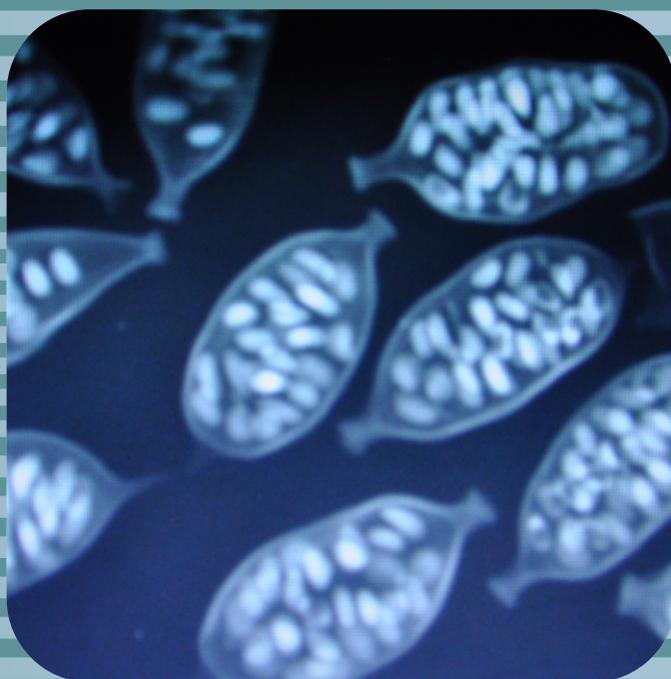
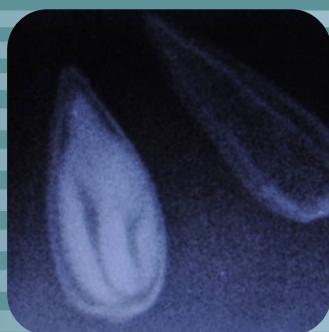


Manual de rayos X aplicado a la calidad de semillas

Salinas, A.R.; Arango Perearnau, M.R.; Gallo, C.D.V; Alzugaray, C.; Carnevale, N.J.; Gibbons, R.; Craviotto, R.M.



Manual de rayos X aplicado a la calidad de semillas

Salinas, A.R.; Arango Perearnau, M.R.; Gallo, C.D.V; Alzugaray, C.;
Carnevale, N.J.; Gibbons, R.;Craviotto, R.M.



Ministerio de Agroindustria
Presidencia de la Nación

INTA 2016

Manual de rayos X aplicado a la calidad de semillas

Salinas, A.R.(1); Arango Perearnau, M.R.(2); Gallo, C.D.V(2); Alzugaray, C.(3); Carnevale, N.J.(4); Gibbons, R.(5); Craviotto, R.M.(2)

(1) Cátedra Fisiología Vegetal. Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario, Argentina

(2) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Agropecuaria Oliveros, Argentina

(3) Cátedra Biología. Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario, Argentina.

(4) Cátedra Ecología. Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario, Argentina.

(5) Empresa TEXEL, Rosario, Argentina

1a. edición

Ediciones INTA 2016

ISBN N° 978-987-521-713-3

631.531 Manual de rayos X aplicado a la calidad de semillas / A.R. Salinas... [et al]. –
M31 Buenos Aires : Ediciones INTA, 2016.
 85 p. : il.

ISBN N° 978-987-521-713-3

i. Salinas, A.R.

SEMILLAS – CALIDAD – RAYOS-X – TECNOLOGIA

INTA - DD

© 2016, Ediciones INTA

Libro de edición argentina

Todos los derechos reservados. No se permite la reproducción total o parcial, la distribución o la transformación de este libro, en ninguna forma o medio. Ni el ejercicio de otras facultades reservadas sin el permiso previo y escrito del editor. Su infracción está penada por las leyes vigentes.

Contenidos

CAPÍTULO 1: Historia de los rayos X	7
CAPÍTULO 2: Principios generales de la radiografía	19
Teoría de la radiografía	19
La placa y la imagen radiográfica	20
Calidad de la imagen radiográfica	21
Factores de exposición	23
Interpretación de una radiografía	24
Efectos biológicos de la radiación sobre las semillas	25
Efectos biológicos de la radiación sobre el operador	25
CAPÍTULO 3: Equipos SEMAX y RUTAX	27
CAPÍTULO 4: Patrones radiográficos de especies forestales nativas y cultivadas	47
<i>Forestales nativas</i>	
4.1 <i>Caesalpinia paraguariensis</i> (D.Parodi) Burkart	48
4.2 <i>Cordia trichotoma</i> (Vell.) Johnst.	48
4.3 <i>Chloroleucon tenuiflorum</i> (Benth.) Barneby et J.W.Grimes	49
4.4 <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong	49
4.5 <i>Gleditsia amorphoides</i> (Gris)Taub	50
4.6 <i>Prosopis alba</i> (Grisebach)	50
4.7 <i>Prosopis nigra</i> (Grisebach)	51
4.8 <i>Prosopis strombulifera</i> (Lam.) Benth	51
4.9 <i>Schinopsis balansae</i> Engl.	52
4.10 <i>Schinopsis lorentzii</i> (Gris.) Engl.	52
4.11 <i>Styphnolobium japonicum</i> (L.) Schott	53
4.12 <i>Syderoxilon obtusifolium</i> (Roem&Schult.) T.D.Penn	53
4.13 <i>Tipuana tipu</i> (Benth.)	54
4.14 <i>Zizyphus mistol</i> (Grisebach)	54
<i>Forestales cultivadas</i>	
4.15 <i>Acacia caven</i> (Mol.)	55
4.16 <i>Araucaria angustifolia</i> (Bertol.) Kuntze	55
4.17 <i>Araucaria araucana</i> (Molina) K. Koch	56
4.18 <i>Butia capitata</i> (Martius) Beccari	56
4.19 <i>Cephalotaxus harringtonia</i> (Forbes) K.Koch	57
4.20 <i>Ginkgo biloba</i> (L.)	57
4.21 <i>Juglans nigra</i> (L.)	58
4.22 <i>Juglans regia</i> (L.)	58
4.23 <i>Ligustrum lucidum</i> Ait. (H. Lév.) H. Lév	59
4.24 <i>Melia azedarach</i> (L.)	59
4.25 <i>Phoenix canariensis</i> (Hort.)	60
4.26 <i>Prunus amygdalus</i> Bastch	60
4.27 <i>Rhus succedanea</i> (L.)	61
4.28 <i>Taxodium distichum</i> (L.) Rich	61
CAPÍTULO 5: Rayos x en otras especies	63
5.1 <i>Helianthus annuus</i> (L.)	63
5.2 <i>Glycine max</i> (L.) Merrill	67
5.3 <i>Zea mays</i> (L.)	70
5.4 <i>Cucumis melo</i> (L.)	74
5.5 <i>Arachis hypogaea</i> (L.)	75
5.6 <i>Cucurbita</i> sp (L.)	76
CAPÍTULO 6: Otros patrones radiográficos	79
6.1 Formación de la semilla de <i>Glycine max</i> (L.) Merrill	80
6.2 Formación de la semilla de <i>Triticum aestivum</i> (L.)	83

Presentación

El presente Manual de la técnica de rayos X aplicada al análisis de semillas tiene como objetivo principal destacar la importancia que ha ido adquiriendo la temática como método de rutina en el área de Control de Calidad.

La introducción contempla una breve historia de la radiología como un notable descubrimiento prontamente aplicado a la medicina y que al mismo tiempo despertó el interés en otras disciplinas científicas.

Las ciencias agrarias y veterinarias, y más específicamente la temática que a nosotros como autores nos compete, es decir, la calidad de las semillas, tomaron rápidamente la iniciativa para el empleo de la técnica como aporte a la dilucidación de problemáticas complejas y urgentes.

En el manual se hace una detallada descripción de la naturaleza de los rayos X y está especialmente destinada a ilustrar a los profesionales de las ciencias agrarias dedicados a la calidad de semillas que no están habituados al uso de la técnica. Al mismo tiempo, y como parte fundamental se presentan las imágenes radiográficas y fotográficas de numerosas especies, que permiten interpretar la naturaleza de los distintos daños que pueden ser encontrados en frutos y semillas mediante el empleo de los rayos X. Además, se muestran otros usos de la técnica destinados a estudios relacionados con la formación de las semillas en especies de interés agronómico.

El uso de equipo de rayos X convencionales empleados en medicina humana se constituyó en la regla más frecuente entre los investigadores en el mundo. El desarrollo a nivel mundial de equipos de rayos X con aplicaciones diversas diferentes a las habituales fue muy posterior y culminó con la aparición de un aparato llamado Faxitrón en la década de 1980 en los Estados Unidos, el cual fue también empleado en semillas. Argentina, por su parte, obtuvo sus propios desarrollos que culminaron con el diseño industrial de dos aplicaciones, el equipo SEMAX destinado a la investigación en semillas y el equipo RUTAX destinado tanto a la investigación como a las tareas de análisis de rutina en un laboratorio de control de calidad. El desarrollo y la evaluación de ambos equipos de rayos X fueron financiados por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica de Argentina (ANPCyT) en la década de 1990 y tuvieron como ejecutores del proyecto a la Estación Experimental Agropecuaria Oliveros del INTA, a la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNR y a la empresa TEXEL de la ciudad de Rosario, Santa Fe. Los investigadores participantes fueron la Ing. Agr. M. Sc. Miriam R. Arango Perearnau, la Dr. Adriana Salinas, el Ing. Elec. Roberto Gibbons y la dirección del proyecto estuvo a cargo del Ing. Agr. PhD. Roque M. Craviotto.

Historia de la radiología en semillas

Stewart C. Bushong (1998), en la 6.^a edición de su *Manual de Radiología para Técnicos* describió una interesante historia acerca del descubrimiento de los rayos X por el hombre. Esta adquiere un sentido ilustrativo para todos aquellos profesionales de las ciencias biológicas que no pertenecen precisamente al área de la medicina, sino a la de agronomía cual es nuestro caso, requieren adquirir una ubicación de la sucesión de hechos que llevaron a tal conocimiento. Por tal motivo, los autores del presente manual hemos querido volcar textualmente la descripción que realizó dicho autor sobre los acontecimientos del descubrimiento:

Los rayos X no fueron inventados, sino descubiertos de modo accidental. Durante las décadas de 1870 y 1880, los laboratorios de física de diversas universidades investigaban la producción de **rayos catódicos** (electrones) a través de grandes tubos de vidrio en los que se había hecho un vacío parcial. Estos aparatos eran conocidos como tubos Crookes, en honor al inglés Sir William Crookes, quien dirigía uno de los experimentos. El tubo de Crookes es el antecesor de las lámparas fluorescentes modernas. Mientras realizaba experimentos con un tubo de Crookes, Wilhelm Roentgen descubrió accidentalmente los rayos X. El 8 de noviembre de 1895, Roentgen estaba trabajando en su laboratorio de la Universidad de Würzburg, en Alemania. Había oscurecido la sala para apreciar mejor los efectos de los rayos catódicos en el tubo de Crookes. A unos metros del aparato, sobre un banco de trabajo, se encontraba por casualidad una placa cubierta de **platinocianuro de bario**, un material fluorescente. Roentgen cubrió el tubo de Crookes con papel para evitar que escapara de él la luz visible. Entonces, activó el tubo y advirtió que la placa del banco próximo empezó a brillar. La intensidad de este brillo, o **fluorescencia**, se incrementaba cuando se aproximaba la placa al tubo. En este se hallaba, sin lugar a duda, la fuente de tal fluorescencia, pero la naturaleza de la luz no estaba clara. Roentgen bautizó a los rayos con el nombre de luz X, dado que desconocía su origen, y prosiguió febrilmente sus investigaciones durante varias semanas. Tras unas observaciones extraordinariamente minuciosas pudo presentar sus resultados experimentales ante la comunidad científica antes del final de 1895. En 1901, recibió por este trabajo el premio Nobel de Física. También publicó la primera radiografía en la historia de la medicina, una imagen de la mano de su mujer Bertha.

El descubrimiento de los rayos X se encuentra entre los hechos más sorprendentes de la historia de la humanidad. En primer lugar, el hallazgo fue casi accidental. En segundo, no menos de una docena de científicos contemporáneos de Roentgen habían observado los rayos X, pero ninguno fue capaz de reconocer su importancia. En tercer lugar, Roentgen continuó sus investigaciones con tal vigor científico que en poco más de un mes había descrito todas las propiedades de los rayos X conocidas en la actualidad.

Luego de esta brevísima historia, se debe destacar que la importancia de la técnica fue rápidamente percibida por los profesionales de las ciencias agrarias, quienes prontamente vislumbraron la importancia de la aplicación de los rayos X en la determinación de la calidad de las semillas de distintas especies.

En 1903 se realizó un encuentro de la Sociedad de Silvicultura del norte de Suecia para evaluar la técnica de rayos X en la determinación de la presencia de semillas en forestales (Lundstrom, 1903). Sin embargo, esta no tuvo relevancia esperada por ser considerada como tediosa y problemática e incluso no se había alcanzado una cabal interpretación de las imágenes obtenidas. Posteriormente, fueron los entomólogos los que encontraron utilidad en el uso de esta para detectar insectos en el interior de las semillas y seleccionar

materiales vegetales por su resistencia a la infestación (Yuasa 1926; Fenton y Waite 1932; Shevchenko 1937; Milner *et al.*, 1950, 1952a; Nicholson *et al.*, 1953). No obstante pocos años después, Gustafsson y Simak (1956) creyeron que la interpretación de los rayos X podía ser exitosa y además estandarizada internacionalmente, y llegaron a promover un esquema de clasificación para sostener esta idea. Fue así que un gran número de investigadores se incorporaron de manera entusiasta y creciente a indagar los usos de la técnica en distintas especies en distintas partes del mundo donde la temática de calidad de semillas era considerada relevante (Kats *et al.*, 1950; Milner, 1951; Simak y Gustafsson, 1953; Müller-Olsen y Simak, 1954; Simak, 1955; Simak, 1957; Namkoong, 1958; Harein, 1960; Pedersen y Brown, 1960; Nekrasov y Smirnova, 1961; Czabator, 1962; Dennis y Decker, 1962; Heiken y Soegaard, 1962; Kaeiser y Boyce, 1962; Kamra, 1963b, 1964b; 1972, 1980; Hurlock, 1963; Scerbacova, 1964; Graham *et al.*, 1964; Kamra, 1964a, 1964b, 1964c; Kamra, 1965; Kamra y Simak 1965; Kirkpatrick y Wilbur, 1965; Eden, 1965; Kriebel, 1966; Kamra, 1967a, 1967b, 1967c; Baron, 1967; Belcher, 1968a, 1968b; Banerjee, y Sing, 1969a; 1969b; Day, 1970; De Barr, 1970; Harris, 1971; Kamra, 1971, 1973; Kamra *et al.*, 1973; Duffield, 1973; Devillez, y Oldenhove de Guertechin, 1973; Banerjee *et al.*, 1973; Cox, 1973; Verma *et al.*, 1974; Belcher, 1974; Simak, 1974a, 1974b; Belcher, 1974; Vozzo y Linebaugh, 1974; Vozzo, 1974a, 1974b; Wang, 1974; Yates, 1974; Kamra, 1976; Wiersma, 1976; Houston, 1976; Kodak Canada Co, 1980; Allison, 1980; Simak, 1980; Simak y Sahlen, 1981; Kisou, 1982; Simak y Sahlen, 1983). Para la rápida interpretación de algunos atributos de la calidad de semillas como lo es el “vigor”, los rayos X presentan importantes ventajas sobre los métodos tradicionales de análisis (Heydecker, 1969). Esta temprana interpretación de la utilización de la técnica de rayos X realizada por Heydecker con la intención de analizar el vigor de lotes de semillas es, hoy en día, discutible por el hecho de que la comprensión del concepto de vigor llevó numerosos años luego de su aseveración.

En la década de 1970 la Asociación Oficial de Analistas de Semillas (AOSA) de Estados Unidos de Norteamérica presentó la Contribución N.º 31 al *Manual de Análisis de Semillas*, preparado por Belcher y Vozzo (1979) para el Comité de Rayos X en Semillas. Dicho trabajo denominado “Análisis Radiográfico de Semillas de Cultivos Agrícolas y Forestales” contenía una detallada descripción de los diferentes tópicos relativos a la utilización de la técnica radiográfica tradicional con aplicaciones específicas al análisis de calidad de semillas.

A partir de 1984, la técnica de rayos X si bien se seguía utilizando para estudios entomológicos, se comenzó a usar principalmente para estudiar la formación de las semillas y para evaluar los efectos genéticos y ambientales que afectan los procesos del desarrollo. Este cambio en la utilización de los rayos X se debió principalmente a los trabajos de Müller-Olsen *et al.* (1956). Los autores compararon las observaciones realizadas en los embriones y endospermas de las semillas mediante las pruebas de rayos X con los resultados obtenidos en las pruebas de germinación. La técnica de rayos X ha sido utilizada satisfactoriamente para el análisis de semillas demostrando ser un indicador confiable de la viabilidad y presentando buenas correlaciones con los resultados obtenidos en las pruebas estándar de germinación (Leadem 1981). La técnica de rayos X fue aplicada a numerosas especies empleadas tanto en el gran cultivo agrícola como así también en cultivos intensivos hortícolas y forestales (Tabla 1.1).

Tabla 1.1

Especies en las que se empleó la técnica de Rayos X para evaluar la calidad de semillas.

Nombre científico	Referencias
Pinus strobes	Belcher (1974)
Elaeagnus umbellata	
Liriodendron tulipifer	
Taxodium distichum	
Araucaria heterophylla	
Cornus	
Pinus sondereggeri	
P. palustris	
P. taeda "	
Acaena adscendens	Dorne, Devillez y Courtemanche (1974)
Azorella selago	
Philicantida	
Ranunculus biternatus	
Uncinia compacta	
Pseudotsuga menziesii	Edwards (1973)
Tsuga heterophylla	
Chamaecyparis nootkatensis	
Pinus flexilis	
Gossypium hirsutum	Fenton y Waite (1932)
Beta vulgaris	Grimm (1958)
Pinus silvestris	Gustafsson y Simak (1956)
Picea abies	
y otras 54 especies forestales	
Sequoia semper-virens	Hansen and Muelder (1963)
Beta vulgaris	Hogaboam (1961)
Cucumis sativus	Kamra (1964 a)
Cucumis spp.	--- (1967a)
Tectona grandis	--- (1973)
60 especies de semillas de especies forestales	--- (1974)
Cucurbita pepo	--- y Bhargava (1967)
Cucurbita spp.	
Apium graveolens	
Picea glauca	Klaehn y Wheeler (1961)
Triticum aestivum	Milner et al. (1950, 1952a) y
Oryza sativa	--- (1952b)
Carthamus tinctorius	Morgan y Maguire (1974)
Solanum Melongena, var. esculentum	Nakamura (1974)
Capsicum spp.	
33 especies incluyendo arvejas, porotos, algodón, rosas, frutos rojos	Shevchenko (1937)
Glycine max	Singh and Banerjee (1968)
16 especies de semillas hortícolas y agrícolas	Swaminathan and Kamra (1961)

Fuente: Leadem, 1984.

Hay ciertas desventajas en la utilización de la técnica de rayos X y una de las más destacadas es la relacionada con la dormición. Esto también ocurre en otras técnicas de evaluación como la Prueba Topográfica por Tetrazolio. Entre los aspectos que deben ser destacados se encuentran el funcionamiento seguro del equipo, la seguridad del operador, el costo del

equipamiento, disponibilidad de facilidades edilicias acorde a las emisiones de rayos X y eliminación de residuos sólidos y líquidos producidos por el revelado de las placas.

Como parte de la evolución de la técnica en el mundo, algunos investigadores en diferentes países llegaron a contar con un equipo comercial desarrollado por la empresa Hewlett Packard denominado Faxitron HP 43805N. Desde mediados de los años 80, este equipo fue utilizado con éxito en distintas especies y otros objetos como minerales, diamantes, etc. La técnica de uso del Faxitron requería de placas radiográficas tradicionales y su correspondiente revelado químico luego de la exposición de los objetos a la radiación. Las observaciones se realizaban sobre las placas radiográficas tradicionales de las muestras de semillas y se requería el uso de negatoscopio con el objeto de lograr la mejor visualización de las imágenes obtenidas. No obstante, el citado equipo no fue desarrollado específicamente para su uso en calidad de semillas por lo que no contaba con sistemas especialmente adaptados a los procesos de presentación de muestra, número de repeticiones, secuencia de irradiación, etc. En la actualidad, en la Argentina no se dispone del Faxitron ya que su fabricación fue discontinuada por un periodo a pesar de la gran utilidad que significa la aplicación de la técnica de rayos X en el área de la tecnología de semillas.

En la actualidad y para el proceso de control de calidad de lotes de semillas se utilizan una serie de pruebas, ensayos o análisis para determinar los atributos de la simiente. La técnica de rayos X es ampliamente conocida e intensamente utilizada en medicina, biología y numerosas industrias desde hace muchos años. Además, en las Reglas Internacionales para Análisis de Semillas (ISTA) se dispone de un capítulo específico destinado a la aplicación de esta técnica y tanto ISTA como la Asociación Oficial de Analistas de Semillas (AOSA) poseen manuales de la técnica para distintas especies (AOSA, 1970; AOSA, 1979; ISTA, 1991; ISTA, 2014). Algunos investigadores han realizado trabajos con equipos de rayos X empleados en las áreas de la salud humana como medicina y odontología, biología y la industria, con el objeto de evaluar la utilidad de la técnica en semillas de distintas especies. Las ventajas que se obtuvieron con el uso de la técnica estuvieron relacionadas con aspectos de la calidad de semillas relativos al grado de llenado de semillas y frutos; presencia de agentes extraños en el interior de estructuras seminales; existencia de daños físicos de distinta naturaleza y grado de integridad de las diferentes estructuras embrionarias.

Entre los trabajos publicados se destacan los de Chavagnat, del Institut National de la Recherche Agronomique, quien realizó numerosos estudios de radiología sobre diversos aspectos que hacen a la calidad de semillas de muy diferentes especies. Entre ellos se destacan el empleo de rayos X originados por equipos industriales en la determinación de la calidad de semillas de árboles, arbustos y especies hortícolas (Chavagnat, 1984; Chavagnat y Le Lézec, 1984; Chavagnat, 1985a; Chavagnat, 1985b; Folmer y Chavagnat, 1988; Chavagnat y Bastien, 1991; Chavagnat y Foucat, 1991). Otros autores utilizaron la técnica para la determinación de características morfológicas de algunas semillas como maíz (Girardin *et al.*, 1993), como así también estudiaron la condición de semillas no germinadas luego del análisis de germinación (Simak *et al.*, 1989; Machado, 2002) y la presencia de uno o varios embriones en semillas (L`tang *et al.*, 2002). Este último autor utilizando la técnica de rayos X realizó estudios comparativos entre el análisis de imágenes radiográficas y los análisis de viabilidad por Tetrazolio y los análisis de determinación de semilla vana en especies forestales (Simak y Kamra, 1963; Simak y Sahlén, 1981). Igualmente, otros investigadores implementaron la técnica de rayos X para determinar daños físicos en semillas de especies del gran cultivo, como así también los cambios en el embrión y el endosperma durante procesos de priming e imbibición de semillas hortícolas (León *et al.*, 1986; Liu, *et al.*, 1993; Cicero *et al.*, 1998; Carvalho *et al.*, 1999).

En Argentina, a partir del año 2001, comenzaron a encararse proyectos relacionados con el desarrollo de equipamientos que permitieran incorporar la técnica de rayos X a modelos comerciales con aplicaciones específicas tanto en investigación como en rutina en el laboratorio de análisis de semillas. Como consecuencia de esos trabajos surgieron los equipos SEMAX y RUTAX con utilidad en diagnósticos de investigación y rutina respectivamente (Craviotto *et al.*, 2004; Craviotto *et al.*, 2013). Asimismo, grupos de investigadores pertenecientes a la facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario y del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria aunaron sus esfuerzos con la finalidad de comenzar activamente el empleo de la técnica de rayos X en diferentes especies forestales nativas y del gran cultivo. Dichos estudios abarcaron diferentes aspectos relacionados con la morfología embrionaria, integridad morfológica, confección de patrones radiográficos específicos, descripción radiográfica de daños de diferente naturaleza, como así también los efectos de la irradiación sobre la germinación de semillas del gran cultivo (Craviotto *et al.*, 2006; Salinas *et al.*, 2006; Alzugaray *et al.*, 2007; Salinas *et al.*, 2008; Salinas *et al.*, 2008; Salinas *et al.*, 2009; Salinas *et al.*, 2009; Salinas *et al.*, 2010; Salinas *et al.*, 2011; Salinas *et al.*, 2012; Alzugaray *et al.*, 2012; Gallo *et al.*, 2013). Otros investigadores realizaron trabajos tendientes a la utilización de la técnica de rayos X con el objeto de detectar daños de insectos en especies forestales (Duarte *et al.*, 2014). Además, como trabajos de tesis de investigación empleando la técnica de rayos X se realizaron estudios relacionados con la infección fúngica en tejidos de frutos y semillas de maíz, trigo, soja y nogal que aportaron de esa manera patrones específicos relacionados con el diagnóstico radiográfico relacionado con aspectos sanitarios, daños físicos sobre las semillas y condición de viabilidad (Alvigini, 2008; Flores, 2014; Peruzzo *et al.*, 2015; Incremona *et al.*, 2015).

Un resumen de estas últimas investigaciones se consigna en la Tabla 1.2.

Tabla 1.2

Especies forestales nativas y cultivadas, hortícolas, agrícolas del gran cultivo e industriales en las que se realizaron trabajos científicos utilizando los equipos de rayos X SEMAX, RUTAX, FAXITRON y otros equipos radiológicos convencionales.

