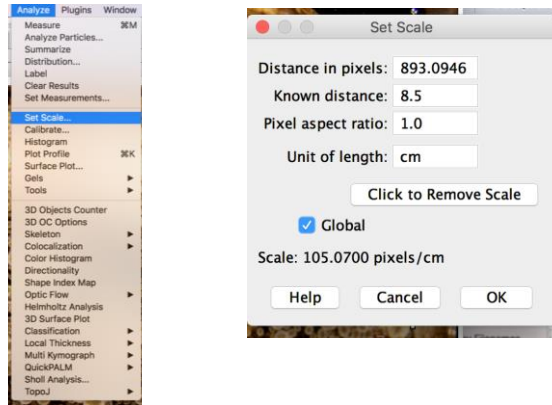


4. Primero, establezca la escala. Clique en **“Straight”** en la barra de selección de herramientas (flecha negra) y dibuje una línea recta en una escala de referencia en su imagen. Esto podría ser una regla o una moneda puesta al lado del disco en la foto. En este ejemplo, se ha dibujado una línea recta (flecha amarilla) a través del



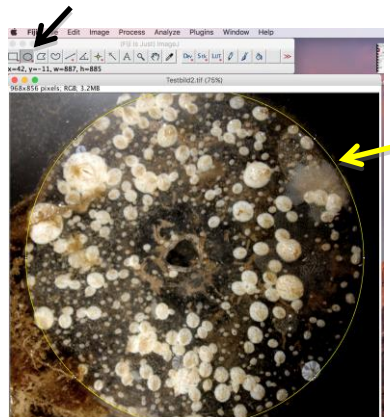
diámetro del disco porque tiene una distancia conocida igual a 8.5 cm.

5. Clique en **Analyze – Set Scale** en la barra del menú. Aparecerá una pequeña ventana. Rellénela con la información apropiada.



Para nuestro ejemplo, la distancia conocida es 8.5 y la unidad de longitud es cm. Clique en **Global** si varias imágenes de los discos serán analizadas y todos los discos son del mismo tamaño y aumento. El **Global** usará la misma escala para todas las imágenes y no hay necesidad de establecer la escala en las imágenes siguientes. Clique **OK**.

6. Prepare la imagen para el análisis. Para hacer esto, clique en el “Oval” en la barra de selección de herramientas (flecha negra). Después dibuje un círculo alrededor del perímetro de su disco (flecha amarilla).



7. Elimine todo el fondo innecesario en la imagen clicando en **Image – Crop**.

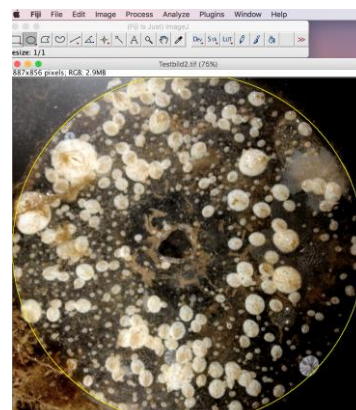
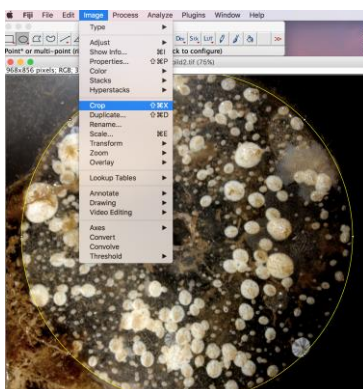
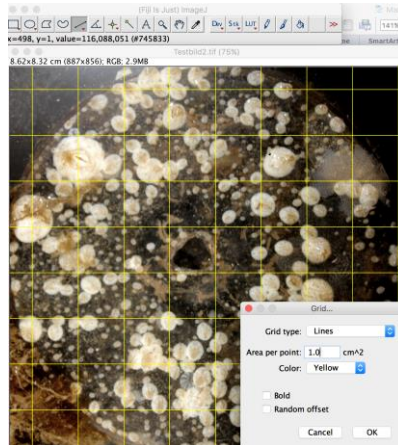
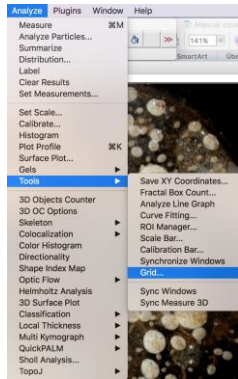
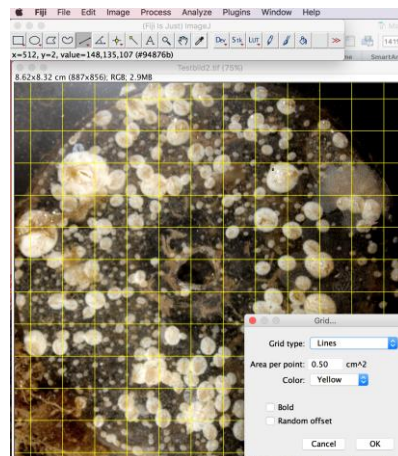


