La técnica fotográfica de macro extremo aplicada a la observación sobre plantas de olivo

Textos: D. Marcos
Fotografia: A. Febrero

Introducción

Dentro del universo de la tecnología, uno de los apartados en el que cada día escuchamos un nuevo adelanto es en la fotografía. Desde el nacimiento de la fotografía electrónica, la espiral de avances desencadenados tanto en los aparatos en sí como especialmente en los softwares aplicados han venido siendo vertiginosos. Dentro de la misma y en el apartado de las fotos macro, el avance que presenta el novedoso sistema bautizado como `macro extremo´ puede revolucionar la forma en que observábamos algunos detalles hasta hace poco tiempo reservados a la microscopía electrónica, que sin llegar a superarla por supuesto en cuanto a alcanzar lo más pequeño, sí nos permitirá de una forma más accesible en cuanto a manejo y coste obtener instantáneas de elementos del orden micrométrico y ante todo con una avance notable: disfrutando de imágenes que mantienen su color original, algo que la microscopía electrónica no conseguía al no trabajar con luz, sino con electrones.

Esta novedosa técnica de macro extremo se está abriendo con mucha fuerza en la fotografía de elementos de la naturaleza, (por ejemplo y de manera especial en insectos) y necesita para su realización de diversos utensilios sofisticados, como son una buena cámara réflex dotada de tubos de extensión y de lentes muy modernas similares a las utilizadas en microscopía, además de una estructura de sobremesa aparentemente aparatosa sobre la que se sustenta la cámara y que permite desplazamientos del objetivo del orden milimétrico, y por último un software específico de apilado de imágenes, que básicamente lo que hace es superponer las imágenes rescatando de cada una de ellas el área limitada que ha quedado perfectamente enfocada en cada toma. La escasa profundidad de campo de cada fotograma hace que sean necesarias un número que puede llegar a 100 para obtener un resultado final de enfoque perfecto sobre el elemento en su totalidad. El manejo del flash necesita también de unos conocimientos expertos, luego en definitiva hablamos de una técnica reservada a pacientes profesionales, pero eso sí, sobre una inversión asequible si la comparamos con cualquier aparato de microscopía electrónica. A fecha de publicación de este artículo, se estima que en España dominan esta técnica menos de una docena de profesionales. Y sus resultados, verdaderamente asombrosos.

Izqda. resultado de microscopía electrónica. Dcha. resultado de macro extremo. Diferencias notables.

Provedo ha tenido el privilegio de ser la primera empresa privada que ha tenido acceso a esta novedosa técnica, y hemos querido ponerla a prueba en la observación de estructuras tisulares de olivo: hojas, yemas y fruto. Al haber sido realizado este trabajo en otoño no hemos podido aplicarlo sobre flores de olivo, aunque más adelante aparecerán tomas sobre este elemento también inéditas en calidad como iremos comprobando.

Los estomas en hojas de olivo

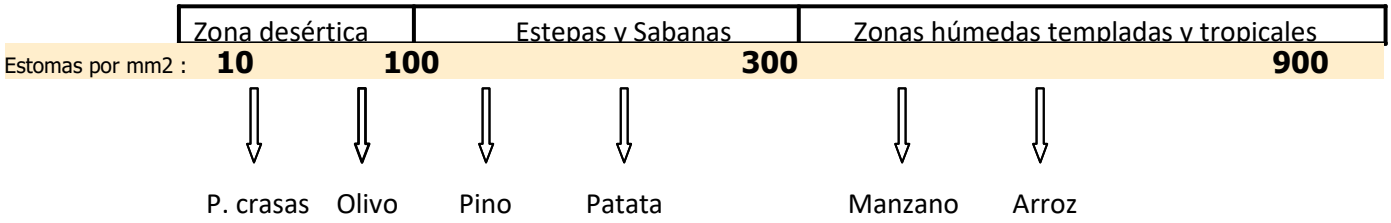
El olivo es una planta adaptada a condiciones áridas como bien sabemos. Sus hojas están recubiertas de una pilosidad especialmente en el envés muy útil como elemento de protección ante la excesiva evaporación de agua, y que le dan esa coloración blanquecina característica. Para la realización de este trabajo hemos elegido la variedad Hojiblanca, la cual toma su nombre por el color de su follaje y que indica una mayor proliferación de esa misma pilosidad. Realmente esa pilosidad no es más que el conjunto que forma todas las prolongaciones celulares de las células oclusivas de la epidermis, células que regulan la entrada y salida de gases mediante su apertura y cierre en función de la humedad atmosférica. Si esta es baja, se cierran, y de esta manera se evita la excesiva transpiración. La actividad estomática en definitiva regula la actividad fotosintética de la planta, ya que sin intercambio gaseoso no se pueden apenas realizar las actividades bioquímicas necesarias, y la `fábrica´ se detiene. Estos pelos mencionados que rodean las células oclusivas reciben el nombre de tricomas, y en el olivo presentan una estructura de parasol, llamándose también escamas peltadas, una estructura en definitiva adaptada a minimizar las pérdidas de agua.