Nombres de las especies	Referencia
<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	Van der Burg <i>et al.</i> , 1994
<i>Zea mays</i>	Obando Flor y Moreira de Carvalho, 2002
Guayule	Jorge y Ray, 2004
Patrón radiográfico del ataque de chinche en <i>Glycine max</i> L. Merrill	Craviotto <i>et al.</i> , 2006
Formación de la semilla <i>Glycine max</i> L. Merrill	Salinas <i>et al.</i> , 2006
<i>Aspidosperma Quebracho-Blanco</i> Schlecht	Alzugaray <i>et al.</i> , 2007
<i>Schinopsis balansae</i> Engl.	
<i>Jatropha curcas</i> L.	Sánchez Herrera, 2008
<i>Zea mays</i>	Alvigini, 2008
<i>Taxodium distichum</i> (L.)	Salinas <i>et al.</i> , 2008
<i>Pinus elliotii</i> Engelm	Salinas <i>et al.</i> , 2008
<i>Acacia longifolia</i> (Andr.) Willdenow	Salinas <i>et al.</i> , 2009
<i>Albizia julibrissin</i> (Andr.) Willdenow	Salinas <i>et al.</i> , 2009
<i>Prosopis alba</i> ,	Salinas <i>et al.</i> , 2010
<i>Prosopis nigra</i> ,	
<i>Gleditsia amorphoides</i> ,	
<i>Caesalpinia paraguariensis</i>	
<i>Enterolobium contortisiliquum</i> ,	
<i>Acacia caven</i> ,	
<i>Parkinsonia aculeata</i> ,	

<i>Parkinsonia aculeata</i> ,	
<i>Styphnolobium japonicum</i> ,	
<i>Tipuana tipu</i>	
<i>Cassia fistula</i>	
<i>Glycine max</i> L. Merrill	Salinas <i>et al.</i> , 2011
<i>Ginkgo biloba</i> L.	Salinas <i>et al.</i> , 2012
<i>Acanthosyris falcata</i> ,	Alzugaray <i>et al.</i> , 2012
<i>Araucaria angustifolia</i> ,	
<i>Araucaria araucana</i> ,	
<i>Bahuinia forticata</i> ,	
<i>Brunfelsia australis</i> ,	
<i>Butia capitata</i> ,	
<i>Eritryna crista-gallis</i> ,	
<i>Ziziphus mistol</i> ,	
<i>Prosopis strombulifera</i> ,	
<i>Sesbania virgata</i> ,	
<i>Sophora japonica</i>	
<i>Cordia trichotoma</i> Vell.;	Gallo <i>et al.</i> , 2013
<i>Tilia cordata</i> Mill.;	
<i>Ligustrum lucidum</i> (H. Lév.) H. Lév.;	
<i>Hovenia dulcis</i> Thunb. (H. Acerba Lindl.);	
<i>Fraxinus pennsylvanica</i> Marsh.;	
<i>Prunus amygdalus</i> Batsh.;	
<i>Lagerstroemia indica</i> L.;	
<i>Rhus succedanea</i> L.	
<i>Juglans nigra</i>	Flores, 2014
<i>Cordia trichótoma</i> (Vell.) Arrab. ex Steudel	Duarte <i>et al.</i> , 2014
<i>Zea mays</i>	Incremona <i>et al.</i> , 2015
<i>Triticum aestivum</i> ;	Peruzzo <i>et al.</i> , 2015
<i>Glycine max</i> L. Merrill	

Particularmente en Argentina toda la investigación en las especies cultivadas indicadas en la Tabla 1.2 fue realizada con las técnicas de radiología digital y convencional con la semilla o fruto con el contenido normal de humedad necesario para su conservación sin el empleo de sustancias radiológicas de contraste. Dichas sustancias son capaces de permitir la elaboración de patrones con características de contraste y densidad del objeto de calidad superior, quedando por ello un futuro amplio campo de investigación con el objeto de optimizar el empleo de la prueba de rayos X en el área de Control de Calidad de Semillas.

Bibliografía

- ALLISON, C.J. 1980. X-ray determination of horticultural seed quality. Proc. Int. Plant Prop. SOC. 30:78-89.
- ALVIGINI, M.A. 2008. Caracterización y evaluación de la respuesta al daño mecánico de distintos germoplasmas de maíz (*Zea mays* L.). Tesis de Maestría en Cs Agropecuarias con Mención en Tecnología de Semillas. UNC. p. 40.
- ALZUGARAY, C.; CARNEVALE, N.J.; SALINAS, A.R. 2007. Evaluación de la calidad de las semillas de *Aspidosperma* Quebracho-Blanco Schlecht y *Schinopsis balansae* Engl. mediante la prueba de rayos X. Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias-UNR. Año VII, N.º 11. pp. 51-59. ISSN: 1515-9116. Ed. Dr. Eduardo Leguizamón.
- ALZUGARAY, C.; CARNEVALE, N.; ARANGO, M.; GALLO, C.; CRAVIOTTO, R.M.; SEGUETTI, J.; MONTERO, M.; SALINAS, A. 2012. Utilización de rayos X en semillas y frutos de especies forestales autóctona y cultivada. Revista Análisis de Semillas, tomo 6, v.6, N.º 23. pp. 84-91.
- AOSA. 1970. Rules for testing sedes. Proc. of AOSA. 60(2):1-116
- AOSA. 1979. Radiographic Analysis of Agricultural and Forest Tree Seeds. Contribution N.º 31 to the Handbook on Seed Testing, prepared for The Seed X-Ray Tecnology Committee. p. 29.

- BANERJEE, S.K.; SING, A. 1969a. Radiographic detection of seed abnormalities in some horticultural crops. *Indian J. Agric. Sci.* 39(1):27-31.
- BANERJEE, S.K.; SING, A. 1969b. Radiographic assessment of seed quality of crop plants. *J. Post-Grad. School.* 7 (1-2): 113-117.
- BANERJEE, S.K.; VERMAN, M.M.; SING, A. 1973. Radiographic analysis of sedes: I. Cereal & Millets. *Seed Res.* 1:40-48.
- BARON, F.J. 1967. X-ray good for routine tests of seed viability. *U.S. Forest Serv., Tree Planter's Notes* 18(1):4-6.
- BELCHER, E.W. 1968a. Use of soft X-ray on tree seed testing and research. *S.E. forest Radiog. Workshop*, enero 9-11, Athens, GA USA, p. 10.
- BELCHER, E.W. 1968b. Using contrast agents in longleaf and loblolly pine seed tests. *Proc. Ass. Offic. Seed Anal.* 58:76-79.
- BELCHER, E.W. 1974. Radiographic in tree seed analysis has new twist. *U.S. Forest Serv., Tree Planter's Notes* 24(3):1-5.
- BELCHER, E.W., (Jr.) 1974. Specialized use of X-ray in seed analysis. In *Proc. Seed X-ray Symp.*, Macon, GA, pp. 41-44.
- BELCHER, E.W., JR.; VOZZO, J.A. 1979. Radiographic analysis of agricultural and forest tree seeds. *AOSA Handbook N.º 31*, p. 29.
- BUSHONG, S.C. 1998. *Manual de Radiología para Técnicos. Física, Biología y Protección Radiológica*. 6.ª Edición en español, Harcourt Brace, p. 586.
- CARVALHO, M.L.M., VAN AELST, A.C., VAN ECK, J.W.; HOEKSTRA, F.A. (1999). Pre-harvest stress cracks in maize (*Zea mays* L.) kernels as characterized by visual, X-ray and low temperature scanning electron microscopical analysis: Effect on kernel quality. *Seed Science Research*, 9, 227-236.
- COX, R.A. 1973. Application of radiography to seed viability problems in yellow Poplar seed orchards. *Proc. 12th So. Forest Tree Improv. Conf.* 12:104-110.
- CZABATOR, F.J. 1962. Germination value; an index combining speed and completeness of pine seed germination. *For. Sci.* 8:386-396.
- CICERO, S.M.; VAN DER HEIJDEN, G.W.A.M.; VAN DER BURG, W.J.; BINO, R.J. 1998. Evaluation of mechanical damage in sedes of maize (*Zea mays* L.) by X-ray and digital imaging. *Seed Science and Technol.*, 26, 603-612.
- CHAVAGNAT, A. 1984a. Détermination de la qualité des semences d'arbres et d'arbustes d'ornement par la radiographie industrielle aux rayons X. *L'Horticulture Française*, décembre, pp. 22-24.
- CHAVAGNAT, A.; LE LÉZEC, M. 1984. Détermination de la valeur culturale des semences par la radiographie industrielle aux rayons X. Applications aux pépines de pommier (*Malus pumila* Mill.). *Agronomie*, 5 (2), 187-192.
- CHAVAGNAT, A. 1985a. Use of soft X-ray radiography for studying seed quality in horticulture. *Acta Horticulturae*, 215, 153-158.
- CHAVAGNAT, A. 1985b. La radiographie industrielle aux rayons X. Contrôle de la qualité de semences et autres applications en agronomie. *C.R. Acad. Agric. De France*, 71, 5, 457-463.
- CHAVAGNAT, A.; FOUCAT, L. 1991. Etude de la germination de *Capsicum annuum* L. par les techniques de microimagerie RMN et de rayons X. *Journée RMN et METABOLISME INRA*. Paris.
- CHAVAGNAT, A.; BASTIEN, J.C. 1991. Détermination de la qualité des graines de *Cupressus sempervirens* L. et *Cupressus arizonica* E. Greene par la radiographie aux rayons X. *Seed Science and Technol.*, 19, 139-146.
- CRAVIOTTO, R.M.; ARANGO, M.R.; SALINAS A.R.; GIBBONS, R.; BERGMANN, R.; MONTERO, M.S. 2004. A Device for Automated Digital X-Ray Imaging for Seed Analysis. *Seed Science & Technology*. 32(3):867-871. ISSN: 0254-0952.
- CRAVIOTTO, R.; SALINAS, A.; ARANGO, M.; GALLO, C.; FERRARI, S.; BISARO, V.; MONTERO, M.; MILANESI, D. 2006. Patrón radiográfico del ataque precoz de chinche en soja. *Anales del 3.º Congreso de Soja del MERCOSUR*, pp. 162-165. Rosario, Argentina. 30/06/2006. Asociación de la cadena de la soja argentina.
- CRAVIOTTO, R.M.; ARANGO, M.R.; SALINAS, A.R.; GIBBONS, R.; GALLO, C.V. 2013. A mechanical device for the application of the X-ray technique in seed analysis. *Seed Technology*. v. 35 (2): 261-265.
- DAY, R.J. 1970. X-ray photo of seeds. *Forest. Chron.* 46: cover, 356.
- DE BARR, G.L. 1970. Characteristic and radiographic detection of seed bug damage to slash pine seed. *Fla. Entomol.* 53:109-117.
- DENNIS, N.M.; DECKER, R.W. 1962. A method and machine for detecting living internal insect infestation in wheat. *J. Econ. Entomol.* 55:199-203.
- DEVILLEZ, F.; OLDENHOVE DE GUERTECHIN, M. 1973. X-ray contrast method and germination test of stratified or unstratified Douglas-Fir sedes from two origins. *Proc. IUFO Inst. Seed Symp.*, Bergen. 1(5):1-11.

- DORNE, A.J.; DEVILLEZ, F.; COURTEMANCHE, D. 1974. La microradiographie des semences appliquée à certaines espèces recoltées dans des Terres Australes et Antarctiques Françaises. (Seed microradiography of some species growing in the "Terres Australes et Antarctiques Françaises". C.R. Acad. Sc. Paris, 278:1491-1494.
- DUARTE, E.; ACEVEDO, M.; SANSBERRO, P.; LUNA, C. 2014. Detección de daño del coleóptero *Amblycerus longesuturalis* para la selección y germinación in vitro de semillas de Peteribí (*Cordia trichótoma* Vell. Arrab. ex Steudel). Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata, Vol. 113 (1): 18-27, ISSN 0041-8676.
- DUFFIELD, J.W. 1973. New techniques for Reading seed radiographs save time. U.S. Forest Serv., Tree Planter's Notes 24(3):14.
- EDEN, C.J. 1965. Use of X-ray technique for determining sound seed. U.S. Forest Serv., Tree Planter's Notes 72:25-28.
- EDWARDS, D.G.W. 1973. Polaroid film for rapid seed radiography. In Proc. IUFRO Int. Symp. on Seed Processing, Bergen, Norway, Vol. 1, Paper N.º 6.
- FENTON, F.A.; WAITE, W.W. 1932. Detecting pink bollworms in cottonseeds by the x-ray. J. Agric. Res. 45(6):347-348.
- FLORES, P. 2014. Factores que afectan la calidad fisiológica y la capacidad de almacenamiento de las semillas de nogal negro (*Juglans nigra* L.). Tesis doctoral UNR Fac. Cs. Agrarias, p. 180.
- FOLMER, J.C.; CHAVAGNAT, A. 1988. Radiographie des semences et analyse d'image. Acta Horticulturae, 253, 272-273.
- GALLO, C.; CARNEVALE, N.; ALZUGARAY, C.; ARANGO, M.; MARTÍNEZ, M.; MONTERO, M.; CRAVIOTTO, R.; SALINAS, A. 2013. Caracterización de semillas y frutos de especies forestales por la técnica de rayos X. Revista Análisis de Semillas. Tomo 7, Número 27, pp. 77-82.
- GIRARDIN, P.; CHAVAGNAT, A.; BOCKSTALLER, C. 1993. Détermination des caractéristiques des semences de maïs grâce à la radiographie aux rayons X. Seed Sci. And Technol., 21, 545-551.
- GRAHAM, H.M.; ROBERTSON, O.T. AND MARTIN. D.F. 1964. Radiographic detection of pink bollworm larvae in cottonseed. J. Econ. Entomol. 57:419-420.
- GRIMM, H.G. 1958. Röntgendiagnostik bei Zuckerrübensaatgut. Zucker 11(13):302-306.
- GUSTAFSSON, A.; SIMAK, M. 1956. X-ray diagnostics and seed quality in forestry. Int. Union Forest. Res. Org., 12th. Congr., Oxford, IUFRO Docum. 56/22/102, 11 p.
- HANSEN, J.H.; MUELDER, D.W. 1963. Testing of redwood seed for silvicultural research by X-ray photography. For. Sci. 9:470-476.
- HAREIN, P.K. 1960. Method for detecting hidden infestation in grains. Pest Control 28(2):35-36, 38.
- HARRIS, K.M. 1971. X-ray detection of *Contarinia sorghicola* (Coq.) larvae and pupae in sorghum spikelets. Bull. Entomol. Res. 60:379-382.
- HEIKEN, A.; SOEGAARD. 1962. A study of the of the variation of seed weight in *Larix decidua* on the basis of radiographs. Ann. Acad. Sci. Uppsala 6:55-58.
- HEYDECKER, W. 1969. The vigour of seeds – a review. In Proc. Int. Seed Test. Assoc. 34:201-220.
- HOGABOAM, G.J. 1961. Radiographing as a method of observing some seed characters in monogerm sugar beet fruits. J. Am. Soc. Sugar Beet Technol. 11(7):605-609.
- HOUSTON, D.B. 1976. Determining the quality of white ash seed lots by X-ray analysis. U.S. Forest Serv. Tree Planter's Notes. 27(2):8-9.
- HURLOCK, E.T. 1963. Detection of insects in dried peas – X-rays show most promise among 8 methods. Food Manuf. 38:367-369.
- INCREMENTONA, M.; GONZÁLEZ, M.; GHIO, A.; SALINAS, A. 2015. "Infección fúngica en tejidos de cariopsis de maíz y su incidencia en la calidad sanitaria". V. 28 (1): 1-12. Revista Caatinga.
- ISTA. 1991. Tree and Shrub Seed Handbook. Ed. GORDON, A.G.; GOSLING, P.; WANG, B.S.P. Forest Tree and Shrub Seed Committee of the International Seed Testing Association. P:O: 402, CH-8046 Zurich, Suiza, p. 96.
- ISTA. 2014. International Rules for Seed Testing. Published by The International Seed Testing Association (ISTA) Zürichstr. 50, CH-8303 Bassersdorf, Switzerland ©2014 International Seed Testing Association (ISTA). Online ISSN 2310-3655 .233 p.
- JORGE, M.H.A.; RAY, D. T. 2004. Germination characterization of guayule seed by morphology, mass and, X-ray analysis. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669004001384> Copyright © 2004 Elsevier B.V.
- KAEISER, M.; BOYCE, S. G. 1962. X-ray negatives for sorting yellow-poplar samaras with filled and empty seed. J. Forest. 60:410-411.

- KAMRA, S.K. 1963a. Determination of mechanical damage on Scots pine seed with X-ray contrast method. *Studia For. Suecica* N.º 8, pp.1-19.
- KAMRA, S.K. 1963b. Studies on a suitable contrast agent for the X-ray radiography of Norway spruce seed (*Picea abies*). *Proc. Int. Seed Test. Assn.* 28(2):197-201.
- KAMRA, S.K. 1964a. Determination of germinability of cucumber seed with X-ray contrast method. In *Proc. Int. Seed Test. Assoc.* 29(3):519-534.
- KAMRA, S.K. 1964b. Determination of seed quality by X-rays. *Adv. Front. of Plant Sci.* 9: 119-129.
- KAMRA, S.K. 1964c. The use of X-ray in seed testing. *Proc. Int. Seed Test. Ass.* 29(1):71-79.
- KAMRA, S.K. 1965. Use of X-ray radiography for studying seed quality in grasses. *Proc. Int. Seed Test. Ass.* 30(3):519-524.
- KAMRA, S.K. 1967a. Determination of germinability of melon seed with X-ray contrast method. In *Proc. Int. Seed Test. Assoc.* 31(5):719-729.
- KAMRA, S.K. 1967b. Detection of mechanical damage and internal insects in seed by X-ray radiography. *Svensk. Bot. Tidskr.* 61(1):43-48.
- KAMRA, S.K. 1967c. Contributions to the X-ray radiography of seed. *Dep. Forest Genet., Royal Coll. Forest, and Inst. Bot., Univ. Stockholm, Estocolmo*, p. 14.
- KAMRA, S.K. 1971. The X-ray contrast method for testing germinability of *Picea abies* seed. *Stud. For. Suecica* 90:1-28.
- KAMRA, S.K. 1972. Comparative studies on germinability of *Pinus sylvestris* and *Picea abies* seed by the indigo carmine and X-ray contrast methods. *Studia For. Suec.* 99, p. 21.
- KAMRA, S.K.; MEYER, W.W.; WEGELIAS, G. 1973. Stereoradiography for increased information and accuracy in seed quality testing. *IUFRO, Proc. Intl. Symp. on Seed. Bergen, Norway*, p. 8.
- KAMRA, S.K. 1973. X-ray radiography of teak seed (*Tectona grandis* L.). In *Proc. IUFRO Intl. Symp. on Seed Processing, Bergen, Norway, Vol. I, Paper 1(9):1-13.*
- KAMRA, S.K. 1974. X-ray radiography of tropical forestry seed. In *Proc. Seed X-ray Symp., Macon, GA*, pp. 1-20.
- KAMRA, S.K. 1976. Use of X-ray radiography for studying seed quality in tropical forestry. *Stud. Forest. Suecica* N.º 131, p. 34.
- KAMRA, S.K. 1980. Studies by X-ray contrast method on fresh and stored seed of *Pinus caribaea* and *Pinus patula*. In *Proc. IUFRO/ISTA/INIF Workshop on Tropical Seed Problems (San Felipe, Bacalar, Mexico, Oct. 1980)*, pp. 307-314.
- KARMA, S.K.; BHARGAVA, S.B. 1967. Determination of germinability of pumpkin and squash seed with X-ray contrast method. *Sv. Bot. Tidskr.*, 61(2): 273-282.
- KARMA, S.K.; SIMAK, M. 1965. Physiological and genetical effects on seed of soft X-rays used for radiography. *Bot. Notiser* 118(2):254-264.
- KATS, R.; LEE, M.R.; MILNER, M. 1950. X-ray inspection of wheat. *Non-Destructive Test.*, (Fall): 16-18.
- KIRKPATRICK, R.L., WILBUR, D. A. 1965. The development and habits of the granary weevil, *Stophilus granarius* within the kernel of wheat. *J. Econ. Entomol.* 58:979-985.
- KRIEBEL, H.B. 1966. Technique and interpretation in tree seed radiography, *U.S. Forest Serv. Res. Paper NC-6:70-75.*
- KISO, J.; KHAZRAJI, S.; BACK, G. 1982. Ten exercises in testing of forest tree seeds. In *Institutionen för Skogsskötsel, Interna Rapporter 1982-83*, p. 43.
- KLAEHN, F.U.; WHEELER, W.P. 1961. X-ray study of artificial crosses in *Picea abies* (L.) Karst. and *Picea glauca* (Moench) Voss. *Silvae Genetica* 10 (3): 71-77.
- KODAK CANADA, INC. 1980. *Radiography in modern industry*. 4th ed. Eastman Kodak Co., X-ray Div., Rochester, N.Y., p. 164.
- LEADEM, C.L. 1981. Wick methods for determining seed quality in tree seeds. In *Proc. "High quality collection and production of conifer seed"*. (Edmonton, Alberta, Nov. 14, 1979), pp. 64-72. *Env. Can., Can. For. Serv. Info. Rep. NOR-X-235*, p. 88.
- LEADEM, C.L. 1984. *Quick Tests for Tree Seed Viability*. Land Management. Report N.º 18. ISSN 0702-9861. B.C. Ministry of Forests. Research Laboratory. 4300 North Road. Victoria, B.C. V8Z 5J3. Province of British Columbia. Ministry of Forests.
- LEÓN, G.G.; AGUIRRE, A. J.; CARVALHO, O.L.M.; IRIGON, D.L.; GODOY, A.F. 1986. Utilização de filmes radiográfico, pancromático e infravermelho na avaliação de danos em sementes. *Revista do Centro de Ciências Rurais*, 16, 303-318.
- LIU, Y.; BURG, W.J.; VAN DER AARSTE, J.W.; ZWOL, R. A.; VAN JALINK, H.; BINO, R.J. 1993. X-ray studies on changes

- in embryo and endosperm morphology during priming and imbibition of tomato sedes. *Seed Science Research*, 3, pp. 171-178.
- L`TANG, J.M.; PEIX, G.; DROULEZ, L. 2002. Automatic selection of seeds using pattern recognition techniques in high resolution x-ray images. <http://www.ndt.net/article/ecndt02/412/412.htm>
- NDT.net - Diciembre 2002, Vol. 7 N.º12.
- LUNDSTRÖM, A.N. 1903. Diskussioninlägg vid För. F. Skogsvard disk.-möte a Robertsfor. Arssk. Fran Fören. F. Skogsvard i Norrland., Estocolmo, 1904:15. (As cited by Kamra 1963).
- MACHADO, C.F. 2002. Metodologia para a condução do teste de germinação e utilização de raios-X para a avaliação da qualidade de sementes de aroeira-branca (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl.). Piracicaba. 2002. 51f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.
- MILNER, M., LEE, M.R.; KATZ, R. 1950. Application of X-ray technique to the detection of internal insect infestation of grain. *J. Econ. Entomol.* 43:933-935.
- MILNER, M. 1951. Recent developments in method for detecting internally infested wheat. *N.W. Miller (Milling Prod. Sect.)* 245(2):1a, 6a-8a, 10a-11a.
- MILNER, M., LEE, M.R.; KATZ, R. 1952a. Radiography applied to grain and seeds. *Food Technol.* 6:44-45.
- MILNER, M.; SHELLENBERGER, J.A.; LEE, M.R.; KATZ, R. 1952b. Internal fissuring of wheat due to weathering. *Nature* 170:533.
- MORGAN, H.K.; MAGUIRE, J.D. 1974. The X-ray evaluation of safflower seed to determine the percent non-filled seeds. In *Proc. Seed X-ray Symp.*, Macon, GA, pp. 97-98.
- MÜLER-OLSEN, C.; SIMAK, M. 1954. X-ray photography employed in gemination analysis of Scot pine. *Medd. F. Stat. Skogsforsk. Instt.* 44(6):1-19.
- MÜLER-OLSEN, C.; SIMAK, M.; GUSTAFSSON, A. 1956. Germination analysis by the X-ray method: *Picea abies* (L.) Karst. *Meddelanden Fran Statens Skogsforskningsinstitut* 46(1):1-12.
- NAMKOONG, G. 1958. X-ray method of germination analysis in *Picea abies* (L) Karst, *Pinus resinosa* Ait. M.S. Thesis, Syracuse Univ., Syracuse, N.Y.
- NAKAMURA, S. 1974. Determination of germinability of eggplant and pepper seeds with X-ray contrast method. In *Proc. Seed X-ray Symp.*, Macon, GA, pp. 21-28.
- NEKRASOV, V.I.; SMIRNOVA, N.G. 1961. Use of the X-ray method for studying the development of the sedes of introduced trees. (In Russian) *Moscow Glav. Bot. Sad.* B, 43:47-52.
- NICHOLSON, J.F.; KURTZ, O.L.; KENTON, L.H. 1953. X-ray examination for detection of internal insect infestation in corn. *J. Assoc. Off. Agric. Chem.* 36:993-1001.
- OBANDO FLOR, E.P.; MOREIRA DE CARVALHO, M.L. 2002. Uso de los rayos-x para la evaluación de daños internos producidos por secamiento y sus efectos en la calidad de semillas de maíz. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín.* Vol.55, N.º2. p. 1521-1537.
- PEDERSEN, J.R.; BROWN, R. A. 1960. X-ray microscope to study behavior of internal-infesting grain insects. *J. Econ. Entomol.* 53:678-679.
- PERUZZO, A.; PIOLI, R.; SALINAS, A. 2015. Effect of *Fusarium graminearum* Schwabe on physiological quality of soybean seed and wheat caryopsis in Argentina. *Revista Caatinga*. Aprobada para su publicación 2015.
- SALINAS, A.R.; CRAVIOTTO, R.M.; ARANGO, M.R.; GALLO, C.; FERRARI, S.A; BISARO V.; MONTERO, M. 2006. Formación de la semilla de soja descripta por la técnica de rayos X. *Anales del 3.º Congreso de Soja del MERCOSUR*. p. 170-173. Rosario, Argentina. 30/06/2006.
- SALINAS, A.R.; CRAVIOTTO, R.M.; BISARO, V.; FERRARI, S.; GALLO, C.; ARANGO, M.; MARTÍN, J.; CORTINA, M.; MILANESI, D. 2008. Caracterización de semillas de *Taxodium distichum* (L.) Rich. a través de variables físicas y radiográficas". *Análisis de Semillas*, Tomo 2, N.º 6:74-80. Ed. Ing. Agr. Dra. Mercedes Scandiani- Ing. Agr. Delma Ruberti.
- SALINAS, A.; CRAVIOTTO, R.; BISARO, V.; FERRARI, S.; GALLO, C.; ARANGO, M.; SEGUETTI, J. 2008. Caracterización de semillas de *Pinus elliottii* Engelm. a través de variables físicas y radiográficas. *Revista Científica Agropecuaria*. 12(2): 71-84.
- SALINAS, A.; CRAVIOTTO, R.M.; ARANGO, M.R.; GALLO, C.; BISARO, V.; FERRARI, S. 2009. "Caracterización de semillas de *Acacia longifolia* (Andr.) Willdenow a través de variables físicas y radiográficas". *Análisis de Semillas*, Tomo 3, v.4, N.º 12. p. 88-92.
- SALINAS, A.; CRAVIOTTO, R.M.; FERRARI, S.; GALLO, C.; ARANGO, M.R.; BISARO, V. 2009. "Caracterización de semillas de *Albizia julibrissin* (Andr.) Willdenow a través de variables físicas y radiográficas". *Análisis de Semillas*, Tomo 3, v.4, N.º 12. p. 93-97.
- SALINAS, A.; GALLO, C.; ALZUGARAY, C.; ARANGO, M.; CRAVIOTTO, R.; SEGUETTI, J.; MONTERO, M.; BISARO, V. 2010. Caracterización radiográfica de semillas y frutos de especies forestales autóctonas y cultivadas. *Análisis de Semillas*. Tomo 4. N.º 16. p. 73-81.

