

Einführung in die Analyse von Bewuchsplatten mit ImageJ

Sally Soria-Dengg, GEOMAR Helmholtz-Zentrum für Ozeanforschung Kiel
Düsternbrookerweg 20, 24105 Kiel, Deutschland

Als Einführung in die Anwendung verschiedener Bildverarbeitungstechniken im Zusammenhang mit der Analyse von VIRTUE-Platten wird eine Reihe von Tutorials vorgestellt. Sie basieren alle auf dem frei verfügbaren Bildverarbeitungsprogramm ImageJ, das in der Biologie, Medizin und Nanotechnologie breite Anwendung gefunden hat.

ImageJ kann in seiner 'Fiji'-Distribution für Windows, MacOS oder Linux heruntergeladen werden von

<https://imagej.net/Fiji/Downloads>

Fiji ist ein Open-Source-Programm und wird mit einer eigenen Java-Laufzeitumgebung (JRE) und einer Reihe von vorinstallierten Plugins geliefert, was die Installation erleichtert.

Die hier beschriebenen Methoden I-IV erfordern Farbfotos der gesamten Bewuchsplatte, und bei den Methoden V und VI werden Mikroskopaufnahmen von Teilen einer Platte analysiert. Für die einzelnen Tutorials werden Übungsbilder geliefert.

Die folgenden sechs Methoden können verwendet werden, um Fotos von Platten unterschiedlicher Bewuchsdichte zu analysieren. Die Entscheidung, welche Methode verwendet wird, hängt von mehreren Faktoren ab:

1. Bewuchsdichte: Ist die Platte mit Organismen überwachsen, oder ist der Bewuchs spärlich?
2. Vertretene Arten: Welche Art dominiert? Wie groß sind die Individuen?
3. Verteilung der Arten: Sind die Organismen gleichmäßig verteilt oder treten sie nur stellenweise auf?
4. Hypothesen prüfen: Welche Methode ist am besten geeignet, um die Fragen des Experiments zu beantworten?
5. Verfügbare Zeit: Wie viel Zeit steht für die Analyse der Platten zur Verfügung?
6. Alter der Schülerinnen und Schüler.

Nachfolgend finden Sie eine kurze tabellarische Beschreibung der Methoden als Leitfaden für Lehrkräfte und Jugendliche bei der Entscheidung, welche der Methoden für ihre Projekte am besten geeignet ist:

Die meisten Tutorials sollen im "Stand-Alone"-Modus funktionieren, damit der Leser nicht zwischen Dokumenten hin- und herspringen muss. Folglich wird es einige Wiederholungen und Redundanzen unter ihnen geben.

Bei der Anwendung dieser Methoden sind mehrere Punkte zu beachten:

1. Die Bilder müssen von **guter Qualität** sein.
2. Ziehen Sie in Betracht, Fotos von der **Ober- und Unterseite der Platten** zu machen.

3. Bei der Aufnahme der Fotos **sollten die Platten in Wasser eingetaucht sein** (in einem Becken).
4. Versuchen Sie, so viel **Lichtreflexion** wie möglich zu **vermeiden**. Dies kann durch diffuse oder indirekte Beleuchtung erreicht werden.
5. **Farbfotos** sind für diese Analysemethode besser geeignet.
6. Achten Sie darauf, dass Sie eine **Referenzskala** haben. Platzieren Sie ein Lineal oder ein anderes Objekt mit bekannten Abmessungen neben der Platte, wenn Sie die Bilder aufnehmen. Der Durchmesser der Platte kann auch als Referenzskala verwendet werden.
7. Bevor Sie die Analysen durchführen, betrachten Sie die Platten so weit wie möglich unter dem Binokular oder dem Mikroskop, um die darauf wachsenden Organismen zu identifizieren.
8. Alle diese Methoden sind nicht eindeutig und niemals 100% präzise! Verwenden Sie sie mit dem richtigen Urteilsvermögen!