Foto obtenida por microscopía electrónica de las escamas peltadas en hoja de olivo.

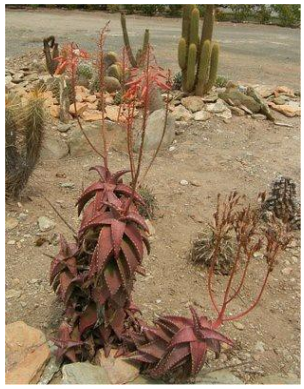
La primera innovación que presentamos consiste en el cálculo del número de estomas por milímetro cuadrado en el envés de hojas de olivo. Un dato que no hemos encontrado en otra publicación y que se puede aproximar gracias a esta técnica. Basta con marcar un área cuadrangular de la hoja fotografiada de un milímetro de lado, y de ahí puntear los ostiolos o aberturas centrales de los estomas, en el centro de cada escama peltada. En nuestro caso obtuvimos un número aproximado de 60 estomas por mm2 de envés de hoja de olivo. La tabla siguiente muestra otras plantas que permiten comparar este dato.

Especie	Nº de estomas por mm2 enves	Observaciones
Olea Europaea	60	Empresa Provedo, 2011
Aloe peasonii	66	
Lithops turbiniformis	7	
Manzano	400	Rojas y Royalo, 1979.
Patata	160	Rojas y Royalo, 1979.
Trigo	14	Rojas y Royalo, 1979.
Arroz	500	Weng y Chen, 1998

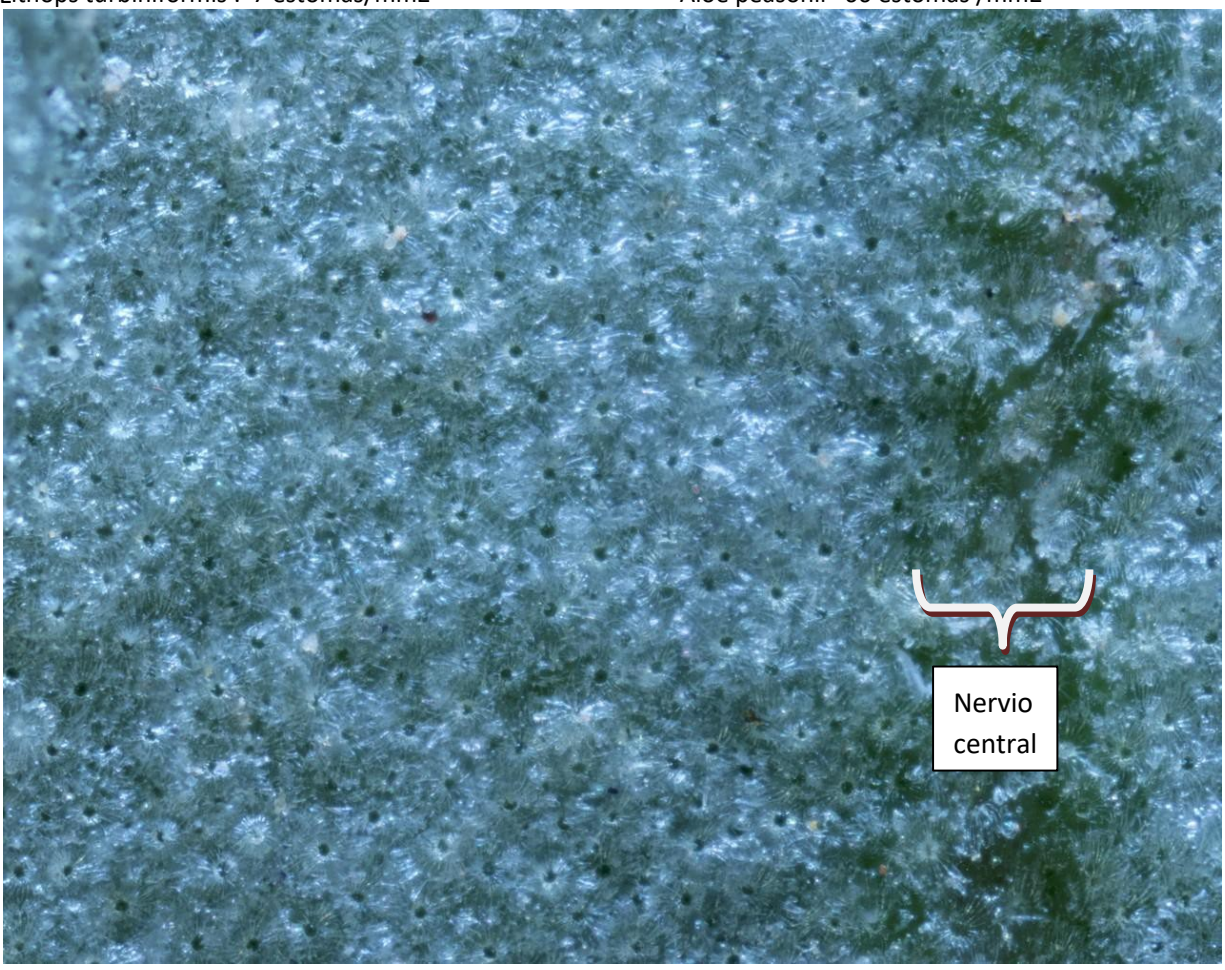
Para hacernos una idea de lo que significan 60 estomas por mm2, podemos situar este dato entre entre el que ofrecen las plantas que se desarrollan en condiciones de humedad normales con entre 300 y 850, las plantas de estepas y sabanas entre 100 y 300, y en zonas desérticas que bajan de 100. El olivo se encuentra en este último rango, dato que nos informa de la extraordinaria adaptación del olivo a los climas más áridos.