- SALINAS, A.; GALLO, C.; CRAVIOTTO, R.; ARANGO, M.; VISARO, V.; CECCARELLI, N.P. 2011. Evaluación por rayos X del ataque de chinche en soja. Cultivos estivales para mejorar la producción 46. Estación Experimental Agropecuaria Oliveros. Centro Regional Santa Fe, pp. 95-98.
- SALINAS, A.R.; CRAVIOTTO, R.M.; BISARO, V.; GALLO, C.V.; ARANGO, M.R. 2012. X-ray: Characterization of Ginkgo biloba L. seeds using digital and manual measurements. Revista Caatinga. Mossoró, Brasil. v. 25, N.º 3, pp. 1-7, jul-set.
- SÁNCHEZ HERRERA, D.E. 2008. Obtención, análisis y germinación de semillas de *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae Juss.) no tóxica de Veracruz, México. Universidad Veracruzana. Fac. de Biología Veracruz, México, p. 58.
- SCERBACOVA, M.A. 1964. Determining conifer seed quality by radiography. IN Forest. Abstr. 26(4):5056.
- SHEVCHENKO, M.T. 1937. Revealing seed pests by means of X-rays (In Russian with English summary). Plant Protection (Russian) 14:14-25.
- SIMAK, M. 1955. Insect damage on sedes of Norway spruce determined by X-ray photography. Norrl. Skogsvardsforb. Tidshr. 3:299-310.
- SIMAK, M. 1957. The X-ray contrast method for seed testing Scots pine *Pinus silvestris*. Medd. Statens Skogsforskinst. 47(4):1-22.
- SIMAK, M.; KAMRA, K. 1963. Comparative studies on Scots pine sedes germinability with tetrazolium and X-ray contrast methods. Proceeding of the International Seed Testing Association, 28, 3-18.
- SIMAK, M. 1974a. Vaporous X-ray contrast agents for testing seed viability of *Pinus silvestris* L. -In Proc. Seed X-ray Symp., Macon, GA. 29-40.
- SIMAK, M. 1974b. Some problems concerning X-ray contrast method used in forestry seed testing and research. Inst. for Skogsförnygring Rapport och Uppsatser N.º 55, 14 p.
- SIMAK, M. 1980. X-radiography in research and testing of forest tree seeds. Sveriges Lantbruksuniversitet Institutionen för Skogsskötsel Rapporter N.º 3, 34 p.
- SIMAK, M. 1984. A method for removal of filled-dead seeds from a sample of *Pinus contorta*. Seed Science and Technol., 12, 767-775.
- SIMAK, M.; BERGSTEN, U.; HENRIKSSON, G. 1989. Evaluation of ungerminated sedes at the end of germination test by radiography. Seed Science and Technol., 17, 361-369.
- SIMAK, M.; GUSTAFSSON, A. 1953. X-ray photography and sensitivity in forest tree species. Hereditas 39:458-468.
- SIMAK, M.; SAHLEN, K. 1981. Comparison between the X-radiography and cutting tests used in seed quality analysis. Seed Sci. Technol. 9(1): 205-227.
- SIMAK, M.; SAHLEN, K. 1983. Bibliography on X-radiography in seed research and testing. Sveriges Lantbruksuniversitet Institutionen för Skogsskötsel Rapport N.º 12, p. 72.
- SINGH, A.; BANERJEE, S.K. 1968. Detection of mechanical damage in soya-bean (*Glycine max*) seed by radiographic analysis. Curr. Sci. 37(11): 322-323.
- SWAMINATHAN, M.S.; KAMRA, S.K. 1961. X-ray analysis of the anatomy and viability of seeds of some economic plants. Indian J. Genet. Plant. Breed. 21 (2): 129-135.
- VAN DER BURGI, W.J.; AARTSE J.W.; VAN ZWOL, R.A.; JALINK, H.; BINO, R.J. 1994. Predicting Tomato Seedling Morphology by X-ray Analysis of Seeds. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 119(2):258-263.
- VERMA, M.M.; VERMA, K.; SINGH, A. 1974. X-ray contrast method for seed viability determination of cereal millets. 17th Int. Seed Test. Congr. Preprint N.º 40, p. 8.
- VOZZO, J.A.; LINEBAUGH, S. 1974. Tomography in seed research. Proc. Ass. Offic. Seed Anal. 64:94-96.
- VOZZO, J.A. 1974a. Special radiographic techniques. Proc. Seed X-ray Symp. Macon, GA. 79-83.
- VOZZO, J.A. 1974b. Stereoradiographic technique for observing sedes at short viewing distance. USDA, For. Serv. Res. Note S0-172, p. 3.
- WANG, B.S.P. 1974. A simple technique for seed transfer in X-ray analysis of seed. Can. J. Forest. Res. 4(3):407-409.
- WIERSMA, N. 1976. X-ray radiography on forest seed (equipment, methods and field of use). Int. Union For. Res. Org. Working Party 32.01.06 Project 2, p. 37. Royal College For., Estocolmo, Secia.
- YUASA, H. 1926. On the advantages of the X-ray examination of certain classes of materials and insects subject to the plant quarantine regulations. -In Proc. 3rd Pan-Pacific Sci. Congr., Tokyo 1:1141.
- YATES, H.O. 1974. Radiography for detection and study of insects in plant sedes. Proc. Seed X-ray Symp., Macon, Ga. USA, pp. 65-78.

Principios generales de la radiología

La radiografía es una técnica no destructiva empleada para el análisis de características internas de las semillas. Estas características se refieren principalmente a la anatomía de estas y a defectos internos que no pueden visualizarse fácilmente. Sin embargo, la radiografía aplicada en el análisis de calidad de semillas permite identificar cambios fisiológicos que se producen en las simientes durante el proceso de maduración y que pueden tener una importante influencia sobre la viabilidad y el vigor de las semillas (Simak, 1991).

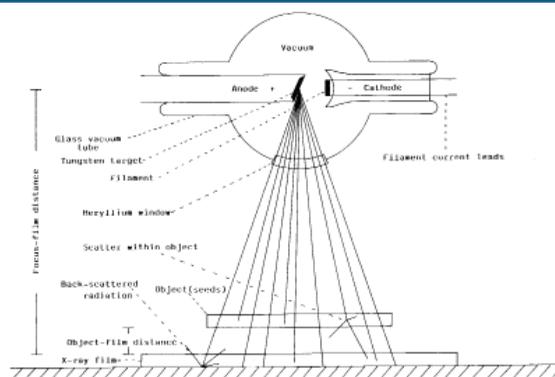
Teoría de la radiografía

Los rayos X son una forma de energía electromagnética que puede ionizar a la materia, es decir, que puede arrancar un electrón de un átomo. Además, estos rayos tienen la característica de atravesar diferentes materiales que absorben o reflejan la luz visible.

Los rayos X se generan con tubos de rayos X, dentro de los cuales se produce el calentamiento de un filamento del cátodo y los electrones de dicho filamento se activan a un alto nivel de energía (Figura 2.1). Este alto voltaje potencial generado entre dos electrodos induce a los electrones a trasladarse por el vacío del tubo de rayos X a una muy alta velocidad, moviéndose desde el cátodo al ánodo. Los electrones colisionan en el ánodo, en un punto denominado punto focal y se generan los rayos X. Estos rayos se emiten a través de una ventana metálica, generalmente construida con berilio, y se produce un cono de radiación, denominado flujo de rayos X útiles (Simak, 1991) (Figura 2.1).

Figura 2.1

Principales características del equipo de rayos X.



Fuente: Ellis et al, 1985

El grado de absorción de los rayos X en el objeto es variable y depende del espesor, la densidad y la composición del objeto. La longitud de onda de la radiación también influye en el grado de absorción de los rayos X en el objeto, siendo los rayos X de menor longitud de onda los que poseen mayor energía y penetración. La capacidad o poder de penetración de un haz de rayos X se denomina *calidad de rayos X*. Los rayos X de alta longitud de onda se denominan *rayos X blandos*, mientras que los rayos X de baja longitud de onda son *rayos X duros*.

Estos últimos son rayos más penetrantes y ocurre lo contrario con los rayos X blandos (Ellis et al., 1985; Bushong, 1998).

Los rayos X atraviesan el objeto e impactan sobre la placa fotográfica o sensor generando la imagen radiográfica de este. En las imágenes radiográficas se pueden observar áreas oscuras y áreas claras correspondientes a los distintos grados de absorción de la radiación en el objeto. Las áreas más oscuras de las imágenes radiográficas corresponden a aquellas partes del objeto irradiado que fueron más fácilmente atravesados por los rayos X. Por el contrario, las áreas claras de la imagen radiográfica representan aquellas partes del objeto que posee mayor densidad y por lo tanto, permiten que la radiación impacte sobre la placa radiográfica, aclarándola en la zona de impacto del rayo X (Simak, 1991) (Figura 2.2).

Figura 2.2

Imagen radiográfica de semillas de *Prunus dulcis* (almendro).

- a) Área clara que corresponde a una parte de la semilla con mayor densidad;
- b) área oscura que corresponde a una parte de la semilla con menor densidad.



La placa y la imagen radiográfica

En el mercado existen varios tipos de placas radiográficas usadas comercialmente para diferentes finalidades. En el caso de la radiografía de semillas, se emplea el mismo tipo de placas radiográficas usadas en la radiografía industrial.

Las placas están compuestas por cristales de hialuro suspendidos en una emulsión gelatinosa que recubre el plástico transparente que conforma la placa radiográfica (Simak, 1991).

La placa radiográfica consta básicamente de dos partes: la *base* y la *emulsión* (Figura 2.3). Entre estas dos partes se encuentra un fino recubrimiento de sustancia denominada *capa adhesiva* cuya finalidad es garantizar la adherencia uniforme de la emulsión a la base durante todo el proceso de irradiación y revelado.

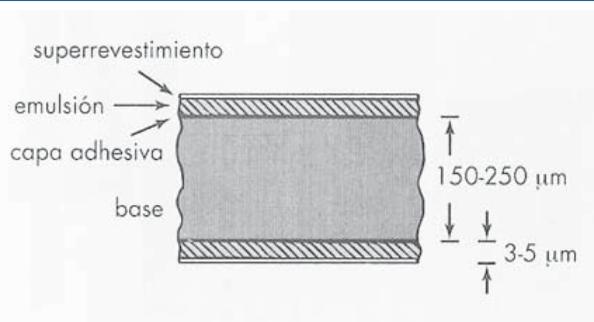
La *base* es el soporte de la emulsión de la placa. Su principal función es ofrecer una estructura rígida sobre la cual pueda depositarse la emulsión. Es flexible e irrompible para facilitar el manejo, pero lo suficientemente rígida para que se pueda sujetar en un negatoscopio.

La *emulsión* es la parte principal de la placa radiográfica. Es el material con el que interaccionan los rayos X. La emulsión está compuesta por una mezcla homogénea de gelatina y cristales de haluros de plata. Estos últimos forman el ingrediente activo de la

emulsión y están constituidos por un 95% de haluros de bromuro de plata y el resto, de yoduro de plata. La emulsión se encuentra inserta en una cubierta protectora de gelatina denominada *superrevestimiento* (Bushong, 1998) (Figura 2.3).

Figura 2.3

Vista de la placa radiográfica en sección transversal.



Fuente: Bushong, 1998

Cuando la placa se expone a los rayos X, los cristales de hialuro de plata se convierten en cristales metálicos negros de plata. La imagen del objeto aparece en la placa radiográfica luego que finaliza el proceso de revelado químico (Simak, 1991).

Las placas radiográficas que poseen cristales de hialuro de plata de mayor tamaño requieren menor tiempo de exposición a los rayos X. Sin embargo, en estas placas la resolución de la imagen es baja y por lo tanto poseen un menor contraste y definición dificultando la observación de pequeños detalles en la imagen. Estas placas también requieren el uso de un menor dosis de rayos X y por lo tanto el efecto radiobiológico sobre el material irradiado en más bajo que cuando se trabaja con mayores dosis (Simak, 1991).

Además de la radiografía convencional que requiere el uso de placas radiográficas, la radiografía digital difiere de la convencional en el hecho de que el receptor de la imagen no es la placa radiográfica. Por el contrario, se utilizan otros detectores de radiación que suministran una salida eléctrica proporcional a la intensidad de radiación. En principio, esta señal de salida puede producirse en forma analógica, si bien después se convierte en formato digital. La imagen se presenta posteriormente en un monitor de computadora después de haber sido manipulada a través de un proceso informático (Bushong, 1998).

Calidad de la imagen radiográfica

La calidad de una imagen radiográfica depende de cuatro cualidades: el contraste, la densidad, la definición y la distorsión.

El *contraste* es la gama de sombras grises de una imagen. La función del contraste en la imagen consiste en mejorar la visibilidad del detalle anatómico. Por lo tanto, el contraste es uno de los factores más importantes en la evaluación de la calidad radiográfica ya que señala visiblemente el contorno o borde de una estructura. El poder de penetración de los rayos X adquiere una gran importancia ya que el grado de penetración de la radiación en el objeto determina en contraste final de la imagen (Bushong, 1998) (Figura 2.4).

Figura 2.4

Imagen radiográfica de semillas de *Araucaria angustifolia* con coloraciones grises, negras y blancas que permiten observar con claridad las diferentes estructuras: a) contorno de las semillas, b) borde de la cubierta (b), c) embrión y d) cámara de aire.



Fuente: INTA Oliveros

La *densidad* se define como la cantidad de áreas oscuras en la radiografía y se mide por la cantidad de luz transmitida (Simak, 1991). El grado de ennegrecimiento de la radiografía puede variar desde el negro total, donde no se transmite luz a través de la radiografía, hasta casi la transparencia. El ennegrecimiento de la radiografía es el resultado del revelado de los cristales de bromuro de plata en la emulsión de la placa radiográfica y está relacionado directamente con la cantidad de exposición de rayos X recibida. Por un lado, una radiografía excesivamente oscura tiene una densidad elevada resultante a una *sobreexposición*. Por otro lado, las radiografías demasiado claras han sido expuestas a un nivel de radiación excesivamente bajo que resultó en una *subexposición* y una densidad baja. Cualquiera de las dos condiciones detalladas producen una calidad de imagen inaceptable y debe repetirse la toma radiográfica (Bushong, 1998).

El número de rayos X generados afecta la densidad, pero no el contraste de la imagen (Ellis *et al.*, 1985).

La *definición* se refiere a la nitidez del detalle de la imagen en el que los bordes del objeto y la magnitud de la claridad o borrosidad de la imagen (Bushong, 1998). La definición aumenta cuando disminuye el movimiento del objeto a irradiar (Belcher y Vozzo, 1979).

En una imagen radiográfica, la calidad de sus detalles es determinada por la combinación de *definición + contraste* (Simak, 1991).

La *distorsión* es la representación errónea del tamaño y la forma del objeto en la radiografía final. Según la posición del tubo de rayos X y del objeto en estudio, la imagen final puede representar al objeto de modo inadecuado (Bushong, 1998).

En el estudio de semillas empleando la técnica de radiografía pueden usarse distintos tipos de placas radiográficas en función del trabajo que se necesite realizar.

La sensibilidad de la placa radiográfica se denomina velocidad.

Por un lado, en el caso de experimentos genéticos donde las semillas se emplearán en posteriores ensayos biológicos es necesario evitar el uso de altas dosis de rayos X y por lo

tanto se debe emplear una placa de alta velocidad de generación de imagen. Por otro lado, cuando la toma de radiografías tiene como finalidad la publicación de las imágenes donde es necesaria una alta definición, se deben utilizar placas de baja velocidad de generación de imagen.

Para el análisis rutinario de semillas, donde estas son descartadas generalmente al finalizar la toma de la imagen, puede ser utilizada una placa de baja velocidad de generación de imagen. Sin embargo, para reducir el tiempo de exposición, es razonable elegir una placa radiográfica de velocidad media que posee un alto contraste que permite una interpretación aceptable de la imagen (Simak, 1991).

Factores de exposición

Para la obtención de una radiografía de calidad aceptable se deben tener en cuenta los siguientes factores:

Kilovoltaje (kV)

Es una medición del voltaje potencial entre el cátodo y el ánodo en un tubo de rayos X. Cambiando el kV se producen cambios en la velocidad de los electrones entre el cátodo y el ánodo. Al aumentar el kV se generan rayos X con menor longitud de onda y *viceversa* (Ellis *et al.*, 1985).

El kV determina el contraste de la imagen radiográfica. De este modo, a mayor kV disminuyen las diferencias en la densidad debido a que los rayos X que penetran al objeto impactan sobre la placa radiográfica, mientras que menores kV aumentan el contraste (brillo) (Simak, 1991).

El kV determina la calidad de los rayos X producidos, por lo tanto, cuanto mayor sea la velocidad de los rayos X, mayor es la penetración de estos en el objeto irradiado. De esta manera, resulta más fácil radiografiar objetos más densos (Belcher y Vozzo, 1979).

Miliamperaje (mA)

Es una medida del flujo de corriente aplicado al cátodo. La corriente es necesaria para generar el calentamiento necesario en el filamento del cátodo. Al incrementar el mA, el número de electrones, y así el número de rayos X, se incrementan proporcionalmente lo tanto, cambios en el mA influyen en la cantidad de rayos X.

La densidad de la imagen radiográfica está determinada por la cantidad de rayos X y por lo tanto, con alto mA se obtendrán imágenes más oscuras debido a que la placa radiográfica está expuesta a mayor radiación. Los cambios en el mA no tiene efecto sobre el contraste de la imagen (Simak, 1991).

Tiempo de exposición (segundos)

Es el tiempo, medido en segundos, al que un objeto está expuesto a la radiación. El tiempo de exposición multiplicado por el mA da como resultado un producto de exposición ($mAs = mA \times \text{segundo}$ o $Ama = mA \times \text{minuto}$).

Cualquier combinación entre mA y tiempo de exposición que dé como resultado el mismo producto final es aceptable.

Ejemplos:

$3 \text{ mA} \times 60 \text{ segundos} = 180 \text{ mAs}$

$6 \text{ mA} \times 30 \text{ segundos} = 180 \text{ mAs}$

$4,5 \text{ mA} \times 40 \text{ segundos} = 180 \text{ mAs}$

Tanto la corriente que provoca el calentamiento del filamento del cátodo y el cambio del

tiempo de exposición pueden afectar la densidad de la imagen radiográfica (Ellis *et al.*, 1985; Simak, 1991).

Distancia entre el foco y la placa radiográfica

Es la distancia entre el punto focal del ánodo y la superficie de la placa radiográfica o del sensor (DFP) (Figura 2.1). Cuando se incrementa esta distancia se reduce la intensidad de la radiación. Para mantener la densidad adecuada de la imagen cuando se incrementa la DFP, es necesario aumentar el tiempo de exposición de acuerdo con la “ley de la inversa del cuadrado de la distancia”. Por lo tanto, si el DFP se duplica entonces se debe incrementar cuatro veces el tiempo de exposición (mAs). Sin embargo, cuando se usa un bajo kV, por ejemplo, 20 kV, como se emplea en radiografías de semillas, la intensidad de la radiación disminuye a medida que se incrementa más rápidamente la DFP que podría ser esperado de acuerdo al valor calculado para la ley de la inversa del cuadrado. Esto se debe a que los rayos X blandos son más fácilmente absorbidos por el aire existente entre el punto focal y la placa radiográfica. Los cambios en la DFP influyen sobre la densidad, la forma de la imagen y el tamaño del área radiografiada (Simak, 1991).

Distancia entre el objeto y la placa radiográfica

Cuanto menor sea la distancia entre el objeto y la placa radiográfica mejor es la calidad de la imagen obtenida. En el caso de las semillas esféricas, estas solo tienen un punto de contacto con la placa a diferencia de las semillas planas las cuales poseen mayor superficie de contacto. Cuando el contacto del objeto con la placa radiográfica es incompleto, pueden producirse imágenes con detalles borrosos.

Cuando es necesario observar detalles de la imagen, o en micro radiografías, es necesario asegurar que el contacto entre el objeto y la placa radiográfica sea muy estrecho (Simak, 1991).

Radiación dispersa

Algunos rayos X pueden desviarse de su trayecto inicial cuando atraviesan un objeto y se produce una dispersión de la radiación. La radiación dispersa afecta la calidad de la imagen al producir un efecto de “empañamiento”, lo que resulta en la reducción del contraste y de la definición de la imagen.

La radiación dispersa puede minimizarse si usa un kV menor. Este tipo de radiación generalmente se produce cuando se trabaja con altos kV (100-200) lo cual puede ser un problema aun en radiografías de semillas cuando se utilizan kilovoltajes entre 15 y 30 kV. Cuando se emplean agentes de contraste como sales pesadas (bicloruro de bario, nitrato de plata, yoduro de sodio, yoduro de potasio, etc.) la radiación dispersa puede incrementarse (Simak, 1991).

Interpretación de una radiografía

El momento más difícil para un analista de semillas es la interpretación de la imagen obtenida. Sin embargo, un analista entrenado puede realizar una buena interpretación de la imagen radiográfica y para ello debe familiarizarse con la anatomía del objeto para compararlo posteriormente con la imagen radiográfica.

La imagen de un objeto en la placa radiográfica se llama *radiografía positiva*, mientras que una *radiografía negativa* es una copia fotográfica de la radiografía positiva.

Al observar una radiografía se pueden encontrar áreas más oscuras que corresponden a aquellas partes del objeto que absorben menos rayos X durante la exposición, mientras que las partes que absorben mayor radiación se observan como áreas más claras.

Efectos biológicos de la radiación

Sobre las semillas

La dosis de radiación o la cantidad de rayos X absorbida por las semillas por unidad de masa durante el tiempo de toma de la radiografía es relativamente baja, aproximadamente de 2 Gray (Gy). Sin embargo, los efectos genéticos producidos por los rayos X aumentan debido a la acumulación en los tejidos vivos que se exponen repetidamente a la exposición de la radiación (Simak, 1991).

En el caso de las semillas hidratadas, estas son más sensibles a la radiación que las semillas secas. Por lo tanto, en el caso de emplear las semillas hidratadas en posteriores ensayos biológicos, especialmente genéticos, se recomienda evitar exposiciones largas y repetidas a los rayos X (Simak, 1991).

Ensayos realizados en semillas de *Glycine max* (Arango *et al.*, 2015), se estudió el efecto de los rayos X sobre la germinación de semillas de soja y las modificaciones producidas a nivel intracelular. Las semillas se sometieron a una alta irradiación (25 Kv y 75 mA) durante un tiempo de exposición de 3 segundos. Estos autores concluyeron que altos niveles de irradiación con rayos X promueven las divisiones celulares en ápices radicales de plántulas de soja, pero tales modificaciones no se evidencian a nivel de germinación de semillas.

Sobre el operador

Es bien conocido que los rayos X son perjudiciales para los tejidos biológicos. Sin embargo, con el uso adecuado de equipos apropiados de rayos X y materiales de protección personal, los operadores pueden usar con seguridad esta técnica eliminando el riesgo de aparición de lesiones y enfermedades.

La radiación que se necesita para penetrar una semilla es relativamente baja, sin embargo, esto puede ser peligroso para el operador ya que la radiación usada no atraviesa completamente los tejidos gruesos causando ionizaciones que pueden ser perjudiciales para el operador (Belcher y Vozzo, 1979).

La **física sanitaria** se define como el conjunto de programas de seguridad frente a radiaciones diseñados por los científicos, ingenieros y físicos de la radiación y relativos a la investigación, la enseñanza y los aspectos operativos de la exposición a radiaciones. Los tres principios cardinales desarrollados en el ámbito de los trabajadores de entornos radioactivos y nucleares son: reducir al mínimo el tiempo que se permanece cerca de los fuentes de radiación; aumentar al máximo la distancia entre el operador y la fuente de radiación y usar blindajes para limitar la exposición a radiaciones (Bushong, 1998).

Cada país tiene sus propias normas para la protección y seguridad de los operadores que trabajan con equipos de rayos X. Estos equipos deben ser periódicamente controlados por una autoridad competente (Simak, 1991).

Durante la toma de radiografías, el operador se coloca detrás de una *barrera protectora primaria* cuya función es interceptar la radiación primaria generada por el haz útil. Generalmente, se utiliza plomo incrustado de 2 mm de espesor en las paredes. Para interceptar la radiación dispersa se emplean *barreras protectoras secundarias* que no necesariamente deben ser de plomo, sino que pueden emplearse otros materiales como yeso, vidrio o acrílicos de plomo (Bushong, 1998).

Además de la protección de los equipos de rayos X, los operadores también deben emplear elementos de protección personal adecuados. Durante la toma de radiografías, los operadores pueden protegerse de la radiación empleando *guantes, delantales y lentes*, normalmente elaborados con vinilo impregnado de plomo (Bushong, 1998).

