

Parte A: **Nociones de imagen digital.**

1.- En la computadora, abra el programa FIJI¹, genere una nueva imagen (**File > New > Image**)
En la ventana emergente, cree la nueva imagen con los siguientes parámetros:
Name: Prueba.txt
type: 8bit
Fill with Black
10 pixel width
15 pixel height
Slices = 1

Seleccione la herramienta lápiz y realice un dibujo sobre la imagen.

Si no observa el dibujo, cambie el color del lápiz a blanco (**Edit > Option > Color**) y cambie el color a blanco (Foreground to white).

Luego guarde el archivo como imagen de texto (**File > Save as > Text image**).

Abra en el explorador del sistema operativo el archivo .txt.

¹ Schindelin, J.; Arganda-Carreras, I. & Frise, E. et al. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis, *Nature methods* 9: 676-682. Sitio web: <https://fiji.sc/>

1. ¿Qué representan los números en el archivo generado luego de este procedimiento?

2. Seleccione la imagen "Rat_Hippocampal_Neuron.tif" (**File > Open Sample > Neuron**). ¿Qué tipo de microscopía fue utilizado para obtener esta imagen?

3. Determine tamaño de la imagen (en píxeles) y tamaño del pixel (en micrómetros, **Image > Show info...**)

4. Despliegue el histograma (**Analyze > Histogram**) para el canal 1 (C1) e indique los valores mínimo y máximo de los píxeles de la imagen.

5. Modifique la LUT de C1 (**Image > Lookup Tables**). Al cambiar la LUT, ¿se modifica la información de la imagen? Justifique brevemente.

6. Abra la imagen "Fly Brain.tiff" (**File > Open Sample > Fly Brain**). ¿Con qué tipo de microscopía fue obtenida esta imagen?

7. Desplace la barra inferior de cada canal para moverse a través de las diferentes imágenes que componen el eje Z de la muestra. ¿Por qué el canal "blue" solo muestra una imagen en negro?

8. Vuelva a unir los canales "red" y "green". (**Image > Color > Merge Channels > Ok**). Genere una imagen en 3 dimensiones con la imagen resultante (**Image > Stacks > 3D Project > Ok**). Mencione una posible utilidad a esta herramienta.

Parte B: **Medición digital y barras de calibración.**

1. Se utilizarán una serie de micrografías correspondientes a catáfilas de cebolla y eritrocitos de rana tomadas a diferentes aumentos (las imágenes se encuentran en la carpeta micrografías para micrometría en EVA). Utilizando las imágenes de reglillas objetivas tomadas con la misma magnificación, calibre el software FIJI, siguiendo los pasos de la guía del estudiante.

a) Elija 5 células por imagen para realizar medidas de largo celular (en micrómetros) y complete las siguientes tablas:

Eritrocitos de rana:

Aumento:	Célula 1	Célula 2	Célula 3	Célula 4	Célula 5
100x					
200x					
400x					

Catáfila de cebolla:

Aumento:	Célula 1	Célula 2	Célula 3	Célula 4	Célula 5
100x					
200x					
400x					

b) Calcule el promedio y el desvío estándar para cada caso y llene las siguientes tablas:

Eritrocitos de rana:

Aumento:	Promedio	Desvío estándar
100x		
200x		
400x		

Catáfila de cebolla:

Aumento:	Promedio	Desvío estándar
100x		
200x		
400x		

2. ¿Por qué es necesario calibrar para cada aumento las imágenes con la reglilla objetiva?

3. Observando las imágenes utilizadas, ¿qué aumento total elegiría para medir el largo celular? ¿y el diámetro nuclear?

4. ¿Es suficiente medir sólo un largo celular o diámetro nuclear si se pretende conocer cuánto miden las células y los núcleos que forman parte de este epitelio? Justifique.