Lithops turbiniformis : 7 estomas/mm2



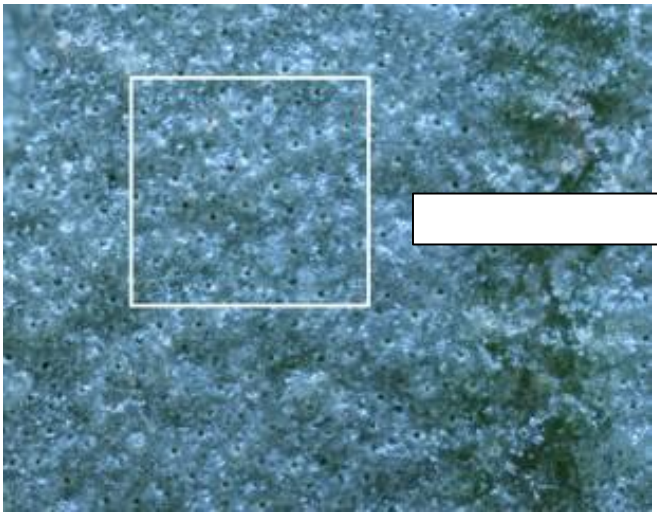
Aloe peasonii 66 estomas /mm2

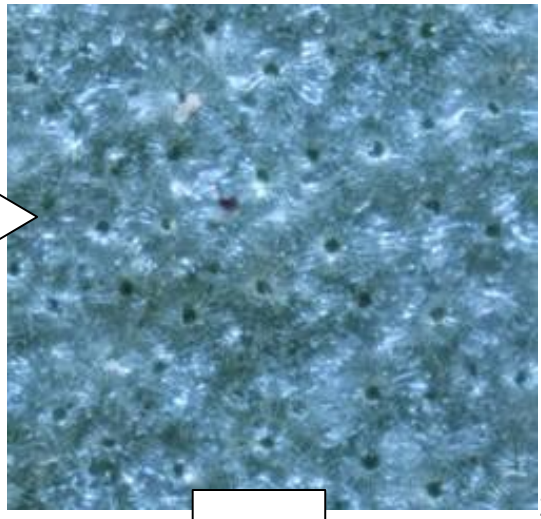


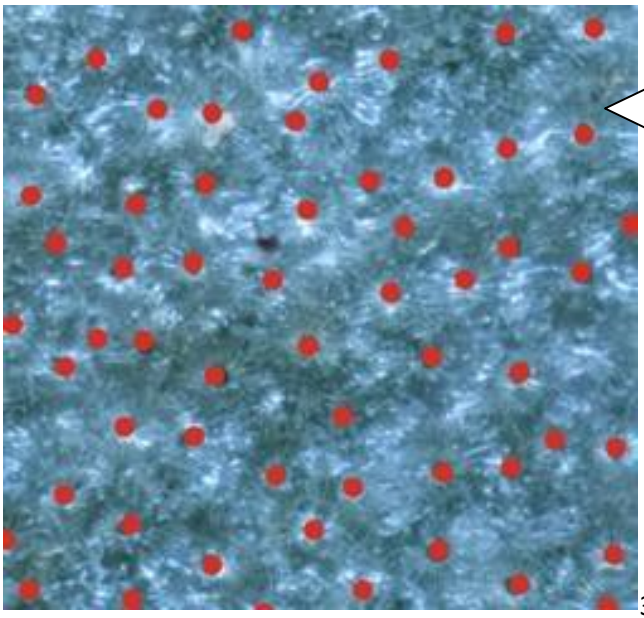
Envés de hoja de olivo var. Hojiblanca, donde se observa el nervio central. Técnica de fotografía macro extremo.