El grado de exposición del operador a la radiación puede ser medido mediante el empleo de *dispositivos de película*. Estos dispositivos están diseñados específicamente de manera que se sitúe un pequeño fragmento de placa radiográfica semejante al utilizado en odontología, entre dos filamentos metálicos insertos en un recipiente de plástico. Para medir con exactitud la exposición laboral es necesario mantener unas condiciones estrictamente controladas de calibración, revelado y análisis. Los dispositivos de película se caracterizan por ser económicos, fáciles de manejar, sencillos de revelar y razonablemente precisos (Bushong, 1998).

Para detectar la radiación ambiental y la exposición del operador, se emplean *dosímetros termoluminiscentes* a modo de pastillas, discos, varillas y polvo. Estos dosímetros poseen un material sensible llamado fluoruro de litio en forma cristalina. Cuando el dosímetro se expone a los rayos X, absorbe energía y la almacena en forma de electrones excitados en la retina cristalina. Cuando los electrones excitados se calientan emiten luz visible. La intensidad de esta luz visible se mide con un tubo fotomultiplicador y es proporcional a la dosis de radiación recibida por el cristal (Bushong, 1998).

Bibliografía

- BELCHER, E.; VOZZO, J.A. 1979. Radiographic Analysis of Agricultural and Forest Tree Seeds. Contribution N.º 31 to the Handbook on Seed Testing. Ed. Association of Official Seed Analysts, p. 29.
- BUSHONG, S.C. 1998. *Manual de Radiología para Técnicos. Física, Biología y Protección radiológica*. 6.ª Edición en español, Harcourt Brace, p. 586.
- ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. 1985. The determination of empty seed fraction. En: Handbook of Seed Technology for Genebanks. Vol. I. Principles and Methodology. Ed. International Board for Plant Genetic Resources, Roma, p. 210.
- SIMAK, M. 1991. Testing of forest tree and shrub seeds by X-radiography. En: Tree and Shrub Seed Handbook. Ed. Gordon, A.G.; Gosling P.; Wang, B.S.P. Zurich, Suiza, p. 96.

Equipos SEMAX y RUTAX

Los equipos de rayos X SEMAX y RUTAX fueron desarrollados en 2001 con un subsidio de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica de Argentina. En el proyecto participaron investigadores del INTA, la Facultad de Ciencias Agrarias-UNR y la empresa privada TEXEL, Rosario, Santa Fe, Argentina. El objetivo del proyecto fue el desarrollo de dos equipos de radiología con aplicaciones específicas en estudios de investigación y rutina en tecnología de semillas.

Estudios de investigación y servicio con los equipos de rayos X

- 1) Detección de la infestación oculta de larvas y adultos de insectos. Los equipos permiten evaluar la presencia oculta de insectos analizando granos y semillas de distintas especies, ya sean visualmente intactas y sanas o con distintos grados de infestación. Para ello, se toman imágenes radiográficas de las alteraciones provocadas por las picaduras u orificios en distintas estructuras de semillas o frutos. Además, las imágenes facilitan la ejecución de un diagnóstico preciso acerca del estadio particular del insecto infestante (huevo, larva, adulto) así como el nivel de daño ocasionado por su acción en el interior de la semilla y/o fruto.
- 2) Determinación de la presencia de daños mecánicos visibles y no visibles a simple vista en semillas y frutos. Se pueden realizar las determinaciones recurriendo a lotes naturalmente afectados, previamente evaluados a través de pruebas específicas (Prueba de Hipoclorito de Sodio, Prueba de *Fast Green*, Prueba de Tetrazolio) como así también mediante la producción artificial de los daños. Para ello, se utilizan los equipos normalmente usados en el manejo poscosecha de los granos y semillas, como chimangos y cernidores, entre otros. En todos los casos, se busca identificar la relación existente entre el tipo de equipo, daño producido e impronta en la placa radiográfica. Esto permite elaborar patrones radiográficos para caracterizar las diferentes clases de daño y su correspondiente manifestación (forma, extensión, etc.) que ayuden al analista a una rápida interpretación de la naturaleza del daño y sus consecuencias.
- 3) Estudio de la estructura embrionaria de semillas y frutos. Se puede realizar un análisis exhaustivo en lo concerniente a tamaños, formas y estructuras que la componen. Las imágenes radiográficas obtenidas permiten realizar un diagnóstico que posibilite distinguir estructuras tales como raíz primaria, primordios de raíces, coleoptile y cotiledones, tejidos nutritivos y otras estructuras propias de cada especie en estudio. Sobre las imágenes radiográficas se realiza una evaluación precisa de las estructuras, a fin de identificar aquellas alteraciones que indiquen la posibilidad de producción de órganos anormales y sus inevitables consecuencias en la implantación del cultivo en el campo.
- 4) Confección de manuales de patrones radiográficos. Las imágenes radiográficas

obtenidas con los equipos permiten la confección de patrones radiográficos de diferentes especies y la elaboración de manuales con el objetivo que el analista pueda realizar una buena interpretación de los resultados obtenidos.

Los equipos SEMAX y RUTAX son herramientas útiles para diferenciar semillas y frutos llenos, vanos, físicamente dañados o con presencia de huevos, pupas e insectos vivos en su interior, permitiendo realizar un monitoreo frecuente y rápido con elevado grado de confiabilidad en el diagnóstico. Son equipamientos de gran valor por su aporte en aplicaciones específicas y por la seguridad en los resultados obtenidos en la investigación del control de calidad de semillas y frutos así como para el servicio brindado por los laboratorios de semillas.

La utilización de esta metodología, entre otras técnicas de control de calidad, permite la obtención de semillas de alta calidad para su utilización como simiente o como grano para usos industriales.

Ambos equipos específicos para semillas y frutos son únicos por sus características constructivas, de diseño y operativas. Equipos de esta naturaleza, hasta el momento no se encontraban disponibles en el mercado nacional e internacional, a pesar de que la utilidad de la técnica de rayos X fue descripta e incorporada a las Reglas Internacionales de Análisis de Semillas desde hace numerosos años.

3.1 Equipo SEMAX

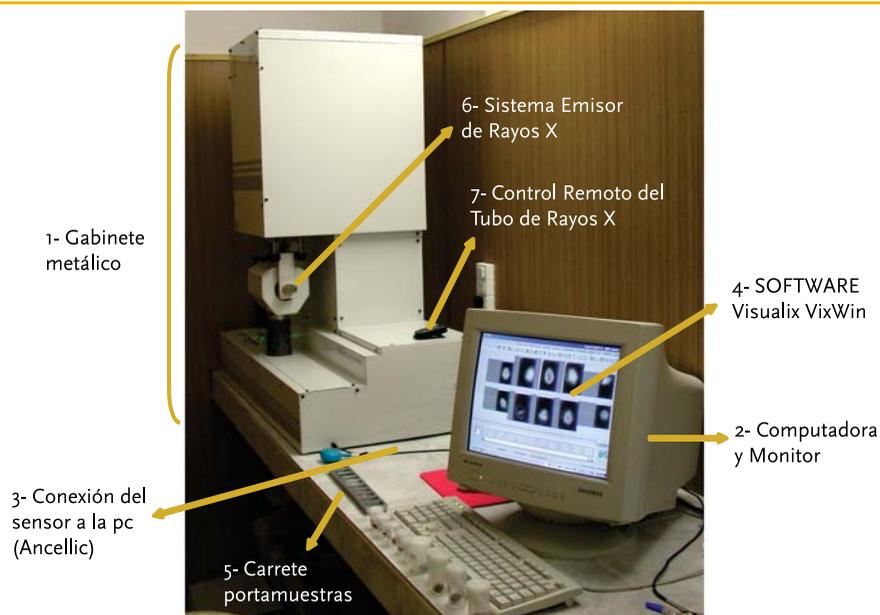
El equipo SEMAX se caracteriza por hacer uso de radiografía digital permitiendo la rápida obtención de los resultados y el archivado de estos. Este equipo fue desarrollado para aplicaciones específicas en investigación.

El equipo SEMAX (Fig. 3.1) está constituido por un conjunto de componentes que se describen a continuación:

- A) Gabinete (1) que contiene los siguientes componentes: estructura mecánica de presentación de la muestra, carrete portamuestra(5), fuente de alimentación y circuito eléctrico, sistema Emisor de rayos X (6): calaza, tubo y colimador.
- B) Computadora y monitor (2).
- C) Software específico denominado Sistema Visualix (4), el cual está constituido por: sensor de rayos X (CCD), interfase electrónica auxiliar (Ancellic) (3), tarjeta electrónica (Frame Grabber) y sistema de captura y digitalización de imágenes (VixWin).
- D) Control remoto para la ejecución de los disparos de rayos X (7).

Figura 3.1

Componentes del equipo SEMAX



Descripción detallada de las partes constituyentes del equipo SEMAX

A. Gabinete

El gabinete (Fig. 3.2) está diseñado en forma de T invertida y está compuesto por una carcasa metálica externa y una estructura metálica de soporte y movimiento del tubo. La T invertida está formada por una torre vertical (8) y una base horizontal (9). La carcasa metálica está construida de chapa de 0,6 mm de espesor y la estructura del equipo está armada en caño trefilado de ½ pulgada por ½ pulgada por 900 mm. La torre está constituida por un gabinete de sección rectangular de 980 mm de alto, 425 mm de largo y 350 mm de ancho. La base del equipo SEMAX es de sección rectangular de 180 mm de alto por 900 mm de largo por 450 mm de ancho. El gabinete completo está recubierto por pintura anodizada.

La torre (Fig. 3.2, 3.3 y 3.4) contiene en su interior el sistema emisor de rayos X (6) donde se encuentra el tubo dentro de un gabinete especial de protección (la calaza), el tubo colimador (10) (Fig. 3.2 y 3.4), las guías de soporte del tubo emisor de rayos X (18) (Fig. 3.3 y 3.4), engranajes de movimiento (19) (Fig. 3.3), mecanismo de doble cadena (20) (Fig. 3.3), el cual permite el movimiento vertical ascendente–descendente del sistema emisor de rayos X manejando la distancia focal entre el tubo y el objeto a irradiar. Este movimiento vertical se realiza por el accionar de una manivela externa removible (11) (Fig. 3.2 y 3.3) y de un contrapeso de plomo (21) (Fig. 3.4) con un peso equivalente al del sistema emisor de rayos X. En la parte inferior derecha de la torre se encuentra ubicado el regulador de tiempo de exposición (12) (Fig. 3.2) a través del cual se determina el tiempo de exposición de los objetos a la radiación. Este regulador (Fig. 8) consta de un selector de tiempo de exposición (29), un panel digital (30) y un botón de inicio de la exposición (31).

Figura 3.2

Partes constituyentes del gabinete

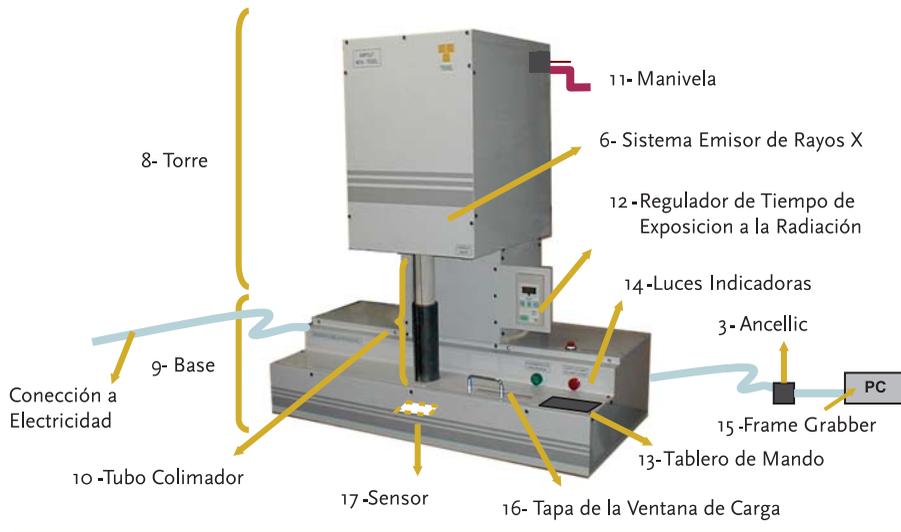


Figura 3.3

Estructura metálica de soporte y movilización del tubo de rayos X y presentación de la muestra

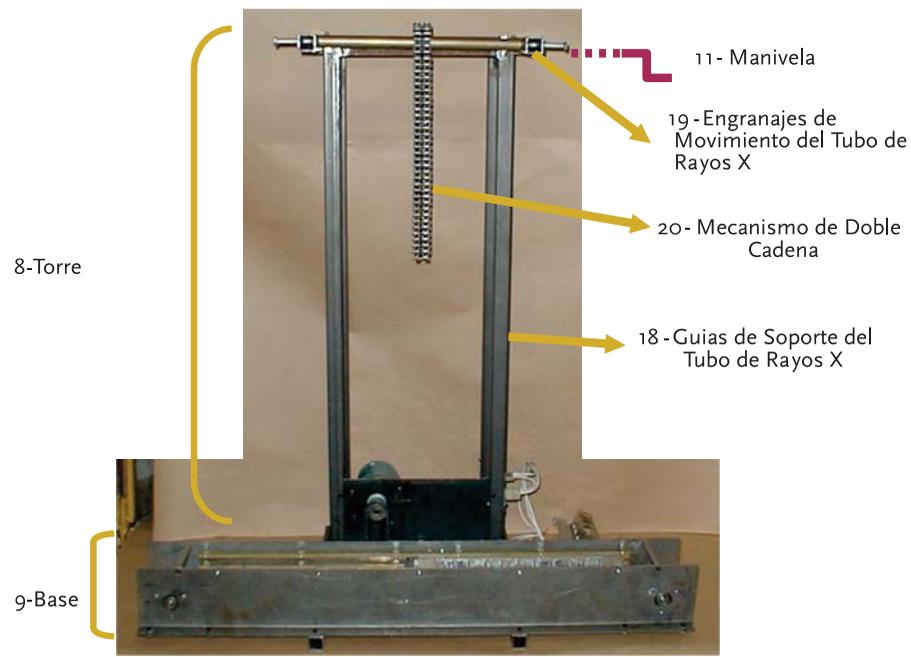
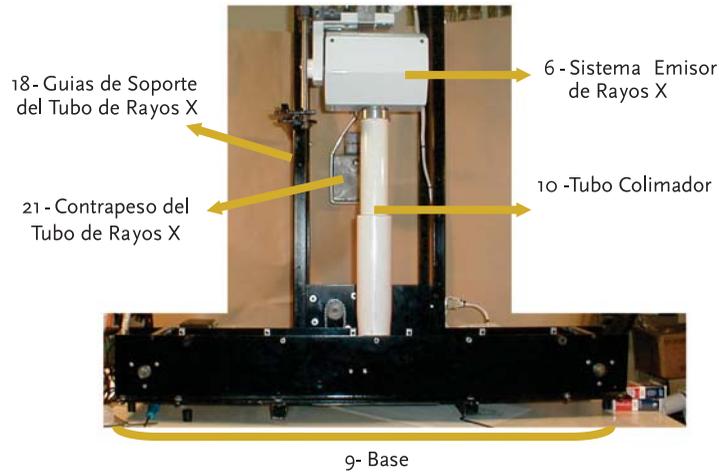


Figura 3.4

Ubicación del tubo de rayos X y del tubo colimador en el interior del gabinete



La base (Fig. 3.5) contiene en su interior la estructura de presentación de la muestra (22) con su correspondiente mecanismo de movimiento horizontal de relojería de avance y retroceso (23) y el sensor (17) (Fig. 3.2) ubicado inmediatamente por debajo de la zona de emisión del tubo de rayos X. En el extremo derecho de la base (Fig. 3.7) se encuentra una abertura denominada ventana de carga (28) por donde se introduce el carrete portamuestras en la estructura de presentación de la muestra. En la parte superior derecha de la base se encuentra un tablero de mando (13) (Fig. 3.2) donde se indica el número de celdas a irradiar del carrete portamuestras y el inicio del procedimiento de disparo del sistema emisor de rayos X. Detrás de la estructura de presentación de la muestra y a los lados de las guías de soporte del sistema emisor de rayos X se ubican los componentes del circuito eléctrico (33) y la fuente de alimentación o alimentador de voltaje (32) (Fig. 3.10). El equipo SEMAX brinda la posibilidad de utilizar un control remoto (7) (Fig. 3.1) alternativo al tablero de mando para la emisión de los rayos X a distancia. Este dispositivo permite una protección adicional para el operador.

Figura 3.5

Detalles de la estructura de presentación de la muestra

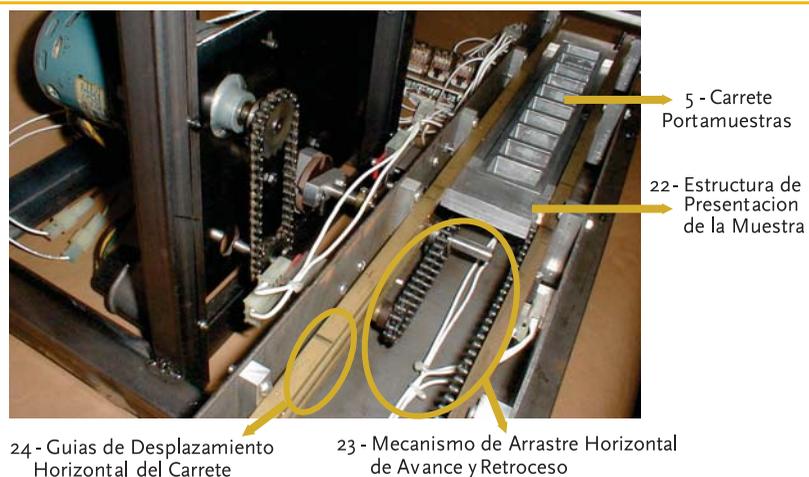


Figura 3.6

Detalles del carrete portamuestras

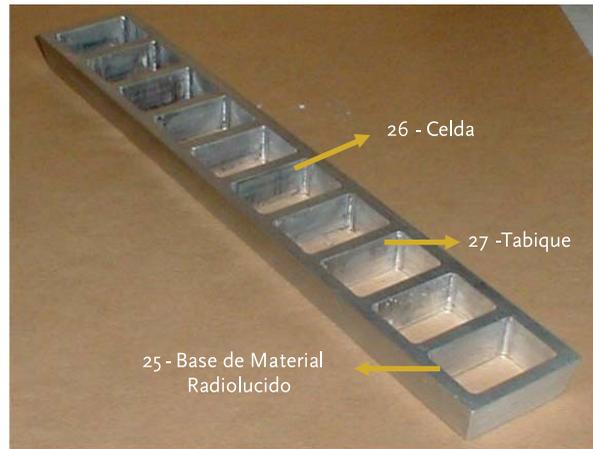


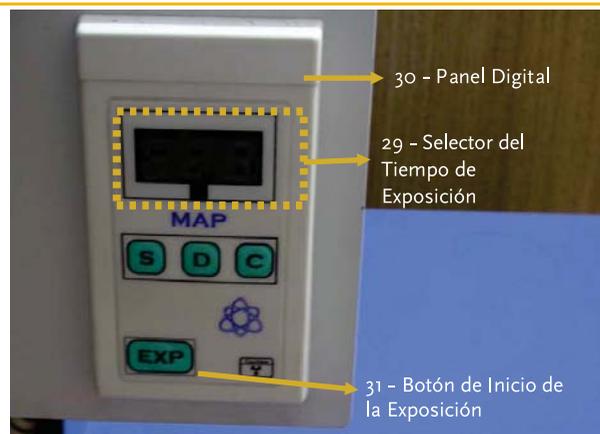
Figura 3.7

Posición inicial del carrete portamuestra para la toma de imágenes



Figura 3.8

Dispositivo digital regulador del tiempo de exposición



La estructura mecánica de presentación de la muestra (22) (Fig. 3.5) consiste en una caja rectangular de acero al carbono de 1,5 mm de espesor, 110 mm de alto, 150 mm de ancho y 900 mm de largo, en cuyo interior se ubica el mecanismo de movimiento horizontal (23) de avance y retroceso del carrete portamuestra (5) y las guías y cadenas que permiten el desplazamiento horizontal del carrete (24). En el extremo derecho de la estructura de presentación de la muestra existe una ventana de carga (28) (Fig. 3.7) con tapa emplomada por donde se introduce el carrete portamuestra (5) con los objetos a irradiar, al sistema de desplazamiento horizontal. La estructura de presentación de la muestra está programada para desplazarse automáticamente cada 15 segundos con posterioridad a la emisión del rayo X, de manera secuencial y hasta completar el número de radiografías programadas, de 1 a 10. Finalizada la toma de radiografías, la estructura de presentación de la muestra retrocede a la posición original de carga automática y de esta manera se puede realizar el retiro del carrete y objetos a irradiar y reemplazar el material por otra muestra.

El carrete portamuestra (Fig. 3.6) es una pieza de aluminio de 275 mm de largo por 44 mm de ancho y 15 mm de altura y tiene una base de material radiolúcido (25) que permite el pasaje de la radiación X para impactar sobre el sensor luego de atravesar la muestra. El carrete posee 10 celdas (26) individuales de 22 mm de largo por 34 mm de ancho por 15 mm de altura separadas entre sí por tabiques (27) de 5 mm de espesor. Dentro de cada celda se colocan el o los objetos a irradiar. El carrete se inserta en la estructura de presentación de la muestra y realiza un movimiento automático de avance y retroceso en sentido horizontal que le permite ubicar automáticamente el objeto a irradiar entre el emisor de rayos X y el sensor.

La fuente de alimentación es múltiple y tiene una salida regulada de 5 voltios para la alimentación del microcontrolador. Además, posee una salida de 12 voltios para los contactores de los motores. Estos accionan el movimiento del carro porta celdas, entre otros dispositivos, y se conectan directamente a la línea de 220 voltios de corriente alterna (VCA) y están dirigidos por el microcontrolador que se encuentra en el tablero de mando (13).

El **circuito eléctrico** (33) (Fig.3.9 y3.10) consta fundamentalmente de varios componentes: a) control central que consta del micro-controlador con su programa interno de diseño TEXEL, b) sensores de posición que informan al micro-controlador sobre las posiciones mecánicas de los distintos elementos móviles,c) contactores de accionamiento de motores para control de movimientos mecánicos y d) interfase con equipo de Rayos X para efectuar los disparos cuando las condiciones estén dadas.

El sistema emisor de rayos X (6) (Fig. 3.1, 3.2, 3.4 y 3.7) está formado por un tubo anódico ubicado dentro de un gabinete (calaza) recubierto internamente por una placa de plomo de un 1 mm de espesor. El tubo recibe la energía a través de un circuito eléctrico y del alimentador de voltaje de 12 voltios de corriente continua (VCC) y genera una potencia fija de 35 kilovoltios (kV) y con 10 miliamperios (mA) de intensidad. Posee un movimiento de desplazamiento en sentido vertical que permite acercar la fuente de emisión de rayos X al objeto a irradiar. El emisor de rayos X posee un tubo colimador (10) (Fig. 3.2 y3.4), recubierto de plomo que concentra el haz de rayos X desde el tubo al objeto.

Figura 3.9

Vista lateral de la torre y base. Detalle de la ubicación de la fuente de alimentación y circuito eléctrico.

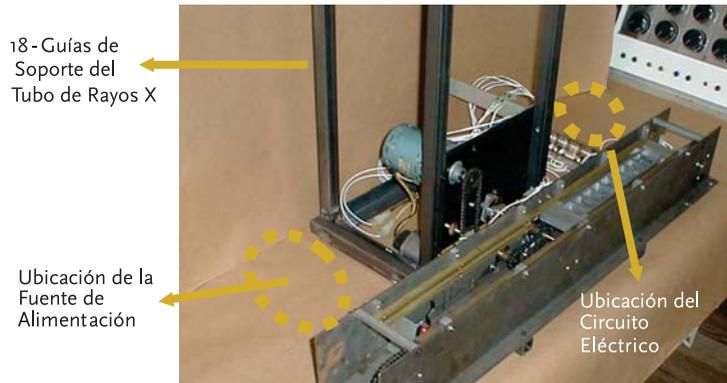
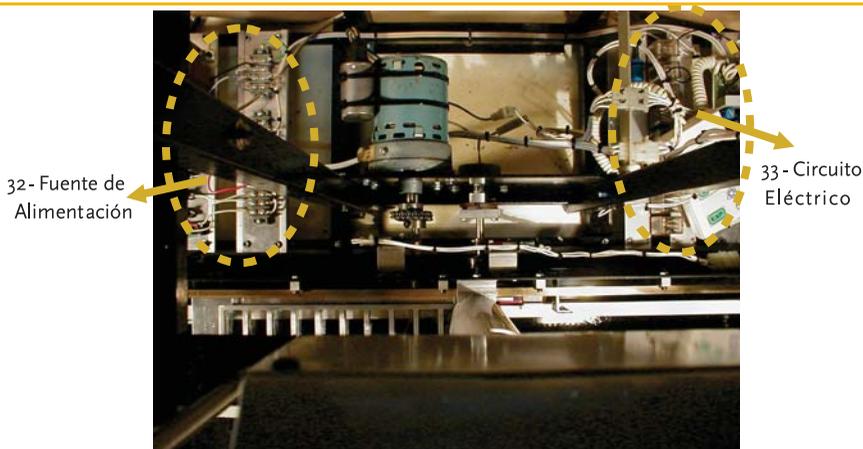


Figura 3.10

Vista superior de la torre y base. Detalle de la ubicación del circuito eléctrico y fuente de alimentación



B-Computadora

El equipo de rayos X SEMAX se complementa con una computadora (PC) que permite realizar la captura, observación y manipulación de imágenes y creación de archivos digitales. La PC está compuesta por un procesador de placa madre con una capacidad mínima de 16 megabits (Mb) de memoria RAM y por una tarjeta gráfica de modo super VGA, 2 Mb de memoria video RAM como mínimo.

