

15  
2EJ



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

APLICACION DE LA DOSIMETRIA DE LUZ UV DE  
ONDA CORTA Y RADIACION IONIZANTE AL  
ESTUDIO DE UN SISTEMA BIOLÓGICO SIMPLE  
IRRADIADO

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

**F I S I C A**

P R E S E N T A :

MARIA CRISTINA GARCIA COLIN



Directora de Tesis: M. en C. María Isabel Gamboa de Buen

MEXICO, D. F.

1995

FALLA DE ORIGEN

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

**M. en C. Virginia Abrín Batule**  
**Jefe de la División de Estudios Profesionales de la**  
**Facultad de Ciencias**  
**Presente**

**Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:**

Aplicación de la dosimetría de luz UV de onda corta y radiación ionizante al estudio de un sistema biológico simple irradiado.

realizado por María Cristina García Colín

con número de cuenta 85 26524-2 , pasante de la carrera de Física

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

**Atentamente**

M. EN C. MARIA ISABEL GAMBOA DE BUEN  
Director de Tesis  
Propietario  
DRA. MARIA ESTER BRANDAN SIQUES  
Propietario  
M. EN C. ALICIA ZARZOSA PEREZ  
Propietario  
DRA. MARIA EUGENIA GONSEBATT BONAPARTE  
Suplente  
DRA. ALICIA OLIVER GUTIERREZ  
Suplente

8147  
Maria Ester Brandan Siques  
Alicia Zarzosa Perez  
M. E. G.  
A. O.

Consejo Departamental de Física

DR. ROBERTO ALEJANDRO RUELAS MAYORGA  
Coordinador de Licenciatura

**A mis padres**

**A mis hermanos**

**A mi novio**

**A mis abuelos**

## Agradecimientos

Deseo agradecer especialmente a la M. en C. Isabel Gamboa de Buen, por haber aceptado dirigir esta tesis, por sus enseñanzas y valiosa ayuda durante la realización de este trabajo, gracias.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a la Dra. María Ester Brandan, por su gran ayuda en mi formación profesional, también, por sus valiosas sugerencias durante el desarrollo de esta tesis.

Agradezco a: M. en C. María Isabel Gamboa de Buen, Dra. María Ester Brandan, M. en C. Alicia Zarzosa Perez, Dra. María Eugenia Gonsebatt y Dra. Alicia Oliver Gutierrez. Por la lectura, comentarios y modificaciones hechas que ayudaron a mejorar este trabajo.

Agradezco también a todos mis amigos de la Facultad de Ciencias, del Instituto de Física y del grupo de radiaciones por todo su apoyo y amistad.

# Indice

<b>Introducción.</b>	1
<b>Capítulo I. Interacción de la radiación con la materia.</b>	
1.1 Introducción.	3
1.2 Sección eficaz molecular para fotones.	3
1.2.1 Atenuación de los rayos gamma.	7
Coeficiente de atenuación lineal.	7
Coeficiente másico de atenuación.	7
Coeficiente másico de transferencia de energía ( $\mu_{tr}/\rho$ ).	7
Coeficiente másico de absorción de energía ( $\mu_{en}/\rho$ ).	8
1.3 Interacción de partículas beta con la materia.	8
1.3.1 Poder de frenado.	9
Transferencia lineal de energía (LET).	9
Poder de frenado másico de colisión para electrones.	9
Poder de frenado másico de radiación.	10
Alcance.	11
<b>Capítulo II. Dosimetría.</b>	
2.1 Dosis absorbida.	13
2.1.1 Definición.	13
2.1.2 Tasa de dosis absorbida.	14
2.1.3 Equivalente de dosis y RBE.	14
2.2 Equilibrio de partícula cargada.	14
2.3 Relación entre fluencia y dosis para radiación electromagnética.	15
2.4 Dosimetría termoluminiscente.	16
2.4.1 Proceso termoluminiscente.	16
2.4.2 Calibración de dosímetros TLD.	20
<b>Capítulo III. Sistema Biológico: Neurospora crassa.</b>	
3.1 Selección Neurospora crassa.	21
3.1.1 Arquitectura.	21
3.1.2 Crecimiento de las hifas.	22
3.1.3 Tasa de crecimiento.	23
3.1.4 Factores que influyen en el crecimiento.	24

3.1.5 Efectos reportados de radiación UV y radiación ionizante.	24
---	----

#### **Capítulo IV. Determinación experimental de la tasa de fluencia (UV) y tasa de dosis.**

4.1 Radiación UV.	28
4.1.1 Lámpara UV.	28
4.1.2 Dispositivo de irradiación.	28
4.1.3 Calibración de la lámpara de UV.	28
Medición de la tasa de fluencia como función de la distancia.	29
Medición de la tasa de fluencia como función del tiempo (vida media de la lámpara).	32
4.1.4 Medición del coeficiente de atenuación de la luz UV en el material irradiado.	33
4.2 Radiación ionizante (beta y gamma).	35
4.2.1 Dosímetros TL.	35
4.2.2 Sistema de lectura.	35
4.2.3 Fuente de radiación $\beta$ .	38
Características.	38
Dispositivo de irradiación.	39
Homogeneidad del haz.	40
Calibración.	42
4.2.4 Fuente de radiación $\gamma$ .	45
Características.	45
Dispositivo de irradiación.	47
Homogeneidad del haz.	48
Calibración.	48

#### **Capítulo V. Respuesta del sistema biológico.**

5.1 Método experimental.	51
5.1.1 Cultivo del hongo <i>Neurospora crassa</i> .	51
5.1.2 Selección de la hifa.	51
5.1.3 Medición de la tasa de crecimiento.	52
Control de factores ambientales.	52
5.1.4 Irradiación con luz UV.	53
Curvas de crecimiento.	54

5.1.5 Irradiación con partículas $\beta$ .	54
Curvas de crecimiento.	55
5.1.6 Irradiación con rayos $\gamma$ .	55
Curvas de crecimiento.	56
<b>Capítulo VI. Resultados.</b>	
6.1 Irradiación con UV.	64
Curva de Fluencia-Respuesta.	64
6.2 Irradiación con $\beta$ .	64
Curva de Dosis-Respuesta.	64
6.3 Irradiación con $\gamma$ .	65
Curva Dosis-Respuesta.	65
<b>Capítulo VII. Discusión y Conclusiones.</b>	<b>74</b>
Referencias.	78



## Introducción

La interacción de la radiación con sistemas biológicos es un tema interesante de investigación en ciencias el cual permite la combinación de Física, Química y Biología. El efecto de la radiación en materia viva e inerte depende, en primer lugar, de la dosis absorbida, es decir, la energía depositada en la masa irradiada. Sin embargo existen diferencias importantes en la magnitud del efecto producido por dosis iguales impartidas por radiaciones diferentes. Las teorías microscópicas de interacción de radiación ionizante con materia postulan que estas diferencias se originan en la diferente densidad de ionización a lo largo de la trayectoria de la partícula ionizante. Debido a lo anterior las técnicas de medición de dosis deben considerar el tipo de radiación empleado.

El objetivo de este trabajo es el desarrollo de protocolos para medir la energía absorbida al irradiar con luz UV (254 nm) y radiación ionizante (rayos  $\gamma$  de  $^{60}\text{Co}$  y partículas  $\beta$  de  $^{90}\text{Sr}$ ). Estas técnicas se aplicarán al estudio de la respuesta de hifas del hongo *Neurospora crassa* a los diferentes tipos de radiación.

En el capítulo I se presentan los conceptos necesarios para comprender los distintos mecanismos de interacción de la radiación con la materia para poder llevar a cabo la medición de la dosis, tomando en cuenta que estas radiaciones corresponden a luz, radiación electromagnética ionizante y partículas cargadas.

Los elementos que sirven de base al planteamiento que se da a lo largo del trabajo se dan en el capítulo II. Debido a que se trata de calcular la dosis que reciben las hifas, los conceptos a tratar son de dosis absorbida, equivalente de dosis y eficiencia biológica relativa. En la parte experimental, para medir la dosis recibida por radiación ionizante se usarán dosímetros termoluminiscentes de fluoruro de litio comerciales (TLD-100), dado que tienen una respuesta lineal en el intervalo de dosis utilizado. Debido a ello se incluye en el capítulo II una descripción del proceso termoluminiscente, equilibrio de partícula cargada y el proceso de calibración, los cuales son importantes en mediciones dosimétricas.

En el capítulo III se incluye una descripción breve del sistema biológico (*Neurospora crassa*). Se explica la composición y estructura de la célula del hongo y las características más importantes de las hifas del hongo *Neurospora crassa*. Además, se mencionan los resultados reportados en experimentos similares, usando luz UV o radiación ionizante.

El objetivo del capítulo IV es describir el procedimiento que se siguió para obtener las condiciones bajo las cuales se irradió con luz UV, rayos  $\gamma$  y partículas  $\beta$ . En sí, la determinación de las características en la zona de irradiación como homogeneidad y tamaño del haz. Además en este capítulo se incluyen algunas características y propiedades de la fuentes.

El capítulo V básicamente se refiere al sistema biológico *Neurospora crassa*, en el cual se describen las condiciones en las cuales se cultivó el hongo y la manera en que se realizaron las medidas de tasa de crecimiento. Debido a esto se mencionan algunos factores que pueden afectar su crecimiento, así como la definición de respuesta para cada tipo de radiación.

Las curvas Dosis-Respuesta o Dosis-Fluencia encontradas para las hifas de *Neurospora crassa* irradiadas con radiación ionizante y luz UV, respectivamente, se dan en el capítulo VI. Además se incluyen otros resultados relacionados con la respuesta de las hifas a radiación ionizante.

En el capítulo VII se presentan y discuten las conclusiones.

# Capítulo I

## Interacción de la radiación con la materia

El interés de este capítulo es explicar los diferentes tipos de interacción con la materia debido a radiación indirectamente ionizante (rayos  $\gamma$ ), directamente ionizante (rayos  $\beta$ ) y luz UV. Para radiación electromagnética se explica con la ayuda de la figura I.2, cómo la sección eficaz depende de la energía y del medio. Además se menciona cómo están dadas las secciones eficaces para algunas regiones (UV, IR y rayos  $\gamma$ ), se hace énfasis en el orden de magnitud de éstas para UV y rayos  $\gamma$ . También se definen las entidades físicas que relacionan al medio y al tipo de radiación ionizante (directa o indirecta).

### 1.1 Introducción

Se sabe que, dependiendo de la energía del fotón, éste interacciona de diferente forma con la materia. Para cada interacción se tiene una sección eficaz  $\sigma$  (o coeficiente de absorción  $\alpha$ ) que dependerá de la energía del fotón y del medio.

Debo mencionar que en este trabajo se utilizó radiación UV de onda corta (254 nm) y rayos  $\gamma$  de una fuente de  $^{60}\text{Co}$  (1.17 y 1.33 MeV); debido a eso se enfocará la explicación en el intervalo del UV, el cual se extiende desde 4000 Å a 100 Å (3-120 eV) y en el intervalo de los rayos  $\gamma$  que abarca desde  $10^4$  eV hasta alrededor de  $10^9$  eV. En la Figura I.1 se muestran los diferentes intervalos de energía, longitud de onda y frecuencia en que se divide el espectro electromagnético de fotones, así como el nombre con el cual se conoce cada intervalo.

### 1.2 Sección eficaz molecular para fotones

La forma de la curva que se obtiene al graficar el coeficiente de absorción contra energía o frecuencia, etc. se puede explicar con los resultados más simples que son válidos en los extremos de energías:

- 1) a energías bajas, es decir cuando la longitud de onda es mucho mayor que el tamaño molecular y
- 2) a energías "altas", energías mucho mayores que el umbral de ionización pero energías

muchísimo menores que  $m_0c^2$  (no hay producción de pares).

En la figura 1.2 se muestra una gráfica del coeficiente de absorción en agua como función de la frecuencia. Además se indica sobre la escala horizontal una escala de energías (flechas) y una escala de longitud de onda (líneas verticales). También se indica la región del visible con líneas discontinuas. Notar que las escalas horizontales y vertical son logarítmicas.

En el límite de energías bajas o longitudes de onda grandes se cumple la aproximación dipolar (la molécula tiene un momento dipolar permanente o inducido), de este modo, solamente contribuye una onda parcial simple,  $\ell = 1$ . Existen dos tipos de dipolos, el molecular y el atómico. El molecular (como en  $H_2O$ ) corresponde a vibraciones moleculares con excitaciones electrónicas, estas excitaciones ocurren a  $\sim 1/2$  eV o menos, por lo que corresponden a resonancias en el infrarrojo. El dipolo atómico indica excitaciones atómicas, las cuales ocurren a unos pocos eV, y corresponden a resonancias en el UV. Justamente esto hace la atmósfera terrestre ya que absorbe fuertemente en el infrarrojo y en el UV, pero teniendo entre estas dos resonancias “la ventana óptica”, tal como se vé en la figura 1.2.

La absorción para el visible está dominada por la sección eficaz elástica de Rayleigh, que depende como  $w^4$  [Jackson, 1975], la cual es el extremo de bajas energías de la resonancia del UV.

Mas allá del UV disminuye la sección eficaz de la resonancia del UV hasta alcanzar las excitaciones de los electrones más internos, esto ocurre a energías de los rayos X; la aproximación dipolar aún es válida, son más pequeñas las secciones eficaces que las secciones eficaces del UV por el factor  $1/w^2$  [Kraner, 1988], si comparamos keV con eV, están por debajo de un factor de  $10^6$ , por lo que se explica que los rayos X sean mucho más penetrantes que la luz UV.

Mas allá de todas las energías de ionización los electrones son considerados como electrones libres estando ahora en los límites de la aproximación dipolar, si la energía del fotón es mucho menor que  $m_0c^2 = 511$  keV la sección eficaz por electrón está dada por la fórmula de Thomson [Jackson, 1975]. A energías mayores la sección eficaz por electrón dada por la fórmula de Thomson no es válida y se utiliza la sección eficaz dada por la ecuación de Klein-Nishina [Attix, 1986] (efecto Compton).

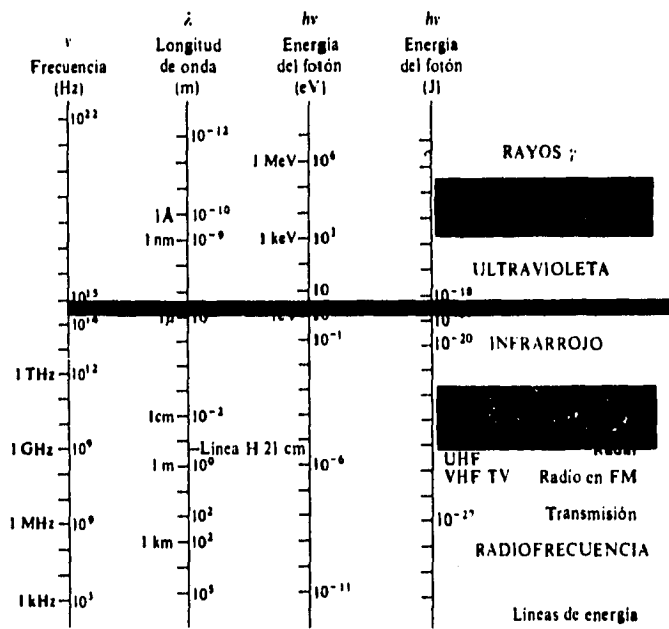


Fig. 1.1. Espectro electromagnético de fotones [Zajac, 1987]

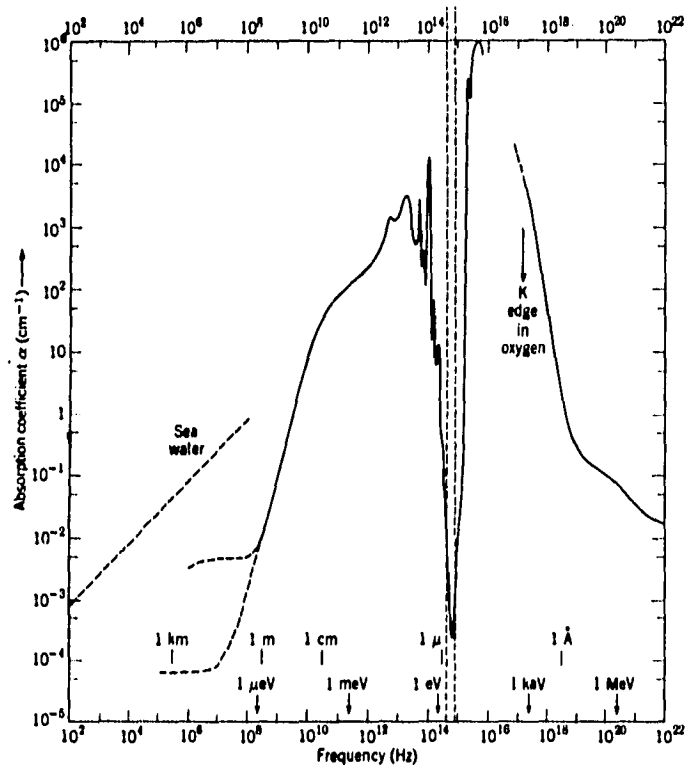


Fig. 1.2. Gráfica del coeficiente de absorción ( $\text{cm}^{-1}$ ) para el agua contra la frecuencia (Hz) [Jackson, 1975].

### 1.2.1 Atenuación de los rayos gamma [Attix, 1986]

#### Coefficiente de atenuación lineal

Un fotón puede interactuar con la materia a través de cualquiera de los diferentes tipos de interacción, si esto ocurre el fotón desaparece del haz original incidente. Debido a esto la radiación electromagnética sufre a lo largo de su trayectoria en un medio una atenuación de intensidad y no un cambio de energía. La intensidad (número de fotones por  $\text{cm}^2\text{s}$ ) de un haz monoenergético de fotones, cuya intensidad original es  $I_0$ , después de atravesar un grosor  $x$  es

$$I = I_0 e^{-\mu x} \quad (1)$$

donde  $\mu$  es el coeficiente de atenuación lineal para fotones de la energía en consideración. El coeficiente de atenuación lineal representa una probabilidad de interacción en el medio.

El coeficiente de atenuación lineal puede ser determinado experimentalmente para un material dado interponiendo espesores del material entre la fuente de radiación y un detector.

#### Coefficiente másico de atenuación

El coeficiente másico de atenuación ( $\mu/\rho$ ) es, para un dado material y radiación indirectamente ionizante, el cociente entre  $dN$  y el producto  $\rho$ ,  $N$  y  $dl$ , donde  $N$  es el número de partículas incidentes sobre una capa de grosor  $dl$  y densidad  $\rho$  y  $dN$  es el número de partículas que sufren alguna interacción dentro de la capa.

$$\frac{\mu}{\rho} = \frac{1}{\rho N} \frac{dN}{dl} \quad (2)$$

#### Coefficiente másico de transferencia de energía

El coeficiente másico de transferencia de energía ( $\mu_{tr}/\rho$ ) es, para un dado material y radiación indirectamente ionizante, el cociente entre  $dE_{tr}$  y el producto de  $E$ ,  $\rho$  y  $dl$ .  $E$  es la suma de las energías (excluyendo las energías en reposo) de las partículas indirectamente ionizantes que inciden normalmente sobre una capa de grosor  $dl$  y densidad  $\rho$  y  $dE_{tr}$  es la suma de las energías cinéticas de todas las partículas cargadas liberadas en esta capa

$$\frac{\mu_{tr}}{\rho} = \frac{1}{E\rho} \frac{dE_{tr}}{dl} \quad (3)$$

### Coefficiente másico de absorción de energía

El coeficiente másico de absorción de energía ( $\mu_{en}/\rho$ ) es, para un dado material y partículas indirectamente ionizantes,  $(\mu_{tr}/\rho)(1 - G)$  donde  $G$  es la proporción de la energía de las partículas cargadas secundarias que se pierde como radiación de frenado (bremsstrahlung) en el material.

$$\frac{\mu_{en}}{\rho} = \frac{\mu_{tr}}{\rho} (1 - G) \quad (4)$$

### 1.3 Interacción de partículas $\beta$ con la materia

A través del campo electromagnético debido a su carga, los electrones sufren tres tipos principales de interacción al atravesar un medio:

a) Colisiones inelásticas con electrones atómicos. Son el mecanismo predominante por el cual una partícula beta rápida pierde energía cinética en un absorbente. Como resultado de ellas, uno o más electrones atómicos experimentan una transición a un estado excitado (excitación) o a un estado no ligado (ionización).

b) Colisiones elásticas con el núcleo y electrones atómicos. El electrón incidente es deflectado sin irradiar y sólo pierde la energía cinética necesaria para conservar el momento lineal.

c) Colisiones inelásticas con el núcleo atómico. En este caso, el electrón es deflectado, se emite un cuanto de radiación (radiación de frenado) y una cantidad equivalente de energía cinética es perdida por las partículas participantes.

El tipo de interacción que predomine dependerá de la energía de los electrones.

