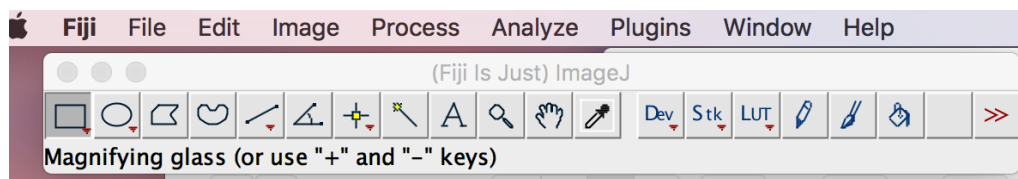


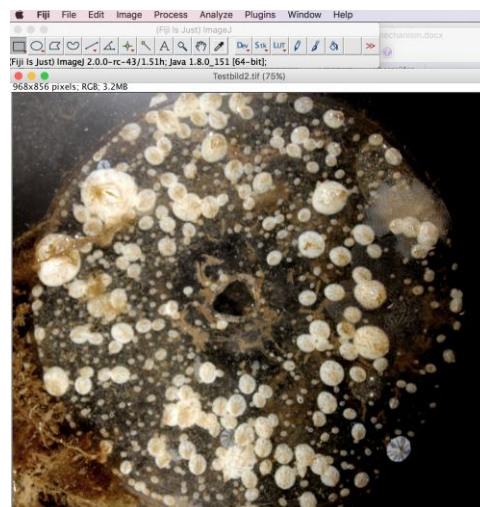
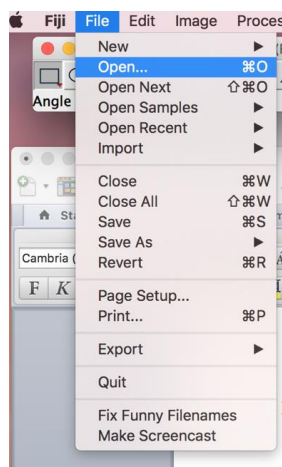
## I. Comptant Organismes Creixent en un Disc Utilitzant ImageJ (Manual)

Sally Soria-Dengg, GEOMAR Helmholtz Centre d'Investigació Oceànica Kiel  
Düsternbrookerweg 20 24105 Kiel, Alemanya

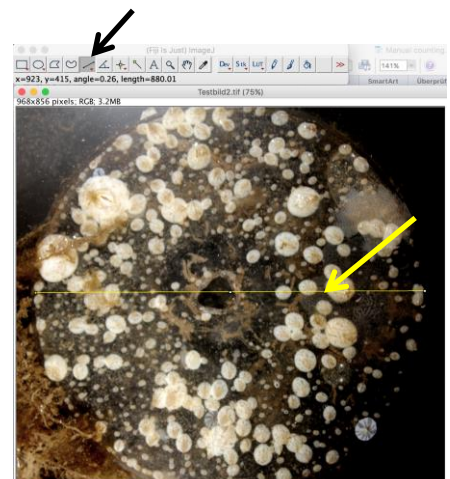
1. Descarregui la versió de *Fiji ImageJ* que sigui compatible amb el sistema operador del seu ordinador des de aquesta web: <https://imagej.net/Fiji/Downloads>
2. Obri el programa *Fiji* i veurà aquesta barra de selecció d'eines sota la barra de menú.



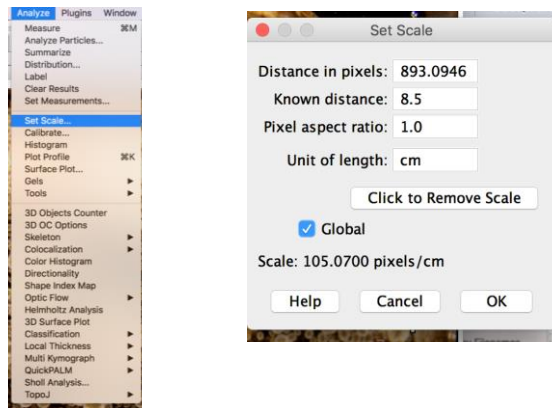
3. Obri la imatge clicant en **File – Open**. Alternativament, també pot obrir una imatge en *ImageJ* arrastrant l'arxiu directament a la barra de selecció d'eines. Com exemple, tenim una imatge d'un disc cobert per peus de cabra, que estan distribuïts irregularment. Volem comptar els peus de cabra individuals en el disc.