C- Sistema Visualix

El sensor de rayos X (17)(Fig. 3.2) es un captador digital de imágenes (CCD) de origen electromagnético de 42 mm x 25mm x 5,8 mm con un área útil de captación de imagen de 30,1mm x 20,1 mm y una matriz de imagen de 456 x 684 pixeles. El sensor está

especialmente diseñado para uso radiológico en odontología, se encuentra encapsulado en un estuche hermético y la superficie sensible de este está recubierta por una capa de fósforos centelladores a través de la cual la radiación X es convertida en centelleos de luz y luego en una señal de carga eléctrica. El sensor está fijo en la base del equipo dentro de la estructura de presentación de la muestra, ubicado inmediatamente debajo del carrito portamuestra y en línea con el sistema emisor de rayos X. El área del gabinete que corresponde al sensor está protegida por una cubierta de plomo de 1 mm de espesor de acuerdo con los requerimientos de radiofísica sanitaria.

La operatoria del sensor se complementa con un componente de interfase electrónica auxiliar denominado Ancellic (3)(Fig. 3.1 y 3.2) que se encarga de la alimentación eléctrica del sensor, secuencialización y sincronización de las señales para el sensor, preamplificación de la señal de video, conversión analógica/digital y del óptico aislamiento de la señal de video y de la interfase óptico aislada con una tarjeta electrónica.

La tarjeta electrónica incorporada a la PC Frame Grabber (15) (Fig. 3.2) recibe las imágenes radiográficas digitales procedentes del sensor y las transmite a la memoria de la PC.

El sistema de captura y digitalización de imágenes es un software de nombre comercial VisualixVixWin (4) (Fig. 3.1) (Dentsply Internacional Corp., Gendex Dental System, 901 W Oakton Street, Des Plaines, IL; USA). Este software permite tomar imágenes radiográficas digitales de forma directa sin el uso de placas radiográficas. Las imágenes capturadas por el sistema Visualix son transmitidas a la PC del equipo y desde el monitor de esta pueden ser observadas inmediatamente de tomada la imagen. El sistema Visualix VixWin opera en el entorno de Windows y no existe enlace eléctrico o físico entre el sistema de captura y digitalización de imágenes por la PC y el tubo emisor de rayos X.

Forma de uso del equipo de rayos X SEMAX

El equipo de rayos X SEMAX es una herramienta de uso en investigación en laboratorio de semillas y permite realizar tomas automáticas de radiografías de semillas individuales. El sistema consta de un sensor digital para la obtención de la imagen radiográfica y no se realiza revelado de placas tradicionales. La radiografía se logra automáticamente mediante la captación de una dosis perceptible de rayos X por el sensor, luego que estos hayan atravesado el objeto, en este caso la estructura seminal o fruto. Es posible visualizar las radiografías como imágenes digitales en la pantalla del monitor casi de forma inmediata a la irradiación de la muestra. Luego de ello, el programa de computación permite que las imágenes puedan ser manipuladas con el software Vix Win, archivadas o impresas. Se pueden realizar tomas radiográficas de semillas individuales o de un conjunto, según el tamaño de estas. Las semillas se colocan en cada una de las 10 celdas individuales que constituyen el carrito portamuestra, el que se inserta en el mecanismo de arrastre. Por un lado, la regulación del tiempo de exposición a la radiación se realiza a través de un dispositivo digital que permite la fijación de este hasta el nivel de centésima de segundo. El comienzo de las tomas radiográficas se realiza mediante el accionar de una perilla de

inicio del proceso ubicada en el tablero de mando. Seguidamente, se enciende una luz roja indicadora del comienzo del desplazamiento del carrete portamuestra, alertando sobre la prohibición de la apertura de la tapa protectora de la estructura de presentación de la muestra. Por otro lado, este mecanismo cumple la función de posicionar en forma sucesiva cada una de las celdas en el centro del foco del tubo emisor de rayos X. El emisor de rayos X irradia a intervalos de 15 segundos durante el tiempo prefijado.

Cuando finaliza la toma de la serie de imágenes radiográficas predeterminadas, el carrete portamuestra vuelve a su posición original mediante un final de carrera que activa el sistema de retroceso y de esta manera puede iniciarse una nueva serie de tomas radiográficas. En ese momento, se enciende una luz de color verde que indica que puede abrirse la tapa y removerse el carrete portamuestra. La figura 3.11 muestra las distintas etapas del proceso de preparación de las muestras y ejecución de la toma de imágenes radiográficas.

Se puede prefijar el número de radiografías a ser tomadas en cada serie, el número máximo de estas está determinado por las 10 celdas que posee el carrete portamuestra.

El programa de manipuleo de imágenes dispone de estas de forma casi instantánea al momento de la toma de las radiografías y permite realizar diferentes mediciones tales como: ancho, largo y espesor de la imagen radiográfica digital, así como también manipulaciones tales como: modificación de la posición del objeto en la radiografía, contraste, brillo, relieve, transformación de la imagen de negativo a positivo, ampliaciones y reducciones, inclusión de texto, etcétera.

El equipo SEMAX brinda un uso seguro y rápido en laboratorios de semillas permitiendo realizar diagnósticos relativos a la anatomía embrionaria, estado físico de las semillas y fruto, infestaciones debidas a insectos en sus diversos estadios y cualquier otro tipo de alteración no visible a simple vista. Las dimensiones del equipo hacen que este ocupe poco espacio, sea de fácil operatividad y constituya una herramienta imprescindible para la elaboración de patrones radiográficos que permitan identificar problemas de semillas y frutos de diferentes especies. Además, utiliza un método no destructivo y no requiere de insumos químicos contaminantes ni de placas radiográficas de alto costo. La alta sensibilidad del sensor permite captar y digitalizar imágenes producidas con un muy bajo tiempo de exposición a la radiación con bajo kV y mA, con lo que reduce en gran medida la emisión de rayos X.

Figura 3.11

Procedimiento para la toma de imágenes radiográficas digitales: a) apertura de la ventana de carga; b) distribución de las semillas en el carrete removible portamuestra; c) colocación del carrete removible en el carrete portamuestra; d) cerrado de la ventana de carga; e) regulación del tiempo de exposición; f) inicio del proceso; g) uso del control remoto; h) visualización de imágenes radiográficas en el monitor de la computadora.



3.2 EQUIPO DE RAYOS X RUTAX

El equipo RUTAX se desarrolló con el objetivo de su aplicación en el uso de análisis de rutina en laboratorios de control de calidad de semillas. Requiere el uso de placas radiográficas que deben ser sometidas al revelado tradicional. Permite el uso de un mayor número de semillas y frutos, como así también objetos a irradiar de gran tamaño, respecto al equipo SEMAX.

El equipo RUTAX está constituido por un conjunto de componentes que se describen a continuación:

- a) Columna soporte que contiene a la torre, la cual está compuesta por la carcasa contenedora del tubo, el tubo de rayos X con ventana de berilio y el colimador.
- b) Una fuente de poder.
- c) Consola de comando.
- d) Gabinete de exposición que contiene el tablero de control, el disco maestro, las bandejas portamuestra y los casetes portaplaca radiográfica.

Descripción detallada de las partes constituyentes del equipo RUTAX

A. Columna soporte

La *columna soporte* (Fig. 3.12 y 3.13) es una estructura metálica con forma de prisma rectangular, que posee una altura de 2,10 m, un ancho de 0,23 m y un espesor de 0,15 m. Está amurada a una pared y al suelo por medio de una *base* (2) de hierro de 0,53 m de frente x 0,18 m de ancho x 0,035 m de espesor. La columna soporte posee un dispositivo de *correderas* (12) o guías a ambos lados por donde se desplaza verticalmente la *torre* (13) que soporta la carcasa (3) contenedora del tubo de rayos X (4) y el colimador (5). La torre posee dos *asas laterales* (14) que permiten el desplazamiento vertical de la carcasa contenedora del tubo de rayos X para ajustar la distancia focal.

La *carcasa contenedora del tubo de rayos X* (Fig. 3.13) es un gabinete metálico, de forma cilíndrica que está internamente emplomado (calaza), diseñado para contener y proteger en su interior el sistema donde se encuentra el tubo emisor de rayos X.

El *tubo de rayos X* (Fig. 3.13) se encuentra en el interior de la carcasa metálica que posee una *ventana* (15) mediante la cual pasan los rayos X. La ventana de berilio, que forma parte del tubo de rayos X, es un filtro que evita que se atenúe excesivamente el haz de rayos X cuando este atraviesa la carcasa contenedora.

Figura 3.12

Esquema de las partes constituyentes del equipo de rayos X RUTAX

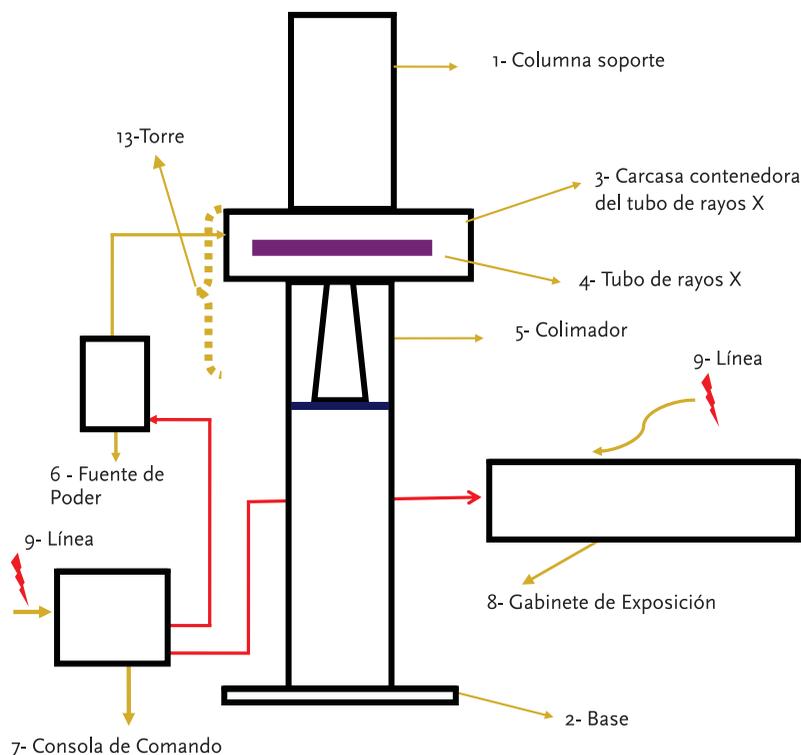
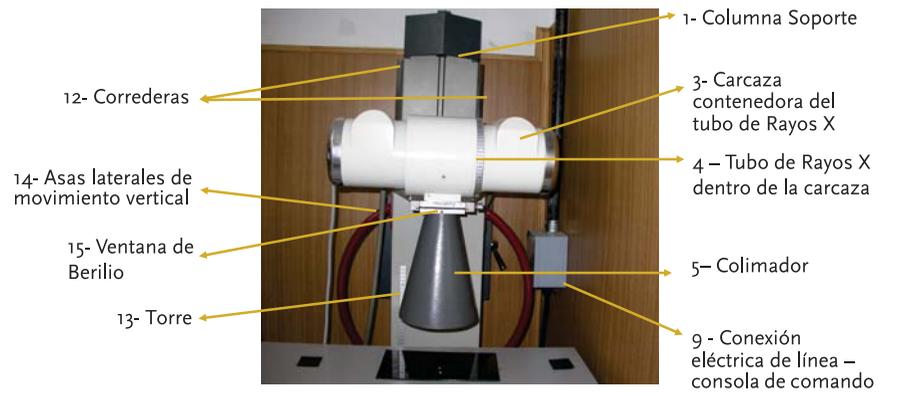


Figura 3.13

Columna soporte y carcasa contenedora del tubo de Rayos X del equipo RUTAX



El *colimador* (5) (Fig. 3.13) es una estructura hueca de forma tronco cónica de 0,24 m de altura x 0,165 m de base x 0,07 m en la parte superior. Está recubierto internamente por una lámina de plomo y se encuentra ubicado en la parte inferior de la carcasa contenedora del tubo de rayos X. El colimador permite concentrar y dirigir la emisión de rayos X hacia el objeto a irradiar.

B. Fuente de poder

La *fente de poder* (Fig. 3.14) es el dispositivo encargado de proveer la energía eléctrica necesaria al tubo de rayos X para provocar el disparo de estos. La fuente de poder está formada por un *gabinete* (16) metálico e independiente de 0,34 m de ancho x 0,41 m de altura x 0,61 m de espesor. Está conectada a través de cables especiales a la línea, de la cual recibe la energía eléctrica y a su vez la transmite por un *cable* eléctrico (17) al tubo de rayos X.

Figura 3.14

Fuente de Poder del tubo de Rayos X del equipo RUTAX

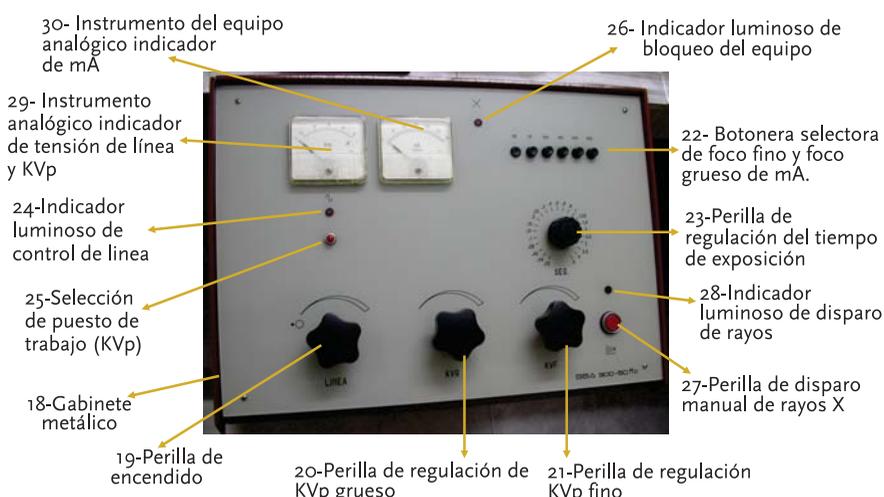


C. Consola de comando

La *consola de comando* del sistema (Fig. 3.15) es un *gabinete* (18) metálico independiente de 0,52 m de ancho x 0,345 m de espesor x 0,95 m de altura. La consola controla la operación del tubo de rayos X y consta de una serie de dispositivos para realizar las distintas operaciones. Posee una *perilla de encendido* (19), una *perilla de regulación gruesa del kV* (20) y una *perilla de regulación fina del kV* (21), *botonera selectora de los focos fino y grueso del mA* (22), *perilla de regulación del tiempo de exposición* (23), *indicador luminoso de control de línea* (24), *perilla de selección de puesto de trabajo* (potencia de trabajo disponible expresada en kV) (25), *indicador luminoso de bloqueo del equipo* (26) cuando el tiempo de exposición a los rayos X supera los 4 segundos, *botón de disparo manual* de los rayos X (27), *indicador luminoso de disparo manual* del equipo (28), *instrumento analógico indicador del kV* (29) e *instrumento analógico indicador de mA* (30).

Figura 3.15

Consola de Comando



D. Gabinete de exposición

El *gabinete de exposición* (Fig. 3.16) es la *estación de trabajo* del equipo RUTAX que contiene el sistema operativo necesario para facilitar el proceso de irradiación de las muestras de semillas. Consta de una estructura metálica de chapa de 2 mm de espesor calidad 1010, con recubrimiento de pintura epoxielectrostática. Es un *gabinete metálico* (31) de forma de prisma rectangular de 0,88 m de ancho x 0,67 m de largo y 0,20 m de altura. Externamente, posee cinco aberturas denominadas: *ventana de carga de las bandejas portamuestra* (32) de 0,20 m x 0,135 m, *ventana de carga de los casetes portaplaca radiográfica* (33), de 0,24 m x 0,04 m, *ventana de irradiación* (34) de 0,18 m x 0,13 m y dos *ventanas de inspección* (35) de 0,045 m x 0,045 m que se ubican en forma equidistante a ambos lados de la ventana de irradiación. Contiene además, un *tablero de control* (36) de 0,70 m x 0,15 m que permite realizar las distintas operaciones de manejo del equipo RUTAX.

Figura 3.16

Gabinete de Exposición



El *tablero de control* (Fig. 3.17) consta de: una *perilla de encendido/apagado* (37), *botón de comando de disparo de rayos X* en el modo manual o automático (38), *botón de rotación de bandejas* (39) que habilita al operador del equipo para realizar la carga de cada casete portaplaca radiográfica y de cada bandeja portamuestra hasta completar las cuatro repeticiones, *panel con indicadores luminosos de secuencia de giro* (40) de las bandejas portamuestra y de los casetes radiográficos, *indicador luminoso del estado de operación del equipo* (41) que informa sobre el estado de funcionamiento de este, giro de las bandejas o emisión de rayos X, *botón de inicio de secuencia de disparo de los rayos X* (42) y *visor digital informativo del estado de funcionamiento del sistema* (43), acceso para carga y descarga de las bandejas portamuestra y casetes, giro de las bandejas y/o emisión de rayos X.

Figura 3.17

Tablero de Control del Gabinete de Exposición



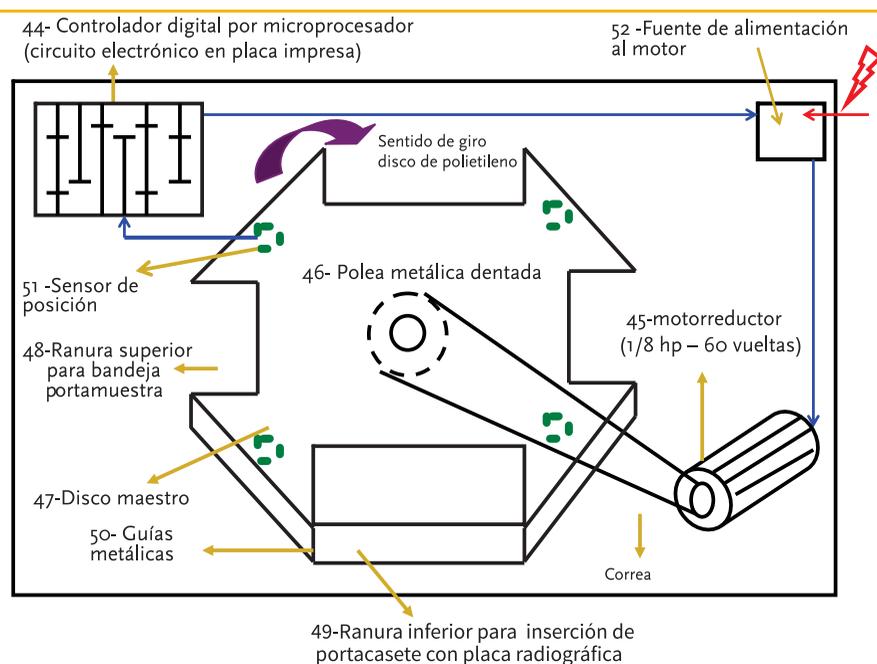
El *gabinete de exposición* (Fig. 3.18) en su interior posee un *dispositivo giratorio de arrastre horizontal* o *disco maestro* (47) que se mueve en el sentido de las agujas del reloj, un *controlador digital* por microprocesador (circuito electrónico en placa impresa) (44), un

motorreductor (1/8 HP- 60 vueltas) (45) y una *polea metálica* dentada (46) con correa. Estos dos últimos constituyen el sistema de tracción del disco maestro. El *dispositivo giratorio de arrastre horizontales* un disco de polietileno de 0,60 m de diámetro x 0,015 m de espesor posee cuatro *ranuras superiores perimetrales* (48) de 0,20 m x 0,135 m donde se colocan las bandejas portamuestra y cuatro *ranuras inferiores perimetrales* (49) superpuestas. En las ranuras inferiores perimetrales se colocan los casetes portaplaca radiográfica que se deslizan a través de *guías metálicas* (50), estas últimas están sujetas al disco maestro giratorio. En este se ubican cuatro *sensores de posición* (51) que informan al microprocesador la ubicación de las bandejas portamuestra y de los casetes portaplaca para que se realice el disparo de rayos X en el momento en que las bandejas y placas se encuentren ubicadas debajo del colimador.

El motorreductor permite el movimiento giratorio del disco maestro y funciona recibiendo la corriente eléctrica a través de una *fuerza de alimentación* (52) conectado a la línea de corriente eléctrica y está controlado por el microprocesador (44).

Figura 3.18

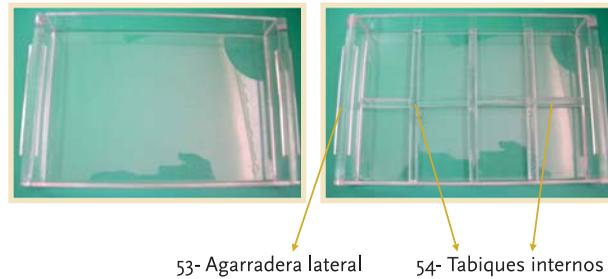
Vista interna esquemática del Dispositivo giratorio del Gabinete de Exposición



Las *bandejas portamuestra* (Fig. 3.19), son recipientes removibles de forma rectangular de 0,195 m de largo x 0,13 m de ancho x 0,03 m de profundidad y poseen *agarraderas laterales* (53) de 0,08 m de largo x 0,05 m de ancho que permiten su apoyo sobre el disco maestro. Están construidas en acrílico transparente y pueden poseer *tabiques internos* (54) que generan compartimentos de 0,04 m x 0,06 m, o no poseer divisiones. Estas últimas bandejas son útiles para irradiar semillas, frutos u otras estructuras vegetales de gran tamaño (Fig. 8 a y b).

Figura 3.19

Bandejas portamuestras sin divisiones y con divisiones.



El *casete portaplaca radiográfica* (Fig. 3.20) es un recipiente metálico especial de 0,20 m x 0,155 m que permite contener en su interior una placa radiográfica de 0,13 mx 0,18 m.

Figura 3.20

Casete portaplaca radiográfica



Forma de uso del equipo de rayos X RUTAX

El equipo de rayos X RUTAX es una herramienta de uso en investigación en laboratorio de semillas y en trabajos de rutina de análisis de calidad. La radiografía se logra mediante la captación de una dosis perceptible de rayos X sobre una placa radiográfica con revelado tradicional. El equipo permite trabajar con un rango de kilovoltaje grueso (kV) de 20 a 60, un rango de kilovoltaje fino (kV) de 1 a 5 y un rango de miliamperaje (mA) de 50 a 300, lo que posibilita su utilización en un amplio rango de especies de semillas y frutos de características morfológicas diferentes.

Para la utilización del equipo es necesario contar con una habitación de revelado que contenga una fuente de luz roja de seguridad, un tanque de revelado con tres compartimientos en los cuales se colocan los líquidos de revelado, fijador y enjuague.

Las placas radiográficas de revelado tradicional poseen un tamaño de 18 cm x 22 cm y se colocan dentro de casetes portaplaca radiográfica. Las placas radiográficas se colocan en los casetes portaplaca en la habitación de revelado. Las placas radiográficas sin usar se guardan en cajas dentro de la habitación de revelado.

Posteriormente, se colocan los objetos a irradiar en las bandejas portamuestra. Cada una de ellas constituye una repetición y puede contener 25, 50 o 100 semillas y frutos según el tamaño de estos. Para iniciar el proceso de toma de radiografías se enciende el equipo mediante la perilla de encendido/apagado ubicada en el gabinete de exposición y la consola de comando mediante su perilla de encendido.

Una vez preparados los casetes y las bandejas portamuestras, se procede a colocar el casete portamuestra en la ventana de carga inferior del gabinete de exposición. Luego, se coloca la bandeja portamuestra en la ventana de carga superior de dicho gabinete. Para realizar la colocación de la siguiente bandeja y casete portamuestra, se acciona el botón de rotación de bandeja ubicada en el tablero de control del gabinete de exposición. El disco maestro realiza un giro de un cuarto de vuelta lo que permite cargar el siguiente juego de bandeja y casete portamuestra. Una vez finalizada la carga de los cuatro juegos de bandeja y casete portamuestra, se procede a ajustar las variables de ejecución de la prueba: tiempo de exposición, kV y mA, en función a las características del objeto a irradiar, empleando las perillas ubicadas en la consola de comando.

El siguiente paso consiste en accionar el botón de inicio de secuencia de disparo del rayo X, ubicado en el tablero de control del gabinete de exposición. El disco maestro comienza a moverse posicionando automáticamente a cada juego de bandeja y casete portamuestra debajo del colimador y el tubo de rayos X genera el disparo irradiando el objeto. Una vez finalizada la irradiación de las semillas colocadas en la primera bandeja, el equipo automáticamente posiciona el segundo juego de bandeja y casete portamuestra debajo del colimador. Este procedimiento se realiza hasta que se completa la irradiación de los cuatro juegos. Una vez finalizada la etapa de emisión de rayos X, cada casete portamuestra se extrae manualmente y se acciona el botón de rotación de bandejas a fin de posicionar la siguiente bandeja en la ventana de carga para extraer el siguiente casete portamuestra. Los casetes portamuestra se trasladan a la habitación de revelado donde se abren para extraer las placas radiográficas y proceder al revelado de las mismas.

Cada placa se coloca en un marco tensor metálico que tiene por finalizar sostener con pinzas a la placa radiográfica por sus cuatro extremos durante el proceso de revelado. La placa se sumerge en el líquido revelador ubicado en el primer compartimiento del tanque de revelado durante un período de 3 a 4 minutos. El líquido revelador debe ser homogeneizado agitándolo con una varilla de vidrio antes de su uso y debe tener una temperatura de 22 °C. Luego se extrae la placa del líquido de revelado, dejando que escurra el exceso de líquido durante unos segundos y posteriormente se sumerge en el segundo compartimiento del tanque que contiene el agua de lavado. El enjuague de las placas se realiza durante 30 segundos e inmediatamente se sumerge en el líquido fijador que se encuentra ubicado en el tercer compartimiento del tanque de revelado. La placa se sumerge en el líquido fijador durante 1 minuto y se agita con una varilla de vidrio durante 30 segundos. Finalizado este procedimiento, se extrae la placa del líquido fijador y se deja escurrir hasta eliminar el excedente de líquido. Luego, se realiza un segundo lavado de las placas con agua corriente durante 5 minutos como máximo. Finalizado el lavado, los marcos tensores que sostienen la placa, se cuelgan en un soporte para el secado de las placas durante varias horas.