Los electrones, a diferencia de partículas pesadas, no tienen trayectorias rectas y bien definidas, sino zigzagueantes, esto es, la trayectoria de cada electrón es azarosa, lo mismo que la longitud total de dicha trayectoria. Las variaciones que existen en la longitud se deben a que los electrones van chocando con electrones orbitales del material, y no se frenan hasta ceder toda su energía.



Cuando los electrones chocan con los electrones orbitales, les ceden parte de su energía, y si esta energía es suficiente, el electrón orbital abandona su átomo y lo deja ionizado, el electrón incidente sigue ionizando a lo largo de su trayectoria hasta ceder toda su energía.

### 1.3.1 Poder de frenado [Attix, 1986]

La energía perdida por unidad de longitud de trayectoria  $x$  por una partícula cargada de tipo  $Y$  y energía cinética  $T$ , en un medio de número atómico  $Z$ , es llamada el *poder de frenado*  $(dT/dx)_{Y,T,Z}$ , las unidades típicas del poder de frenado son MeV/cm o J/m. Dividiendo el poder de frenado por la densidad  $\rho$  del medio absorbente, resulta una cantidad llamada *el poder de frenado másico*  $(dT/\rho dx)$ ; sus unidades son MeV cm<sup>2</sup>/g o J m<sup>2</sup>/Kg.

Cuando uno está interesado en el destino de la energía perdida por las partículas cargadas, el poder de frenado puede ser subdividido en el poder de frenado de colisión  $(dT/dx)_c$  y el poder de frenado de radiación  $(dT/dx)_r$ . La energía gastada en forma radiactiva es llevada por los fotones lejos de la trayectoria de la partícula cargada, mientras que la energía gastada en interacción por colisión produce ionización y excitación, la cual contribuye a la dosis cerca de la trayectoria.

### Transferencia lineal de energía (LET) [Kiefer, 1990]

Está definida como la cantidad de energía absorbida localmente por unidad de longitud, la unidad usual para LET es keV/ $\mu$ m. El atributo "localmente" es de especial importancia ya que sólo se considera la energía que produce ionización y excitación en el sitio de interés, excluyéndose la energía cinética de las partículas que salen de él. En el caso de partículas cargadas se especifica un límite de energía  $\Delta$  (100 eV) por debajo del cual la transferencia de energía a electrones secundarios es considerada local. El poder de frenado  $(dT/dx)$  anteriormente definido es numéricamente igual a  $LET_\infty$ , es decir, sin restricción en la energía transferida. Sin embargo, hay diferencias conceptuales: el poder de frenado cuantifica la energía perdida por una partícula, mientras que el LET se refiere a la energía depositada en el medio.

### Poder de frenado másico de colisión para electrones

Esta pérdida de energía se debe a la interacción coulombiana que sufren los electrones incidentes con los electrones del material irradiado. Cuando los electrones tienen energías de hasta 0.5 MeV, la razón de pérdida de energía debida a la colisión inelástica es

proporcional a  $1/v^2$  por lo que:

$$\left(\frac{dT}{dx}\right)_c \sim \frac{1}{v^2} \frac{N_A Z}{A}$$

en donde  $v$  es la velocidad del electrón.

Existe otra cantidad que en ocasiones es más útil que el poder de frenado de colisión, el poder de frenado de colisión másico y está definida como

$$\left(\frac{dT}{\rho dx}\right)_c = \frac{1}{\rho} \left(\frac{dT}{dx}\right)_c$$

en donde  $\rho$  es la densidad del material irradiado.

Esta cantidad da la pérdida de energía que sufren los electrones por unidad de masa, multiplicada por el área en que inciden los electrones.

#### **Poder de frenado másico de radiación**

Los electrones son suficientemente livianos para generar radiación de frenado significativa, la cual depende del inverso al cuadrado de la masa, para partículas de igual velocidad. La razón de la producción de radiación de frenado por electrón está expresada por el poder de frenado másico de radiación  $(dT/\rho dx)_r$  en unidades de MeV cm<sup>2</sup>/g, el cual es proporcional a:

$$\left(\frac{dT}{\rho dx}\right)_r \sim \frac{N_A Z^2}{A} (T + m_o c^2) \quad (5)$$

donde

- $Z$  = número atómico del elemento irradiado
- $m_o c^2$  = energía en reposo del electrón (0.51 MeV)
- $T$  = energía del electrón.

## Alcance

La penetración de los electrones en la materia es diferente a la de las partículas más pesadas debido a que pueden perder gran parte de su energía en una sola colisión con un electrón atómico o al emitir un cuanto de radiación.

Para los electrones el largo de la trayectoria  $S$  y el alcance son muy diferentes (figura 1.3). En este caso, el concepto de alcance está asociado al de grosor del absorbente necesario para que el electrón apenas lo pueda penetrar. La definición adoptada para el alcance medio  $\bar{R}$  es el grosor de una capa de absorbente que reduce el número de electrones emergentes a la mitad del valor del haz inicial. Para un haz de electrones incidentes inicialmente monoenergéticos el alcance medio es aproximadamente la mitad del promedio  $\bar{S}$ .

Entre las muchas expresiones empíricas para  $\bar{R}$  (en  $\text{g cm}^2$ ) como función de la energía  $T$  del haz de electrones menciono la de Katz y Penfold [Katz y Penfold, 1952]:

$$\bar{R} = 0.412 T^n$$

con  $n = 1.265 - 0.0954 \ln T$  para  $0.01 < T < 3 \text{ MeV}$

$$\bar{R} = 0.530 T - 0.106$$

para  $2.5 < T < 20 \text{ MeV}$

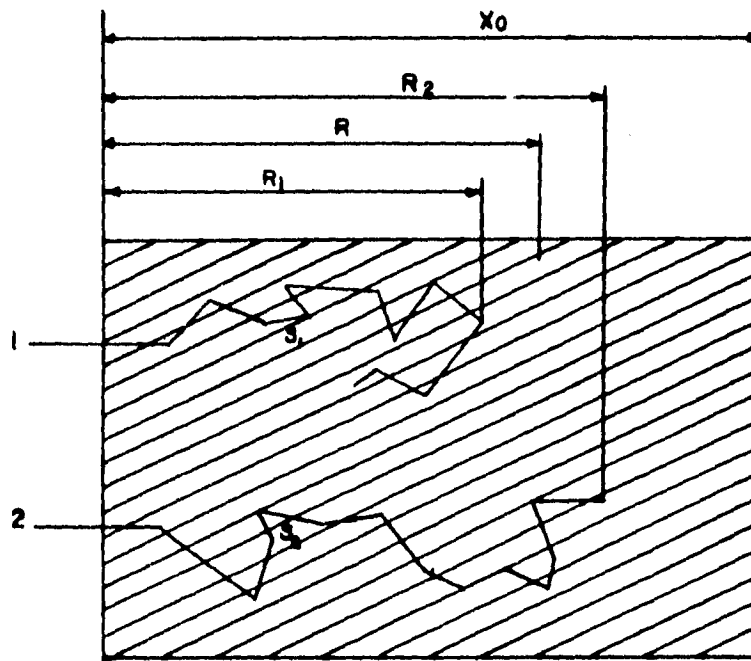


Fig. 1.3. Diagrama indicando las posibles trayectorias de dos partículas livianas con la misma energía inicial en un absorbente grueso. El promedio  $\bar{R}$  está bien definido, aproximadamente la mitad del largo de trayectoria promedio  $\bar{S}$ .

# Capítulo II

## Dosimetría

Con el objeto de poder evaluar el daño o interacción producido por la radiación ionizante en la estructura de un medio, se introducen los conceptos de dosis, equivalente de dosis y eficiencia biológica relativa. Para poder medir la energía depositada en el medio se utilizan dosímetros termoluminiscentes (TLD), se explica en qué consiste el proceso TL y cómo realizar una calibración con una fuente de  $^{60}\text{Co}$ .

### 2.1 Dosis absorbida

#### 2.1.1 Definición

La dosis absorbida ( $D$ ) es el cociente entre  $d\epsilon$  y  $dm$  donde  $d\epsilon$  es el valor medio de la energía impartida por radiación ionizante a la masa  $dm$  de materia en un elemento de volumen.

$$D = \frac{d\epsilon}{dm} \quad (6)$$

La energía impartida ( $\epsilon$ ) es una cantidad estocástica igual a la diferencia entre la suma de las energías cinéticas de todas las partículas directa e indirectamente ionizantes que han entrado a un volumen ( $(R_{in})_u + (R_{in})_c$ ) y la suma de las energías cinéticas de todas aquellas que han salido de él ( $(R_{out})_u + (R_{out})_c$ ) más la energía total derivada de la masa en reposo ( $\sum Q$ ) en el volumen:

$$\epsilon = (R_{in})_u - (R_{out})_u + (R_{in})_c - (R_{out})_c + \sum Q \quad (7)$$

Se considera  $\sum Q$  positiva si la masa se transforma a energía y negativa si la energía se transforma a masa.

Las unidades de dosis son, la tradicional 1 rad y la del sistema internacional 1 Gy, la equivalencia entre ellas es

$$1 \text{ Gy} = 1 \text{ J/Kg} = 100 \text{ rad} \quad (8)$$

$$1 \text{ rad} = 10^{-2} \text{ Gy} = 1 \text{ cGy} \quad (9)$$

### 2.1.2 Tasa de dosis absorbida

La tasa de dosis absorbida ( $\dot{D}$ ) en un punto  $P$  y tiempo  $t$  esta dada por:

$$\dot{D} = \frac{dD}{dt} = \frac{d}{dt} \left( \frac{d\epsilon}{dm} \right) \quad (10)$$

### 2.1.3 Equivalente de dosis y RBE

El equivalente de dosis  $H$ , está definido como

$$H \equiv DQN \quad (11)$$

donde  $D$  es la dosis absorbida,  $Q$  es el factor de calidad y  $N$  es el producto de todos los otros factores modificadores (comunmente es asignado el valor de 1) [Attix, 1986].

El factor de calidad  $Q$  es una variable adimensional, factor de peso que aplicado a la dosis da una estimación del daño relativo de diferentes tipos y energías de la radiación ionizante. Los valores de  $Q$  están seleccionados de valores experimentales del RBE (eficiencia biológica relativa). RBE es el cociente entre una dosis absorbida de cierta radiación de referencia (dosis de rayos X o  $\gamma$ ) y la dosis absorbida de la radiación en cuestión requerida para producir efectos biológicos idénticos en un organismo o tejido [Shapiro, 1990].

## 2.2 Equilibrio de partícula cargada EPC

Existe equilibrio de partícula cargada (EPC) para un volumen  $v$  si para cada tipo y energía de partícula cargada que deja a  $v$  es remplazado por otra partícula idéntica de la misma energía que entra a  $v$  (fig. II.1).

Si existe equilibrio de partícula cargada se satisface la ecuación

$$(\bar{R}_{in})_c = (\bar{R}_{out})_c \quad (12)$$

$(R_{in})_c$  es la energía que entra al volumen  $v$  debido a partículas cargadas y  $(R_{out})_c$  es la energía que sacan las partículas cargadas del elemento de volumen  $v$ .

En la práctica, para tener EPC, es necesario rodear el medio en el que se mide la dosis con un material que produzca electrones secundarios equivalentes a los que se producen en el medio y que salen de él. Para ello, el material utilizado debe tener un número atómico  $Z$  lo más parecido posible al del medio y un grosor al menos igual al máximo alcance de los electrones secundarios producidos en el medio irradiado.

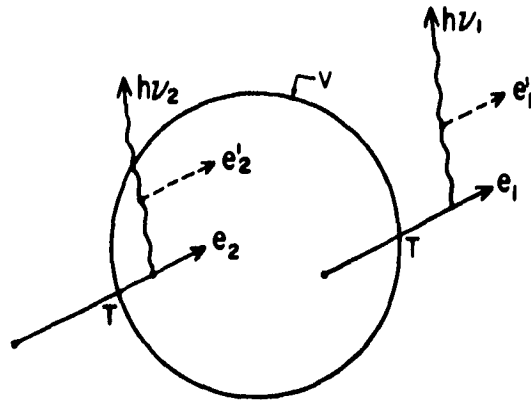


Fig. II.1. Ilustra un ejemplo de EPC, donde el electrón  $e_2$  entra al volumen  $v$  con una energía cinética  $T$  igual a la energía llevada por el electrón  $e_1$ , además se muestran otros dos casos; puede que  $e_2$  emita un fotón, entonces  $e_1$  debería emitir un fotón idéntico.

### 2.3 Relación entre fluencia y dosis para radiación electromagnética

Para tener una idea del perfil seguido por la dosis absorbida con el incremento en la profundidad dentro de un medio, se considera primero la dosis,  $D_i$ , en la superficie del medio, la cual está dada por [Carrillo, 1993]

$$D_i = \frac{\mu_{en}}{\rho} \psi_i \quad (13)$$

donde  $\mu_{en}$  es el coeficiente de absorción de energía del medio,  $\rho$  la densidad y  $\psi_i$  la fluencia que incide en el medio.

Así, la dosis a la profundidad  $x$  en el medio está dada por

$$D(x) = D_i e^{-\mu_{en} x} \quad (14)$$

a su vez, la dosis absorbida promedio en una capa de espesor  $x$  está dada por:

$$D(x) = \frac{\int_0^x D(x) dx}{\int_0^x dx} = \frac{D_i - D(x)}{\mu_{en} x} \quad (15)$$

teniendo que la relación entre fluencia y dosis es

$$D(x) = \frac{\mu_{en}}{\rho} \psi_i \left( \frac{1 - e^{-\mu_{en} x}}{\mu_{en} x} \right) \quad (16)$$

## 2.4 Dosimetría termoluminiscente

### 2.4.1 Proceso termoluminiscente

El volumen sensible de un dosímetro termoluminiscente (TL) consiste de una masa pequeña ( $\sim 1 - 100$  mg) de material dieléctrico cristalino con impurezas convenientes que lo hace desempeñarse como un fósforo termoluminiscente. Las impurezas, que pueden estar presentes en cantidades pequeñas, suministran dos clases de centros o imperfecciones en la red cristalina, los cuales son [Attix, 1986]:

a) Trampas.- para los electrones y "huecos" (defecto de carga negativo) las cuales pueden retener a los portadores de carga en un potencial eléctrico por periodos largos de tiempo;

b) Centros luminiscentes.- localizados en cualquiera de las dos trampas, la del electrón o la del "hueco", en los cuales se emite luz cuando se permite que el electrón y el "hueco" se recombinen.

La figura II.2 es un diagrama de energías ilustrando el proceso termoluminiscente: (A) ionización por radiación y trampas del electrón y hueco; (B) el calentamiento libera al electrón, permitiendo el proceso termoluminiscente.



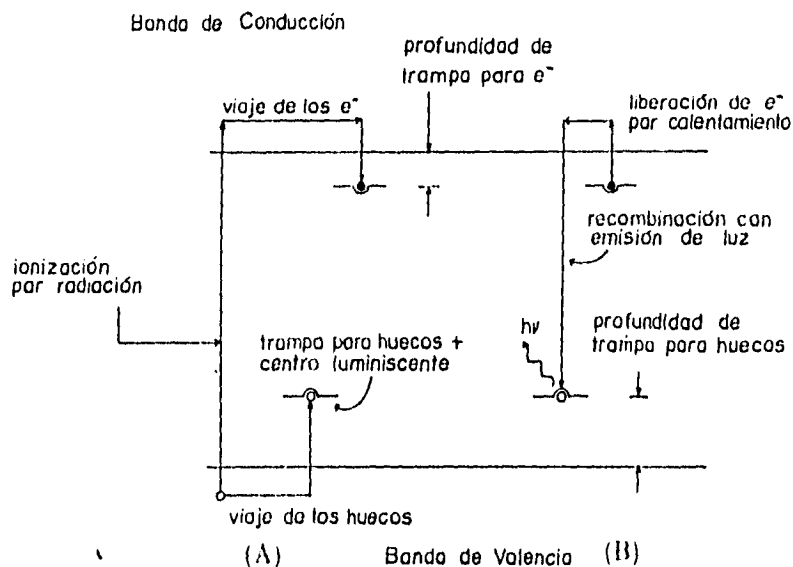


Fig. II.2 Diagrama de energías ilustrando el proceso termoluminiscente.

Del lado izquierdo (A) se muestra un evento de ionización enviando al electrón a la banda de conducción, donde éste emigra a una trampa para el electrón (por ejemplo un sitio en la red cristalina donde un ion negativo está ausente). El "hueco" emigra a la trampa del "hueco". A temperatura ambiente estas trampas serán suficientemente profundas en términos de energía potencial para impedir el escape del electrón o del "hueco" por periodos largos de tiempo. Se libera cualquiera de los dos cuando el dosímetro es calentado. A la derecha en la figura (B) se muestra el efecto del calentamiento. Suponemos que el electrón es el primero que se libera, porque la trampa del electrón en el fósforo es menos profunda que la trampa del "hueco". El electrón entra a la banda de conducción y emigra a la trampa del "hueco" la cual se supone que actúa como un centro luminiscente, en este caso la recombinación está acompañada por la liberación de un fotón.

La probabilidad de escape por segundo  $p$ , para electrones atrapados está dada, en términos de la temperatura absoluta  $T$ , por

$$p = 1/\tau = \alpha e^{-E/KT} \quad (17)$$

donde  $\tau$  es la vida media en la trampa,  $\alpha$  el factor de frecuencia,  $E$  la energía de la trampa

(en eV) y  $k$  es la constante de Boltzman [Randall y Wilkins, 1945]. Suponiendo valores constantes para  $k$ ,  $E$  y  $\alpha$  tenemos que si  $T$  aumenta, aumenta  $p$  y decrece  $\tau$ . Así al aumentar la temperatura linealmente en el tiempo, empezando a temperatura ambiente, habrá un incremento en la tasa de escape de electrones atrapados, que será máxima a una temperatura  $T_m$ , disminuyendo gradualmente al irse agotando el número de electrones atrapados. Sea  $q$  la tasa de calentamiento ( $^{\circ}\text{C}/\text{seg}$ ) uniforme, suponiendo que al irse calentando el cristal la intensidad de luz emitida (señal TL) es proporcional al número de electrones que escapan, a la temperatura  $T_m$  se tendrá un máximo o pico en la curva de brillo (figura II.3), que es una gráfica de señal TL contra temperatura o tiempo. Si hay varias profundidades de trampas habrá también varios picos en la curva de brillo.

En general, se tiene una mayor precisión en las medidas dosimétricas realizadas con fósforos TL si reciben un tratamiento térmico uniforme, reproducible y óptimo antes y después de la irradiación [Horowitz, 1990].

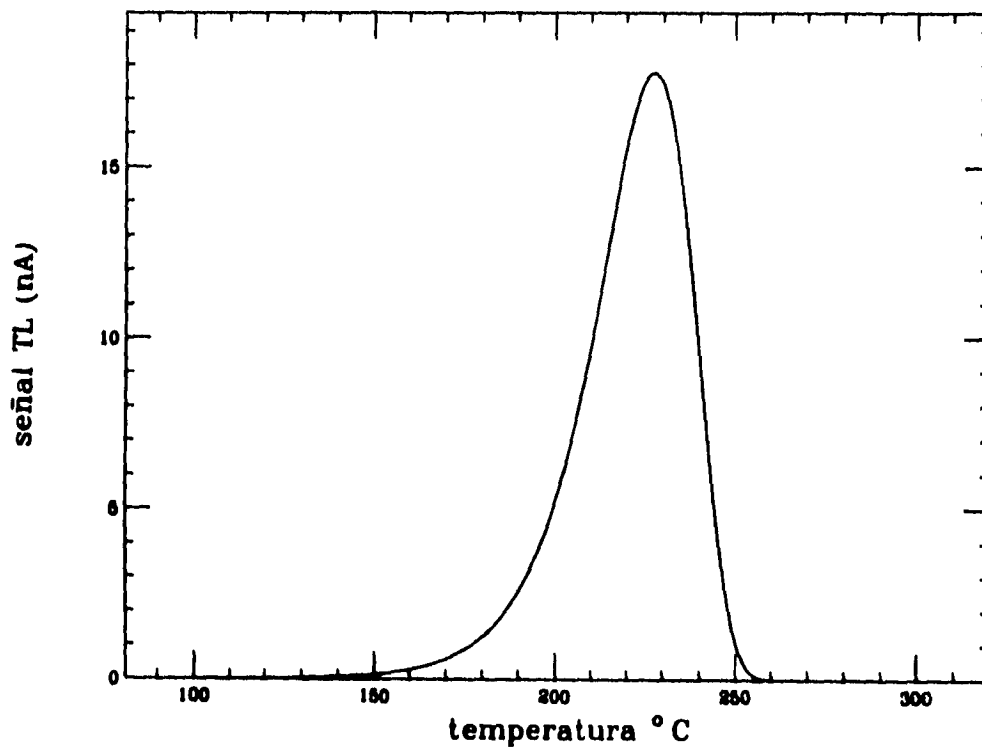


Fig. II.3. Curva de brillo termoluminiscente contra temperatura que resulta del calentamiento gradual de un fósforo TL irradiado que contiene una profundidad de trampa.