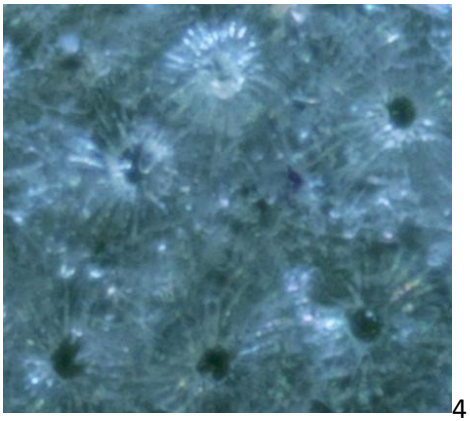
Técnica de conteo de nº de estomas en hoja de olivo

Sobre la fotografía anterior, vamos a desarrolar la técnica de conteo de nº de estomas por milímetro cuadrado. Para ello, reflejaremos un cuadrado de un milímetro de lado estimando esa distancia sobre la instantánea con ayuda de referencias tomadas no reflejadas en esa misma fotografía (1). Con ayuda de photoshop, recortamos ese cuadrado (2) y le punteamos con un pincel los ostiolos que aparecen para posteriormente proceder al recuento (3) . Hemos obtenido a primera vista un número cercano a 60. Aparentemente fácil, la complejidad es lógicamente haber obtenido esa instantánea tan nítida. En (4), se observa con nitidez los estomas en forma de escamas peltados que posee la hoja de olivo en su envés, con un tamaño aproximado de 0,08 milímetros de diámetro por escama, y un ostiolo central de 0,02 mm de diámetro según nuestros cálculos. Podemos comparar esta imagen (4) con la que se obtiene por microscopía electrónica, dos páginas más arriba.