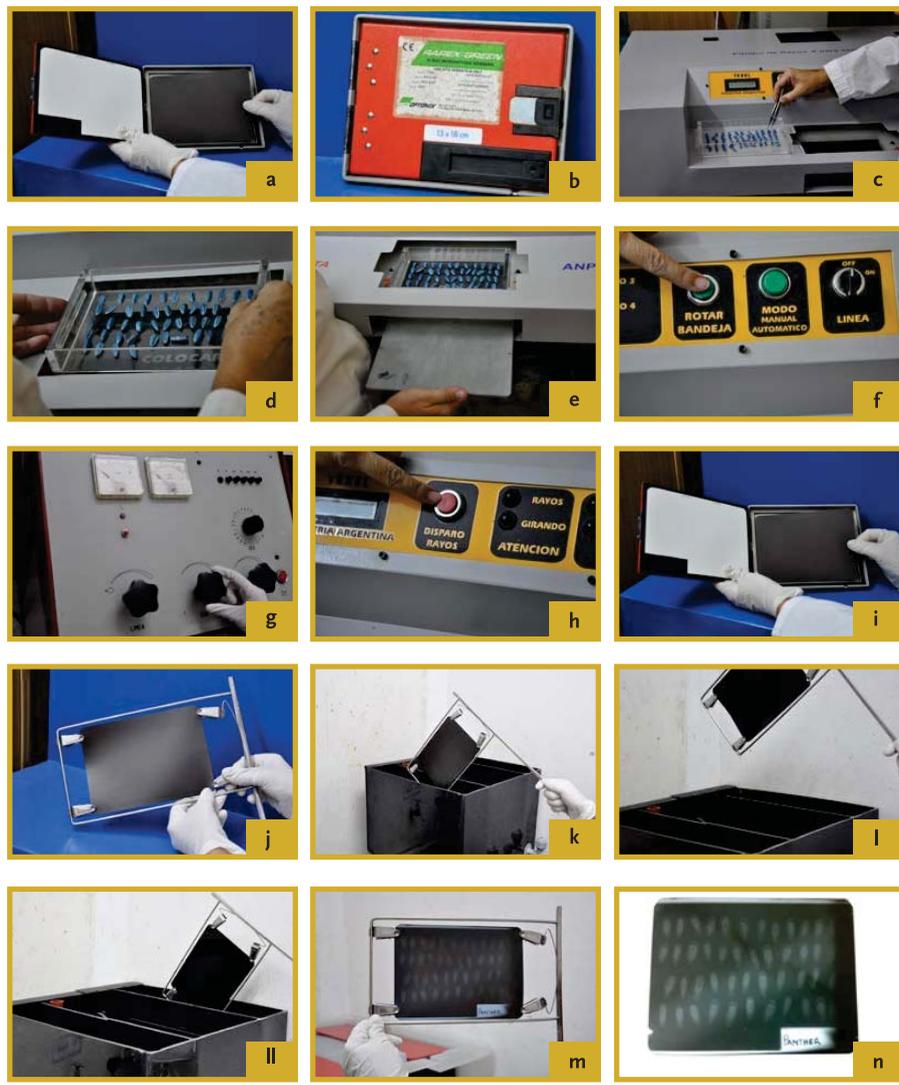
Las radiografías obtenidas pueden escanearse con equipos específicos y fotografiarse de manera de generar archivos digitales. Para obtener las fotografías de las placas radiográficas es necesario colocarla sobre negatoscopios de alta resolución.

La figura 3.21 muestra las distintas etapas del proceso de preparación de las muestras y ejecución de la toma de imágenes radiográficas.

Figura 3.21

Procedimiento para la toma de imágenes radiográficas con el equipo RUTAX:

a) colocación de la placa radiográfica dentro del casete portamuestra en oscuridad; b) cierre del casete portaplaca radiográfica; c) distribución de las semillas en la bandeja portamuestra; d) colocación de la bandeja portamuestra en la ventana de carga superior del gabinete de exposición; e) colocación del casete portaplaca en la ventana de carga inferior del gabinete de exposición; f) accionamiento del botón de rotación de bandeja ubicada en el tablero de control del gabinete de exposición; g) ajuste del tiempo de exposición, kV y mA; h) accionamiento del botón de inicio de secuencia de disparo del rayo X; i) extracción de la placa radiográfica desde el interior del casete portaplaca luego de la irradiación en oscuridad; j) colocación de la placa radiográfica en el marco suspensor; k) colocación de la placa radiográfica en el líquido de revelado; l) escurrimiento del exceso de agua luego del lavado; ll) colocación de la placa radiográfica en el líquido fijador; m) secado de la placa radiográfica luego del proceso de revelado; n) imagen radiográfica obtenida luego del revelado.



Patrones radiográficos de especies forestales nativas y cultivadas

El estudio de las características anatómicas y morfológicas de los frutos y semillas de las especies forestales es de suma importancia ya que estas especies se caracterizan por la producción de un gran número de frutos. Sin embargo, muchos de esos frutos son vanos, es decir, no poseen semillas o bien sus semillas no son viables. Ante esta problemática, el uso de imágenes radiográficas de los frutos brinda una herramienta útil en la detección de aquellos frutos que poseen semillas y que podrán ser empleadas en posteriores pruebas de laboratorio para determinar su viabilidad y su vigor. Los frutos de especies forestales se comercializan por peso y debido a su alto costo es importante la determinación del porcentaje de semillas llenas a fin de que el usuario conozca la cantidad que debe comprar.

Además, las imágenes radiográficas permiten identificar daños físicos tanto en los frutos como en las semillas, los cuales no siempre se pueden identificar visualmente debido a las características anatomo-morfológicas de los frutos. Los daños físicos presentes en los frutos y semillas pueden ser originados por picaduras y lesiones producidas por insectos, maquinarias empleadas en la recolección de los frutos/semillas y durante el procesamiento de estos. Otra de las utilidades que posee la radiografía aplicada al estudio de la calidad de frutos de especies forestales es la identificación del grado de llenado de las semillas, las cuales pueden presentar fallas debido a diferentes condiciones ambientales que se producen durante la maduración.

Mediante la observación de imágenes radiográficas es posible identificar malformaciones del embrión o de los tejidos nutritivos que pueden afectar la viabilidad de las semillas. También puede observarse la presencia de larvas, pupas o insectos dentro de estas permitiendo conocer el grado de infestación oculta así como también identificar aquellos insectos que atacan a las diferentes especies forestales.

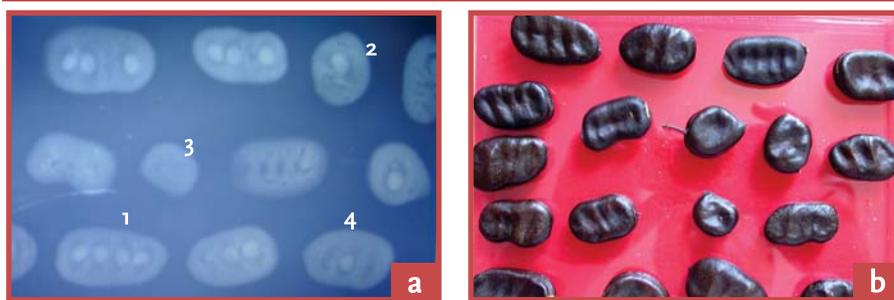
Mediante el uso de la técnica radiográfica se pueden elaborar Patrones que permiten caracterizar la anatomía embrionaria, identificar infestaciones ocultas, conocer el grado de llenado, observar las malformaciones de las diferentes estructuras y los daños provocados por insectos y hongos.

Caesalpinia paraguariensis (D.Parodi) Burkart

Figura 4.1

Patrón de *Caesalpinia paraguariensis* (D.Parodi) Burkart.

A) Radiografía de frutos con y sin semillas obtenidas con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 s. B) Imagen fotográfica digital de frutos. A1. La forma de las vainas y las semillas se observan con nitidez. Las vainas presentan bordes lisos continuos, el mesocarpio carnoso se observa radiopaco y los lóculos del fruto pueden identificarse por su radiolucidez. No se observan detalles anátomo-morfológicos del embrión; A2. Vaina con una sola semilla que se identifica por su radiopacidad y ocupa la totalidad del lóculo. A3. Vaina completamente vana; A4. Vaina con dos lóculos vacíos y una semilla completamente llena en el lóculo central; B. Vainas ovoides u oblongas, lateralmente comprimidas y gruesas. Estas vainas presentan bordes agudos, ápice mucronado y estípites. El epicarpio de los frutos es negro brillante. El tamaño del fruto es 2 a 5 cm de largo por 1,5 a 3 cm de ancho y las semillas miden 6,6 a 8,5 mm de longitud por 5 a 6,7 mm de ancho.



Cordia trichotoma (Vell.) Johnst

Figura 4.2

Patrón de *Cordia trichotoma* (Vell.) Johnst.

A) Radiografía de frutos obtenida con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) imagen fotográfica digital de los frutos. A1. El fruto presenta una forma alargada, de contorno liso y se caracteriza por su alto grado de radiopacidad. La semilla ubicada en el interior del fruto se encuentra completamente desarrollada y no manifiesta daños. No se observan con nitidez detalles anátomo-morfológicos del embrión; A2. La inserción del cáliz persistente en el pericarpio del fruto se observa como una delgada banda radiolúcida; A3. Picadura de insecto que se observa como un área circular oscura correspondiente a una zona de tejidos deteriorados y de menor espesor respecto al resto de los tejidos de la semilla; B. Los frutos son drupas de forma oblonga, fusiformes y apiculadas que poseen un pico formado por la base del estilo. Son de color castaño oscuro y poseen una textura estriada longitudinalmente. El pericarpio está cubierto por el cáliz persistente.

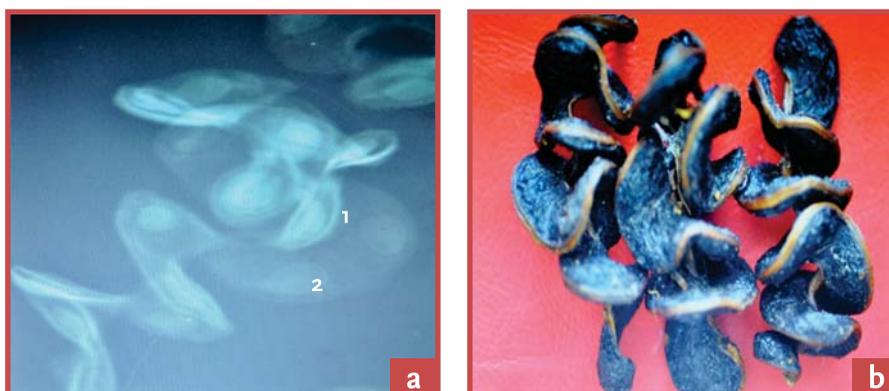


***Chloroleucon tenuiflorum* (Benth.) Barnebyet J.W.Grimes**

Figura 4.3

Patrón de *Chloroleucon tenuiflorum* (Benth.) Barnebyet J.W.Grimes.

A) Radiografía de frutos obtenida con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) imagen fotográfica de frutos. A. La vaina de forma sinuosa y bordes continuos se distingue con nitidez. En el interior del fruto se observan semillas de forma esférica que se caracterizan por su radio opacidad dentro de un fruto radio lúcido. En las semillas no se pueden visualizar claramente las estructuras anátomo morfológicas del embrión; A1. Las semillas completamente llenas ocupan la totalidad de la cavidad seminal y están ubicadas dentro del fruto con su eje mayor en sentido paralelo al eje mayor del fruto.; A2. Se observan algunas cavidades seminales con semillas no completamente desarrolladas; B. Vainas de aspecto globoso y fuertemente retorcido similar a una hélice. Son de color negro y borde marrón. Los frutos miden de 2,6-8 cm de largo por 1-1,8 cm de ancho.



***Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong**

Figura 4.4

Patrón de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong.

A) Radiografía de frutos obtenida con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) Imagen fotográfica de frutos. A. Vainas de forma circular incompleta, con las paredes gruesas de contorno liso continuo y mesocarpio que se observa radio opaco. El endocarpio septado presenta la cavidad seminal radio lúcido con los bordes y septos radio opacos. Las semillas se observan dispuestas en una doble hilera concéntrica y en cada hilera se encuentran ubicadas de manera alternada. No se observan detalles anátomo morfológicos del embrión. B. Vainas de superficie lisa y de color pardo oscuro. Se caracterizan por presentar una forma circular incompleta. El tamaño del fruto es de 5 a 9 cm de largo por 4 a 7 cm de ancho y 1 a 1,5 cm de espesor.

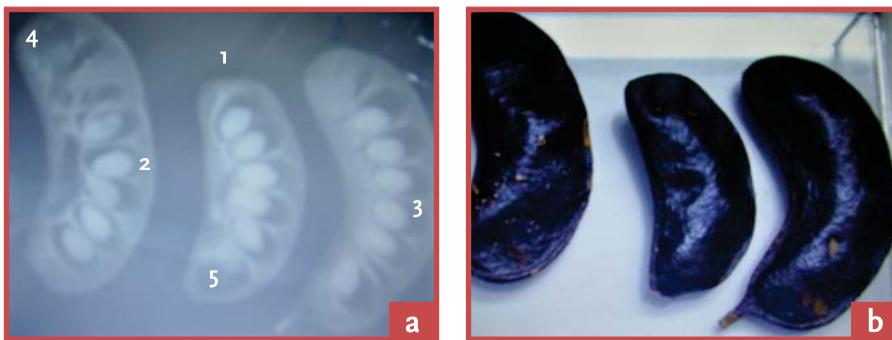


***Gleditsia amorphoides* (Gris.) Taub.**

Figura 4.5

Patrón de *Gleditsia amorphoides* (Gris.) Taub.

A) Radiografía de frutos con y sin semillas obtenidas con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) Imagen fotográfica digital de los frutos. A1. Fruto subfalcado con las paredes gruesas de contorno liso continuo, el mesocarpio se observa radiopaco y el endocarpio septado presenta la cavidad seminal radiolúcida con los bordes y septos radiopacos. Las semillas se observan dispuestas en una hilera simple. Dentro del fruto, las semillas se ubican con su eje mayor en sentido perpendicular al eje mayor del fruto; A2. Semilla completamente desarrollada que ocupa las $\frac{3}{4}$ partes o más de la cavidad seminal; A3. Semilla parcialmente llena; A4. Cavidad seminal sin semilla; A5. Semilla no completamente desarrollada; B. Vainas negras lustrosas, subfalcadas y comprimidas que poseen un ápice obtuso y una base estipitada. El fruto tiene una longitud de 8 a 10 cm y 2 a 3 cm de ancho con 6 a 8 semillas transversales



***Prosopis alba* (Grisebach).**

Figura 4.6

Patrón de *Prosopis alba* (Grisebach).

A) Radiografía de frutos con y sin semillas obtenidas con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) Imagen fotográfica digital de los frutos.

A1. Vaina con contornos bien definidos y con continuidad indicando la integridad física de este. La vaina presenta bordes lisos continuos, el mesocarpio se observa radiopaco y las cavidades seminales pueden identificarse por su radiolucidez. Las semillas están dispuestas en una hilera simple; A2. Las semillas completamente llenas se caracterizan por su radiopacidad y ocupan la totalidad de la cavidad seminal; A3. Cavidad seminal vacía; A4. Semilla con picadura de insecto; B. Vaina comprimida de forma lineal o semicircular y coloración amarillenta. La vaina mide de 12-25 cm de longitud y 12-18 mm de ancho. Las semillas tienen un tamaño de 6 a 9 mm de largo por 5 a 6 mm de ancho.



***Prosopis nigra* (Grisebach).**

Figura 4.7

Patrón de *Prosopis nigra* (Grisebach).

A) Radiografía de frutos obtenida con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) Imagen fotográfica digital de los frutos. A1. Cavity seminal vacía que se manifiesta radiolúcida; A2. Semilla parcialmente llena que presenta un área radiolúcida característica de los tejidos que no han completado su desarrollo; A3. Semilla completamente desarrollada que ocupa la totalidad de la cavity seminal; A4. Vaina de contornos netos bien definidos con una clara división de los artejos que contienen a cada semilla; B1. Vaina en forma de hoz dividida en artejos que le confieren un aspecto arrosariado; B2. Vaina de forma subrecta. Las semillas poseen un tamaño de 6 a 9 mm de largo por 5 a 6 mm de ancho.



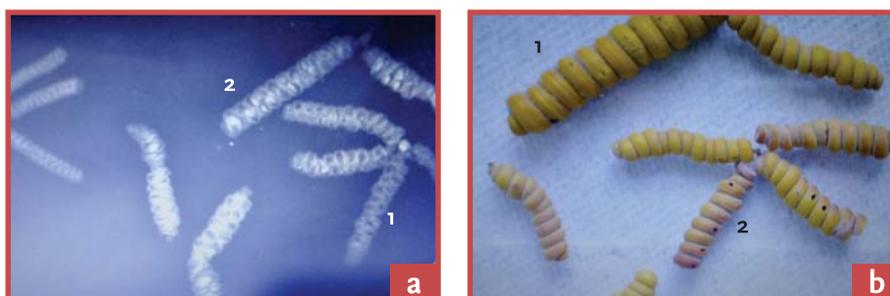
***Prosopis strombulifera* (Lam) Benth.**

Figura 4.8

Patrón de *Prosopis strombulifera* (Lam) Benth.

A) Radiografía de frutos obtenida con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) Imagen fotográfica de frutos.

A1. Vaina con contorno sinuoso y continuo con gran parte de sus cavidades seminales vacías; A2. Semillas completamente llenas que ocupan la totalidad de las cavidades seminales, encontrándose una semilla por cavity. B1. Vaina de color amarillo limón, estrechamente enroscada que forma un cilindro denso, B2. Orificios originados por picadura de insectos. El fruto posee de 2 a 5 cm de largo y 0,6 a 1 cm de ancho.



***Schinopsis balansae* Engl.**

Figura 4.9

Patrón de *Schinopsis balansae* Engl.

A) Radiografía de una semilla obtenida con el equipo SEMAX empleando 28 kV, 10 mA y 0,6 segundos; B) Imagen fotográfica de semilla dentro del fruto.

A. Se observa nítidamente el contorno continuo del fruto. El área radiopaca de la imagen corresponde a la semilla en el interior de este, la cual se encuentra completamente desarrollada y no manifiesta ningún daño ni malformación anátomo morfológica. Por una parte, el embrión presenta una forma arriñonada y su desarrollo es tal que abarca toda la cavidad seminal del fruto. No se observan detalles del embrión. Por otra parte, el área radiolúcida de la imagen corresponde a los tejidos del fruto que presentan menor contenido de humedad respecto a los tejidos de las semillas; B. Corte longitudinal de un fruto, en cuyo interior se observa una semilla abarcando la totalidad de la cavidad seminal. Mide más o menos 3 cm de largo, correspondiendo 1/3 a la porción seminífera.



***Schinopsis lorentzii* (Gris.) Engl.**

Figura 4.10

Patrón de *Schinopsis lorentzii* (Gris.) Engl.

A) Radiografía de los frutos obtenida con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) Imagen fotográfica de los frutos.

A. Frutos de contorno continuo con alas que no se observan claramente debido a su radiolucidez mientras que la cavidad seminífera se observa radiopaca y con bordes bien definidos; B1. Ala lateral bien desarrollada; B2. Parte seminífera oval-globosa, dispuesta oblicuamente en la región basal de la sámara de color castaño. El fruto mide 3 cm de largo.



***Styphnolobium japonicum* (L.) Schott.**

Figura 4.11

Patrón de *Styphnolobium japonicum* (L.) Schott.

A) Radiografía de frutos obtenida con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) Imagen fotográfica de los frutos.

A1. Vaina de contorno sinuoso y continuo ocupado por una semilla que abarca la totalidad de la cavidad seminal y se caracteriza por su radiopacidad; A2. Estrangulamiento del fruto que separa a las semillas entre sí; B. Vaina alargada, péndula y cilíndrica-arrosariada de color verde amarillento, con numerosas estrías que le confiere un aspecto rugoso. El fruto tiene una longitud de 3 a 12 cm y las semillas alrededor de 9 mm de longitud.



***Syderoxilon obtusifolium* (Roem&Schult.) T.D. Penn.**

Figura 4.12

Patrón de *Syderoxilon obtusifolium* (Roem&Schult.) T.D. Penn.

A) Radiografía de frutos, obtenidas con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) Imagen fotográfica de los frutos.

A. Frutos elipsoides de borde continuo y liso. Se observa con nitidez la separación existente entre la semilla ubicada en el interior de los frutos y la pared de estos, observándose esta separación como un delgado espacio radiolúcido. Se identifican semillas completamente desarrolladas, sin embargo, no pueden observarse detalles anatómo-morfológicos de los embriones; B. Frutos con forma de elipse, de color marrón oscuro.



***Tipuana tipu* (Benth.)**

Figura 4.13

Patrón de *Tipuana tipu* (Benth.)

A) Radiografía de frutos obtenida con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) Imagen fotográfica de los frutos.

A. Frutos de contorno continuo con alas que se observan radiolúcidas y con cavidad seminífera radiopaca que muestran en su interior varias semillas. Estas se visualizan como bandas radio pacas dispuestas en forma transversal al eje longitudinal del fruto; B1. Sámara con ala; B2. Parte seminífera oval-globosa, dispuesta oblicuamente en la región basal de la sámara castaña-grisácea. La semilla mide 13 mm de largo y 18 mm de ancho.



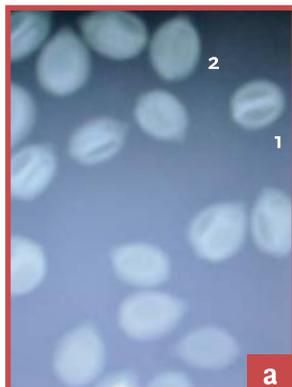
***Zizyphus mistol* (Grisebach).**

Figura 4.14

Patrón de *Zizyphus mistol* (Grisebach).

A) Radiografía de frutos obtenida con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) Imagen fotográfica de los frutos.

A1. Fruto elipsoideo sin semillas, con istmo que separa a los lóculos entre sí. Se observa con nitidez el contorno liso y continuo del fruto; A2. Fruto con una semilla completamente llena en cada lóculo. Las simientes están ubicadas dentro del fruto con su eje mayor en sentido paralelo al eje mayor del fruto. No se observan detalles anátomo-morfológicos de los embriones; B. Frutos drupáceos elipsoideos y globosos, de color oscuro y con restos de cáliz persistiendo en la base. Poseen un tamaño de 1 cm de largo.



Acacia caven (Mol.)

Figura 4.15

Patrón de *Acacia caven* (Mol.)

A) Radiografía de frutos con semillas obtenida con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) Imagen fotográfica digital de frutos enteros y abierto.

A1. Vaina con contorno liso y continuo completamente lleno de semillas, sin visualización de las estructuras anatómicas de estas, las cuales están dispuestas con su eje mayor en forma transversal al eje mayor del fruto y ordenadas en dos hileras paralelas; A2. Semillas dispuestas en forma desordenada en el interior del fruto; A3. Fragmento de fruto con algunas semillas. En todos los casos, los frutos muestran semillas con alto grado de radiopacidad separadas por un y tejido esponjoso que es radiolúcido; A4. Semilla con áreas radiolúcidas asociadas a lesiones; B1. Vaina cilíndrica, fusiforme y globosa y de color marrón rojizo. Se observan dos suturas longitudinales terminadas en el ápice por un mucrón más o menos punzante; B2. Vaina con dos orificios originados por picaduras de insectos. Las semillas presentan un tamaño de 7 mm de largo por 4 mm de ancho.



Araucaria angustifolia (Bertol.) Kuntze

Figura 4.16

Patrón de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze.

A) Radiografía digital de semillas, obtenida con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) Imagen fotográfica digital de semillas.

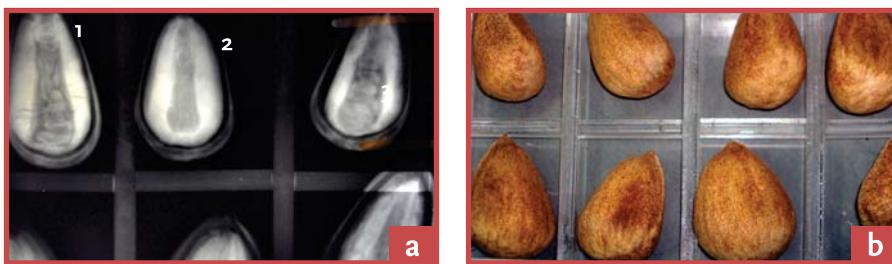
A1. Semilla completamente llena, que ocupa las $\frac{3}{4}$ partes de la cavidad de la bráctea. Se observa el embrión recto con dos cotiledones largos semicilíndricos y las paredes de las semillas son gruesas, de contornos lisos y continuos. El endosperma denso es radiopaco; A2. El apéndice ubicado en la base de la semilla se observa radiolúcido; B. Semillas grandes, castaño rojizas y brillantes. Estas son abultadas y de forma cuneiforme; B1. Las semillas poseen un apéndice espinoso recurvado. Las brácteas miden de 5-7 cm de longitud, de 1 a 2,5 cm de ancho y 1 cm de espesor, mientras que las semillas miden de 3-6 cm de largo y 1-2,5 cm de ancho.