### 2.4.2 Calibración de dosímetros TLD

La mayoría de los fósforos termoluminiscentes tienen un intervalo de dosis dentro del cual la señal TL emitida por unidad de masa es proporcional a la dosis absorbida en el fósforo con tal de que:

- a) la transferencia lineal de energía (LET) de la radiación permanezca baja o prácticamente constante, y
- b) la sensibilidad del fósforo permanezca constante por usar procedimientos de hornados reproducibles. Además se supone que la respuesta del equipo lector termoluminiscente no cambia y existe una atenuación insignificante de la luz que escapa del fósforo durante el calentamiento, siempre que la dosis permanezca en el intervalo lineal.

Calibración con la fuente de  $^{60}\text{Co}$ : Para toda radiación de LET bajo, incluyendo rayos X, rayos  $\gamma$  y haz de electrones de energías superiores a  $\sim 10$  keV, la dosis promedio en el TLD puede ser

$$D_{TLD} = \alpha_{Co} R \quad (18)$$

Esta linealidad se utiliza para calibrar con una fuente de  $^{60}\text{Co}$  (rayos  $\gamma$ ) previamente calibrada en dosis, con la cual se obtiene la gráfica de dosis contra su respuesta  $R_{Co}$  (señal TL), para obtener el factor de calibración  $\alpha_{Co}$ , donde

$$\alpha_{Co} = \left( \frac{D_{TLD}}{R} \right)_{Co} \quad (19)$$

La eficiencia relativa de un dosímetro a una radiación de tipo  $k$  con respecto a una de tipo  $\ell$  se define

$$\eta_{k,\ell} = \frac{\frac{TL_k(D_k)}{D_k}}{\frac{TL_\ell(D_\ell)}{D_\ell}} \quad (20)$$

$D_k$  y  $D_\ell$  están limitados a la región lineal de la curva dosis-respuesta para las radiaciones  $k$  y  $\ell$  respectivamente.  $TL_k/D_k$  y  $TL_\ell/D_\ell$  son las señales termoluminiscentes por unidad de dosis (sensibilidades) de los dosímetros. Se tiene  $\eta_{k,\ell} = 1$  con  $k$  y  $\ell$  las radiaciones de las fuentes de  $^{60}\text{Co}$  y  $^{90}\text{Sr}$  [Horowitz, 1982].

## Capítulo III

### Sistema biológico: *Neurospora crassa*

En este capítulo se describe la estructura y composición de las hifas del hongo *Neurospora crassa* que es el sistema biológico elegido para este trabajo. La elección se basó en las ventajas que ofrece para su manejo en el laboratorio y porque crece unidimensionalmente con una tasa de crecimiento constante.

#### 3.1 Selección *Neurospora crassa*

El género *Neurospora*, que es un hongo de la subdivisión ascomicete, conocido comúnmente como moho rojo del pan, ha sido objeto de numerosos estudios citológicos, genéticos y bioquímicos. La especie *Neurospora crassa* es particularmente interesante debido a las ventajas que ofrece como organismo de investigación, crece y se reproduce rápidamente, y en un tiempo mucho más corto que cualquier planta o animal produce varias generaciones en las que pueden ser estudiados diversos procesos biológicos fundamentales. Otra característica ventajosa que tiene trabajar con *Neurospora* es que es de fácil cultivo en el laboratorio, ya que requiere de menos espacio y cuidados especiales que otros organismos, así como de equipo menos especializado y costoso [Herrera, 1990].

##### 3.1.1 Arquitectura

Las células de los hongos tienen las características básicas de las células eucariontes [Griffin, 1981], estas células están compuestas de (figura III.1):

La membrana celular.- es la estructura que limita a la célula y es a través de ella que entran o salen sustancias y nutrientes. La membrana celular está constituida por una capa de grasas (lípidos) dentro de la cual a diferentes niveles se encuentran implicadas proteínas. Esta constitución hace que la célula sea semipermeable.

Citoplasma.- Se encuentra envuelto por la membrana y rodea al núcleo. Está constituido por proteínas lo que le da un aspecto semiviscoso. En el citoplasma se encuentran localizadas las estructuras celulares llamadas organelos (mitocondrias, ribosomas, lisosomas, etc.) que realizan las diferentes actividades requeridas para el funcionamiento

adecuado de la célula.

El núcleo.- es la estructura más importante para la vida celular, pues allí se encuentra "la computadora central" que dirige todo el funcionamiento celular. En el núcleo se encuentra una macromolécula llamada ADN (ácido desoxirribonucleico) que almacena toda la información necesaria para que la célula viva.

Se mencionan algunas diferencias entre las células de los hongos y las células de las plantas y animales:

- a) los núcleos celulares de los hongos son muy pequeños;
- b) el retículo endoplásmico (RE) está esparcido y no está empaquetado;
- c) los ribosomas están distribuidos por todas partes y no a lo largo del RE;
- d) las vacuolas frecuentemente aparecen en las células de los hongos, sin embargo no alcanzan el tamaño de las vacuolas en células maduras como en las plantas;
- e) presencia de lomasomas, estas estructuras aparecen entre la membrana celular (plasmalema) y la pared celular;
- f) la pared celular determina la forma de la célula y garantiza su estabilidad e independencia;
- g) una célula en una hifa está separada de otras células por una pared transversal o septum. En los hongos Ascomiceto, los septa están perforados con uno o unos pocos poros, los cuales son lo suficientemente grandes que permiten el paso de núcleos y protoplasmas de una célula a otra.

### 3.1.2 Crecimiento de las hifas

El crecimiento de una colonia se inicia cuando una espora, bajo condiciones favorables germina y forma la hifa. Durante este proceso la espora absorbe agua a través de su pared, el citoplasma llega a ser activado, tomando lugar la división celular, se sintetiza más citoplasma, surge un rompimiento en la pared de la espora y de la pared crece un filamento con estructura tubular (hifa). Entonces la hifa se extiende por su parte apical, constituyendo el micelio, la estructura por la cual muchos hongos llegan a ser caracterizados.

El crecimiento de las hifas todavía no está entendido [Hunsley y Burnett, 1970]. Se sabe que la expansión de la hifa está confinada a la región apical [Grove, 1970] y en esta

zona se incorporan los materiales de una nueva pared; la evidencia de esto es el hecho de que no hay incremento en la distancia interseptal [Ainsworth y Sussman, 1965]. Así el crecimiento hifal refleja la formación de pared y citoplasma. Aunque las hifas más viejas no son capaces de crecer tienen un papel muy importante, el de mantener el crecimiento de la punta ya que nuevo citoplasma es formado en todas partes de la hifa y transportado a la punta.

Las puntas de las hifas se han dividido en tres regiones [Trinci, 1971], la figura III.2 ilustra estas regiones:

a.- La zona apical de 8-10  $\mu\text{m}$  en longitud, en la cual ocurre todo el crecimiento y toma lugar la acumulación de vesículas citoplásmicas.

b.- La región subapical, rica en componentes citoplásmicos y vesículas conocida como la zona de crecimiento periférico.

c.- La zona de vacuolación, la cual está caracterizada por la presencia de muchas vacuolas y la acumulación de lípidos.

### 3.1.3 Tasa de crecimiento

El protoplasma en la hifa necesita incrementarse en volumen a fin de abastecer el avance de la punta. Zalokar [Zalokar, 1959] encontró para la *Neurospora crassa*, que la hifa debe tener una longitud de al menos 12 mm para sintetizar suficiente citoplasma para mantener la tasa alta de elongación. Ya que la longitud de la hifa se incrementa a una tasa lineal, entonces el ancho de la zona de crecimiento periférico no varía significativamente con el tiempo.

Las primeras hifas formadas de una colonia joven tienen una tasa de crecimiento que se incrementa gradualmente hasta una tasa de crecimiento máxima que es establecida para cada hifa. La tasa de crecimiento permanece constante si su crecimiento no llega a reducirse por factores ambientales. Una hifa secundaria alcanza una tasa de crecimiento máxima pero ésta es usualmente más baja que la tasa de crecimiento de una hifa primaria. Se obtiene una tasa de crecimiento máxima cuando las condiciones del cultivo son óptimas o al menos favorece un gran número de procesos metabólicos.

En general en el crecimiento de los hongos se pueden distinguir tres fases, una fase exponencial seguida por una fase lineal y finalmente una fase de desaceleración del crecimiento.

#### **3.1.4 Factores que influyen en el crecimiento**

Se sabe que el crecimiento de las hifas es el resultado de muchos factores interactuando nutricionalmente y ambientalmente. Entre las condiciones ambientales por las cuales los hongos pueden ser afectados están la composición química del medio de cultivo, el grado de humedad, la presencia de oxígeno, luz o la temperatura y muchos otros. Además las radiaciones afectan muchos aspectos de su desarrollo, reproducción y crecimiento.

#### **3.1.5 Efectos reportados de la radiación UV y ionizante**

Dennis Rosen [Rosen, 1987] midió los efectos en la tasa de crecimiento de las hifas del hongo *Neurospora crassa* al ser irradiadas con rayos X y UV.

Las irradiaciones con rayos X se hicieron utilizando una máquina de rayos X de 220 kVp a tres tasas de dosis (1000, 2500 y 5700 cGy/min). Encontró que a una misma dosis hay una mayor inhibición en el crecimiento al aumentar la tasas de dosis a partir de 3500 cGy. También encontró mayor inhibición a dosis altas y la dosis letal para el crecimiento es alrededor de 4500 cGy.

Para las irradiaciones con luz UV Rosen encontró resultados cualitativamente similares a los de los rayos X. Obtuvo un espectro de acción que consistió en graficar el cociente entre la tasa de crecimiento después de la irradiación con la tasa de crecimiento antes de la irradiación contra longitudes de onda del UV, y sugiere que la longitud de 250 nm inhibe el crecimiento. Además, su espectro de acción es parecido a un espectro de absorción de UV de una proteína típica.

Zalokar [Zalokar, 1959] encontró que al exponer hifas de *Neurospora crassa* a luz UV hay una disminución de la tasa de crecimiento de las hifas, recuperando su valor inicial pocos minutos después de la irradiación, encontrándose que la fluencia letal mínima es de 54000  $\mu\text{J}/\text{cm}^2$ .



La intensidad de la radiación ionizante o el tiempo de exposición pueden ser muy importantes en determinar el efecto producido. Excelentes discusiones de estos factores en las investigaciones biológicas han sido presentados por Lea y Gray et al [Lea, 1946].

El factor tiempo-intensidad es importante, y al mismo tiempo difícil de tratarlo en experimentos por diferentes razones:

1.- Si ocurre recuperación de la célula a los efectos de la radiación, éste puede empezar inmediatamente después de que los primeros efectos son producidos y continúa durante la irradiación.

2.- Un cierto efecto biológico detectable puede depender de la interacción entre los productos de dos o más efectos primarios. Si éstos son sujetos a recuperación durante el periodo de irradiación, dosis pequeñas producirán poco o nada de efecto, independientemente de si sea dada en un periodo corto de tiempo a alta intensidad o en un periodo largo a baja intensidad, debido a que los cambios primarios son pocos o están lo suficientemente separados como para que haya poca o ninguna interacción; al aumentar la dosis hay más posibilidad de que ocurra interacción y el efecto observado va a aumentar.

3.- Ya que las células son dinámicas y no estáticas, el efecto biológico no puede ser determinado inmediatamente después de la irradiación sino en alguna fase posterior del estado fisiológico y morfológico de la célula, y puede ser máximo por un breve periodo de tiempo, los resultados pueden depender frecuentemente del tiempo después de la irradiación al cual se hace la determinación. Conforme la irradiación llega a ser menor en intensidad y más prolongada en tiempo, la elección del tiempo apropiado al cual el efecto es determinado es más y más difícil.

4.- La célula y sus partes sufren una serie de cambios cíclicos en su naturaleza física y química durante la mitosis; irradiaciones largas incrementan la oportunidad de que se reciba radiación durante una etapa sensible en el ciclo mitótico, mientras que una irradiación breve decrecería esta posibilidad. Aunque los procesos de recuperación de la célula empiezan tan pronto como el primer efecto de la radiación es producido, el daño a la célula durante el periodo va a ocurrir a una tasa mayor que la recuperación y el efecto máximo residual se tendrá al final del periodo de irradiación. A partir de este tiempo va a haber recuperación gradual hasta que la capacidad de la célula sea restaurada a su estado original. Si la tasa de dosis es baja va a haber equilibrio entre el daño y la recuperación poco después de empezar la irradiación.

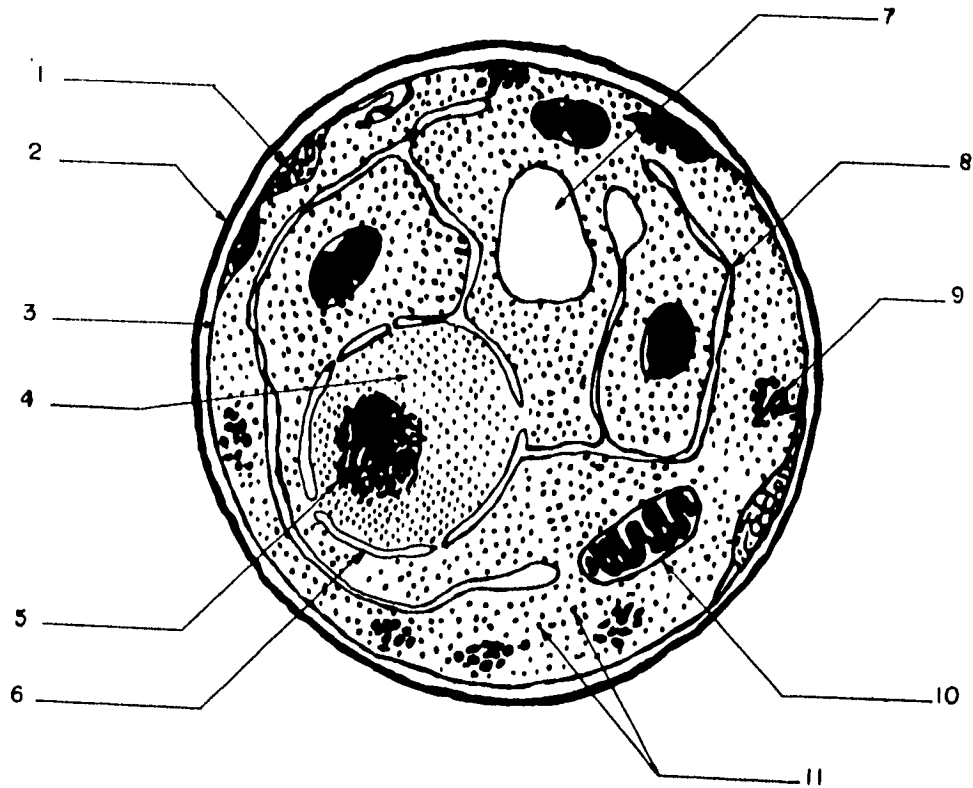


Fig. III.1. Diagrama de una sección transversal de una célula de hongo típica mostrando algunas de sus estructuras: lomasomas (1), membrana celular (2), plasmalema (3), núcleo (4), nucleolos (5), envoltura nuclear (6), vacuola (7), glicógeno (8), retículo endoplásmico (9), mitocondria (10) y ribosomas (11).

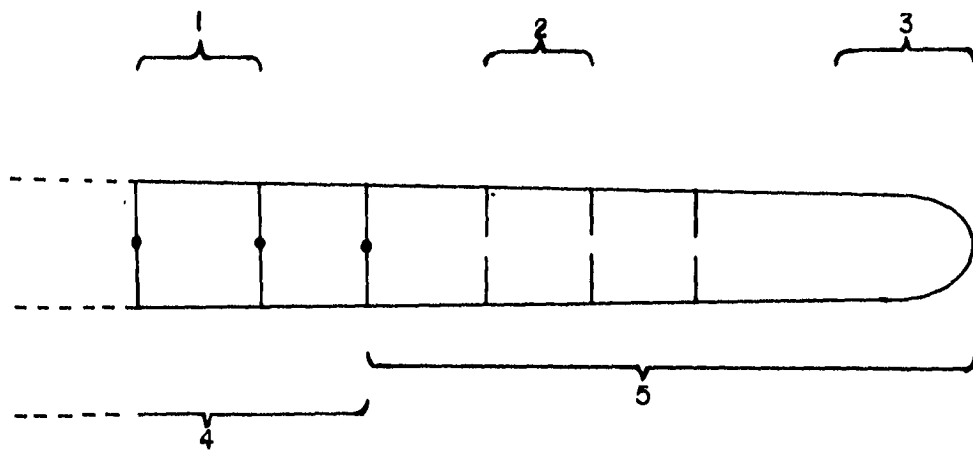


Fig. III.2. Representación de la zona de crecimiento periférica y elongación de una hifa septada. Las regiones en que se dividen las hifas:

- 1.- Septa con poros tapados para evitar el transporte de protoplasma entre septas.
- 2.- Septa con poros centrales no tapados lo cual permite el transporte de protoplasma.
- 3.- Región en donde la hifa crece en longitud (zona de elongación o apical).
- 4.- Región de la hifa en la cual el protoplasma no contribuye a la elongación.
- 5.- El protoplasma producido en esta zona contribuye a la elongación de la hifa (zona de crecimiento periférica).

# Capítulo IV

## Determinación experimental de fluencia (UV) y tasa de dosis

El objetivo de este capítulo es describir los dispositivos experimentales, las características de las fuentes así como la determinación de la zona de irradiación (que debe ser adecuada para las dimensiones de los bloques de gel que contienen a las hifas del hongo) para luz UV, rayos  $\gamma$  y rayos  $\beta$ . También se describe la manera en que se cuantifican la fluencia (luz UV) y la dosis (rayos  $\gamma$  y partículas  $\beta$ ).

### 4.1 Radiación UV

#### 4.1.1 Lámpara UV

Para las irradiaciones con luz UV se usó una lámpara de luz UV de onda corta (modelo UVSL-25, 254/366 nm de 4 Watts), la cual, se considera casi exclusivamente radiación de longitud de onda de 2537 Å (254 nm), tiene una alta eficiencia en la producción de esta radiación y muy baja producción de radiación visible.

#### 4.1.2 Dispositivo de irradiación

La lámpara de UV se coloca sobre un anillo de fierro que se sujeta a un soporte universal y se alinea horizontalmente la base de la lámpara con respecto a la zona de irradiación. Se puede variar la distancia entre la fuente y la zona de irradiación. La zona de irradiación es el sitio en el cual se coloca la muestra a irradiar o el radiómetro, esto se muestra en la figura IV.1.

#### 4.1.3 Calibración de la lámpara de UV

Para las medidas de tasa de fluencia  $\psi$  ( $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ) de la lámpara de UV a diferentes distancias se usó un detector de intensidad de luz UV de onda corta (en lo futuro "radiómetro") Black-Ray J 225, el cual tiene una celda fotovoltaica sensible a la longitud de onda de 2537 Å. Las dimensiones de la celda son 3 cm de ancho por 5 cm de largo. Ver figura IV.2.

### Medición de la tasa de fluencia como función de la distancia

Las medidas de fluencia se hicieron a distancias lámpara radiómetro de 0.8-10 cm. La distancia mínima de acercamiento a la fuente es de 0.8 cm debido a que las paredes del radiómetro impiden más acercamiento. y la distancia máxima es de 10 cm ya que por arriba de ésta el radiómetro no detecta fluencia.

Se encontró experimentalmente que la tasa de fluencia  $\psi$  ( $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ) está relacionada con la distancia,  $r$  (cm), por la siguiente expresión analítica

$$\psi(\mu\text{W}/\text{cm}^2) = 519.3(\mu\text{W}/\text{cm}) \frac{1}{r^{1.07}(\text{cm})} \quad (21)$$

Se esperaba que su comportamiento no fuera como  $\sim 1/r^2$ , ya que tanto la fuente como el detector no son puntuales. Se muestra en la figura IV.3 la curva obtenida, además se incluye en la gráfica una relación entre tasa de fluencia y distancia que va como  $1/r^2$  que correspondería al caso puntual.

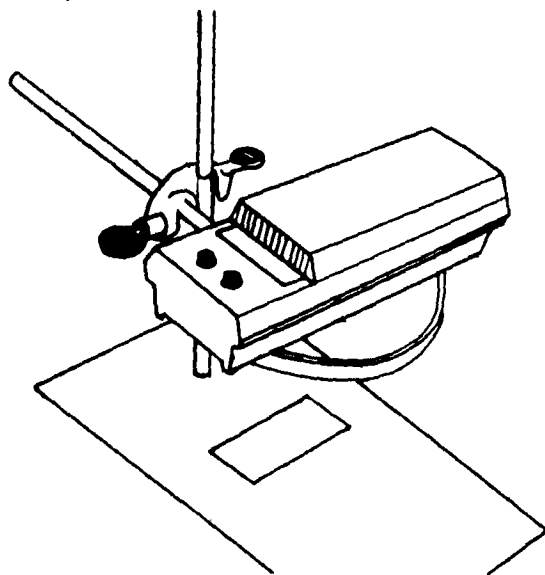


Fig. IV.1. Dispositivo experimental para las irradiaciones con luz UV. Se marca la zona de irradiación, que es el sitio en donde se colocaron los bloques de gel o el radiómetro.