1


2

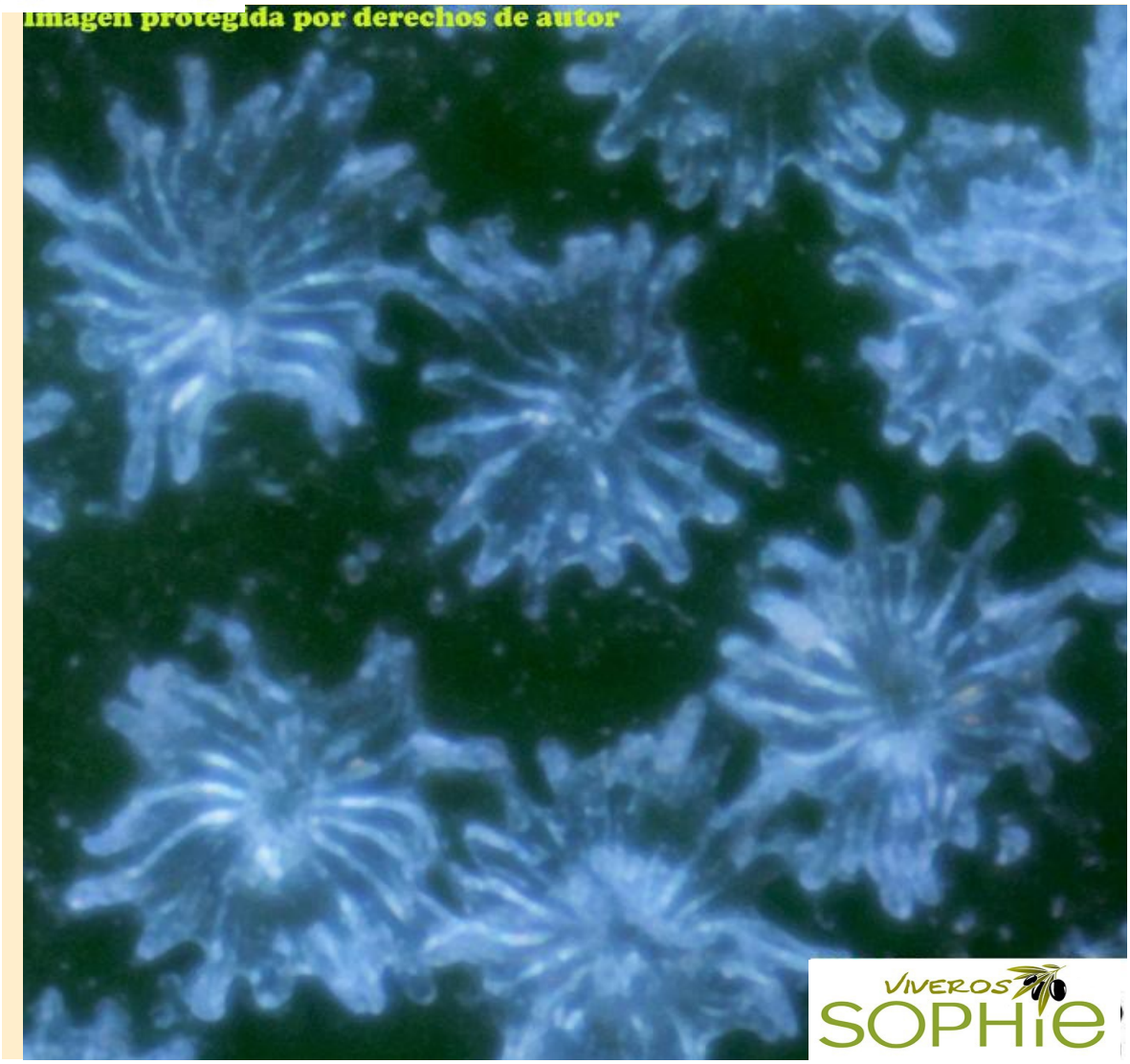

3


4

Observando el haz de la hoja de olivo

Sabemos que sobre el haz de las hojas de olivo se repiten estas estructuras de pelos en forma de parasol también llamadas escamas peltadas pero que no presentan estomas. Y también sabemos que su número es mucho menor, lo cual se aprecia en las imágenes siguientes, pudiendose estimar que se presentan entre un 20-30 % menos de escamas en el haz frente al envés más tupido. Las siguientes imágenes obtenidas por macro extremo muestran con gran nitidez las siluetas de las escamas y muy especialmente su color blanquecino frente al verde intenso de la cutícula de la hoja. En verdad no esperábamos encontrarnos con este amplio recubrimiento de la cutícula con escamas, el cual vuelve a poner de manifiesto la afinidad del olivo a las condiciones más secas.

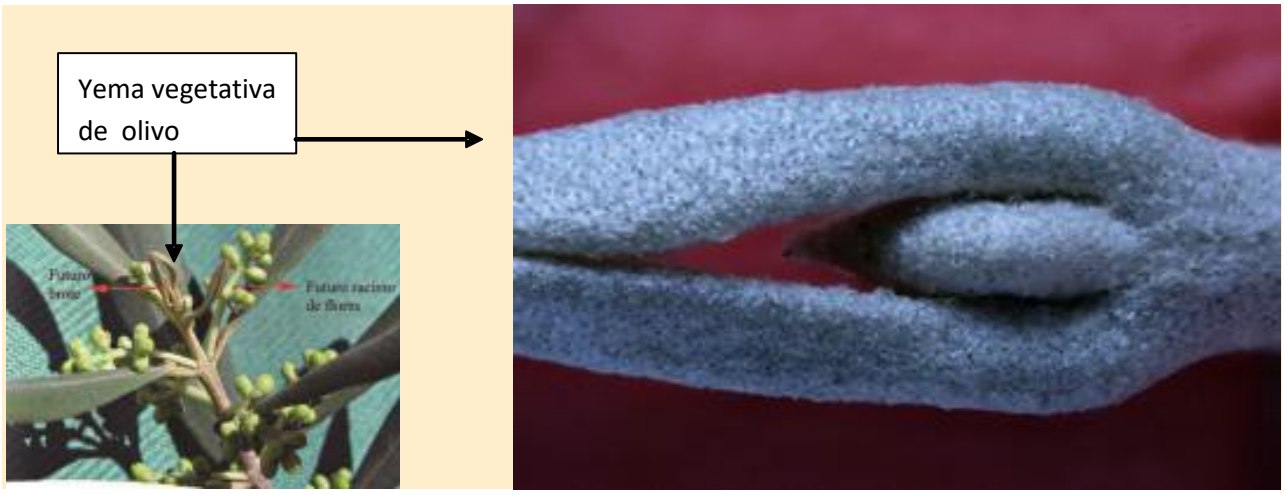
Escamas peltadas en haz de hoja de olivo.



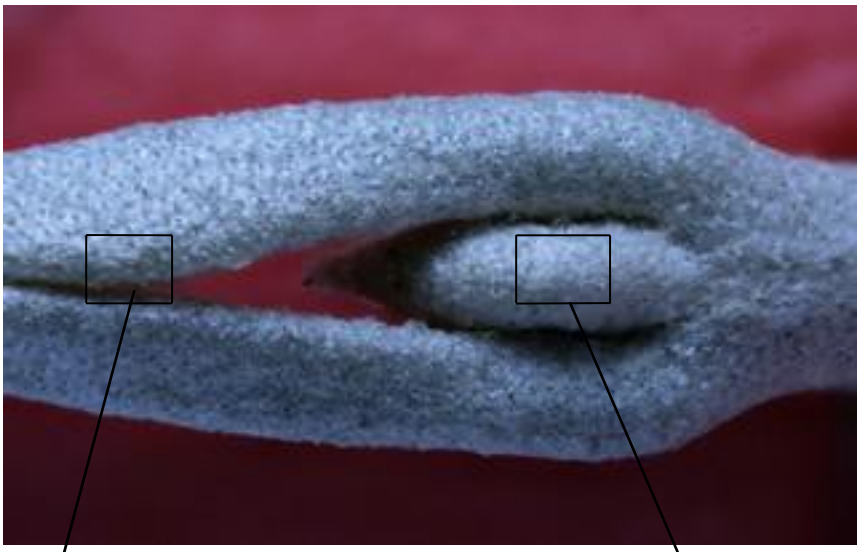
Detalle de la fotografía anterior de las escamas peltadas de hoja de olivo sobre el haz