Imagen recortada

8. Dibuje una cuadrícula en su disco y establezca la escala de dicha cuadrícula. **Analyze – Tools – Grid.**



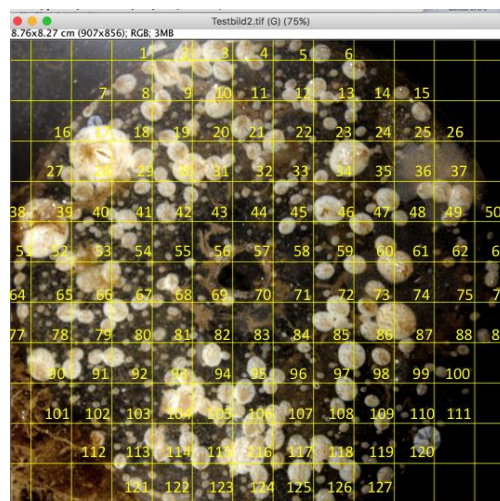
Cubra la imagen con una cuadrícula escogiendo “**Lines**”. Ajuste el tamaño de los cuadrados metiendo los valores correctos en la ventanilla. Aquí hay dos ejemplos de distintas escalas en las cuadrículas. El diagrama de arriba tiene una escala de 1.0 cm² y la de abajo una de 0.5 cm².



El tamaño de los cuadrados dependerá del tamaño y distribución de los organismos en el disco. Si los organismos son grandes y la distribución es más irregular, los cuadrados también serán más grandes.

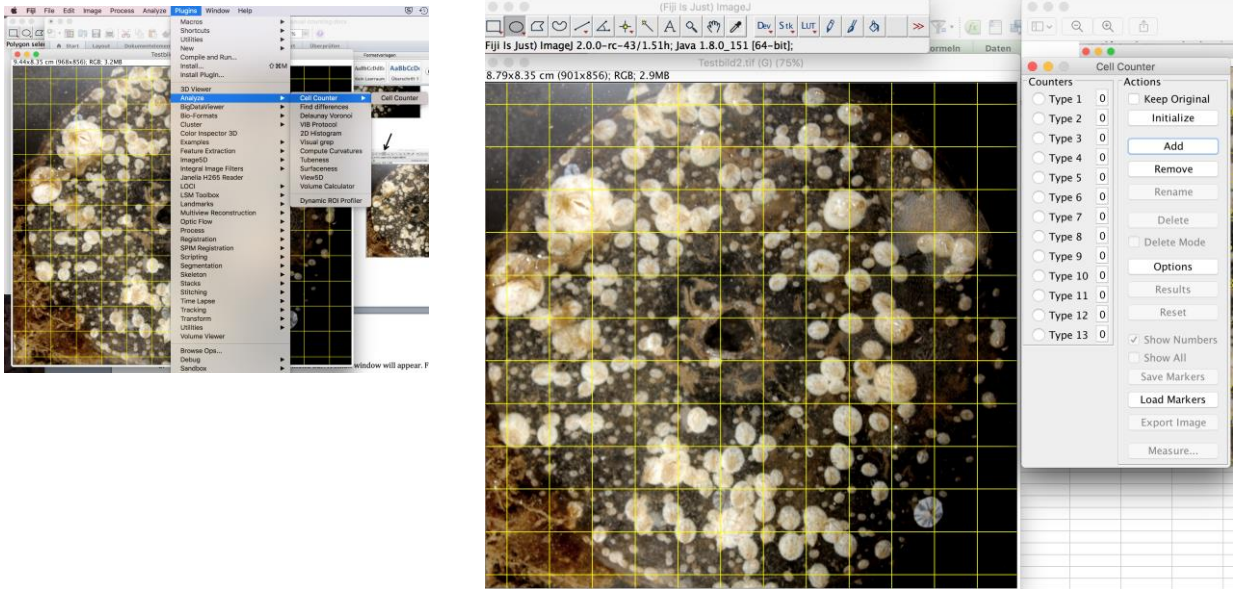
Para nuestro ejemplo usaremos la escala más fina ya que hay también pequeños percebes en el disco.

9. Asigne números a los cuadrados de izquierda a derecha empezando desde el cuadrado superior izquierdo. Al final de cada fila empiece otra vez en el lado izquierdo para hacer la siguiente fila. (Esto debería hacerse en una imagen diferente y no en ImageJ). En nuestro ejemplo tenemos 127 cuadrados en la cuadrícula, y cada cuadrado mide 0.5 cm².