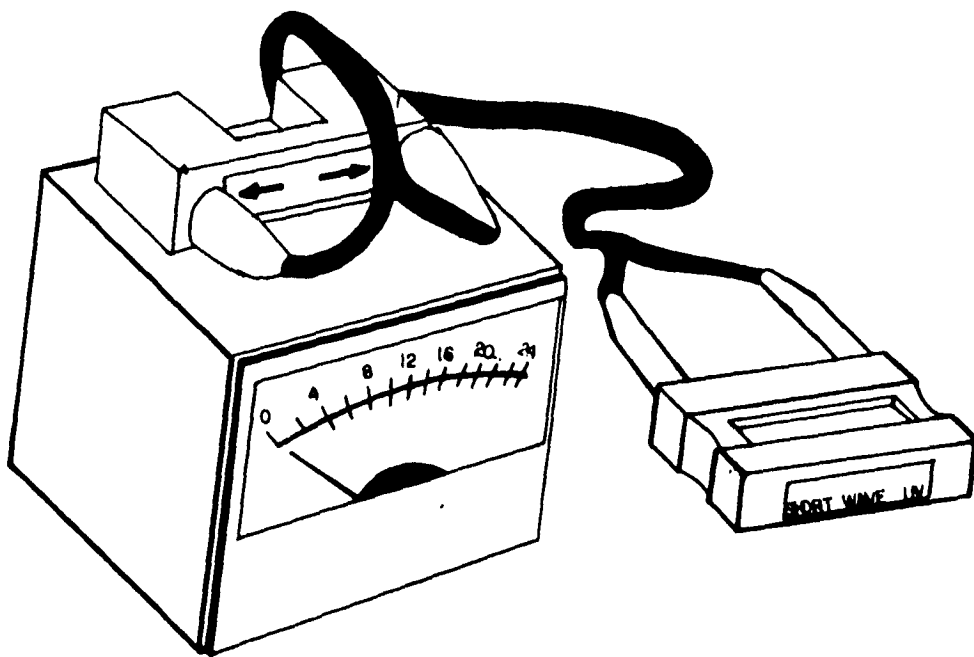


Fig. IV.2. El radiómetro con la celda fotovoltaica empleado para las medidas de fluencia de luz UV.

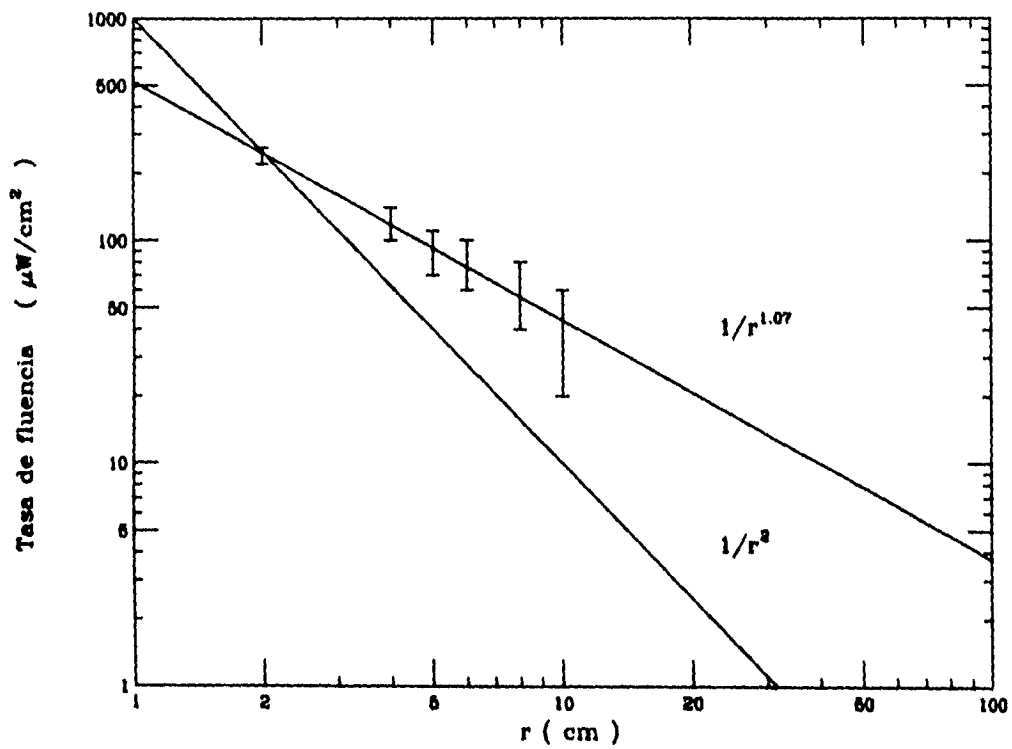


Fig. IV.3. Medidas de tasa de fluencia  $\psi$  ( $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ) contra distancia  $r$ (cm) para la lámpara de luz UV. Las escalas horizontal y vertical son logarítmicas. Se grafica, además, un comportamiento de fluencia que va como  $1/r^2$ .

### Medición de la fluencia como función del tiempo (vida media de la lámpara)

Se lleva un control del tiempo de uso de la lámpara de UV; esto se hace midiendo la tasa de fluencia para una posición y distancia fija entre el detector de UV y la lámpara. Se grafica esta tasa de fluencia contra el tiempo de uso (figura IV.4), lo cual servirá para corregir los datos experimentales de fluencia. Esta variación en el rendimiento de la lámpara se debe al desgaste del filamento.

La ecuación analítica que relaciona el tiempo de uso ( $t_{uso}$ ) contra la la fluencia de acuerdo a los resultados que se muestran en la figura IV.4 es

$$\psi = 366.6 \mu\text{W}/\text{cm}^2 e^{-(1.26 \times 10^{-3} \text{min}^{-1})t_{uso}(\text{min})}, \quad (22)$$

La vida media ( $t_{1/2}$ ), se define como el tiempo que tarda en reducir su fluencia ( $\psi$ ) a la mitad ( $\psi/2$ ).

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{1.26 \times 10^{-3} \text{min}^{-1}} \quad (23)$$

por lo tanto, el valor de vida media de la fuente de UV es de

$$t_{1/2} = 550 \text{ min}$$



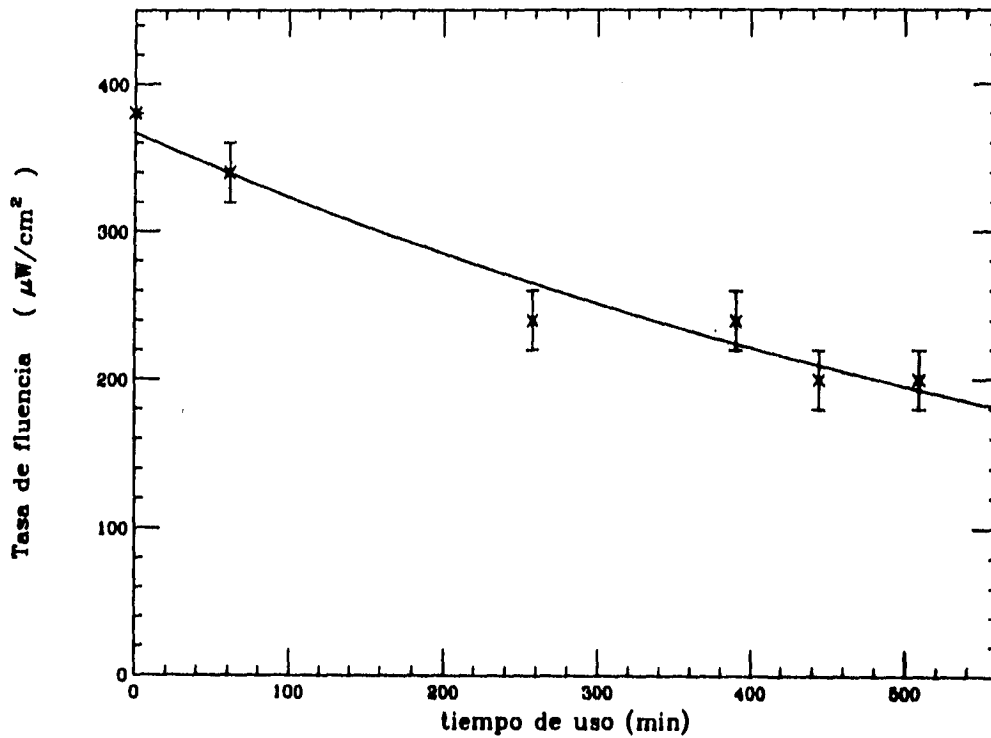


Fig. IV.4. Variación de la tasa de fluencia de la lámpara UV debido al tiempo de uso.

#### 4.1.4 Medición del coeficiente de atenuación de la luz UV en el material irradiado

Para medir el coeficiente de atenuación del UV en el gel (medio de cultivo) se hacen medidas de la tasa de fluencia de la luz después de atravesar una cavidad, tanto con la cavidad vacía ( $\psi_0$ ) como llena con gel ( $\psi$ ). Se utilizan placas delgadas de cartón opacas al UV, cada placa contiene una cavidad de diferente profundidad ( $x$ ), igual área y con una base que cubre la cavidad. La base es de plástico delgado translúcido al UV. La placa se pone entre la fuente y el radiómetro con la cavidad sobre la celda del radiómetro.

Se determina el coeficiente de atenuación con la expresión [Jenkins, 1976]

$$\mu = -\frac{1}{x} \ln \frac{\psi}{\psi_0} \quad (24)$$

que es consecuencia directa de la ecuación (1).

La tabla IV.1 muestra los distintos valores del coeficiente de atenuación del UV en el gel ( $\mu$ ) para distintas profundidades de la cavidad

Tabla IV.1

$x$ (mm)	$\psi_0$ ( $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ )	$\psi$ ( $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ )	$\mu$ ( $\text{mm}^{-1}$ )
$0.838 \pm 0.028$	2000	20	5.5
$0.641 \pm 0.037$	2040	60	5.5
$0.621 \pm 0.013$	2040	40	6.3
$0.371 \pm 0.006$	2040	80	8.7

el valor promedio del coeficiente de atenuación para la luz UV en el medio de cultivo es de

$$\mu = 6.5 \pm 2.3 \text{ mm}^{-1}$$

## 4.2 Radiación ionizante (beta y gamma)

### Dosímetros TL

La tasa de dosis de las fuentes es determinada usando dosímetros termoluminiscentes de fluoruro de litio LiF:Mg,Ti (TLD-100) de dimensiones de  $3 \times 3 \times 0.9$  mm (cuadrados) y de  $1 \times 6 \times 1$  mm (barras) †. Todos los dosímetros TLD-100 recibieron un tratamiento térmico que consistió en hornearlos una hora a  $400^{\circ}\text{C}$ , y después hornearlos a  $75^{\circ}\text{C}$  durante ocho horas más [Horowitz, 1990]. La cantidad de dosímetros que recibieron este tratamiento fueron 30 TLD-100 cuadrados y 56 TLD-100 de barra.

### Sistema de lectura

Se utilizó un equipo lector termoluminiscente Harshaw 3500 para medir la señal termoluminiscente integrada en el tiempo emitida por los dosímetros TLD al ser calentados. Este equipo trabaja acoplado a una computadora (PC) en la que reside un software de adquisición de datos. En el módulo lector se encuentra la plancheta, zona en donde se colocan y se calientan los dosímetros; la luz emitida por el dosímetro al ser calentado llega a un tubo fotomultiplicador (FM) que la convierte en señal eléctrica, la amplifica e integra en el tiempo y se obtiene la carga total. Para integrar la señal se fija la rapidez con la cual serán calentados los dosímetros es decir, la tasa de calentamiento ( $q$ ) constante, así como un intervalo de temperatura, ventana de integración, para integrar la señal desde una temperatura inicial ( $T_1$ ), hasta una temperatura final ( $T_2$ ), la señal emitida por debajo de  $T_1$  y por arriba de  $T_2$  no contribuye a la señal termoluminiscente integrada, además dentro de este intervalo se encuentra la curva de brillo. En este equipo  $T_1$  es fijado por la temperatura de precalentamiento (es decir el dosímetro será calentado desde la temperatura ambiente hasta la temperatura de precalentamiento  $T_1$  sin integrar la luz emitida). Desde la PC se controlan la temperatura de precalentamiento  $T_1$ , la temperatura máxima de adquisición  $T_2$ , el tiempo de integración  $t$ , la tasa de calentamiento  $q$  y el voltaje de operación del tubo FM. Además se crea un archivo de 200 pares de datos con la información de la curva de brillo, temperatura y señal TL, en el intervalo de integración.

† Solon Technologies, Inc., 6801 Cochran Road, Solon, OH 44139.

Las condiciones de lectura de los dosímetros fueron

- 1) Temperatura de precalentamiento  $T_1=100^\circ\text{C}$
- 2) Temperatura final de adquisición  $T_2=300^\circ\text{C}$
- 2) Tiempo de integración  $t=20$  seg
- 3) Tasa de calentamiento  $q=10^\circ\text{C}/\text{seg}$
- 4) Voltaje de operación del tubo fotomultiplicador = 891 V

En la figura IV.5, se muestra la curva de brillo de un dosímetro TLD-100 irradiado con partículas  $\beta$ , leído de  $100^\circ\text{C}$  a  $300^\circ\text{C}$  a una tasa de calentamiento de  $10^\circ\text{C}/\text{s}$ .

Es importante establecer una referencia sobre el funcionamiento del equipo. Para esto, cada vez que se utiliza se verifica que el equipo tenga las condiciones descritas anteriormente y se obtiene una lectura de referencia y de plancheta. La lectura de referencia consiste en sacar la plancheta; al hacerlo una lámpara (que tiene una intensidad constante en el tiempo) quedará inmediatamente debajo del tubo fotomultiplicador. Si no hay variación en esta lectura se puede suponer que el equipo está trabajando bien. La lectura de plancheta consiste en obtener el valor de la señal luminosa que emite la plancheta cuando no tiene dosímetros. Si se llegara a encontrar sucia, por ejemplo, podría dar un aumento en la lectura.

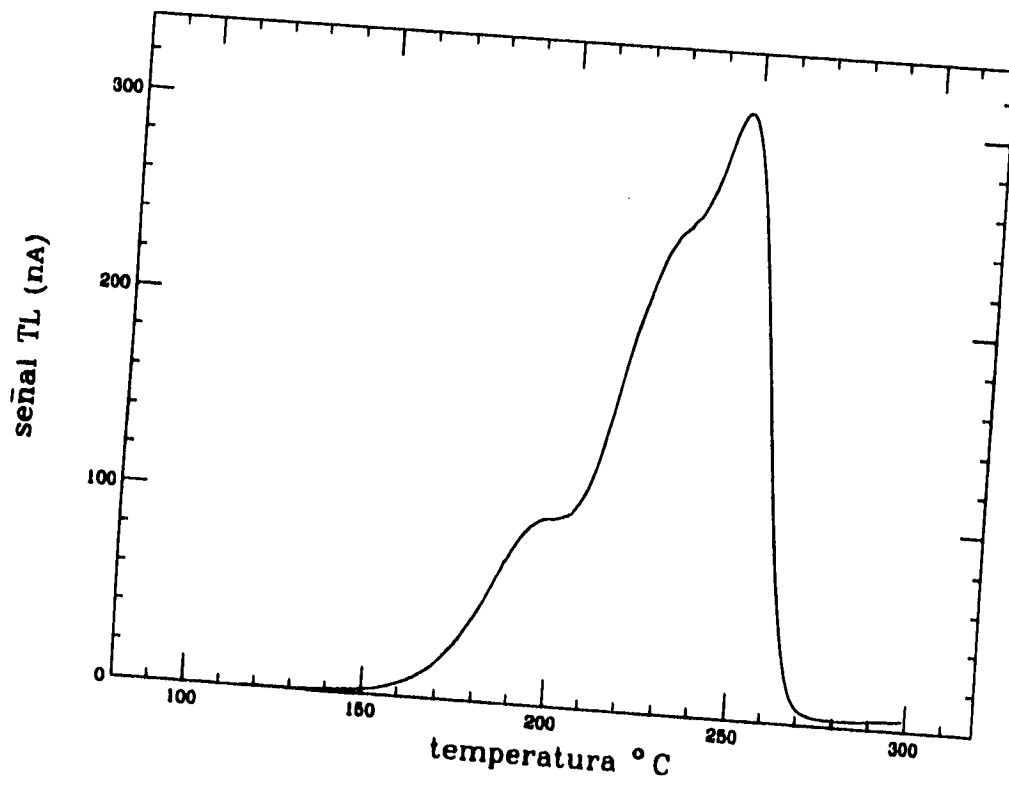


Fig. IV.5. Curva de brillo de un dosímetro TLD-100 irradiado con partículas  $\beta$ .

#### 4.2.1 Fuente de radiación $\beta$

##### Características

La fuente radiactiva  $\beta$  de  $^{90}\text{Sr}$  se encuentra dentro de un contenedor cilíndrico de lucita; situada al final de un hueco cilíndrico en la lucita de 1.8 cm de profundidad y 1.2 cm de diámetro. Además, el contenedor está cubierto por una capa delgada de aluminio.

En la figura IV.6 se muestra el esquema de decaimiento del isótopo  $^{90}\text{Sr}$ . Los núcleos de  $^{90}\text{Sr}$  tienen una vida media de 28.1 años, decaen a  $^{90}\text{Y}$  (Itrio-90) con una vida media de 64 hr, el cual decae a  $^{90}\text{Zr}$  (Circonio-90) estable.

El  $^{90}\text{Sr}$  y el  $^{90}\text{Y}$  son emisores de partículas betas, con energías máximas de 0.55 MeV para el 100% de los decaimientos del  $^{90}\text{Sr}$  y 2.27 MeV para un 99% de los decaimientos del  $^{90}\text{Y}$ .

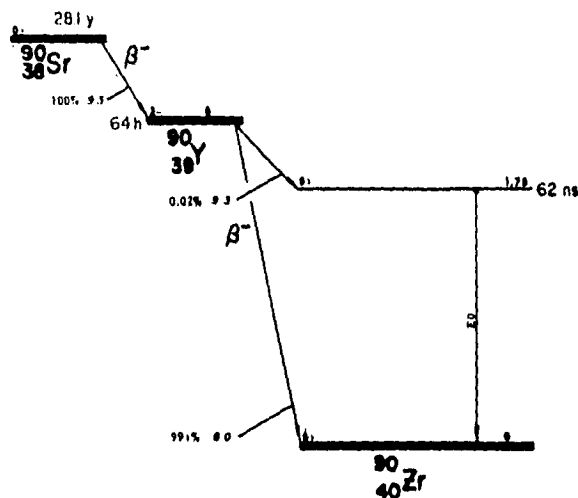


Fig. IV.6. Esquema de decaimiento para el  $^{90}\text{Sr}$ . Se muestran la vida media y el porcentaje de cada decaimiento  $\beta$  para el  $^{90}\text{Sr}$  y  $^{90}\text{Y}$  [Hayashi, 1994].

En la tabla IV. 2, se muestran algunas de las propiedades del  $^{90}\text{Sr}$ .

Tabla IV.2 [Shapiro, 1990]

Vida media (años)	28.1
Energía máxima de $\beta$ (MeV)	2.27 <sup>a</sup>
Energía promedio de $\beta$ (MeV)	1.13 <sup>b</sup>
Máximo alcance en aire (cm)	884
Máximo alcance en un material de $\rho = 1 \text{ gr/cm}^3$ (cm)	1.1
Máximo alcance en LiF ( $\rho = 2.635 \text{ gr/cm}^3$ ) (cm)	0.4
Capa hemirreductora, en absorbedor de densidad uno (cm)	0.14
Tasa de dosis de 100 partículas /cm <sup>2</sup> seg ( $\mu\text{Gy/lr}$ )	110

- a. Es del producto de decaimiento del  $^{90}\text{Y}$ . El  $^{90}\text{Sr}$  emite betas máximas de 0.55 MeV
- b. Es la suma de las energías promedio del  $^{90}\text{Sr}$ (0.196 MeV) y del  $^{90}\text{Y}$ (0.93 MeV).

### Dispositivo de irradiación

Como el sistema biológico a irradiar, *Neurospora crassa*, está creciendo en un bloque de gel que está en un portaobjeto y éste no entra en el orificio del contenedor de la fuente  $\beta$ , se diseñó un soporte de madera para sostener y mantener fijos al contenedor de la fuente y a los portaobjetos (fig. IV.7).

El soporte tiene hendiduras para sostener una charola, logrando así diferentes distancias entre la base del contenedor y la charola. Sobre la charola se coloca el portaobjeto.

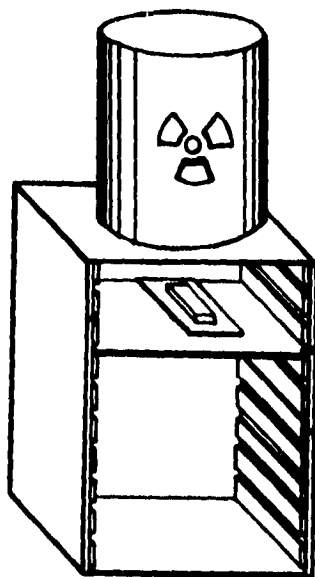


Fig. IV.7. Dispositivo de irradiación con la fuente  $\beta$  ( $^{90}\text{Sr}$ ) para las irradiaciones de dosímetros y portaobjetos con hifas.