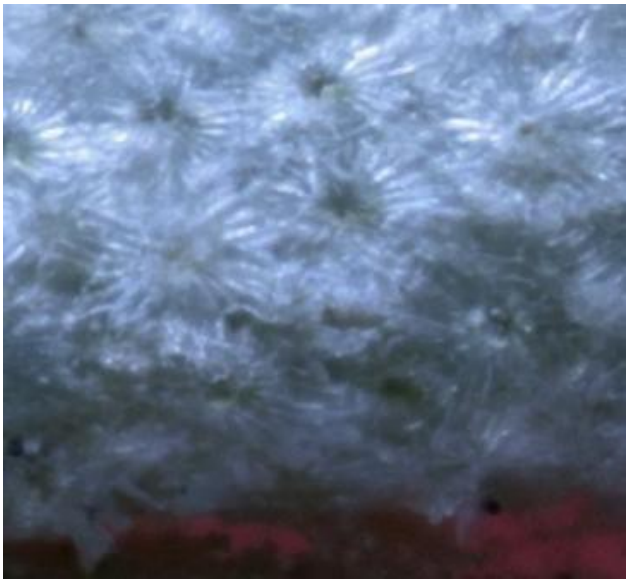
Macro extremo de una yema vegetativa de olivo

Vamos ahora a presentar ahora al detalle lo que se observa en una yema vegetativa de olivo.

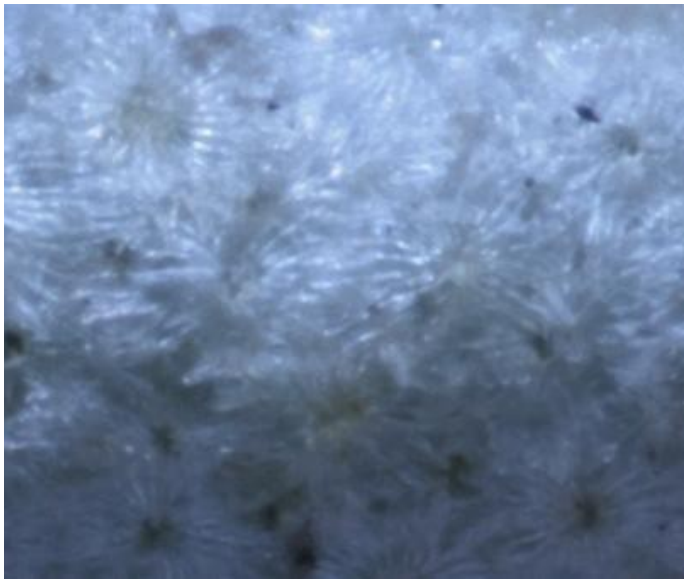


La yema de la anterior fotografía tiene de longitud total aproximadamente un centímetro, donde se observan el primer par de futuras hojas que envuelve a otro par de tamaño más reducido y en posición dística (girado 90 º). Llama la atención que esa yema se encuentra cubierta de estomas con escamas peltadas en su totalidad, como se puede observar en el detalle conforme nos acercamos en la toma.