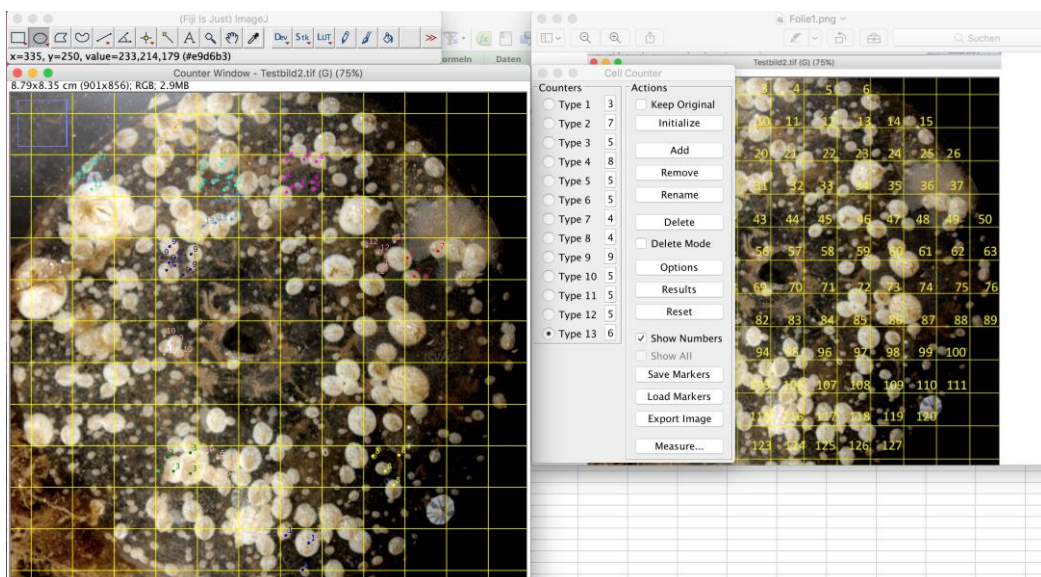
10. Determine cuáles y cuántos cuadrados deben contarse mediante un muestreo aleatorio. (Mire el tutorial en “Determining Sample Size”). Cuente al menos 10% del número total de cuadrados. En nuestro ejemplo deberíamos contar al menos 13 cuadrados.

11. Clique en **Plugins – Cell Counter – Cell Counter**. Se mostrará una ventana contadora de células.



Clique **Add** para establecer el número de contadores que necesitará. Necesitará un contador para cada cuadrado que va a contar. (Ejemplo: Cilque **Add** hasta que tenga 13 Tipos).

12. Antes de empezar a contar clique **Initialize**. Clique en **Type 1** y empiece contando el primer cuadrado aleatorio clicando en los organismos. Cada clic será contado como un organismo y el número de los tipos de contador marcará cada organismo contado.



Después de acabar el primer cuadrado, clique en Type 2 y proceda como anteriormente. Cada tipo de contador asigna números de colores diferentes a cada cuadrado contado. Cuente hasta que haya contado un número representativo de cuadrados.

13. Sume los números contados de tipo para obtener el total de todos los cuadrados contados. (Determine si ha contado suficientes cuadrados para representar a su disco. Contar de más es mejor que contar muy pocos). En nuestro ejemplo, el total es de 71 percebes.
14. Calcule el área total de los cuadrados que ha contado. En nuestro ejemplo hemos contado 13 cuadrados cada uno con un área de 0.5 cm^2 . Así que hemos contado un área de 6.5 cm^2 . Nuestro disco tiene un área total de 56.74 cm^2 .

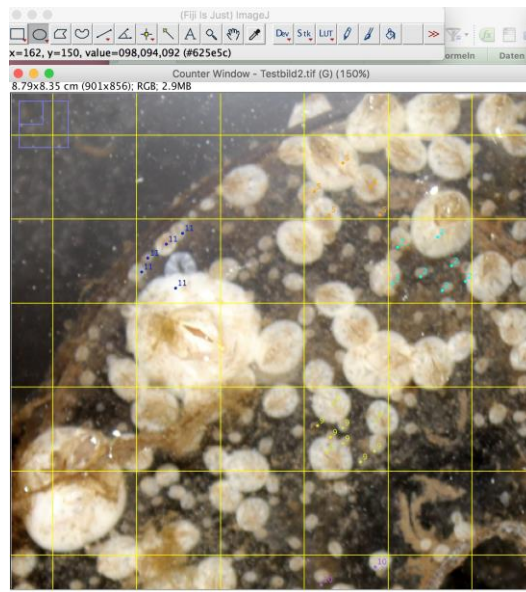
Para calcular el número total de percebes en el disco:

$$(71 \text{ organismos} / 6.5 \text{ cm}^2) \times 56.74 \text{ cm}^2 = 620 \text{ organismos}$$

15. Repita el procedimiento si quiere contar diferentes especies.

Soluciones a problemas:

1. Si los organismos en el disco son muy pequeños puede incrementar el tamaño del cuadro apretando “+” en su teclado. El tamaño de la cuadrícula se mantendrá. Para volver al tamaño original apriete “-”.



2. Si ha contado el cuadrado erróneo, clique en el “erróneo” tipo de contador y clique “Delete” hasta que todos los puntos no deseados se hayan borrado. Si ha añadido demasiados tipos de contador, clique “Remove” para borrar el exceso.
3. Los organismos que se encuentran encima de las líneas de la cuadrícula pueden ser “contados” o “no contados”. Sólo sé **consistente** para todos los cuadrados y especies.