### Homogeneidad del haz

Las irradiaciones se hacen con la más alta tasa de dosis que se pueda obtener con la fuente  $\beta$  y ésta la obtenemos a la menor distancia posible. Debido a las limitaciones debidas al contenedor, la mínima distancia posible a la cual se puede irradiar es de 2.7 cm, por lo tanto, los estudios de tamaño y homogeneidad del haz se hacen a esta distancia.

Se cubre con 24 dosímetros un área (centrada con respecto al eje del contenedor) de aproximadamente el tamaño del bloque de gel. Cada dosímetro tiene forma de barra. Se llena esa área colocando los dosímetros de dos maneras, la primera, se hacen dos filas horizontales de 6 dosímetros cada fila y se irradian con la fuente  $\beta$  durante 1 minuto, segunda, se hacen dos filas verticales de 6 dosímetros cada fila y se irradian con la fuente



$\beta$  durante 1 minuto.

La figura IV.8 muestra las tres regiones de isodosis para el área central de  $12 \times 12$  mm. Los valores de respuesta para cada región están dados en respuesta termoluminiscente por unidad de masa, la cual es proporcional a la dosis, como se observa en la figura IV.9.

La respuesta que se determinó en la región del centro es de

$$40.1 \pm 1.2 \text{ nC/mg}$$

con una dispersión de un 3%.

Para la región intermedia el valor de respuesta que se determinó es de

$$37.8 \pm 1.5 \text{ nC/mg}$$

con una dispersión de 4%.

La respuesta determinada en la región externa de

$$32.5 \pm 2.7 \text{ nC/mg}$$

tuvo una dispersión del 8%.

De los resultados anteriores se determina el área central de  $6 \times 6$  mm como la zona de irradiación óptima debido a la homogeneidad del haz.

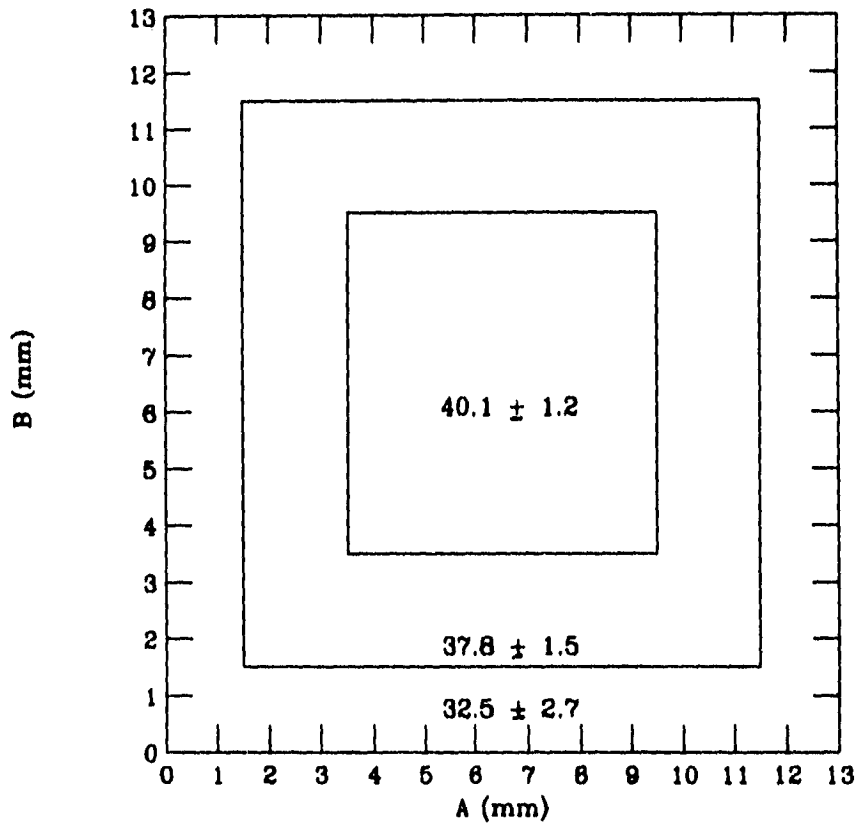


Fig. IV.8. Regiones de isodosis para la fuente  $\beta$ . Se muestra el promedio de la respuesta termoluminiscente para cada región.

### Calibración

Para realizar la calibración de la fuente radiactiva de  $^{90}\text{Sr}$  se irradian 7 dosímetros con una fuente de  $^{60}\text{Co}$  calibrada en tasa de dosis ( $7.28 \mu\text{Gy/s}$ , dic 93 [Buenfil, 1993]) que pertenece al laboratorio de dosimetría del IFUNAM. Se puede usar la fuente de  $^{60}\text{Co}$  para calibrar la fuente  $\beta$  porque la eficiencia relativa  $\eta_{\gamma,\beta}$  entre  $\gamma$  de  $^{60}\text{Co}$  y  $\beta$  de  $^{90}\text{Sr}$  es igual a uno (sección 2.4.2).

La curva de calibración se muestra en la figura IV.9 que corresponde a una gráfica de respuesta termoluminiscente por unidad de masa (nC/mg) contra dosis (cGy). Los puntos corresponden a la respuesta de los dosímetros irradiados a dosis de 1, 6 y 12 cGy.

La pendiente de la recta en la curva de calibración corresponde a la sensibilidad de los dosímetros  $\alpha$  (nC/mg cGy), donde experimentalmente se encontró que

$$\alpha = 3.68 \text{ nC/mg cGy}$$

y

$$\eta = -0.55 \text{ nC/mg}$$

con  $\alpha$  y  $\eta$  la pendiente y la ordenada de la recta experimental, respectivamente. La relación experimental entre la dosis ( $D$ ) y la respuesta ( $R$ ) es

$$R = \alpha D + \eta$$

La calibración de la fuente  $\beta$  se hace en la zona de irradiación que se determinó en el análisis anterior y a la misma distancia de la fuente. Se colocan 6 dosímetros en la zona de irradiación y se irradian por 1 minuto, obteniéndose

$$R = 33.78 \pm 1.81 \text{ nC/mg}$$

y usando el valor de  $\alpha$  y  $\eta$  se obtiene la tasa de dosis en la zona de irradiación de

$$\dot{D} = 9.3 \pm 0.64 \text{ cGy/min}$$

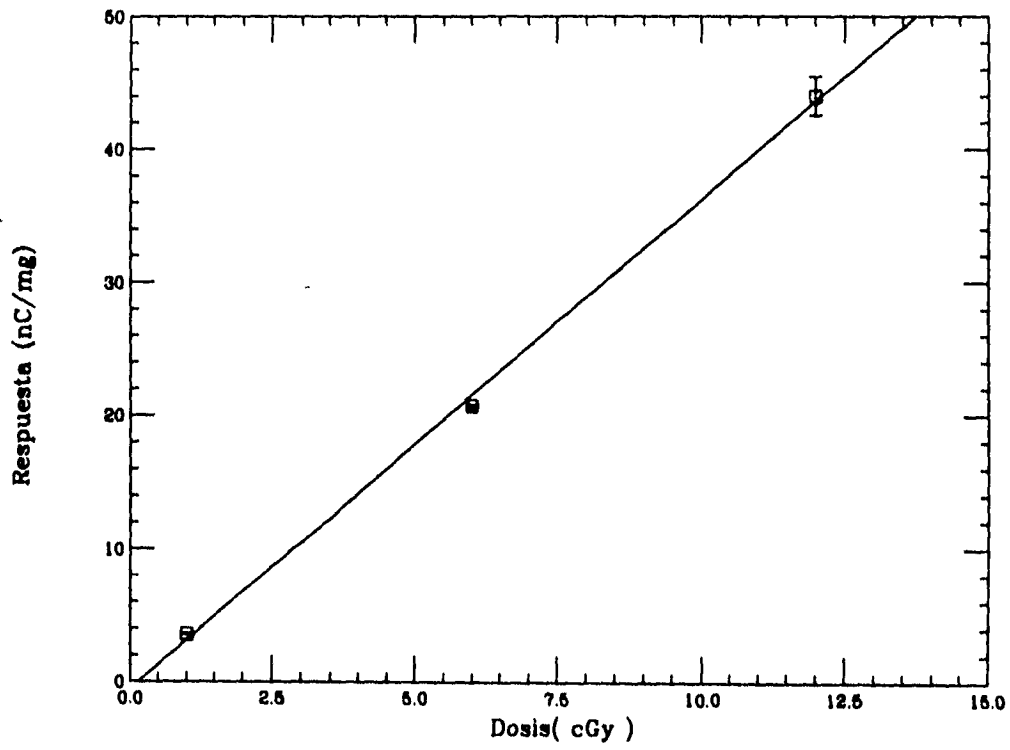


Fig. IV.9. Curva de calibración obtenida con rayos  $\gamma$  de  $^{60}\text{Co}$ .

## Fuente de radiación $\gamma$

### Características

Se emplea el irradiador Gammacell 200 (Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM). Esta unidad fue fabricada por la compañía Atomic Energy of Canada, Ltd. y consta de las partes mostradas en la figura IV.10.

En este tipo de irradiador la fuente de  $^{60}\text{Co}$  se ubica en el interior del blindaje de plomo. La cavidad para la irradiación se localiza en un émbolo de acero inoxidable que sube y baja, accionado por un motor eléctrico, hasta la posición de la fuente. La cavidad tiene forma cilíndrica con las dimensiones: diámetro 8.8 cm y altura 14 cm. El émbolo tiene un orificio de 3 cm de diámetro por medio del cual es posible introducir cables o tubos delgados para la irradiación de líquidos a flujo continuo o en dispositivos especiales. La unidad tiene controles para subir automáticamente el émbolo después de un tiempo fijado previamente o en el momento que se quiera.

En la tabla IV.3, se muestran algunas de las propiedades del  $^{60}\text{Co}$ .

Tabla IV.3 [Shapiro, 1990]

Vida media (años)	5.3
Energía $\beta$ máxima (MeV)	0.31
Energía $\beta$ promedio (MeV)	0.094
Energía $\gamma$ (MeV)	1.17 (100%) 1.33 (100%)
Capa hemireductora (para $\gamma$ )	
Plomo (cm)	1.1
Agua (cm)	11
Tasa de dosis de 100 fotones por $\text{cm}^2$ seg ( $\mu\text{Gy/hr.}$ )	0.45

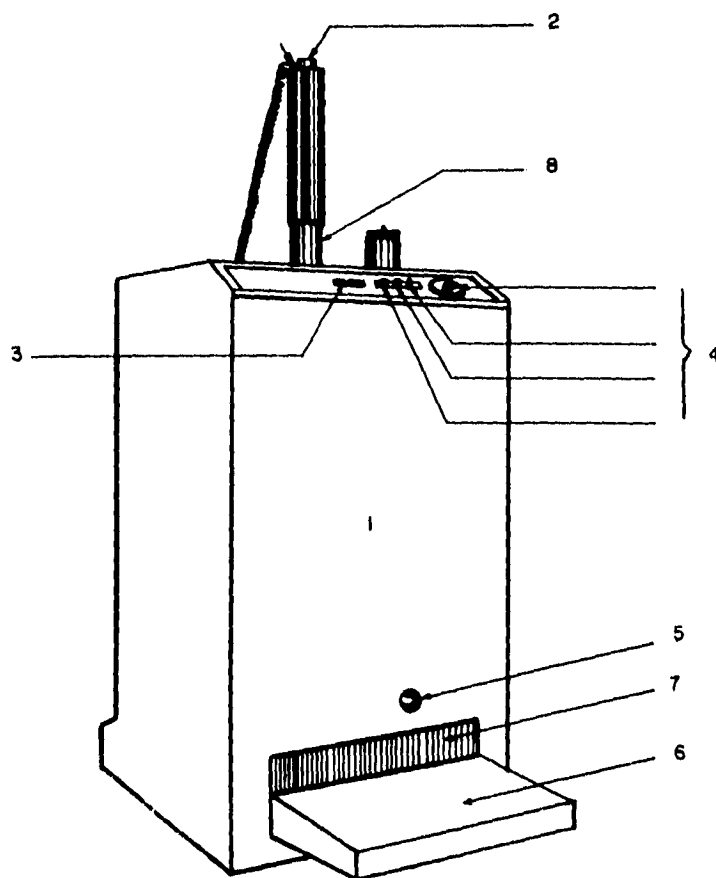


Fig. IV.10. Irradiador Gammacell 200 (Instituto de Ciencias Nucleares UNAM). La unidad consta de un conjunto de fuentes de  $^{60}\text{Co}$  que se encuentran en el interior del blindaje (1). El émbolo en donde está la cavidad tiene un orificio (2) donde es posible introducir cables o tubos delgados para la irradiación de líquidos a flujo continuo o en dispositivos especiales. En el tablero (3) de la unidad se encuentran los controles (4), tanto para accionar el émbolo, como para la medición automática del tiempo de irradiación. Se tienen, un control manual del émbolo (5), un escalón de acceso (6), un interruptor de seguridad (7) y la tapa de la cavidad (8).

El siguiente diagrama (figura IV.11) corresponde al decaimiento del radioisótopo  $^{60}\text{Co}$ . Se indican con flechas las distintas posibilidades de que el  $^{60}\text{Co}$  decaiga en  $^{60}\text{Ni}$  (Níquel-60) estable o excitado. El 99% del  $^{60}\text{Co}$  emite al decaer partículas  $\beta$  de energía máxima de 0.31 MeV quedando el  $^{60}\text{Ni}$  en un estado excitado de 2.5 MeV. El níquel consigue su estabilidad emitiendo dos rayos  $\gamma$  consecutivos con energías de 1.17 MeV para el primero y 1.33 MeV para el segundo. Las partículas  $\beta$  son detenidas por el contenedor de las fuentes de  $^{60}\text{Co}$ .

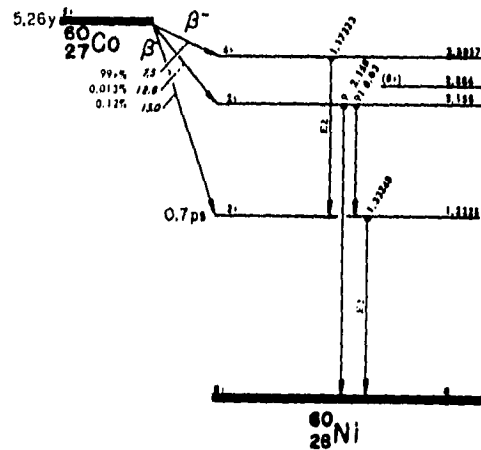


Fig. IV.11. Diagrama de decaimiento para el radioisótopo  $^{60}\text{Co}$  [Hayashi, 1994].

### Dispositivo de irradiación

La siguiente figura IV.12, es una ampliación de la cavidad en el émbolo del Gamma-cell 200 mostrando la posición en donde van los bloques de gel (zona de irradiación). Se elige el centro de la base de la cavidad para colocar los bloques de gel y la zona donde se realiza la dosimetría. El tiempo de irradiación se controla automáticamente.

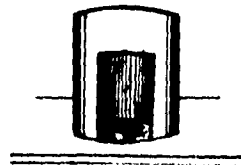


Fig. IV.12. Vista ampliada de la cavidad del émbolo del irradiador.

## Homogeneidad del haz

Nueve dosímetros cuadrados son colocados en el centro de la cavidad, para ser irradiados, cubriendo un área de  $9 \times 9$  mm. Previo a la irradiación son desexcitados los dosímetros cuadrados (es decir se leen los dosímetros en el equipo termoluminiscente en las condiciones establecidas, para eliminar cualquier señal que hayan adquirido en el tiempo comprendido entre el horneado y la irradiación). Se irradiaron 9 dosímetros en el Gammacell 200 durante un minuto y análogo a lo anterior se irradiaron otros 9 dosímetros durante dos minutos. Los dosímetros se colocaron entre dos placas de lucita de espesor de 4 mm; para conseguir EPC ya que su  $Z$  es suficientemente similar a la del LiF (sección 2.2). Cada paquete se colocó en el centro de la cavidad y fue forrado con plástico negro.

La respuesta que se determinó en el centro de la cavidad para un minuto de exposición es de

$$840 \pm 10 \text{ nC/mg}$$

con una dispersión de 1.2 %.

La respuesta para dos minutos de exposición es de

$$1720 \pm 50 \text{ nC/mg}$$

con una dispersión de 2.9 %.

De la baja dispersión en los resultados anteriores se determina el área completa de  $9 \times 9$  mm como la zona de irradiación debido a la homogeneidad del haz.

## Calibración

Para realizar la calibración del irradiador Gammacell 200, se irradiaron dosímetros cuadrados con una fuente de  $^{60}\text{Co}$  calibrada (la misma que se usó en la calibración de la fuente  $\beta$ ) a dosis de 1, 150 y 303 cGy. Se obtuvo una curva de calibración (figura IV.13), graficando la respuesta de los dosímetros contra la respuesta termoluminiscente, la ecuación experimental que se obtuvo es

$$R = \alpha D + \eta \quad (25)$$

con  $\alpha = 3.82 \text{ nC/mg cGy}$ ,  $\eta = -15.92 \text{ nC}$  (la ordenada de la recta),  $R$  la respuesta termoluminiscente en nC/mg y  $D$  la dosis en cGy, así, la relación experimental entre



dosis y respuesta está dada por

$$D = \frac{R + 15.92}{3.82} \quad (26)$$

Los resultados obtenidos en la determinación de la homogeneidad del haz y la ecuación son usados para calcular la dosis y la tasa de dosis en la zona de irradiación. Los resultados se muestran en la tabla IV.4

Tabla IV.4

Tiempo de exposición (min)	Respuesta promedio (nC/mg)	Dosis (cGy)	Tasa de Dosis (cGy/seg)
1	840±10	224.1 ± 6.8	3.7 ± 0.1
2	1720±50	454.4 ± 17.3	3.8 ± 0.1

donde obtenemos la tasa de dosis de la fuente de  $^{60}\text{Co}$  del Gammacell en la zona de irradiación, con el promedio de las dos tasas de dosis calculadas, que es de

$$\dot{D} = 3.8 \pm 0.1 \text{ cGy/seg}$$

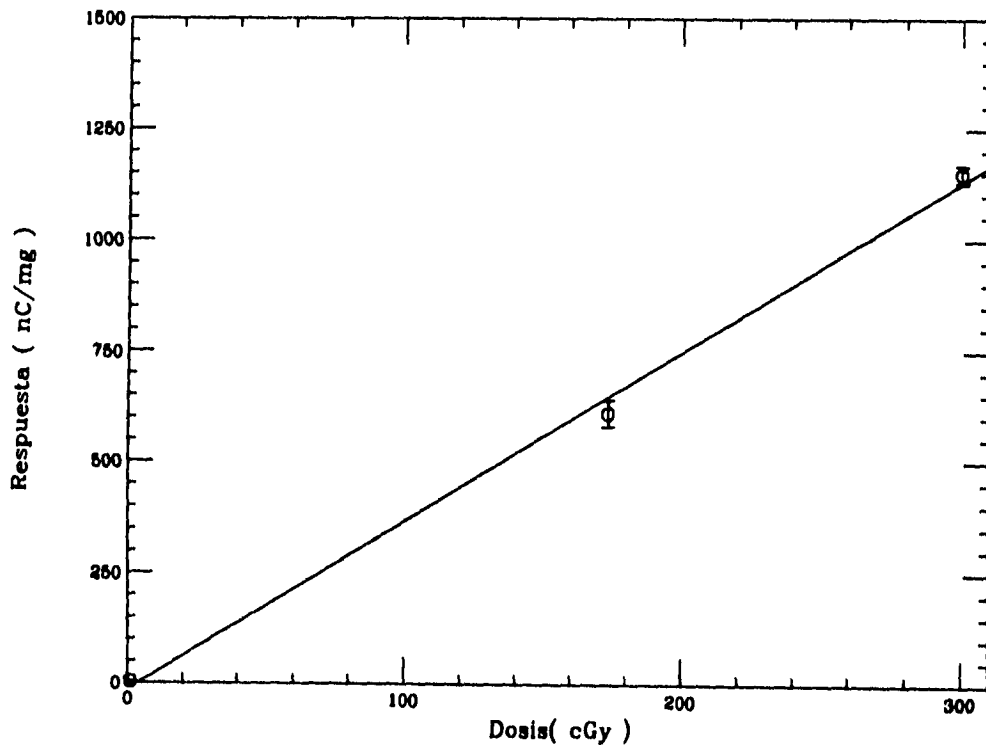


Fig. IV.13. Curva de calibración para los dosímetros TLD-100 irradiados con rayos  $\gamma$  de una fuente de  $^{60}\text{Co}$  calibrada.