4. Primer, estableixi la escala. Cliqui en **“Straight”** en la barra de selecció d'eines (fletxa negra) i dibuixi una línia recta en una escala de referència en la seva imatge. Això podria ser un regle o una moneda posats al costat del disc en la foto. En aquest exemple, es dibuixa una línia recta (fletxa groga) a través del diàmetre del disc perquè té una distància coneguda igual a 8.5 cm.

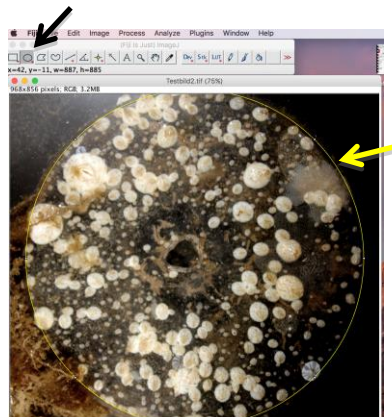


5. Cliqui en **Analyze – Set Scale** en la barra del menú. Apareixerà una finestra petita. Ompliu-la amb la informació apropiada.



En el nostre exemple, la distància coneguda és 8.5 i la unitat de longitud és cm. Utilitzí **Global** si diverses de les imatges dels discs seran analitzades i tots els discs són de la mateixa mida i augment. **Global** utilitzarà la mateixa escala per a totes les imatges i no hi ha necessitat d' establir la escala en les següents. Cliqui **OK**.

6. Prepara la imatge per l'anàlisi. Per fer això, cliqui en "**Oval**" en la barra de selecció d'eines (fletxa negra). Després dibuixi un cercle al voltant del perímetre del seu disc (fletxa groga).

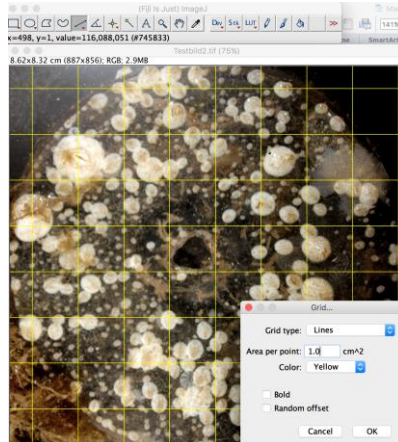
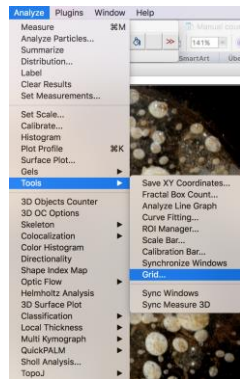


7. Elimini tot el fons innecessari en la imatge clicant en **Image – Crop**.

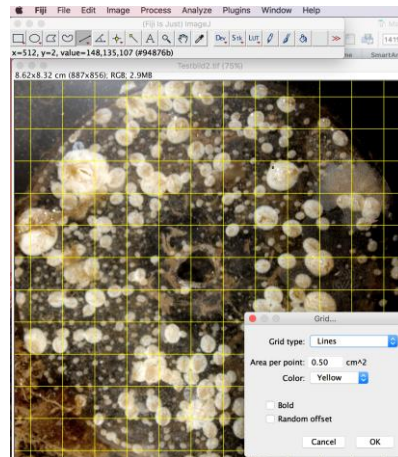


Imatge tallada

8. Dibuixi una quadrícula en el seu disc i estableixi la escala d'aquesta quadrícula.  
**Analyze – Tools – Grid.**



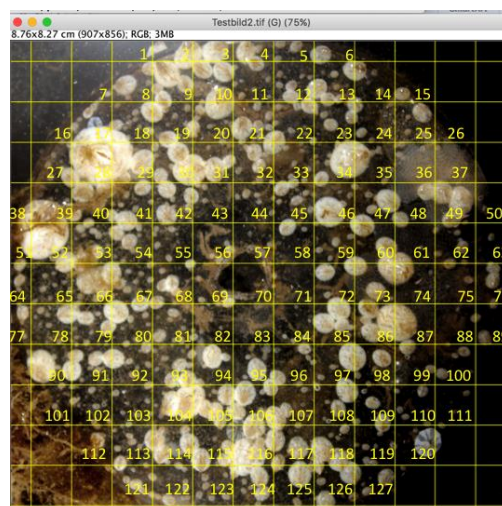
Cobreixi la imatge amb una quadrícula escollint “**Lines**”. Ajusti la mida dels quadrats ficant els valors correctes en la finestreta. Aquí hi ha dos exemples de diferents escales en les quadrícules. El diagrama de dalt té una escala de  $1.0 \text{ cm}^2$  i la de baix una de  $0.5 \text{ cm}^2$ .