Araucaria araucana (Molina) K. Koch

Figura 4.17

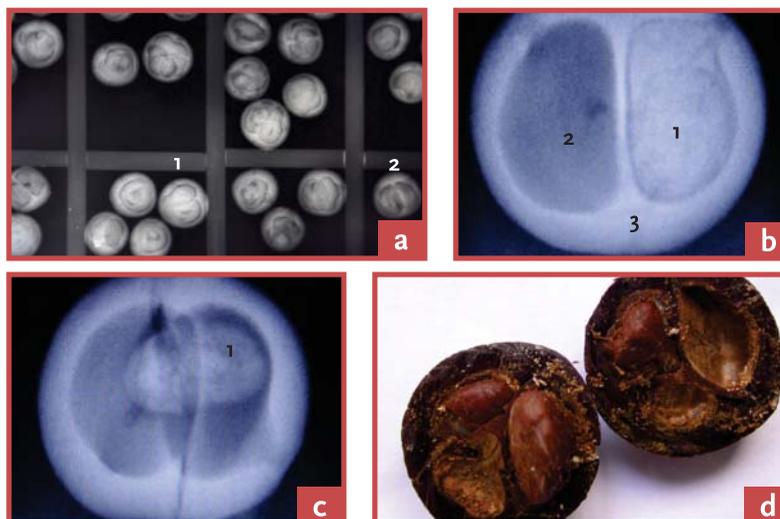
Patrón de *Araucaria araucana* (Molina) K. Koch. A) Radiografía de semillas con y sin embrión obtenida con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) Imagen fotográfica digital de semillas. A1. Semilla con embrión en la cual no se observan con nitidez detalles anatómo morfológicos de este.; A2. Semilla sin embrión que presentan áreas radiolúcidas en el interior del endosperma, que es radiopaco y posee bordes lisos y continuos bien definidos. Las semillas completamente desarrolladas ocupan $\frac{3}{4}$ partes de la cavidad de la bráctea. Se visualiza una cámara de aire radiolúcida entre la semilla y la bráctea. Esta última es gruesa, de contorno liso continuo y radiopaca; B. Las brácteas son cónico-oblongas, de color castaño claro. Las semillas miden 5 cm de largo por 3 cm de ancho.



Butia capitata (Martius) Beccari

Figura 4.18

Patrón de *Butia capitata* (Martius) Beccari. A) Radiografía de frutos con y sin semillas; B) Radiográfica de fruto con ausencia de semilla en uno de sus artejos; C) Radiografía de fruto con presencia de larva en su interior. Las radiografías se obtuvieron con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; D) Imagen fotográfica digital del interior de un fruto con semillas en sus tres artejos. A1. Fruto con semillas completamente desarrolladas; A2. Semilla con áreas radiolúcidas que indicarían fallas en el desarrollo. B1. Fruto drupa de contornos lisos bien definidos y con clara división de los artejos. Se observa la presencia de una semilla llena como un área radiopaca que ocupa la totalidad del artejo, sin visualización de detalles anatómo-morfológicos; B2. Artejo vacío que se observa como un área radiolúcida y muestra bordes netos, lisos y bien definidos; B3. El mesocarpio carnoso se visualiza como un área radiopaca; C1. Presencia de larva en el interior de los artejos que se visualiza como un área radiopaca de bordes definidos. La imagen radiográfica de los artejos es radiolúcida indicando ausencia de semillas; D. Endocarpio cortado transversalmente donde se observa en el interior de ambas mitades una semilla en cada uno de sus tres artejos. Tanto el endocarpio como las semillas son de color marrón. El fruto mide hasta 25 mm de diámetro.



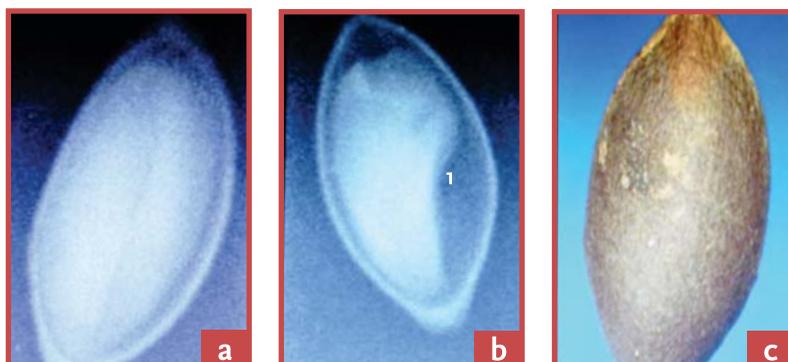
Cephalotaxus harringtonia (Forbes)

Figura 4.19

Patrón de *Cephalotaxus harringtonia* (Forbes).

A) Radiografía digital de fruto con semilla completamente llena; B) Radiografía digital de fruto con semilla parcialmente desarrollada. Las radiografías se obtuvieron con el equipo SEMAX empleando 28 kV, 10 mA y 0,6 segundo. C) Imagen fotográfica digital del fruto.

A. Fruto con contornos lisos, continuos y bien definidos, que presenta una semilla completamente desarrollada que ocupa la totalidad de la cavidad de este. La semilla se observa como un área radiopaca. Entre la semilla y el fruto se observa una delgada área radiolúcida que corresponde a la cámara de aire que se ubica entre ambas estructuras; B1. Las áreas radiolúcidas muestran el incompleto grado de llenado de las semillas; C. Fruto de forma ovoide y de color castaño claro. La semilla mide de 2 a 3 cm de largo.



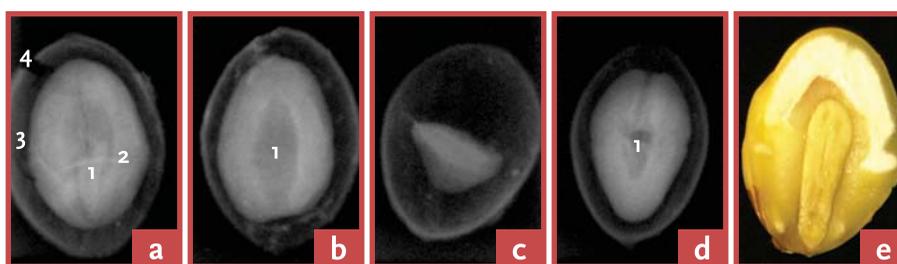
Ginkgo biloba (L.).

Figura 4.20

Patrón de *Ginkgo biloba* (L.).

Radiografías digitales obtenidas con el equipo SEMAX empleando 28 kV, 10 mA y 0,6 segundos. A) Semilla completamente llena, con embrión y quebrada; B) semilla completamente llena, sin embrión y sin daños; C) Semilla parcialmente llena; D) Semilla completamente llena, con embrión y punzada artificialmente y E) Imagen fotográfica digital de una semilla completamente llena, con embrión y sin daños.

A1. Embrión en el interior de la semilla. No se distinguen detalles anátomo-morfológicos de este; A2. El megagametófito (tejido nutritivo) se observa como un área radiopaca rodeando al embrión y posee bordes bien definidos; A3. Entre la endotesta (cubierta seminal) y la mesotesta (cubierta coriácea interna del fruto) se observa una área radiolúcida que corresponde a la cámara de aire que se ubica entre ambas estructuras; A4. Fractura provocada artificialmente donde se observa con nitidez los bordes correspondientes a dicha lesión; B1. Área radiolúcida correspondiente a la cavidad del megagametófito con ausencia de embrión; D1. Área radiolúcida correspondiente al daño artificial por punzado sobre el embrión. La semilla mide de 1,5 a 2,5 cm de largo.



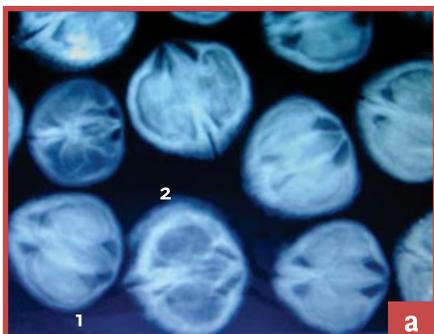
Juglans nigra (L.).

Figura 4.21

Patrón de *Juglans nigra* (L.).

A) Radiografía digital de frutos con y sin semillas obtenida con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) Imagen fotográfica digital de los frutos.

A1. Fruto con semillas completamente desarrolladas que ocupan la totalidad de la cavidad de este. Las semillas se observan como áreas radiopacas y no distinguen los detalles anátomo-morfológicos de estas. Se observa con claridad el contorno liso y continuo del fruto y de las semillas en su interior; A2. Fruto con ausencia de semillas que se visualiza como áreas radiolúcidas; B. Fruto drupa de forma globosa u ovoide y apiculada, con cáscara profundamente surcada de color amarronado y mide de 3,5-5 cm de diámetro.



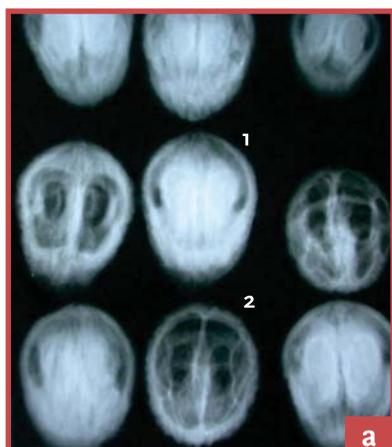
Juglans regia (L.)

Figura 4.22

Patrón de *Juglans regia* (L.).

A) Radiografía de frutos con y sin semillas obtenida con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) Imagen fotográfica digital de los frutos.

A1. Fruto con semilla completamente desarrollada que ocupa la totalidad de la cavidad de este. La semilla se observa como un área radiopaca. Los bordes del fruto y la semilla se visualizan nítidamente y son lisos y continuos; A2. Fruto sin semilla donde se visualiza como un área radiolúcida la cavidad vacía; B. Fruto drupa subglobosa o elipsoidea que posee endocarpio ondulado. El fruto mide de 4-6 cm de largo.



Ligustrum lucidum Ait. (H. Lév.) H. Lév

Figura 4.23

Patrón de *Ligustrum lucidum* Ait. (H. Lév.) H. Lév.

A) Radiografía digital de frutos con semillas que poseen diferente grado de llenado, obtenida con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) Imagen fotográfica digital de frutos.

A1. Semillas completamente llenas que se observan como áreas radiopacas y que ocupan toda la cavidad del fruto. Se visualiza con nitidez el borde liso y continuo del fruto sin embargo no se observan los detalles anátomo-morfológicos del embrión; A2. Semilla no completamente desarrolladas donde se observan áreas radiolúcidas por la falta de llenado; B. Frutos bayas de aspecto rugoso y color castaño, de un tamaño de alrededor de 8 mm de largo.



Melia azedarach (L.).

Figura 4.24

Patrón de *Melia azedarach* (L.).

A) Radiografía digital de frutos obtenida con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) Imagen fotográfica digital de los frutos.

A. Frutos con bordes irregulares y continuos que presentan en su interior una semilla completamente desarrollada que se visualiza como un área radiopaca. No se observan detalles del embrión. Las semillas abarcan la totalidad de la cavidad del fruto;

B. Frutos drupa de forma elipsoidal y color amarillo u ocráceo que presentan 1,5-2,5 cm de largo.

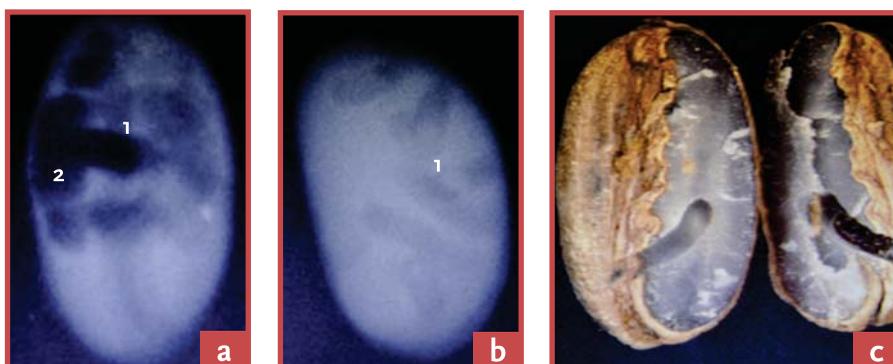


Phoenix canariensis (Hort.).

Figura 4.25

Patrón de *Phoenix canariensis* (Hort.).

A) Radiografía digital de semilla con picaduras de insectos y galerías formadas por larvas; B) Radiografía digital de semilla con presencia de galerías formadas por larvas; C) Imagen fotográfica digital del interior de una semilla. Las radiografías digitales se obtuvieron con el equipo SEMAX empleando 28 kV, 10 mA y 0,6 segundos. A1) picadura de insectos que se visualiza como un área radiolúcida. No se observan detalles anátomo-morfológicos de la semilla. El contorno de esta se visualiza con nitidez y es liso y continuo; A2 y B1) Galería formada por larvas que se observa como áreas radiolúcidas; C) Fruto ovoide, de color amarillento y endocarpio que rodea a la semilla. Vista interior de la semilla; C1) Larva formando una galería en el endosperma homogéneo. El fruto mide más o menos 2,5 cm de largo.



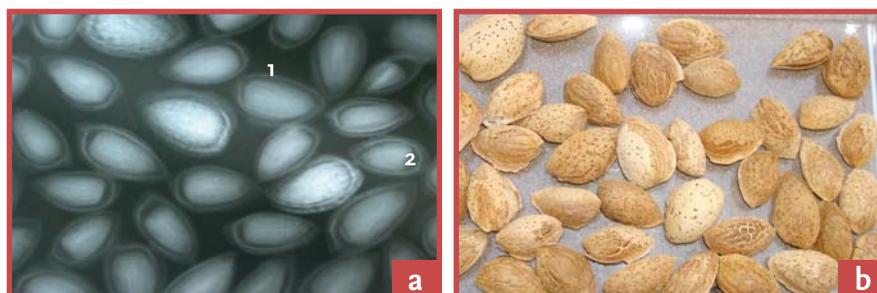
Prunus amygdalus Bastch

Figura 4.26

Patrón de *Prunus amygdalus* Bastch.

A) Radiografía digital de frutos con semillas que poseen diferente grado de llenado obtenida con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos; B) Imagen fotográfica digital de frutos.

A1. Semilla completamente llena, que se visualiza como un área radiopaca que ocupa la totalidad de la cavidad del fruto. Se visualiza el contorno liso y continuo del fruto y una cámara de aire que se manifiesta como un área radiolúcida entre el fruto y la semilla. No se observan detalles anátomo-morfológicos; A2. Semilla incompletamente desarrollada que se observa como un área radiolúcida; B. Frutos ovoides o elipsoides comprimidos con endocarpio castaño, aplanado y con excavaciones. Poseen un tamaño de 4-8 cm de largo.



Rhus succedanea (L.).

Figura 4.27

Patrón de *Rhus succedanea* (L.).

A) Radiografía digital de frutos obtenida con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 segundos. Las imágenes radiográficas muestran cámaras de aire entre las semillas donde estaría ubicado el tejido esponjoso que es radiolúcido (áreas de color oscuro). B) Imagen fotográfica digital de los frutos. A1. Fruto con bordes lisos y continuos bien definidos en el cual se observa nitidamente el mucrón característico de la especie; A2. Semilla completamente desarrollada que ocupa la totalidad de la cavidad del fruto y se visualiza como un área radiopaca; A3. Cámara de aire entre la semilla y el fruto, la cual se observa como una delgada área radiolúcida; B. Frutos drupa de forma ovoide comprimidos que presentan un mucrón, de 6 a 8 mm de diámetro.



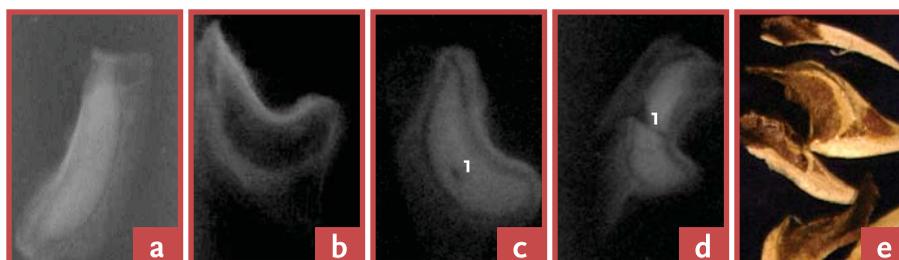
Taxodium distichum (L.)Rich

Figura 4.28

Patrón de *Taxodium distichum* (L.)Rich.

A, B, C y D. Radiografías digitales de semillas, obtenidas con el equipo SEMAX empleando 28 kV, 10 mA y 0,6 segundos. E. Imagen fotográfica digital de semillas.

A. Semilla completamente desarrollada que ocupa la totalidad de la cavidad de la escama. La semilla se visualiza como un área radiopaca mientras que la escama se observa como un área con menor radiopacidad que circunda a la semilla; B. Escama sin semilla, que posee el contorno bien definido, liso y continuo. El área radiolúcida corresponde a la cavidad de la escama vacía; C1. Semilla completamente desarrollada con un área radiolúcida que muestra un daño artificial de punzado que simula la picadura de un insecto; D1. Semilla completamente desarrollada que presenta una fractura producida artificialmente que fragmenta a la semilla en dos mitades. La fractura se visualiza como un área radiolúcida; E. Escamas angulosas de diferentes formas y tamaños, de color castaño. Los frutos miden de 2,5 a 3,5 cm de largo y las semillas de 10-15 mm de largo.



Rayos X en otras especies

La utilidad del empleo de la técnica de rayos X, independientemente de la fuente de producción de estos, ha quedado ampliamente demostrada cuando se aplica al diagnóstico en especies forestales.

Por una parte, las semillas y frutos de estas especies suelen demandar ensayos de germinación excesivamente prolongados, y en algunos casos complicados por los requerimientos en pretratamientos especiales para promover la germinación homogénea. Por otra parte, la ocurrencia frecuente de semillas vanas en algunas especies forestales exige una toma de decisión rápida acerca del destino como simiente de los lotes de semillas. Es así que el diagnóstico por rayos X, si bien no es del todo definitorio en aspectos relacionados con la viabilidad y la rápida germinación, sí lo es de forma indiscutida cuando se lo utiliza para determinar presencia de estructuras seminales dentro de las coberturas, correcta anatomía embrionaria y de tejidos y estructuras de reserva, presencia de fisuras y fracturas, signos de daños causados por picaduras y mordeduras de insectos y alteraciones en tejidos causados por patógenos de diferente origen.

El empleo de la técnica en otras especies, que no presentan las mismas dificultades mencionadas para las forestales, sigue teniendo la misma utilidad en la detección de semillas o frutos vanos, morfología embrionaria, infestaciones e infecciones diversas.

Helianthus annuus (L.)

Figura 5.1.1

Patrón radiográfico e imagen fotográfica correspondiente a un aquenio de girasol maduro y completamente lleno. A. La buena definición de la radiografía permite observar con nitidez el contraste entre la semilla propiamente dicha o pepita y las paredes del aquenio. Se observa la existencia de una fina cámara de aire de color oscuro de recorrido perimetral a la pepita. B. Aquenio de girasol intacto.

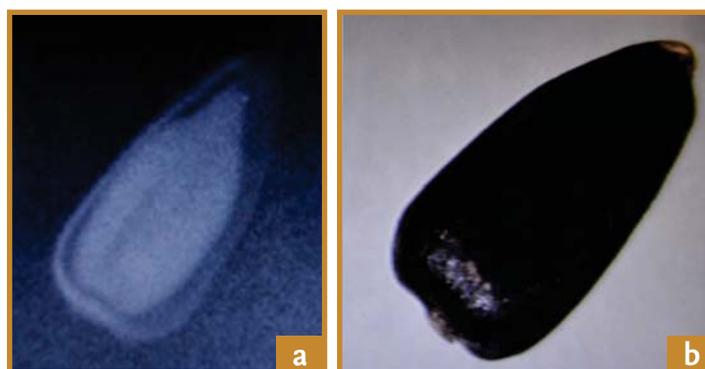


Figura 5.1.2

Patrón radiográfico e imagen fotográfica correspondiente a aquenios de girasol maduros y completamente vacíos. A. La imagen radiográfica permite observar la falta completa de pepita en el interior del aquenio. B. Aquenios de girasol dañados por insectos que consumieron totalmente la pepita.

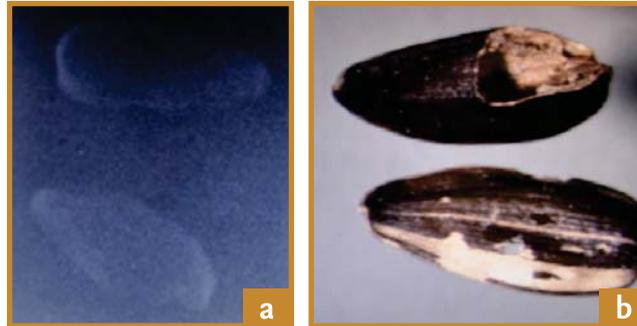


Figura 5.1.3

Patrón radiográfico e imagen fotográfica correspondiente a un aquenio de girasol con malformación física. A. En la radiografía se observa con nitidez la falta de una porción longitudinal del aquenio correspondiente a ambos cotiledones. B. Imagen fotográfica del correspondiente aquenio abierto. C. Imagen fotográfica del aquenio intacto.

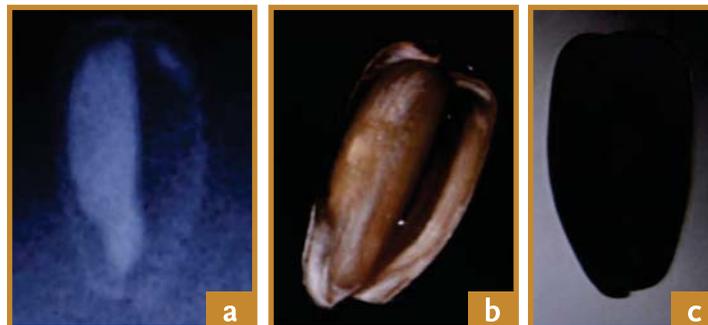


Figura 5.1.4

Patrón radiográfico e imagen fotográfica correspondiente a un aquenio de girasol con infección en pared interna del aquenio afectando un cotiledón. A. En la radiografía se observa con nitidez la presencia de tejido necrosado en la parte central de cotiledones. B. Imagen fotográfica del aquenio abierto. C. Imagen fotográfica del aquenio intacto.

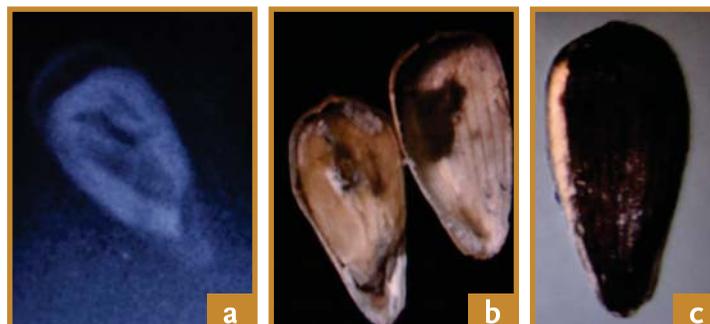


Figura 5.1.5

Patrón radiográfico e imagen fotográfica correspondiente a tres achenios de girasol. A. En la radiografía se observa con nitidez que el achenio superior posee una semilla intacta en su interior, el achenio del medio muestra lesiones en cotiledones y el inferior muestra lesión completa en cotiledón incluyendo al eje embrionario. B. Imagen fotográfica de los achenios intactos.

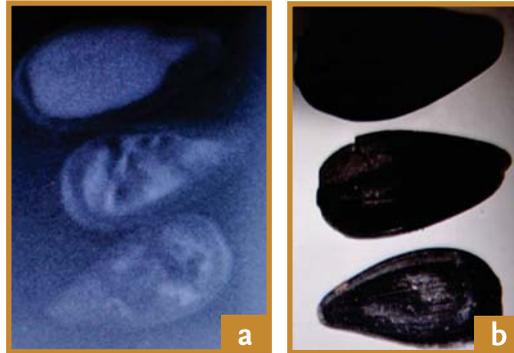


Figura 5.1.6

Patrón radiográfico e imagen fotográfica correspondiente a dos achenios de girasol con daño por insecto. A. En la radiografía se observa con nitidez que el achenio de la derecha posee una semilla roída y la semilla de la izquierda presenta una línea de tejido de menor densidad de origen no identificado. B. Imagen fotográfica de los achenios abiertos con insectos. C. Imagen del achenio roído.

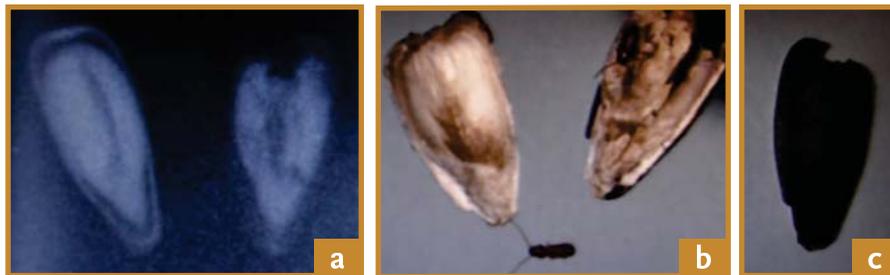


Figura 5.1.7

Imagen radiográfica de dos achenios. El superior vano y el inferior mostrando una semilla con malformaciones en el cotiledón.



Figura 5.1.8

Imagen radiográfica de un aquenio de girasol mostrando una semilla con malformaciones en el cotiledón.



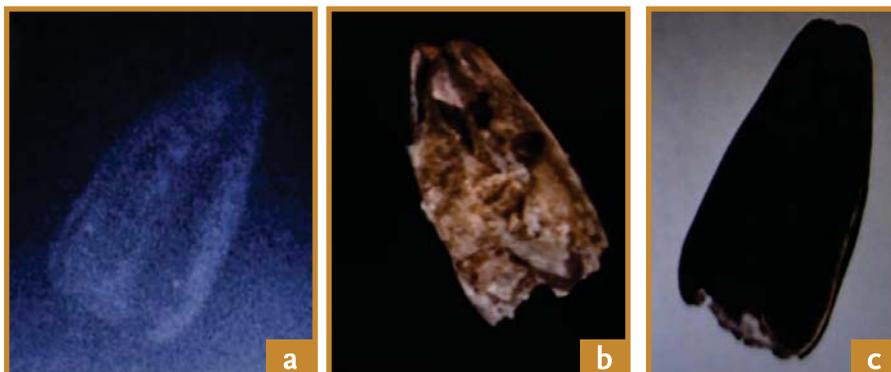
Figura 5.1.9

Imagen radiográfica de un aquenio de girasol mostrando una semilla con malformaciones en el cotiledón.