# Capítulo V

## Respuesta del sistema biológico

El efecto de la radiación ionizante y luz UV observado en las hifas del hongo es la variación en su tasa de crecimiento. En este capítulo se describirá cómo se hicieron las medidas de tasa de crecimiento, así como la manera en que se definen las respuestas de las hifas a la luz UV y radiación ionizante a partir de los resultados obtenidos de las curvas de crecimiento.

### 5.1 Método experimental

#### 5.1.1 Cultivo del hongo *Neurospora crassa*

La cepa del hongo *Neurospora crassa*, se obtuvo de la American Type Collection, cepa ATCC 9277. Creció en un medio de cultivo comercial de agar con extracto de malta (Bioxón, cat 129).

Para preparar el medio de cultivo se suspenden 33.6 gr del polvo de agar con extracto de malta en un litro de agua destilada, mezclando perfectamente. Se calienta agitando frecuentemente y se hierve por un minuto hasta que se disuelve completamente. Se esteriliza en una autoclave a 15 psi (118-121°C) durante 20 minutos. Se vierten de 10 a 15 ml del medio así preparado en cajas de Petri de 10 cm de diámetro, sobre una llama [Zarzosa, 1995].

Inoculación: los cultivos originales se obtuvieron después de hidratar la cepa madre e incubarse en estufa a temperatura controlada de 25°C. A partir de éstos, se hicieron siembras seriadas transfiriendo esporas con una aguja de inocular al medio nutriente; estos cultivos fueron crecidos a temperatura ambiente. A partir de ahí, se hacen siembras diarias. Este trabajo se realizó en el laboratorio de Biofísica de la Facultad de Ciencias.

#### 5.1.2 Selección de la hifa

Para cada medio de cultivo se cortan con una navaja 4 bloques (colonia y medio) que se colocan en un portaobjetos. Después del corte se deja un tiempo, entre 15 a 30 minutos, para que se restablezcan las hifas del hongo fisiológicamente, ya que inicialmente no hay uniformidad en la tasa de crecimiento. El portaobjeto se coloca en el campo del

microscopio, para su observación, usando los objetivos de 20X y 40X. Cuando se van hacer medidas de tasa de crecimiento, se localiza una hifa primaria con ramita (ver sección 3.1.3) que esté creciendo en las periferias del micelio. La ramita servirá como origen desde el cual se mide el aumento en longitud de la hifa. Cada bloque debe contener micelio y área suficiente en donde pueda seguir creciendo la hifa. Las hifas deben tener una longitud de, al menos, 12 mm.

### **5.1.3 Medición de la tasa de crecimiento**

Ya elegida la hifa se procede a medir su tasa de crecimiento, lo que consiste en medir su aumento de longitud en intervalos de aproximadamente un minuto. Para hacer las medidas de longitud se usa una escala adaptada al ocular derecho del microscopio. El valor de una división de la escala está asociado con el objetivo que se esté empleando. Para los objetivos de 20X y 40X los valores son de 5  $\mu\text{m}$  y 2.5  $\mu\text{m}$  respectivamente. La escala se alinea con respecto a la hifa y el origen de la escala se ubica "sobre" el punto de referencia (la ramita de la hifa primaria), ya que es muy importante establecer un punto de referencia al iniciar las mediciones, pues de esta manera se corrobora la alineación de la hifa en estudio.

Las medidas de tasa de crecimiento para las hifas sin irradiar fueron de una hora de observación. Estas medidas de tasa de crecimiento sirven para verificar que bajo las condiciones establecidas y las condiciones ambientales del laboratorio las hifas tienen una tasa de crecimiento constante, como se observa en la figura V.1.

Las medidas de tasa de crecimiento para las hifas irradiadas, consisten en medir su longitud en intervalos de un minuto por un periodo de al menos 10 minutos y con esto se establece su tasa de crecimiento inicial. Una vez establecida esta tasa, se lleva el bloque a la zona de irradiación y se irradia durante el tiempo establecido. Se regresa al campo del microscopio y se localiza la misma hifa que se observaba antes de la irradiación para seguir midiendo su longitud en intervalos de un minuto, hasta completar una hora de observación.

### **Control de factores ambientales**

Mientras se obtienen medidas de crecimiento, se controlan la temperatura y la humedad en el laboratorio con un termómetro y un higrómetro, respectivamente. Se ha reportado para la *Neurospora crassa* que entre 4-35°C la tasa de crecimiento aumenta con la temperatura de manera lineal, en un 6 % por grado Celsius de variación a 20°C. La tasa de crecimiento disminuye al aumentar la temperatura entre 35°C y 44°C. Las tempera-

turas mínima y máxima para el crecimiento de *Neurospora crassa* son de 4 y 44 °C respectivamente [Ryan, 1943]. Para todas las observaciones la temperatura fue de 20°C aproximadamente, y la variación de la temperatura fue del orden de  $\pm 1^\circ\text{C}$  en nuestro laboratorio.

Los valores de humedad son muy variados para cada observación, sin embargo, ésta no afecta directamente a las hifas sino al medio de cultivo que tiende a researse ocasionando que la tasa de crecimiento varíe. La manera en que se evita que se reseque el medio de cultivo es tapando la caja petri y los bloques de medio se cortan dejando sólo el tiempo necesario para que se restablezca el hongo debido al corte. Se estima que las variaciones de humedad ambiental (5% durante una jornada de trabajo) no afectan de manera apreciable las medidas durante el periodo de observación de la hifa.

#### 5.1.4 Irradiación con luz UV

Las irradiaciones de las hifas se llevan a cabo en la zona de irradiación determinada para la fuente de UV (ver sección 4.1), con una tasa de fluencia de  $120 \pm 20 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  lo cual permitió que las irradiaciones no fueran de tiempos muy largos o muy cortos; el tiempo máximo de irradiación fue de 4 minutos.

La respuesta de una hifa al UV, se define como el cociente entre la menor tasa de crecimiento después de la irradiación ( $m_1$ ) con la tasa de crecimiento inicial ( $m_i$ ) (antes de irradiar).

$$R = \frac{m_1}{m_i} \quad (27)$$

Las irradiaciones se hicieron con valores de fluencia comprendidos en el intervalo de 2-30 mJ/cm<sup>2</sup>. La tabla V.1 muestra la respuesta promedio que se obtuvo con las hifas irradiadas a una misma dosis y las incertidumbres corresponden a la desviación estándar. Además se indican los valores de dosis que se obtuvieron utilizando la relación entre fluencia y dosis dada en el capítulo II. Se tiene que en la literatura no se reportan medidas de dosis para radiación UV, sin embargo, se hizo el cálculo de dosis con las siguientes suposiciones: el diámetro de las hifas es constante (12.5  $\mu\text{m}$ ), las hifas están en la superficie del gel y el coeficiente de atenuación de la hifa es de 6.5  $\text{mm}^{-1}$  (se supone que la hifa y el gel tienen aproximadamente la misma composición).

## Curvas de crecimiento

En las curvas de crecimiento se grafica la longitud de la hifa en  $\mu\text{m}$  como función del tiempo en minutos. Los primeros 10 puntos en la curva muestran cómo aumenta su longitud en los 10 minutos (o la tasa de crecimiento inicial) antes de la irradiación. Le sigue un intervalo sin medir su aumento de longitud, que corresponde al tiempo en que se irradió más el tiempo en que se relocalizó a la hifa en observación en el campo del microscopio. Posteriormente se muestran las medidas de longitud usadas para determinar la o las tasas de crecimiento después de la irradiación.

En la figura V.2 se muestran algunas de las curvas de crecimiento obtenidas para las hifas irradiadas con luz UV, cada curva de crecimiento es representativa del grupo de hifas irradiadas a diferente dosis. La intersección de cada curva de crecimiento en el eje de longitud ( $\mu\text{m}$ ) corresponde a su origen y una división es igual a  $200 \mu\text{m}$ . Del lado derecho se indica la dosis recibida y la respuesta obtenida.

Los valores de fluencia son los que se muestran en la tabla V.1. Se puede observar en general, que la tasa de crecimiento inicial cambia a causa de la irradiación y existe un intervalo donde alcanza una menor tasa de crecimiento después de la irradiación y que ésta disminuye conforme aumenta la fluencia.

### 5.1.5 Irradiación con partículas $\beta$

Las hifas a irradiar con partículas  $\beta$  se colocan en la zona de irradiación, después de que se les midió su tasa de crecimiento inicial ( $m_i$ ). La tasa de dosis en la zona de irradiación es de  $9.3 \pm 0.64 \text{ cGy/min}$ .

Se hicieron irradiaciones de unos pocos minutos y no se encontró ningún cambio en la tasa de crecimiento; sin embargo, para tiempos mayores que 20 min, se encontraron cambios en la tasa de crecimiento. Los tiempos de irradiación con los cuales se trabajó son de 20, 25, 30 y 40 min que corresponden a dosis de 180, 232, 279 y 372 cGy (tabla V.2). También se da en la tabla V.2, la respuesta promedio que se obtuvo del conjunto de hifas irradiadas a la misma dosis y las incertidumbres que corresponden a la desviación estándar de cada conjunto.

Se define la respuesta a la radiación  $\beta$  de manera análoga a la definición de respuesta al UV

$$R = \frac{m_1}{m_i} \quad (28)$$

donde  $m_1$  es la tasa de crecimiento inmediatamente después de la irradiación.

### Curvas de crecimiento

Las curvas de crecimiento que se obtuvieron para las irradiaciones  $\beta$  son cualitativamente diferentes a las curvas de crecimiento obtenidas para las irradiaciones con luz UV. Posterior a la irradiación se encontró que hay dos intervalos de tiempo con diferentes tasas de crecimiento, la primera de éstas siempre es menor que la segunda tasa de crecimiento. Además la tasa de crecimiento después de irradiar es mayor que la inicial (para dosis inferiores a 4 Gy). La figura V.3 muestra algunas de las curvas de crecimiento obtenidas a diferentes dosis, los valores de dosis son los que aparecen en la tabla V.2. Cada curva de crecimiento es representativa del grupo de hifas irradiadas con partículas  $\beta$  a diferente dosis. La intersección de cada curva de crecimiento en el eje de longitud ( $\mu\text{m}$ ) corresponde a su origen y cada división es igual a 200  $\mu\text{m}$ . Del lado derecho se indica la dosis recibida y la respuesta obtenida.

#### 5.1.6 Irradiación con rayos $\gamma$

Se hacen irradiaciones de las hifas con rayos  $\gamma$  del Gammacell, que tiene una tasa de dosis de  $3.75 \pm 0.07$  cGy/seg. Esta es 24 veces mayor que la tasa de dosis de la fuente  $\beta$ , lo cual dará para dosis iguales tiempos menores de irradiación que con la fuente  $\beta$ . Al realizar medidas de control de la tasa de crecimiento sin irradiar, se observó que, teniéndose establecida la tasa de crecimiento inicial de la hifa, ésta varió durante el tiempo en que la hifa fue trasladada a la zona de irradiación y de regreso al campo del microscopio, sin embargo, al medir de nuevo la tasa de crecimiento ésta era igual a la inicial.

La respuesta de las hifas a rayos  $\gamma$  se define, tal como en los casos anteriores, igual al cociente entre la tasa de crecimiento inmediatamente después de la irradiación ( $m_1$ ) y la tasa de crecimiento inicial ( $m_i$ ).

$$R = \frac{m_1}{m_i} \quad (29)$$

El intervalo de dosis para estas irradiaciones comprende el intervalo de dosis de las irradiaciones con partículas  $\beta$ , lo cual permitirá comparar el efecto de una misma dosis para diferentes radiaciones.

### **Curvas de crecimiento**

La figura V.4 contiene algunas de las curvas de crecimiento obtenidas con las irradiaciones  $\gamma$  a diferente dosis (tabla V.3). Cada curva de crecimiento es representativa del grupo de hifas irradiadas con rayos  $\gamma$  a diferente dosis. La intersección de cada curva de crecimiento en el eje de longitud ( $\mu\text{m}$ ) corresponde a su origen y una división es igual a  $200 \mu\text{m}$ . Del lado derecho se indica la dosis recibida y la respuesta obtenida. Se encontró un comportamiento cualitativamente similar a aquéllas obtenidas para  $\beta$  (fig. V.3). Un 68% de todas las hifas irradiadas mostraron, posterior a la irradiación, tres etapas con tasa de crecimiento diferente, siendo la menor aquélla observada inmediatamente después de la irradiación.



Tabla V.1

No. de hifas irradiadas	Fluencia mJ/cm <sup>2</sup>	Dosis (cGy)	R
7	0	0	1.04±0.07
4	2.76±0.46	17222±2870	0.95±0.11
4	7.20±1.20	44928±7488	0.79±0.16
2	8.92±2.40	55673±14976	0.61±0.06
16	10.80±2.40	67392±14976	0.45±0.22
2	13.38±2.40	83491±14976	0.27±0.20
4	16.20±3.60	101088±22464	0.14±0.16
3	25.20±4.20	157248±26208	0.01±0.02

Tabla V.1. Respuestas de las hifas irradiadas con una fuente de UV a diferentes fluencias. También se da la dosis para cada valor de fluencia (sección 5.1.4).

Tabla V.2

No.de hifas irradiadas	Tiempo de irradiación (min)	Dosis (cGy)	R
4	20	186±13	1.11±0.23
2	25	232±16	1.20±0.12
3	30	279±19	1.12±0.16
3	40	372±26	0.71±0.23

Tabla V.2. Respuestas (R) de las hifas irradiadas con partículas  $\beta$  a diferentes dosis.

Tabla V.3

No. de hifas irradiadas	Tiempo de irradiación (min)	Dosis (cGy)	R
5	50"	187.5± 3.5	0.80 ± 0.11
4	62"	232.5 ± 4.3	0.53± 0.12
5	1'14"	277.5±5.2	0.49 ± 0.10
5	1'38"	367.5±6.9	0.59 ±0.11
3	3'	675.0±12.6	0.69± 0.07
3	7'	1575.0±29.4	0.65±0.11
2	10'	2250.0±42.0	0.18 ±0.02

Tabla V.3. Respuestas (R) de las hifas irradiadas con rayos  $\gamma$  a diferentes dosis.

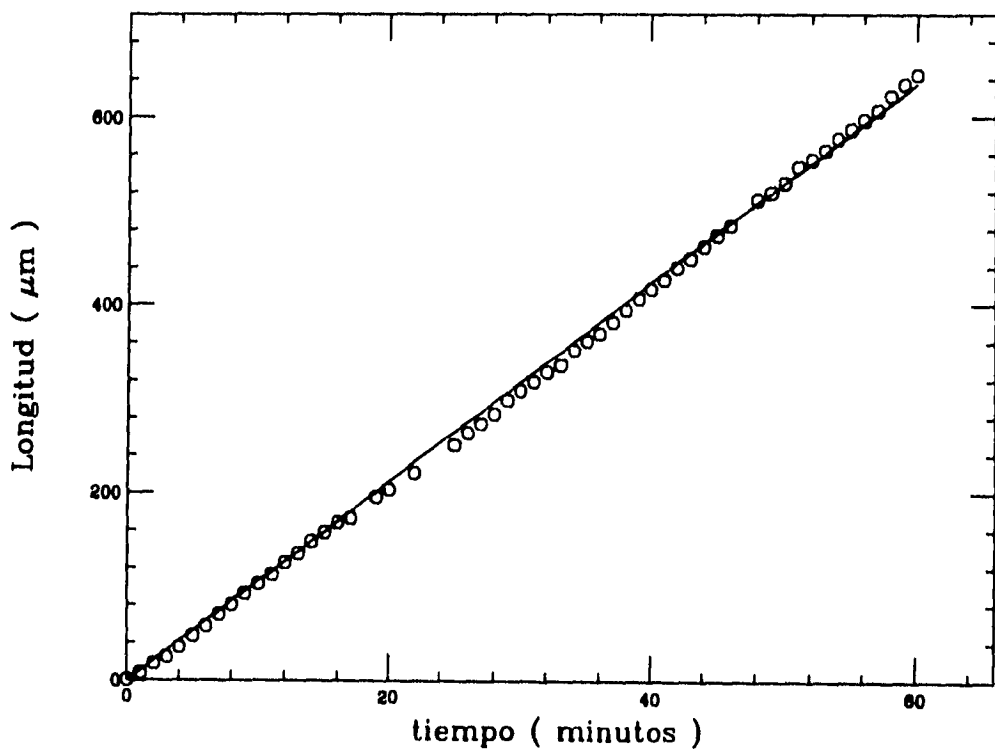


Fig. V.1. Curva de crecimiento de una hifa durante una hora de observación, sin irradiar.

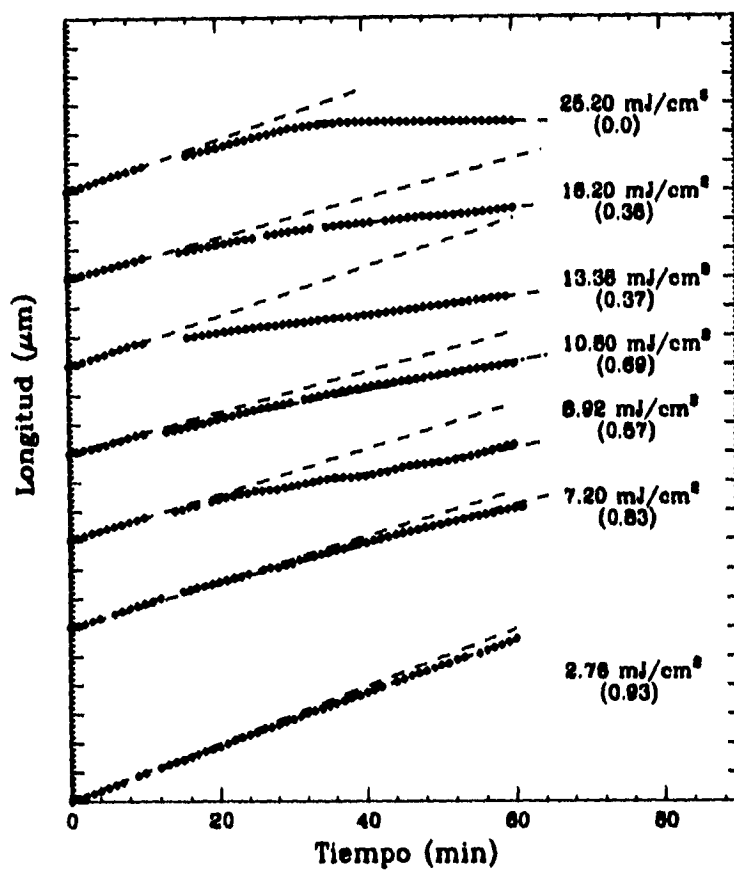


Fig. V.2. Curvas de crecimiento de hifas irradiadas con luz UV. El valor entre paréntesis es la respuesta, ecuación (27).

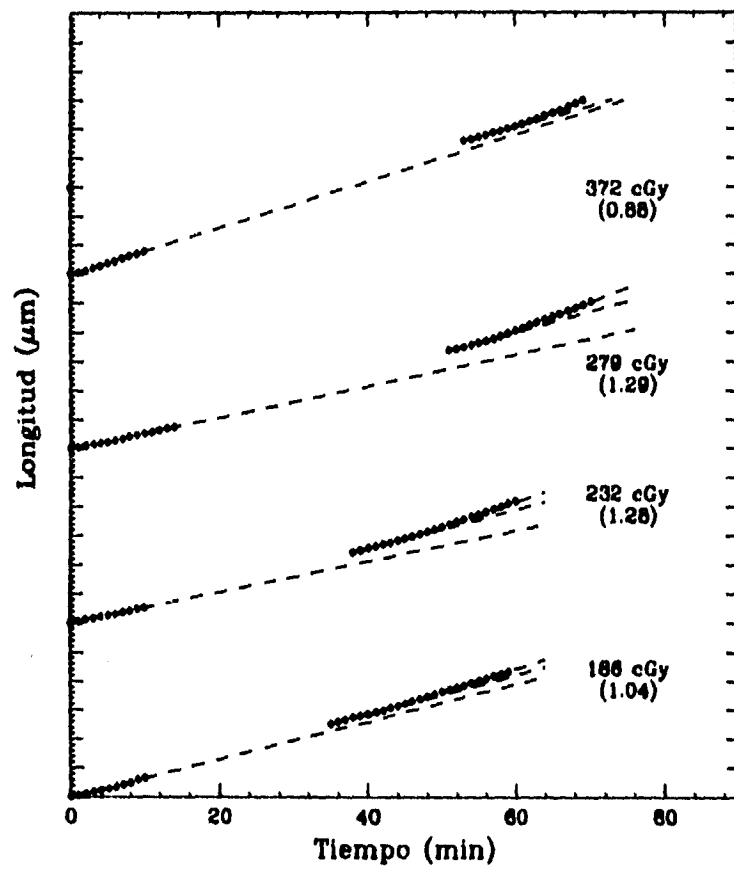


Fig. V.3. Curvas de crecimiento de hifas irradiadas con partículas  $\beta$ . Los valores entre paréntesis son la respuesta, ecuación (28).