La mida dels quadrats dependrà de la mida i distribució dels organismes en el disc. Si els organismes són grans i la distribució és més irregular, els quadrats també seran més grans.

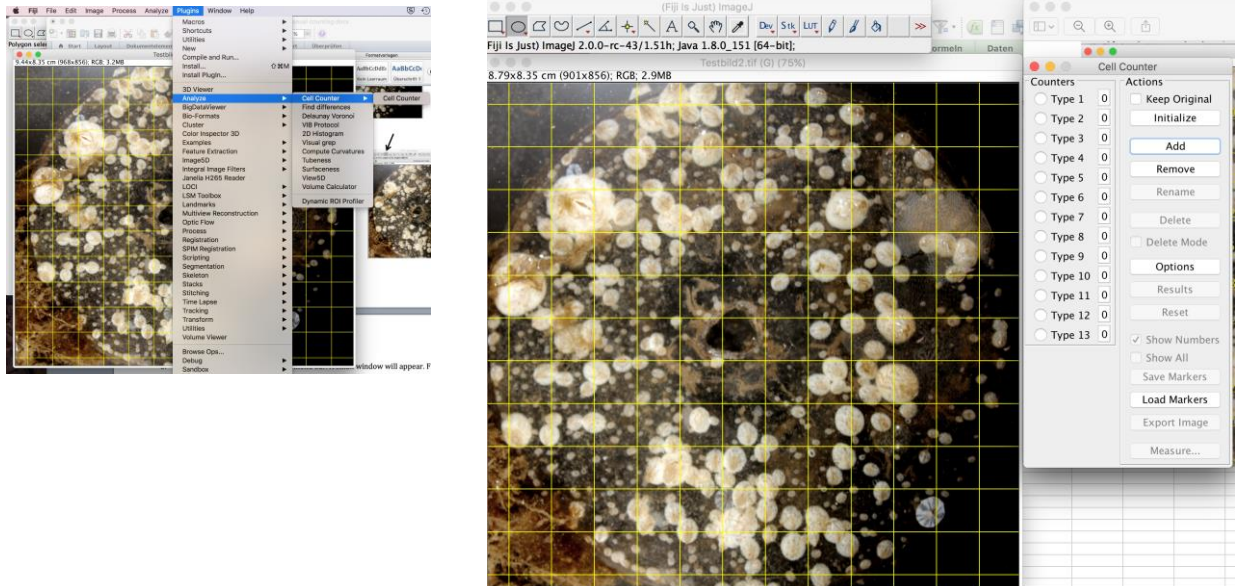
Pel nostre exemple utilitzarem la escala més fina ja que hi ha també petits peus de cabra en el disc.

9. Assigni números als quadrats d'esquerra a dreta començant des del quadrat superior esquerre. Al final de cada fila comenci un altre cop en el costat esquerre per fer la següent fila. (Això s'hauria de fer en una imatge diferent i no en ImageJ). En el nostre exemple tenim 127 quadrats en la quadrícula, i cada quadrat mesura  $0.5 \text{ cm}^2$ .