Detalle 1



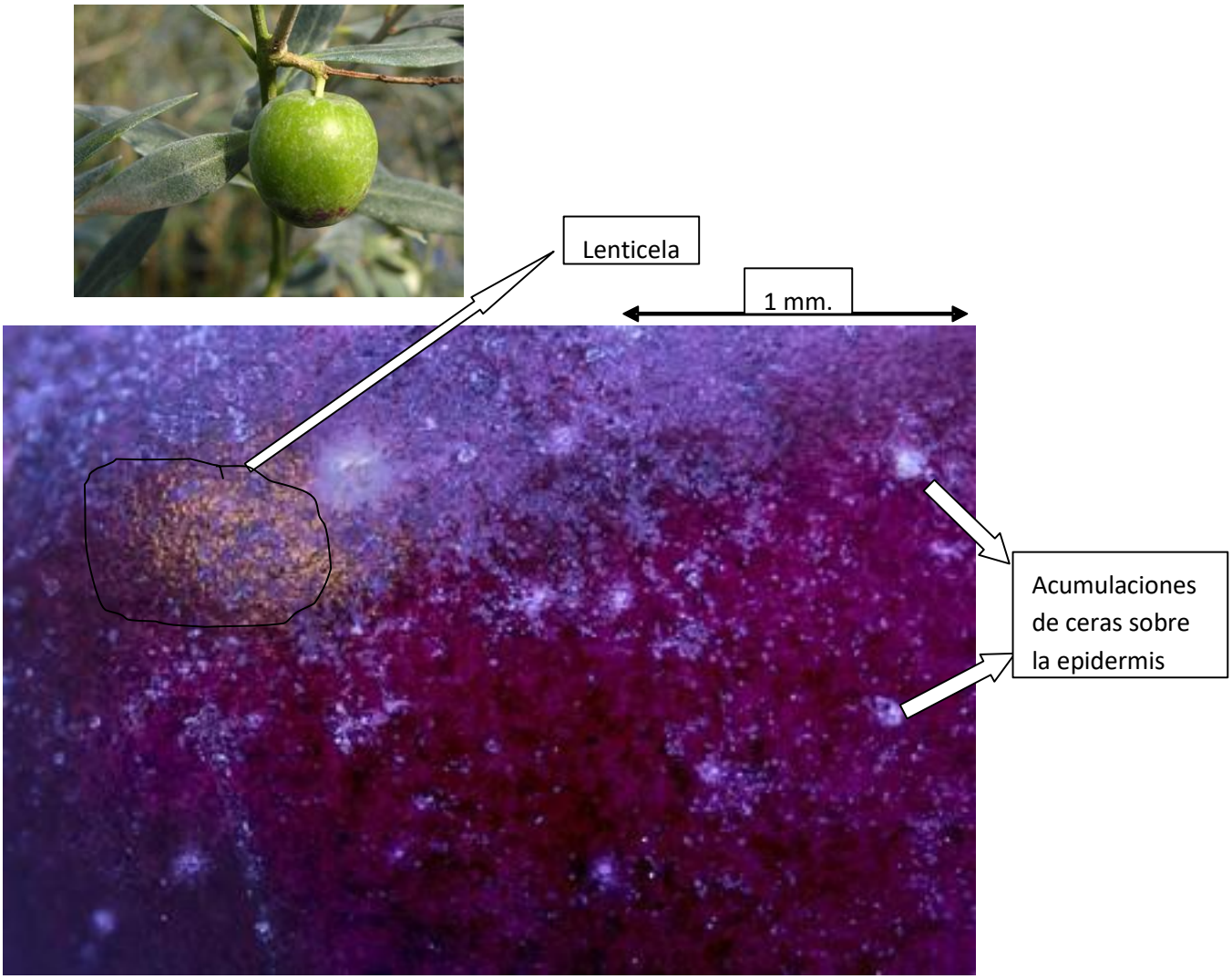
Detalle 2

El nivel de pilosidad de una yema de olivo es similar al que presenta el envés de una hoja del mismo árbol. Estas escamas peltadas se observa que pertenecen a verdaderos estomas, al contrario que en el haz de las hojas.