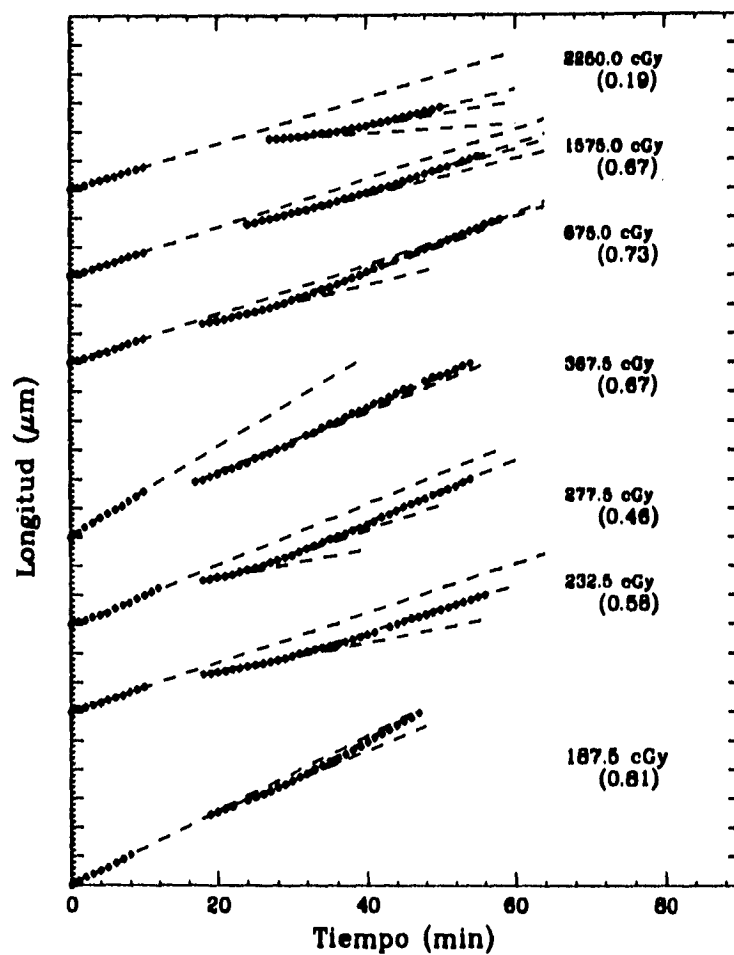


Fig. V.4. Curvas de crecimiento de hifas irradiadas con rayos  $\gamma$ . Los valores entre paréntesis son la respuesta, ecuación (29).

# Capítulo VI

## Resultados

### 6.1 Irradiación con UV

#### Curva de Fluencia-Respuesta

Se determinó la respuesta de las hifas a la luz UV de acuerdo a la definición dada en la sección 5.1.4. Los valores de fluencia están comprendidos en el intervalo de 2 a 30 mJ/cm<sup>2</sup>. En la figura VI.1 se muestra la curva de Fluencia-Respuesta obtenida para las irradiaciones de las hifas con luz UV, la cual contiene en el eje vertical los valores de la respuesta promedio con la barra de error que corresponde a la desviación estándar, obtenida para cada grupo de hifas irradiadas con el mismo valor de fluencia. Se puede observar en la figura que para valores de fluencias menores a los 8 mJ/cm<sup>2</sup> se tiene un hombro y de 8 a 25 mJ/cm<sup>2</sup> la respuesta es exponencialmente decreciente de acuerdo a la siguiente ecuación analítica

$$R = 5.574e^{-2.402 \times 10^{-4} (\mu\text{J}/\text{cm}^2)^{-1} \psi(\mu\text{J}/\text{cm}^2)}$$

### 6.2 Irradiación con $\beta$

#### Curva de Dosis-Respuesta

En la figura VI.2 se muestra la curva Dosis-Respuesta para radiación  $\beta$ . Se observa que entre 186 y 279 cGy la respuesta es constante y mayor que uno, es decir la hifa crece más rápido que antes de la irradiación, en tanto que para 372 cGy crece más lentamente. Como ya se ha dicho, hay dos tasas de crecimiento constantes después de irradiar, el periodo que dura la primera de éstas se puede medir, en cambio, el que dura la segunda no, ya que durante el tiempo de observación de la hifa no hubo cambio en esta tasa de crecimiento. Al graficar el periodo (en minutos) de la primera tasa de crecimiento después de irradiar como función de la dosis, se encontraron los datos mostrados en la figura VI.3. Esta figura muestra una relación que es similar a la curva Dosis-Respuesta, lo que sugiere que ambos efectos están relacionados. Sin embargo se observa una mayor dispersión en las medidas del periodo comparando con la dispersión en las medidas de respuesta como



se observa en la tabla VI.1.

Tabla VI.1

Dosis (cGy)	Respuesta	Periodo (min)
186 ± 13	1.11 ± 21%	9.8 ± 18%
232 ± 16	1.20 ± 10%	10.7 ± 35%
279 ± 19	1.12 ± 14%	13.0 ± 28%
372 ± 26	0.71 ± 32%	5.5 ± 43%

### 6.3 Irradiación con $\gamma$

#### Curva de Dosis-Respuesta

En la figura VI.4 se muestra la curva Dosis-Respuesta de las hifas expuestas a radiación  $\gamma$ . Se observa que la respuesta disminuye al aumentar la dosis hasta 368 cGy alrededor de un 40%, y a partir de ésta se mantiene constante hasta 1575 cGy, notándose una disminución del 80% a 2250 cGy. Después de las irradiaciones con rayos  $\gamma$  las hifas mostraron tener entre 2 y 3 periodos con tasa de crecimiento constante. Un 98% tuvo su segunda tasa de crecimiento mayor que la primera, un 67% tuvo una tercera y de éstas el 88% fue mayor que la segunda. Debido a lo anterior se graficó el cociente entre la máxima tasa de crecimiento después de irradiar y la tasa inicial como función de la dosis (figura VI.7). Se observa que el cociente es mayor que uno y aproximadamente constante hasta 1580 cGy, disminuyendo en un 25% a 2540 cGy.

Se obtienen gráficas de Dosis-Periodo de manera similar al caso de las irradiaciones  $\beta$  ya que se encontraron después de irradiar alrededor de tres tasas diferentes de crecimiento. En este caso se obtuvieron 2 gráficas, porque se puede medir el tiempo que duran tanto la primera tasa de crecimiento constante ( $m_1$ ) como la segunda ( $m_2$ ). Se encontró que

al graficar el tiempo que dura el primer periodo con tasa de crecimiento constante ( $m_1$ ) después de irradiar contra dosis (fig. VI.5) y el periodo del segundo intervalo con tasa de crecimiento constante ( $m_2$ ) contra dosis (fig. VI.6). Similar a lo que se observó con irradiación  $\beta$ , puede observarse que estas curvas tienen el mismo comportamiento que la curva Dosis-Respuesta. La dispersión en las medidas de los periodos de la primera y segunda tasa de crecimiento es mayor que la de las medidas de respuesta, como se observa en la tabla VI.2.

Tabla VI.2

Dosis (cGy)	Respuesta	Primer periodo (min)	Segundo periodo (min)
187.5±3.5	0.80±14%	9.6±16%	15.4±10%
232.5±4.3	0.53±23%	9.3±30%	13.3±37%
277.5±5.2	0.49±20%	6.0±30%	9.6±17%
367.5±6.9	0.59±19%	7.6±30%	13.8±25%
675.0±12.6	0.69±10%	8.0±50%	12.3±25%
1575.0±29.4	0.65±17%	9.7±6%	14.3±15%
2250.0±42.0	0.18±11%	6.0±24%	10.5±61%

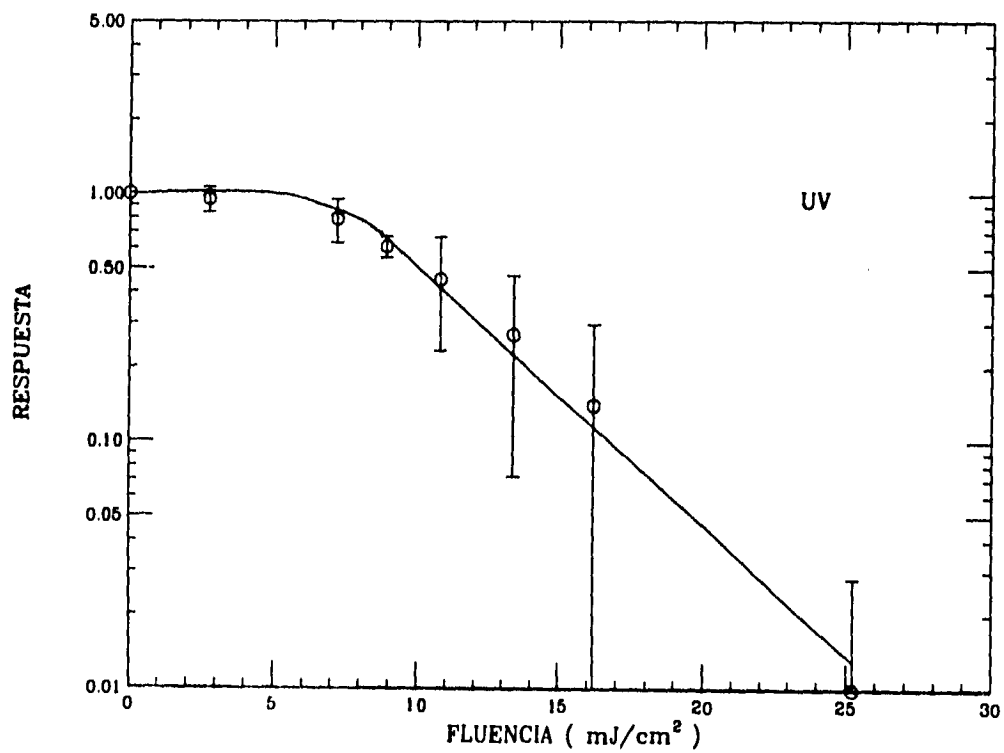


Fig. VI.1. Curva de Fluencia-Respuesta para las hifas del hongo *Neurospora crassa* irradiadas con luz UV.

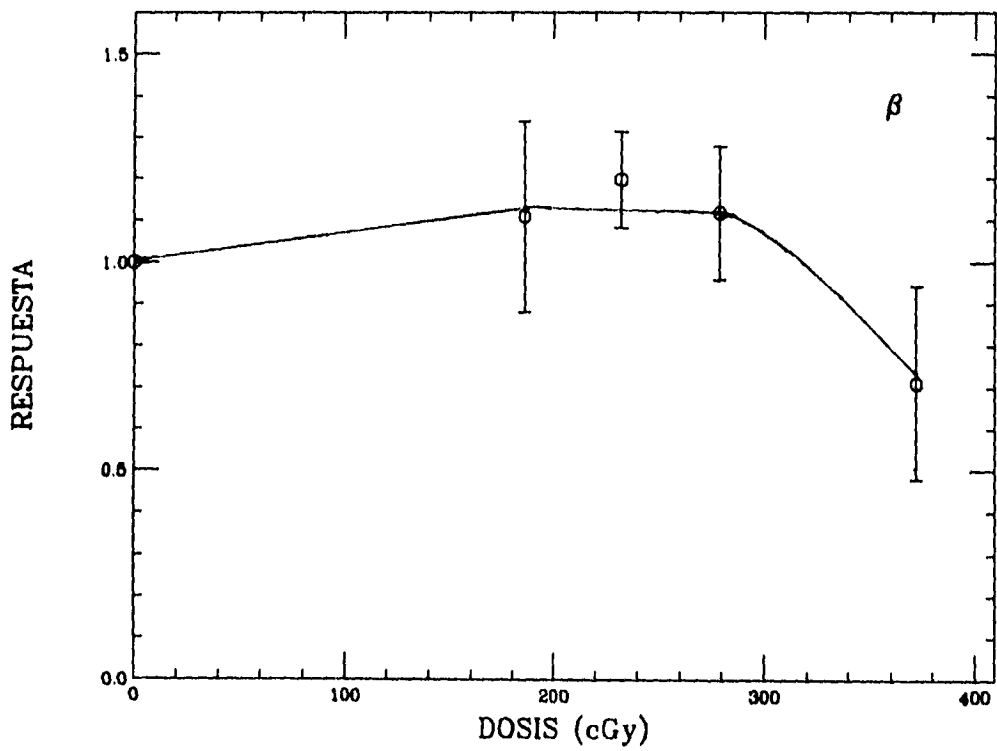


Fig. VI.2. Curva Dosis-Respuesta para las hifas de *Neurospora crassa* irradiadas con partículas  $\beta$ .

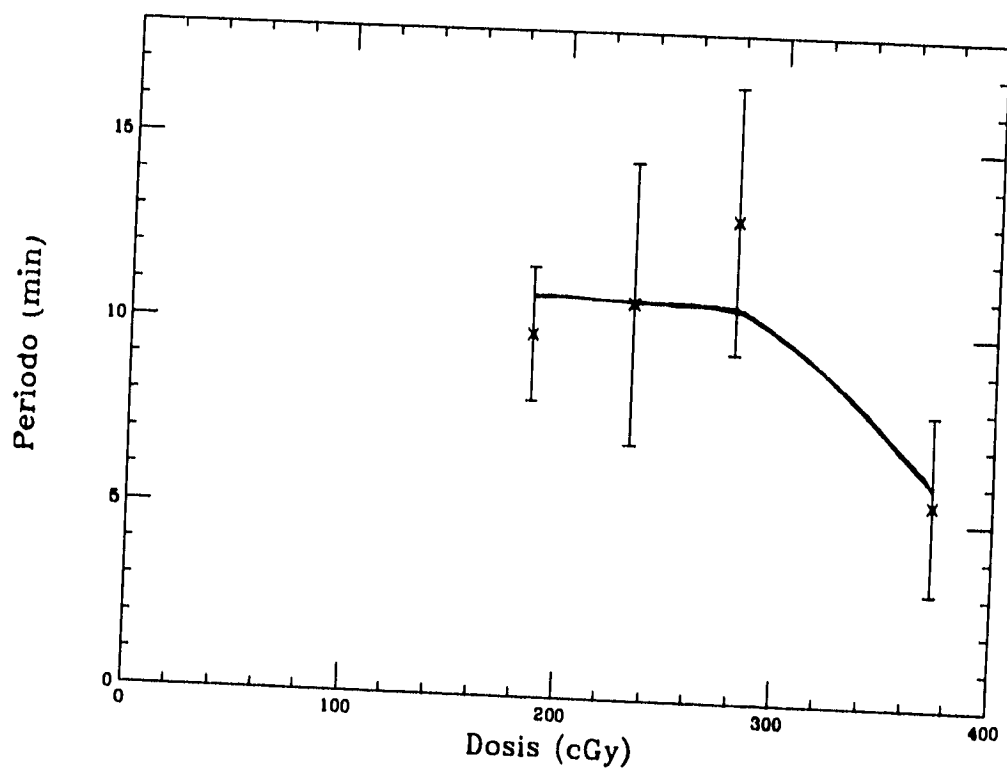


Fig. VI.3. Periodo de la primera tasa de crecimiento después de irradiar con partículas  $\beta$  como función de la dosis.

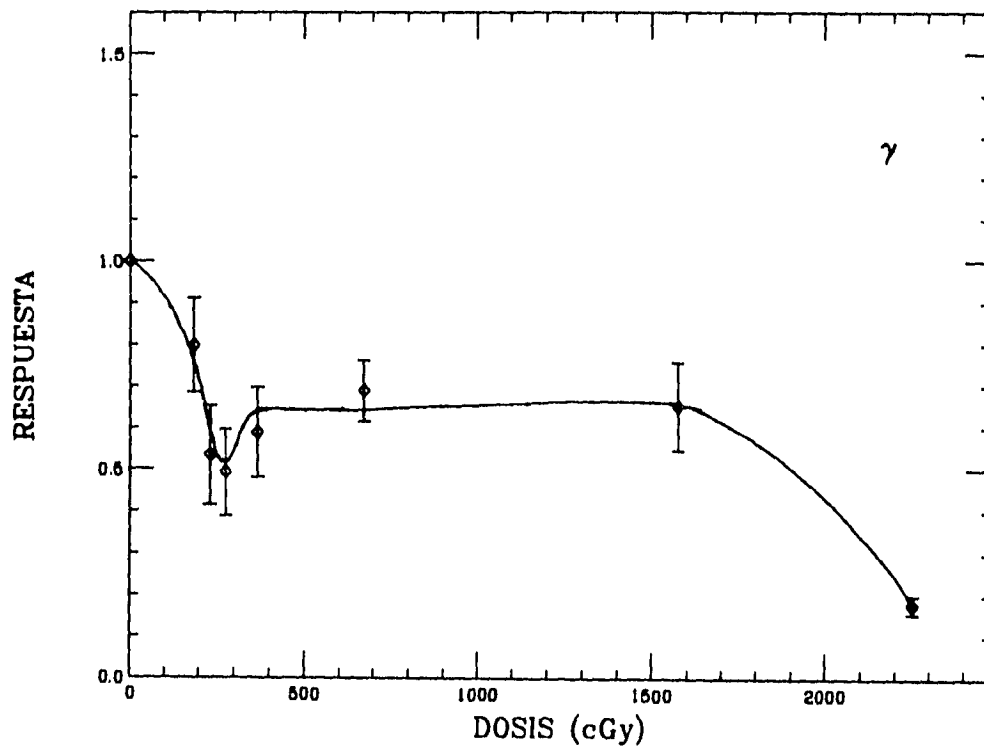


Fig. VI.4. Curva Dosis-Respuesta obtenida para las hifas del hongo *Neurospora crassa* irradiadas con rayos  $\gamma$  de  $^{60}\text{Co}$ .

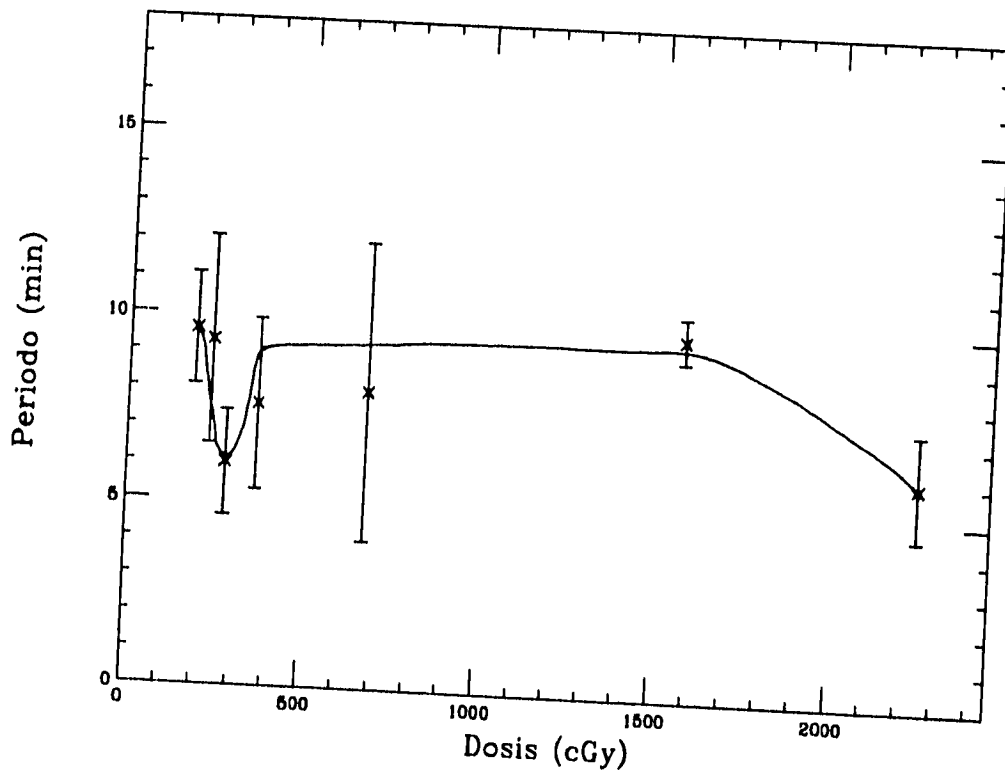


Fig. VI.5. Período de la primera etapa de crecimiento después de irradiar con rayos  $\gamma$ , como función de la dosis.