I. Zählen der Organismen auf einer Platte mit ImageJ (manuell)

Charakteristik		Anmerkungen
Bewuchs auf der Platte:	dünn bis dicht	Kann für alle Arten von Bewuchs verwendet werden; schwieriger für Algen
Schwierigkeitsgrad:	mittel bis schwer	
Verteilung der Arten:	ungleichmäßig bis gleich verteilt	
Zeitaufwand für die Analyse einer Platte:	20 – 30 Minuten	Die für die Analyse benötigte Zeit hängt von der Bewuchsdichte ab
geeignet für Altersstufen:	ab 15 Jahren	
benötigte Fertigkeiten:	Geduld ☺	
Weitere:		Kenntnisse von Tabellenkalkulation (z.B. Excel) können hilfreich sein; diese Methode kann auf alle Arten von Bewuchs angewendet werden; kann für mit dem Mikroskop erstellte Fotos benutzt werden

II. Zählen der Organismen auf einer Platte mit ImageJ (automatisch)

Charakteristik		Anmerkungen
Bewuchs auf der Platte:	dünn bis mäßig dicht	am besten geeignet für Fotos mit gutem Kontrast; kann nicht zum Zählen von Algen verwendet werden
Schwierigkeitsgrad:	leicht bis mittel	
Verteilung der Arten:	ungleichmäßig bis gleich verteilt	Am besten geeignet für runde Organismen wie Seepocken
Zeitaufwand für die Analyse einer Platte:	10 – 15 Minuten	die für die Analyse benötigte Zeit ist nicht von der Bewuchsdichte abhängig
geeignet für Altersstufen:	ab 14 Jahren	
benötigte Fertigkeiten:	Neugier und Bereitschaft, etwas Neues auszuprobieren ☺	
Weitere:		für mit dem Mikroskop erstellte Fotos nur bedingt geeignet.

III. Messung des prozentualen Bewuchses auf der Platte mit ImageJ (manuell)

Charakteristik		Anmerkungen
Bewuchs auf der Platte:	dünn bis dicht	am besten geeignet für Algenkolonien und andere koloniebildende Arten
Schwierigkeitsgrad:	leicht	
Verteilung der Arten:	ungleichmäßig	
Zeitaufwand für die Analyse einer Platte:	10 – 15 Minuten	
geeignet für Altersstufen:	ab 13 Jahren	
benötigte Fertigkeiten:	Mathe-Grundkenntnisse ☺	
Weitere:		Diese Methode erfordert keine genaue Bestimmung der Arten; ein Foto der gesamten Platte ist erforderlich

IV. Messung des prozentualen Bewuchses auf der Platte mit ImageJ (automatisch)

Charakteristik		Anmerkungen
Bewuchs auf der Platte:	dünn bis dicht	am besten geeignet für Algenkolonien und koloniebildendes Zoobenthos
Schwierigkeitsgrad:	leicht	
Verteilung der Arten:	ungleichmäßig	
Zeitaufwand für die Analyse einer Platte:	5 - 10 Minuten	
geeignet für Altersstufen:	ab 13 Jahren	
benötigte Fertigkeiten:	Mathe-Grundkenntnisse 😊	
Weitere:		Diese Methode erfordert keine genaue Bestimmung der Arten; ein Foto der gesamten Platte ist erforderlich

V. Gleichzeitige Analyse mehrerer Platten mit ImageJ

Charakteristik		Anmerkungen
Bewuchs auf der Platte:	dünn	am besten geeignet für Mikroalgenkolonien (Kieselalgen) und frühe Stadien des Bewuchses; geeignet für die Analyse von Biofilmen
Schwierigkeitsgrad:	leicht	
Verteilung der Arten:	ungleichmäßig	
Zeitaufwand für die Analyse einer Platte:	5 - 10 Minuten	
geeignet für Altersstufen:	ab 13 Jahren	
benötigte Fertigkeiten:	Mathe-Grundkenntnisse 😊	
Weitere:		Dieses Verfahren ist für eine Reihe von Mikroskopaufnahmen, die mit derselben Vergrößerung erstellt wurden

VI. Zählen von Organismen auf einer Platte mit ImageJ (manuell) Mikroskopaufnahmen

Charakteristik		Anmerkungen
Bewuchs auf der Platte:	sehr dicht	Das Verfahren ist gut geeignet für überwachsene Platten
Schwierigkeitsgrad:	leicht	
Verteilung der Arten:	ungleichmäßig bis gleichmäßig	
Zeitaufwand für die Analyse einer Platte:	20 Minuten	Analyse eines einzelnen Bildes braucht 1-2 Minuten
geeignet für Altersstufen:	ab 13 Jahren	
benötigte Fertigkeiten:	Mathe-Grundkenntnisse ☺	
Weitere:		Dieses Verfahren ist für eine Reihe von Mikroskopaufnahmen, die mit derselben Vergrößerung erstellt wurden