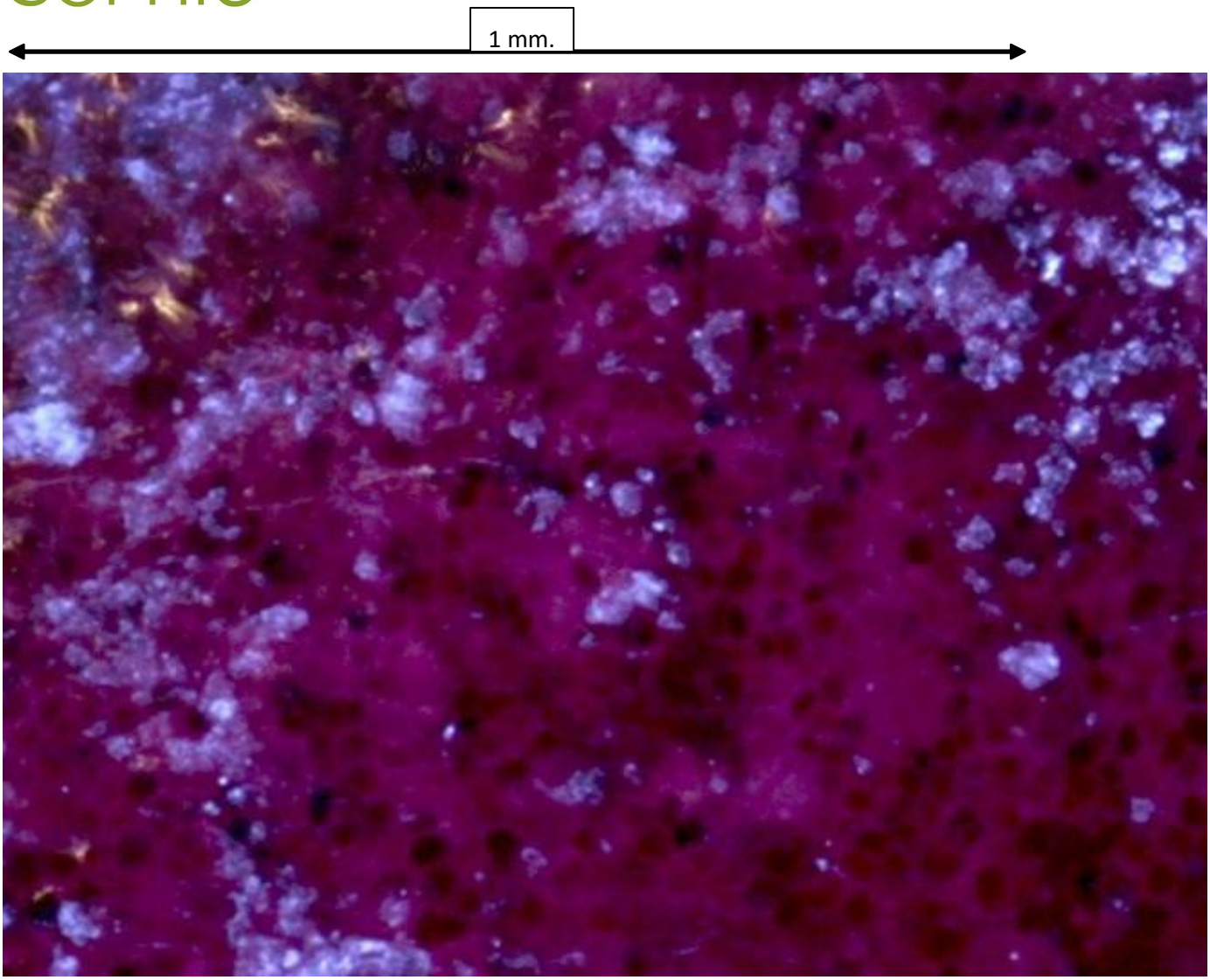
Observando de cerca un fruto de olivo

Por último en este paseo de imágenes macro sobre el olivo, nos acercamos ahora al fruto, a su epidermis, la capa más externa del mismo. El fruto del olivo, al tratarse de una drupa, posee endocarpio (hueso), mesocarpio (carne) y epicarpo (piel externa). Este epicarpo está formado por un tejido de células epidérmicas envueltas por una cutícula de cera. A simple vista podemos ver lenticelas, pequeños puntos de color más claro normalmente y que se asocian al intercambio de gases segúnla literatura consultada, aunque nuestra opinión es que lo constituyen zonas de alta acumulación de azúcares en el fruto y que en algunos casos pueden provocar microheridasal tratar de absoerver agua del exterior para compensar esa diferencia de concentración de solutos, hecho que se observa en algunos frutos cultivados como necatrinas, peras, etc.

Hemos fotografiado con macro extremo una aceituna de la variedad Hojiblanca, y lo que observamos es descrito en la siguiente fotografía:



Epidermis de fruto enverado de olivo.



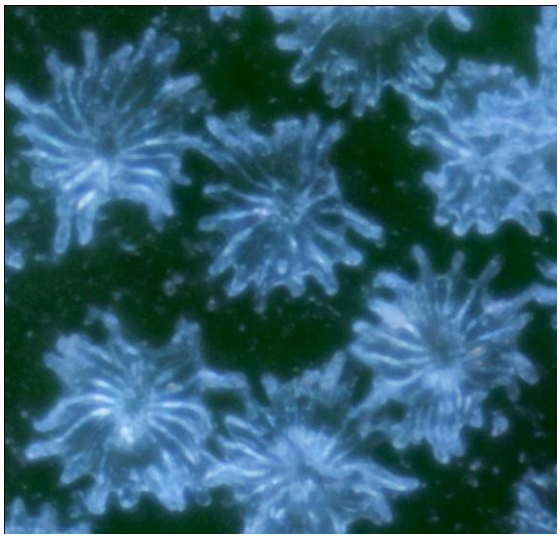
En esta imagen ampliación de la anterior, se observan las células epidérmicas con tonalidades que van desde el violeta hasta el granate oscuro. Las manchas blancas corresponden a ceras secas o cristalizadas . Cabe reseñar que a simple vista en esta fotografía se puede obserar las paredes celulares que las dividen, en tono más claro , así como las formas poliédricas de estas células. La mayor coloración indicará una mayor evolución de esa célula por acumulación de pigmentos durante el proceso de maduración del fruto.

Conclusiones de este trabajo.

Con este trabajo hemos abierto un camino inédito de observación macro de tejidos vegetales sin el uso de técnicas de microscopía, lo cual tiene entre otras ventajas la apreciación de los colores verdaderos y sobre todo la posibilidad de representar un gran área de tejido ampliado sobre una misma fotografía. Indicábamos al principio del reportaje que son necesarias una gran cantidad de tomas fotográficas para obtener una final por el método de `apilación´ que realiza el softaware asociado, esto presenta como inconveniente un lento proceso en la consecución final de cada fotografía , de entre una y dos horas por toma. La ventaja por otro lado es que se trata de imágenes de alta resolución, compatibles por tanto con ampliaciones mayores sin perder detalle, es decir, sin pixelar.

Por otro lado una aplicación inmediata como hemos explicado es el conteo de número de estomas por milímetro cuadrado de tejido, dato de gran interés y que en el caso del olivo no nos ha parecido que haya sido estudiado en profundidad anteriormente, y que puediera presentar diferencias según el genotipo de olivo estudiado o su lugar de cultivo, hipótesis sobre la que se podría continuar investigando.

Escamas peltadas y polen de olivo bajo microscopía electrónica.



Escamas peltadas observadas bajo macro extremo.

Agradecimientos

Angel Febrero, colaborador fotográfico. Experto en arte y naturaleza. http://angelfebrero.blogspot.com/