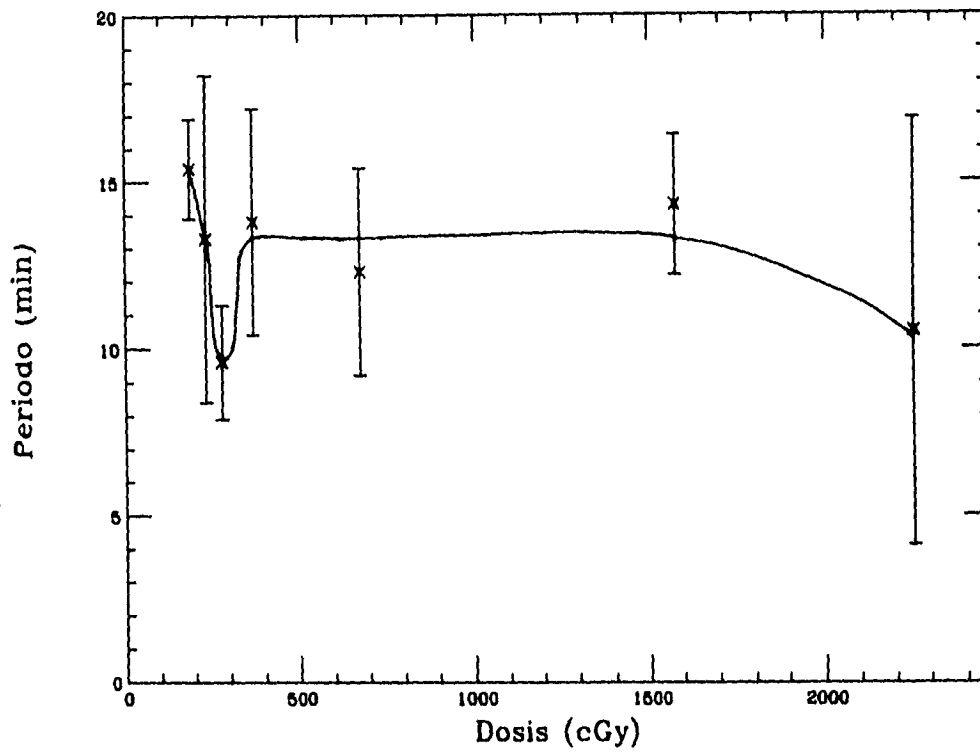


Fig. VI.6. Periodo de la segunda etapa crecimiento después de irradiar con rayos  $\gamma$ , como función de la dosis.



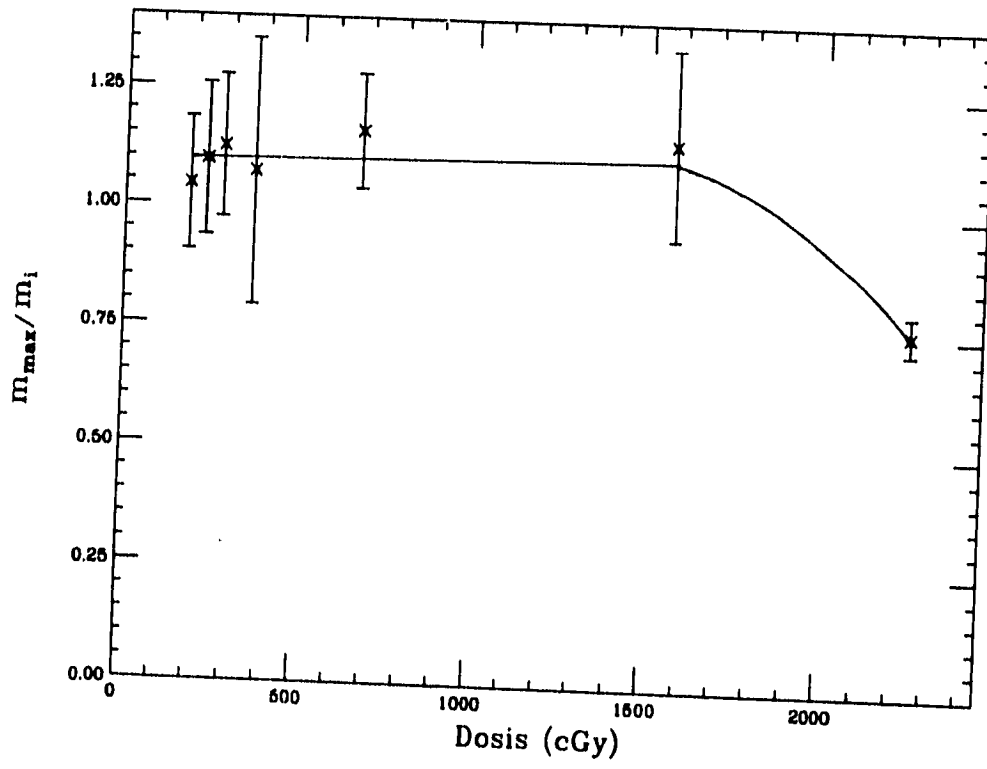


Fig. VI.7. Cociente entre la máxima tasa de crecimiento después de irradiar con rayos  $\gamma$  y la tasa de crecimiento inicial, como función de la dosis.

## Capítulo VII

### Discusión y Conclusiones

Los resultados obtenidos al irradiar con luz UV y radiación ionizante a las hifas del hongo *Neurospora crassa*, son los mostrados en las curvas de Fluencia-Respuesta o Dosis-Respuesta. Para las irradiaciones con luz UV se encontró una relación matemática que describe la disminución de la respuesta como función de la fluencia, hasta fluencias de 25 mJ/cm<sup>2</sup>; esto sugiere que hay una alta sensibilidad de las hifas a la exposición UV, que se manifiesta en la reducción de su tasa de crecimiento.

Para la irradiación con partículas  $\beta$  se encontró que hay un ligero aumento en su tasa de crecimiento y que se mantuvo constante en el intervalo de 186 a 279 cGy, hay una disminución de ésta para 372 cGy de un 29%. Para las irradiaciones con rayos  $\gamma$  conforme se aumenta la dosis hasta 368 cGy la respuesta disminuye alrededor de un 40% y a partir de ésta se mantiene constante hasta 1575 cGy lo cual está involucrando una recuperación para tiempos mayores a 3 minutos, sin embargo, se tiene una disminución de un 80% en la respuesta para la dosis de 2250 cGy. El hecho de que haya una mayor inhibición en el crecimiento a dosis altas ha sido observado por Rosen [Rosen, 1987] para irradiación de *Neurospora crassa* con rayos X de 220 kVp.

Comparando las curvas Dosis-Respuesta (fig.VI.2 y VI.4) para irradiaciones con partículas  $\beta$  y con rayos  $\gamma$  se encuentra que hay grandes diferencias cualitativas. La respuesta para rayos  $\gamma$  es siempre menor que uno en tanto que, para el mismo intervalo de dosis, la respuesta para  $\beta$  tiene una región en dosis (180-280 cGy) en la cual la respuesta es mayor que uno. Si se comparan las dosis  $\beta$  y  $\gamma$  necesarias para obtener una misma respuesta, por ejemplo 0.8, podemos concluir que la eficiencia radiobiológica de las partículas  $\beta$  es 0.5 respecto de la radiación  $\gamma$ . El hecho de que el efecto de los rayos  $\gamma$  sea mayor que el debido a electrones también ha sido observado en otros organismos: *B. pumilus* [Hayashi, 1994] y bacterias [Ito, 1985]. Otros estudios reportan una mayor sensibilidad a electrones que a rayos  $\gamma$  para esporas de *B. pumilus* [Tabei, 1984] o una misma eficiencia a electrones, rayos X y rayos  $\gamma$  para *E. coli* y esporas de *B. thermoacidurans* [Goldblith, 1953]. La diferencia en el efecto debido a la irradiación con  $\gamma$  y con partículas  $\beta$  puede deberse a la diferencia en la tasa de dosis de las fuentes radiactivas, como se discutirá.

Dado que la tasa de dosis de la fuente radiactiva  $^{90}\text{Sr}$  es de 9.3 cGy/min, aproximadamente 24 veces menor que la del Gammacell 200 (228 cGy/min), se investigaron los posibles efectos de la tasa de dosis en la respuesta de diferentes organismos vivos a la radiación. Los estudios del efecto de la tasa de dosis en la tasa de crecimiento de las hifas de *Neurospora crassa* realizados por Rosen [Rosen, 1987] para irradiación con rayos X de 220 kVp muestran que hay una mayor inhibición en el crecimiento al aumentar la tasa de dosis a partir de 3500 cGy para tasas de dosis de 1000, 2500 y 5700 cGy/min. Nuestras observaciones están en la región de dosis en que la inhibición es independiente de la tasa de dosis y la tasa de dosis usada para irradiar con rayos  $\gamma$  es 4 veces menor que la menor tasa de dosis de rayos X. Las curvas de crecimiento de las hifas de *Neurospora crassa* obtenidas por Rosen son cualitativamente similares a las obtenidas en este trabajo al irradiar con rayos  $\gamma$  y con partículas  $\beta$ .

No conocemos otros estudios similares para *Neurospora crassa*. Respecto de células de mamíferos, Michel y col. [Michel, 1979] hicieron estudios del efecto de la tasa de dosis en la supervivencia de 6 líneas de células de mamíferos para tasas de dosis entre 0.26 y 4.50 cGy/min y para 142.8 cGy/min de radiación  $\gamma$  de  $^{137}\text{Cs}$ , encontrando para 5 de las líneas que a mayor tasa de dosis por unidad de dosis se tiene mayor eficiencia en causar daños letales a las células. Para la otra línea se obtuvo que en el intervalo de 0.62 a 2.57 cGy/min, las tasas de dosis menores son más efectivas que las tasas de dosis mayores por unidad de dosis. Otros estudios de supervivencia en células de mamíferos irradiadas con rayos  $\gamma$  de  $^{60}\text{Co}$  a tasas de dosis de 169 y 0.34 cGy/min [Thacker, 1983] y con rayos  $\gamma$  de  $^{137}\text{Cs}$  a tasa de dosis entre 92.67 cGy/min y 0.48 cGy/min [Wells, 1983] muestran un mayor efecto a mayor tasa de dosis para la misma dosis. Para tasa de dosis de 0.28 y 0.10 cGy/min se observa el mismo efecto por unidad de dosis que a 0.48 cGy/min [Wells, 1983]. La reducción de la muerte de las células de mamíferos, en la mayoría de las líneas celulares estudiadas, a bajas tasas de dosis comparada con irradiación aguda ha sido atribuida frecuentemente a la acción de procesos de recuperación celular durante la irradiación.

En base a los resultados anteriores, dada la diferencia en las tasa de dosis de las fuentes radiactivas utilizadas, esperamos que el efecto observado para partículas  $\beta$  sea menor que el debido a rayos  $\gamma$ , lo cual fue observado experimentalmente ya que si se comparan las tasas de crecimiento inicial y la obtenida inmediatamente después de irradiar se tiene que la diferencia relativa para partículas  $\beta$  varía entre un 10% y 30%, en tanto que, en el mismo intervalo de dosis, varía entre un 20% y un 50% cuando las hifas se irradian

con rayos  $\gamma$ . Esto indica que probablemente hay recuperación de las células durante la irradiación.

Thacker y col. [Thacker, 1983] estudiaron la recuperación de células de mamíferos al daño letal y mutagénico, para ello obtuvieron curvas de supervivencia y de frecuencia de mutaciones inducidas inmediatamente y 5 horas después de terminada la irradiación, encontrando recuperación para el daño que conduce a lesiones letales y no para la inducción de mutaciones. En este estudio se puede determinar si hay recuperación de las hifas después de la irradiación observando que las hifas tienen dos o tres tasas de crecimiento constantes después de haber sido irradiadas con rayos  $\gamma$ . Para ello se graficó el cociente entre la tasa de crecimiento máxima y la inicial (figura VI.7). Comparando estos resultados con los mostrados en la figura VI.4, se observa que hay recuperación de las hifas en el intervalo de dosis estudiado. En la figura VI.7 se ve que el cociente entre la tasa de crecimiento máxima y la inicial es mayor que uno para el intervalo de dosis entre de 200 y 1750 cGy, el hecho de que la respuesta a la irradiación con partículas  $\beta$  (Fig. VI.2) sea mayor que uno en el intervalo de dosis de 200 a 300 Gy se puede deber a la recuperación de las hifas durante el periodo de irradiación.

Comportamientos similares a los observados en las curvas Dosis-Respuesta se obtuvieron en las curvas Dosis-Periodo, figura VI.3 para  $\beta$  y figuras VI.5-VI.6 para rayos  $\gamma$ . Una posible explicación es que la respuesta -definida como la tasa de crecimiento después de irradiar entre la tasa de crecimiento antes de irradiar- y el tiempo en que la hifa mantiene su tasa de crecimiento constante después de irradiar sean parámetros que miden un mismo efecto biológico.

Para poder comparar los resultados obtenidos con luz UV y radiación ionizante se hicieron los cálculos de dosis debido a UV, usando el coeficiente de atenuación del gel medido experimentalmente, encontrándose que las dosis depositadas en las hifas están en el intervalo de 17,220 a 157,250 cGy, unas 50 veces mayores que las debidas a radiación  $\gamma$  (máxima de 2550 cGy). Al comparar las respuestas con respecto a la dosis, para UV y  $\gamma$ , se encuentra que se necesita más dosis de luz UV que de radiación  $\gamma$  para obtener las mismas respuestas, es decir, la eficiencia radiobiológica es menor que uno. Dado que los tiempos de irradiación para ambas radiaciones son del mismo orden, se tiene que la tasa de dosis de la fuente de UV es mayor que la de la fuente de  $^{60}\text{Co}$ .

La diferencia en las respuestas puede deberse a los diferentes mecanismos de interacción de los dos tipos de radiación. La interacción de la luz UV con la materia produce

excitación y radicales libres, ocurriendo un efecto primario físico o químico por fotón absorbido (Ley de Einstein-Stark [Atkins, 1986]). Esto no implica necesariamente que únicamente se produzca una molécula que reacciona cuando un fotón es absorbido, ya que si el proceso subsecuente es una reacción en cadena, la absorción de un fotón puede conducir a la producción de varias moléculas que reaccionen. Por otro lado, muchas veces el proceso de excitación inicial no conduce a un efecto químico significativo. Cuando la radiación ionizante interacciona con la materia, además de producir excitación y radicales libres, produce ionización que puede conducir a una gran variedad de cambios químicos que involucran al ion positivo y al electrón, así como fragmentación del ion positivo y reacciones entre el ion y las moléculas del medio. El electrón primario puede a su vez ionizar y excitar otras moléculas en su trayectoria, causando más transformaciones químicas y además formar iones negativos, tales como  $H^-$  y  $O^-$ , al producir disociación de moléculas. En este caso, un efecto primario produce muchas ionizaciones y excitaciones cuyas distribuciones en el espacio depende de la radiación así como del sistema con el cual interacciona.

Finalmente, se discute el cumplimiento de los objetivos originalmente establecidos en este trabajo. Los protocolos para medir la dosis (radiación  $\gamma$  y  $\beta$ ) y fluencia (UV) permitieron determinar las zonas de homogeneidad y tamaño del haz, así como medidas de dosis y fluencias reproducibles en el intervalo de dosis y fluencia empleado. Se obtuvieron curvas Dosis-Respuesta o Fluencia-Respuesta en que se observó el efecto de la radiación sobre la tasa de crecimiento de la hifa. A partir de éstas se definió una función respuesta que permitió cuantificar el efecto biológico y comparar radiaciones de diferente calidad. También se definieron curvas "Dosis-Periodo", a partir de las observaciones pudiéndose identificar dos procesos biológicos diferentes que posiblemente tengan un origen común. Las incertezas en la medidas de respuesta relativamente altas en comparación con medidas en sistemas físicos totalmente controlables, se originan en el hecho de que la hifa es un organismo vivo y probablemente cada hifa responde de manera diferente a la radiación.

Los resultados sobre la comparación de las respuestas a los diferentes tipos de radiación ya han sido discutidos ampliamente, aún cuando la diferencia en la tasa de dosis entre las fuentes  $^{90}Sr$  y  $^{60}Co$  hizo que la respuesta de las hifas para cada radiación dependiera de dos parámetros diferentes (tasa de dosis y tipo de radiación  $\beta$  o  $\gamma$ ), se obtuvo la eficiencia radiobiológica y se discutió la posibilidad de recuperación de las hifas durante la irradiación con partículas  $\beta$ . Análogamente se compararon las respuestas a radiación  $\gamma$  y luz UV. En base a lo anterior, se considera que esta tesis cumplió con los objetivos del trabajo.

## Referencias

[Ainsworth y Sussman, 1965]

Ainsworth, G.C., y Sussman, A.J., "The fungi. An advanced treatise", vol. 1, Academic Press, New York, 1965.

[Atkins, 1986]

Atkins, "Fisicoquímica", Addison-Wesley Iberoamericana, 1986.

[Attix, 1986]

Attix F.H., "Introduction to Radiological Physics and Radiation Dosimetry", John Wiley and Sons, 1986.

[Buenfil, 1993]

Buenfil, B.A., Ruiz, T.G., Medición de la tasa de dosis de fuentes de  $^{60}\text{Co}$  y  $^{90}\text{Sr}$  a través de intercalibración con LiF, IFUNAM, marzo de 1993.

[Carrillo, 1993]

Carrillo Beltrán, R.E., The termoluminescent response of several phosphors to monoenergetic photon beams with energies from 275 to 2550 eV. Ph. D. Thesis, University of Wisconsin-Madison, U.S.A., 1993.

[Enc. Brit., 1989]

Encyclopedia Britannica, volumen 15, Inc. William Benton, Macropaedia, 1989.

[Evans, 1955]

Evans D. Robley, Ph. D., "The Atomic Nucleus", Mc Graw-Hill Book Company, INC., 1955.

[Griffin, 1981]

Griffin, H., David, "Fungal Physiology", John Wiley and Sons, Inc, 1981.

[Handbook, 1970]

"Radiological Health Handbook", Bureau of Radiological Health, 1970.

LIBRARY OF THE  
SALVADORAN ACADEMY OF SCIENCES

[Hayashi, 1994]

Hayashi, T., Takizawa, H., Todoriki, S., Suzuki, T., *Radiat. Res.* vol.137: 186-189, 1994

[Herrera, 1990]

Herrera, T. y Ulloa, M., "El Reino de los Hongos", *Micología básica y aplicada.*, Fondo de Cultura Económica, UNAM, México, 1ª ed. 1990.

[Hollander, 1954]

Hollander, A., "Radiation Biology", volumen 1: High energy radiation, Mc. Graw-Hill Book Company, INC., 1954.

[Horowitz, 1982]

Horowitz, Y.S. and J. Kalef-Ezra, *International Journal Applied Radiation Isot.*, vol 33:1085-1100, 1982.

[Horowitz, 1990]

Horowitz, Y.S., *Radiation Protection Dosimetry*, vol. 30: 219-230, 1990.

[Hunsley y Burnett, 1970]

Hunsley D. y Burnett J.H., *Journal of General Microbiology*, vol. 62: 203-218, 1970.

[Jackson, 1975]

Jackson, J.D., "Classical Electrodynamics", John Wiley and Sons, Inc., 1975.

[Jenkins, 1976]

Jenkins, F.A., White, H.E., "Fundamentals of Optics", Mc Graw-Hill Kogakuska, LTD., 1976.

[Katz y Penfold, 1952]

Katz I. y Penfold A.S., *Mod. Phys.* 24, 28, 1952.

[Kiefer, 1990]

Kiefer, J., "Biological Radiation Effects", Springer-Verlag, 1990.

[Koller, 1952]

Koller, Lewis R., "Ultraviolet Radiation", Wiley and Sons, 1952.

[Krane, 1988]

Krane, S., "Introductory Nuclear Physics", John Wiley and Sons, 1988.

A[Lea, 1938a]

Lea, D. E., Part. II., Brit. J. Radiology, vol. 11: 554-566, 1938.

[Lea, 1946b]

Lea D. E., "Action of Radiations on Living Cells". Cambridge University Press, Cambridge (also the Macmillan Company New York, 1947).

[Mitchell, 1979a]

Mitchell, J.B., Bedford, J.S, and Bailey, S.M., Radiat. Res. vol. 79: 537-551, 1979.

[Michell, 1979b]

Mitchell, J.B., Bedford, J.S, and Bailey, S.M., Radiat. Res. vol. 79: 552-567, 1979.

[Randall y Wilkins, 1945]

Randall, J.F. y Wilkins, M.H.F., Proc. R. Soc. A., vol.184, 336, 1945.

[Rosen, 1987]

Rosen, D., Effets of X and UV Radiation on Neurospora Mycelium, 1st Egyptian-British Conference on Biophysics, Cairo-University, Egypt, 26-28 oct. 1987.

[Ryan, 1943]

Ryan F.J., Beadle G.W. and Tatum E.L., American Journal of Botany 30: 784-799, 1943.

[Shápiro, 1990]

Shapiro Jacob, "Radiation Protection". A Guide for Scientists and Physicians, Harvard, 3<sup>a</sup> ed., 1990.

[Thacker, 1983]

Thacker, J., and Stretch, A., Radiat. Res. vol. 96: 380-392, 1983.

[Trinci, 1971]

Triuci A.P.J., Journal of General Microbiology vol. 67: 325-344, 1971.



[Wells, 1983]

Wells, R.L., and Bedford, J.S., *Radiat. Res.* vol. 94: 105-134, 1983.

[Zajac, 1987]

Zajac, H.E., "Optica", Adison-Wesley, 1987.

[Zalokar, 1959]

Zalokar M., *American Journal of Botany* vol. 46: 602-613, 1959.

[Zarzosa, 1980]

Zarzosa P.A., Tesis de Maestría: "The Effects of Ultraviolet Radiation on the Growth of *Neurospora crassa* Hyphae", Universidad de Londres, 1980.

[Zarzosa, 1995]

Zarzosa P.A., comunicación personal.