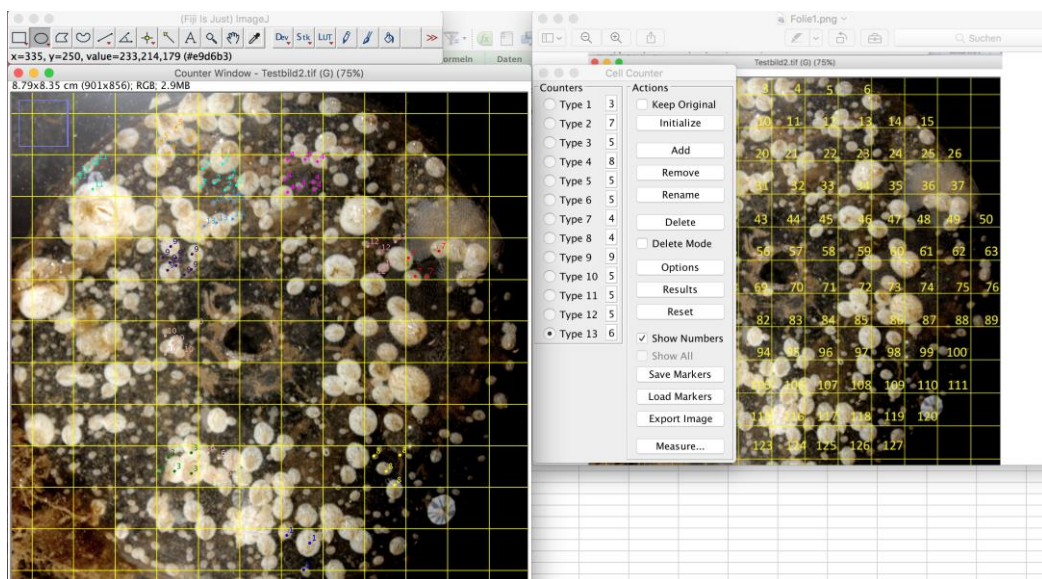
10. Determini quins i quants quadrats han de ser comptats mitjançant un mostreig aleatori. (Miri el tutorial en “Determining Sample Size”). Compti al menys 10% del número total de quadrats. En el nostre exemple hauríem de comptar al menys 13 quadrats.

11. Cliqui en **Plugins – Cell Counter – Cell Counter**. Es mostrarà una finestra comptadora de cèl·lules.



Cliqui **Add** per establir el número de comptadors que necessitarà. Necessitarà un comptador per cada quadrat que va a comptar. (Exemple: Cliqui **Add** fins que tingui 13 Tipus).

12. Abans de començar a comptar cliqui **Initialize**. Cliqui en **Type 1** i comenci comptant el primer quadrat aleatori clicant en els organismes. Cada clic serà comptat com un organisme i el número dels tipus de comptador marcarà cada organisme comptat.



Després d'acabar el primer quadrat, cliqui en Type 2 i procedeixi com anteriorment. Cada tipus de comptador assigna números de colors diferents a cada quadrat comptat. Compti fins que hagi comptat un número representatiu de quadrats.

- Sumi els números comptats dels diferents tipus per obtenir el total de tots els quadrats comptats. (Determini si ha comptat suficients quadrats per representar al seu disc. Comptar de més és millor que comptar molt pocs). En el nostre exemple, el total és de 71 peus de cabra.
- Calculi l'àrea total dels quadrats que ha comptat. En el nostre exemple hem comptat 13 quadrats cadascun amb una àrea de  $0.5 \text{ cm}^2$ . Així que hem comptat una àrea de  $6.5 \text{ cm}^2$ . El nostre disc té una àrea total de  $56.74 \text{ cm}^2$ .

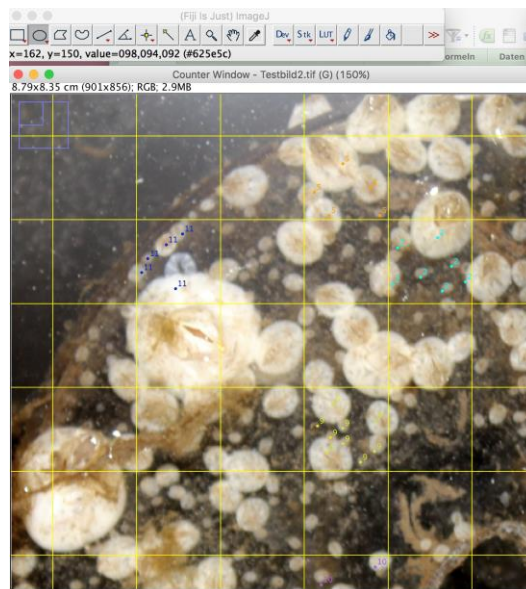
Per a calcular el número total de peus de cabra en el disc:

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

- Repeteixi el procediment si vol comptar diferents espècies.

### Solucions a problemes:

- Si els organismes en el disc són molt petits pot incrementar la mida del quadrat clicant "+" en el seu teclat. La mida de la quadrícula es mantindrà. Per tornar a la mida original cliqui "-".



- Si ha comptat el quadrat erroni, cliqui en l'"erroni" tipus de comptador i cliqui "**Delete**" fins que tots els punts no desitjats s'hagin esborrat. Si ha afegit masses tipus de comptador, cliqui "**Remove**" per esborrar l'excés.
- Els organismes que es trobin a sobre de les línees de la quadrícula poden ser "comptats" o "no comptats". Sigui **consistent** per tots els quadrats i espècies.