Figura 5.1.10

Patrón radiográfico e imagen fotográfica correspondiente a un aquenio de girasol con daño por insectos. A. En la radiografía se observa con nitidez áreas de la pepita con diferente densidad como consecuencia del severo roído. B. Imagen fotográfica del aquenio abierto con la pepita severamente desintegrada por el ataque de insectos. C. Imagen del aquenio roído.



Glycine max (L.) Merrill

Figura 5.2.1

Patrón radiográfico correspondiente al daño del ambiente de producción. Radiografía de una vaina con dos semillas en el estadio R8. Se observa pérdida de la esfericidad de ambas semillas con adquisición de forma prismática cilíndrica. Se observa buena resolución en la separación de tegumentos cotiledones. Los cotiledones presentan buena densidad. El interior de la vaina se presenta radiolúcida con una buena delimitación de sus bordes perimetrales.



Figura 5.2.2

Patrón radiográfico correspondiente al daño del ambiente de producción. Pérdida de esfericidad de las semillas en el interior de la vaina. Se observa buena definición en la separación de los tegumentos y los cotiledones y abolladuras en la periferia de estos en el área opuesta al eje embrionario.

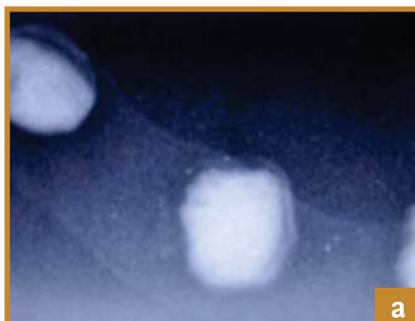


Figura 5.2.3

Patrón radiográfico correspondiente al daño del ambiente de producción. Pérdida de esfericidad de las semillas en el interior de la vaina que muestran formas irregulares. Menor tamaño de las semillas, abolladuras de cotiledones sin separación de tegumentos y nítido contraste radiográfico.



Figura 5.2.4

Patrón radiográfico correspondiente al daño por picaduras de chinches en el estadio hacia final de R6. Semillas totalmente hinchadas ocupando toda la cavidad individual que les corresponde dentro de la vaina. La vaina muestra muy buen contraste indicando el alto contenido de humedad correspondiente al estadio. Las semillas mantienen una importante superficie de contacto denotando que todavía no ha comenzado el proceso de deshidratación. Se observan numerosas áreas oscuras sobre los cotiledones de las dos semillas de la derecha de la imagen acompañadas por áreas abolladas.



Figura 5.2.5

Patrón radiográfico correspondiente al daño por picaduras de chinches en el estadio R8. Se observa bien la vaina con contorno más delgado en este caso debido al menor contenido de humedad. Se observan áreas oscuras sobre cotiledones correspondientes a las picaduras del insecto. Además, se observa buen contraste de imagen que permite identificar las abolladuras en la semilla central.



Figura 5.2.6

Patrón radiográfico correspondiente al daño por picaduras de chinches en el estadio R8. Se observa que las semillas conservan la forma esférica tradicional de la especie, pero manifiestan sobre los cotiledones áreas oscuras de diferente tamaño que indican que las picaduras del insecto ocurrieron con anterioridad a este estadio.



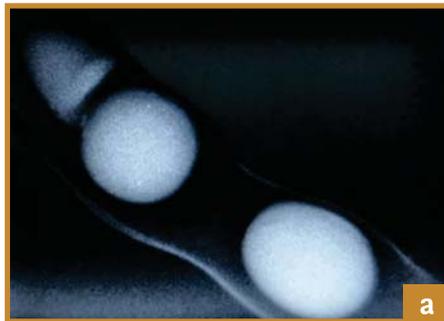
Figura 5.2.7

Patrón radiográfico correspondiente al daño por picaduras de chinches en el estadio R6. Se observa que dos semillas abortadas en su crecimiento por picaduras de chinches ocurridas en un estadio temprano de la formación, R5.



Figura 5.2.8

Patrón radiográfico correspondiente al daño producido por malformación genética. Vaina en estadio R8 con dos semillas intactas en su interior y una semilla en el extremo de la vaina con deformación marcada en área de cotiledones opuesta a la zona de inserción del eje embrionario.



Zea mays (L.)

Figura 5.3.1

Imágenes radiográfica y fotográfica de cariopsis de maíz. Patrón de fisura longitudinal extensa y profunda del pericarpio y endosperma desde área distal del eje embrionario.



Figura 5.3.2

Imágenes radiográfica y fotográfica de cariopsis de maíz. Fisura longitudinal poco extensa de pericarpio en sentido oblicuo al eje embrionario. Nítida distinción de las áreas que conforman el eje embrionario: coleoptile, plúmula, mesocotilo, coleorriza y radícula.

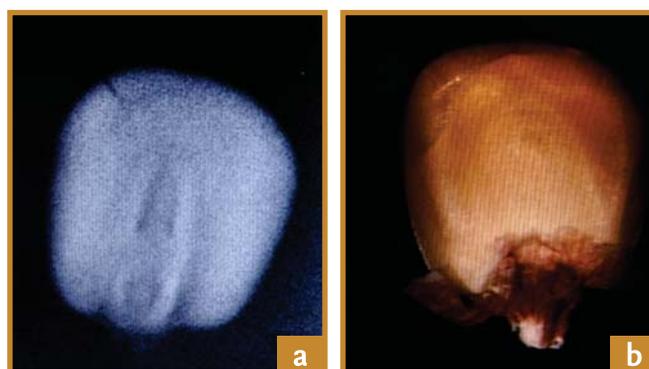


Figura 5.3.3

Imágenes radiográfica y fotográfica de cariopsis de maíz. Patrón de fisura lateral extensa y profunda del pericarpio y endosperma desde área distal del eje embrionario.

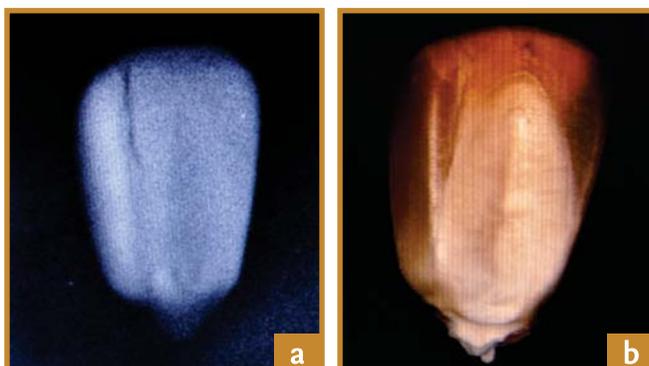


Figura 5.3.4

Imágenes radiográfica y fotográfica de cariopsis de maíz. Patrón de fisuras múltiples desde el exterior del pericarpio hacia el centro del endosperma.

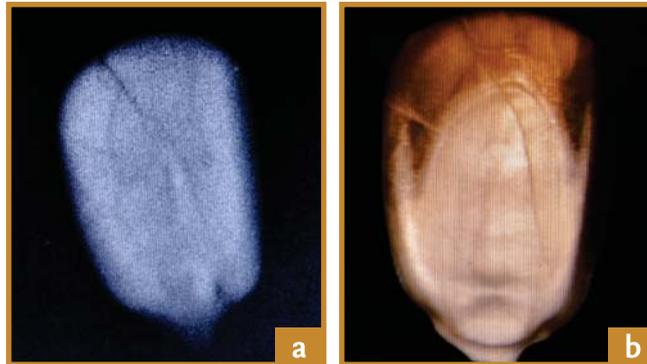


Figura 5.3.5

Patrón de daños por insectos en cariopsis de maíz. A. Imágenes radiográficas con vista frontal y dorsal de un mismo cariopsis. Se observa nítidamente la formación de galerías de forma cilíndrica que atraviesan el interior del endosperma. B. Imagen fotográfica de los correspondientes cariopsis de maíz, con presencia del insecto atrapado en el interior de la galería.

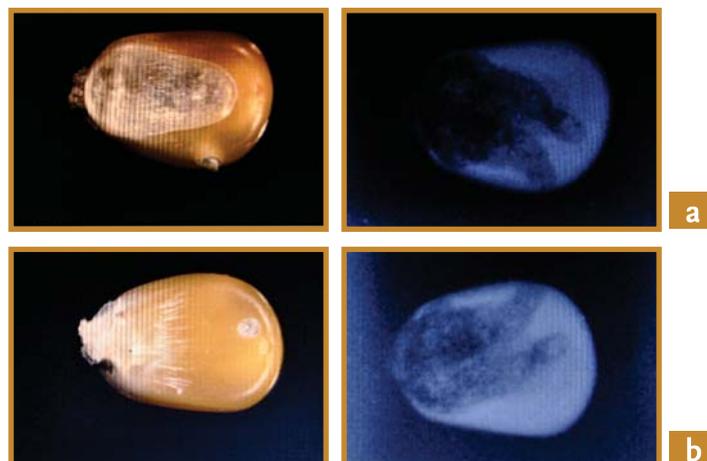


Figura 5.3.6

Patrón de daños por insectos en cariopsis de maíz. A. Imágenes radiográficas con vista frontal y dorsal de un mismo cariopsis. Se observa nítidamente la formación de varias galerías de forma cilíndrica que confluyen y atraviesan el interior del endosperma. El eje embrionario está totalmente consumido. B. Imagen fotográfica de los correspondientes cariopsis de maíz con presencia del insecto atrapado en in interior de la galería.

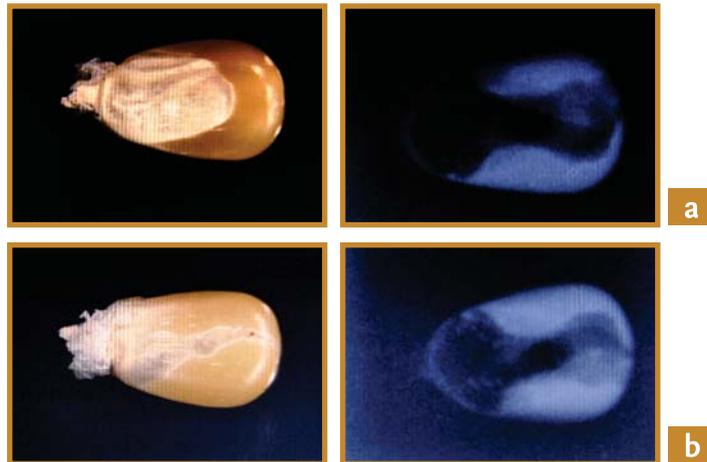


Figura 5.3.7

Patrón de daños por insectos en cariopsis de maíz. A. Imágenes radiográficas con vista frontal y dorsal de un mismo cariopsis. Se observa nítidamente el interior del cariopsis que se encuentra vano, con endosperma totalmente consumido por acción de los insectos. B. Imagen fotográfica de los correspondientes cariopsis de maíz, se observa decoloración de estos y la presencia de numerosas perforaciones realizadas por los insectos.



Figura 5.3.8

Patrón de daños por insectos en cariopsis de maíz. A. Imágenes radiográficas con vista frontal y dorsal de un mismo cariopsis. Se observa nítidamente que el endosperma y escutelo se encuentran mayoritariamente intactos. Se observa una galería en la parte basal del cariopse que perfora el pericarpio. El eje embrionario se observa totalmente destruido por la acción de los insectos. B. Imagen fotográfica de los correspondientes cariopsis de maíz, se observa una perforación lateral que corresponde a la galería de entrada del insecto. Se observa sobre el embrión la presencia del insecto.

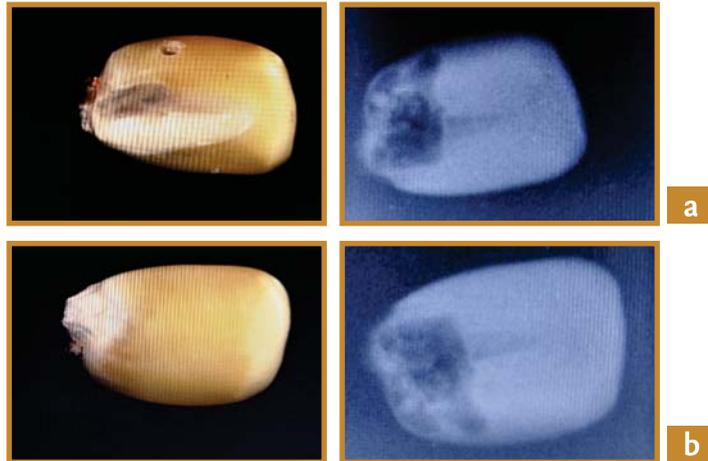


Figura 5.3.9

Patrón de daños por insectos en un cariopsis redondo de maíz. A. Imágenes radiográficas con vista frontal y dorsal de un mismo cariopsis. Se observa nítidamente el interior del cariopsis áreas radiolúcidas y radiopacas circulares. Las áreas radiolúcidas que afectan tanto al endosperma como al escutelo y eje embrionario corresponden a huecos originados por el consumo por los insectos de tejidos seminales. B. Imagen fotográfica de los correspondientes cariopsis de maíz, se observa decoloración del pericarpio causada por el consumo de tejido desde el interior mismo del cariopsis.



***Cucumis melo* (L.)**

Figura 5.4.1

Patrón de *Cucumis melo* (L.) A) Radiografía de semilla, obtenida con el equipo SEMAX empleando 28 kV, 10 mA y 0,6 s. B) Imágenes fotográficas de semillas.

A. La imagen radiográfica muestra una semilla completamente desarrollada que se visualiza como un área radiopaca. No se distinguen con nitidez detalles anátomo-morfológicos del embrión. El contorno de la semilla se observa liso y continuo; B1. Vista interior de la semilla donde se observa el completo desarrollo de esta y la ausencia de lesiones; B2. Vista externa de la semilla que posee una forma aovadolanceolada, comprimida y lisa, de color castaño claro.

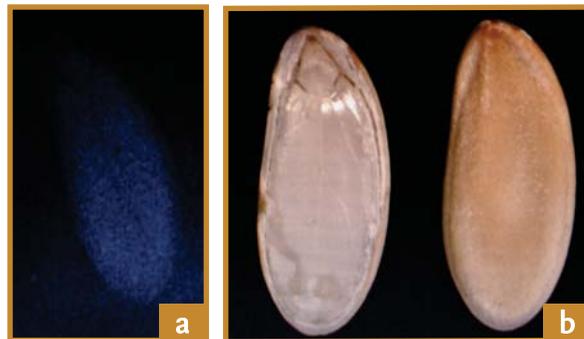


Figura 5.4.2

Patrón de *Cucumis melo* (L.) A) Radiografía de semilla, obtenida con el equipo SEMAX empleando 28 kV, 10 mA y 0,6 s. B) Imágenes fotográficas de semillas.

A1. La imagen radiográfica muestra una semilla parcialmente desarrollada, donde se observa un área radiolúcida correspondiente a la zona con ausencia de endosperma. No se distinguen con nitidez detalles anátomo-morfológicos del embrión. El contorno de la semilla se observa liso y continuo, A2. Sobre el endosperma se visualiza un área puntual con menor radiopacidad que corresponde a una lesión causada por la picadura de un insecto; B1. Vista interior de la semilla donde se observa el desarrollo incompleto del endosperma y la lesión producida por la picadura de un insecto; B2. Vista externa de la semilla que posee un orificio producido por el ataque de un insecto picador.



Arachis hypogaea (L.)

Figura 5.5

Patrón de *Arachis hypogaea* (L.) A) Radiografía de frutos con diferentes grados de llenado de las semillas y distinto número de simientes por fruto, obtenida con el equipo RUTAX empleando 20 kV, 50 mA y 3,5 s. B) Imagen fotográfica digital de frutos.

A. Se observa con nitidez la presencia de semillas en el interior de los frutos. Estas se visualizan como áreas con alta radiopacidad. Tanto los frutos como las semillas presentan bordes lisos y continuos que permiten diferenciar con claridad la forma de ambas estructuras. La buena definición de la radiografía permite observar con nitidez el contraste entre la semilla y las paredes del fruto. Se observa la existencia de una fina cámara de aire de color oscuro de recorrido perimetral a la semilla; A1. Semilla completamente desarrollada con embrión y endosperma sin manifestación de daños, que ocupa la totalidad de la cavidad del fruto. No se observan detalles anatómo-morfológicos del embrión; A2. Fruto vacío; A3. Fruto con semillas parcialmente desarrolladas que no completan las cavidades del fruto y no poseen embrión. La cámara de aire se manifiesta como una extensa área radiolúcida y perimetral a las semillas; B. Vainas castañas ligeramente contraídas entre las semillas, con superficie rugosa. Pueden medir entre 2-5 cm de longitud.



Cucurbita sp. (L.)

Figura 5.6.1

Patrón de *Cucurbita sp. (L.)* A) Radiografía de semilla, obtenida con el equipo SEMAX empleando 28 kV, 10 mA y 0,6 s. B) Imágenes fotográficas de semillas.

A. La imagen radiográfica muestra una semilla completamente desarrollada que se visualiza como un área radiopaca. No se distinguen con nitidez detalles anátomo-morfológicos del embrión. El contorno de la semilla se observa liso y continuo; B1. Vista interior de la semilla donde se observa el completo desarrollo de esta y la ausencia de lesiones; B2. Vista externa de la semilla que posee una forma aovada-oblonga, aplanada y lisa, de color castaño claro.

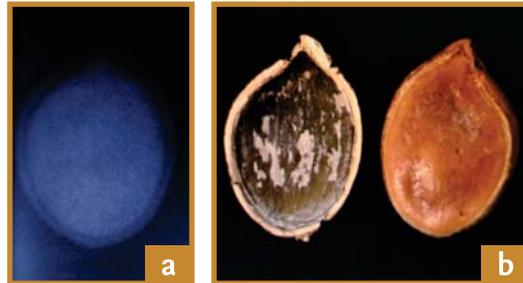


Figura 5.6.2

Patrón de *Cucurbita sp. (L.)* A) Radiografía de semilla obtenida con el equipo SEMAX empleando 28 kV, 10 mA y 0,6 s. B) Imagen fotográfica de una semilla.

A. La imagen radiográfica muestra una semilla completamente desarrollada que se visualiza claramente como un área radio opaca. No se distinguen con nitidez detalles anátomo-morfológicos del embrión. El contorno de la semilla se observa liso, continuo; A1. Sobre el endosperma se visualizan áreas radio lúcidas con forma alargada que corresponden a lesiones de naturaleza mecánica; B. Vista interior de la semilla donde se observa el desarrollo completo del endosperma y el embrión y las fisuras mecánicas.

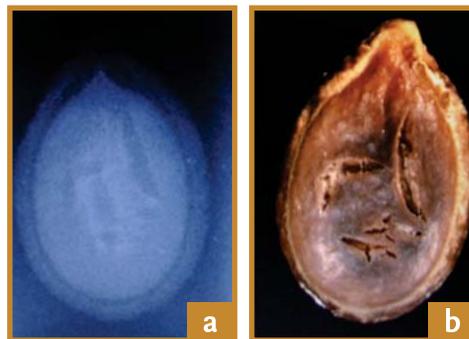
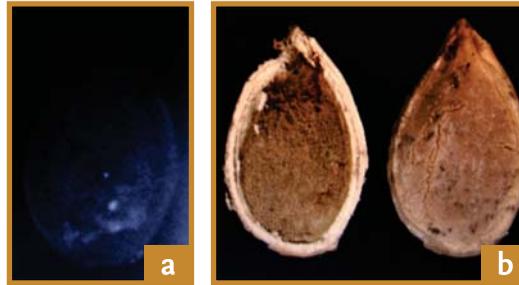


Figura 5.6.3

Patrón de Cucurbita sp. (L.)A Radiografía de semilla obtenida con el equipo SEMAX empleando 28 kV, 10 mA y 0,6 s. B) Imágenes fotográficas desemillas.

A. La imagen radiográfica muestra una semilla con endosperma y embrión deteriorados que se visualiza claramente como un área de poca radio opacidad, rodeada por un borde liso y continuo radio opaco; B1. Vista interior de la semilla donde se observa un severo deterioro del endosperma y embrión que se visualizan como una masa pulverulenta de color marrón; B2. Vista externa de la semilla, de forma aovada y coloración castaña.



Otros patrones radiográficos

La técnica radiográfica posibilita la realización de una gran y diversa cantidad de patrones que ayudan a describir diferentes aspectos como los relacionados con la formación de las semillas y agentes biológicos y ambientales que generan alteraciones en el normal crecimiento y desarrollo de frutos y semillas. Por una parte, podemos mencionar los daños que sufren los tejidos embrionarios y nutritivos de las semillas como consecuencia del ataque de insectos. Estos son capaces de producir tanto picaduras como desgarros de diferente magnitud pudiendo alcanzar un nivel tal de gravedad que ocasionen semillas sin embrión o totalmente vacías. Por otra parte, numerosas especies de insectos pueden valerse de los frutos o semillas para completar sus estadios biológicos realizando pequeñas perforaciones y depositando gran cantidad de huevos que luego al transformarse en estadios intermedios del ciclo reproductivo acaban con la destrucción total del órgano.

Al mismo tiempo, el análisis radiográfico permite observar las manifestaciones del ambiente de producción en distintas etapas fenológicas sobre los frutos o semillas. La posibilidad de realizar diagnósticos precisos dependerá siempre de la densidad y nitidez de la imagen radiográfica en particular y de comprender el fenómeno de contraste que provocan los tejidos alterados como consecuencia de la irradiación. Debemos conocer que el agua contenida en los tejidos funciona como un elemento de alta densidad que ejerce una elevada resistencia al paso de los rayos X. Es así que, debemos tener en cuenta que materias hidratadas o muy densas se comportan radiográficamente como radiopacas al no dejar atravesar la radiación, apareciendo en la placa o en la imagen radiográfica como áreas blancas. Por el contrario las materias deshidratadas o poco densas pueden ser atravesadas por los rayos X con mayor facilidad y se imprimen en la placa o imagen radiográfica apareciendo de color oscuro. Por una parte, las áreas que presentan picaduras y mordeduras de insectos, como así también aquellos tejidos infectados por micelios de hongos contienen menor cantidad de agua y se comportan como materia radiolúcida, permitiendo el pasaje de la radiación X con mayor facilidad. Por otra parte, los frutos y semillas vacíos se comportan también como áreas radiolúcidas por lo que aparecen de color oscuro. Las áreas que separan a las coberturas seminales de las semillas verdaderas o las áreas que separan las glumas de los cariopsis al tener menor densidad aparecen en las imágenes radiográficas también como áreas más oscuras. Asimismo, los huevos, larvas, pupas y ninfas de insectos localizados en el interior de frutos y semillas aparecen en la imagen radiográfica de color blanco debido a su gran contenido de agua. Las fisuras y fracturas producidas por daño mecánico como así también las galerías producidas por insectos aparecen de color oscuro en las imágenes al ser áreas vacías atravesadas fácilmente durante la irradiación.

Formación de la semilla de *Glycine max*(L.) Merrill

Figura 6.1.1

Patrón radiográfico e imagen fotográfica de una flor de soja. A. Radiografía con detalle de sépalos y pétalos distinguibles por la diferente densidad de ambos tejidos florales. B. Imagen fotográfica de la flor con sus estructuras.

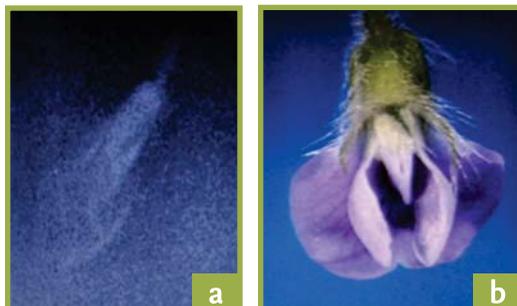


Figura 6.1.2

Patrón radiográfico e imagen fotográfica del cuajado del fruto. A. Radiografía del fruto en etapas iniciales de la formación de la vaina. B. Imagen fotográfica correspondiente al estadio.



Figura 6.1.3

Patrón radiográfico e imagen fotográfica correspondiente al estadio R4 (vaina de 2 cm de longitud). A. Radiografía de vaina con tres semillas en formación en su interior. Se resaltan los bordes de la cavidad seminal de cada semilla. La pared de la vaina aparece radiopaca como consecuencia de su alto contenido de humedad. B. Imagen fotográfica correspondiente al estadio R4.



Figura 6.1.4

Patrón radiográfico e imagen fotográfica correspondiente al estadio R5. A. Radiografía de una vaina con dos semillas en formación en su interior. 1. Detalle de la conexión de la semilla con la pared de la vaina y presencia del hilo. Se observa un área oscura sobre cotiledón de ambas semillas correspondiente a la presencia de daños por picadura de chinche. B. Imagen fotográfica correspondiente al estadio. Se observan semillas en activo crecimiento dentro de su cavidad en la vaina. La semilla superior muestra con detalle el hilo bien marcado, el funículo y daño por picadura de chinche sobre el cotiledón. En la semilla se distinguen áreas con diferente contenido de humedad.

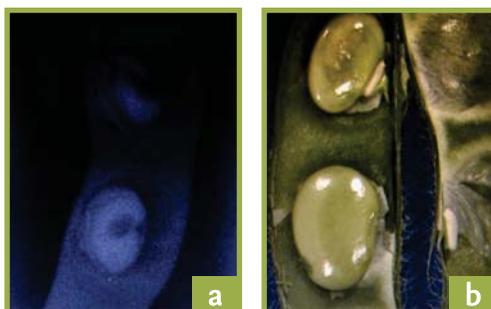


Figura 6.1.5

Patrón radiográfico e imagen fotográfica del estadio R6. A. Radiografía de vaina con tres semillas en formación en su interior. Las semillas ocupan toda la cavidad individual que les corresponde y la superficie de contacto entre ellas es mayoritariamente plana, comenzándose a vislumbrar en la semilla superior un mayor grado de avance en el estadio marcándose áreas oscuras en las áreas donde no hay contacto entre semillas. Se distingue con nitidez la separación entre la superficie de cada semilla y la pared de la vaina. La semilla superior presenta un área circular más oscura síntoma evidente de daño. B. Imagen fotográfica correspondiente al estadio R6. Se observan semillas en activo crecimiento que ocupan la totalidad de su cavidad en la vaina. La semilla inferior se encuentra con mayor contenido de humedad y de color verde. C. Semillas en pleno estadio R6, totalmente verdes y ocupando plenamente la cavidad individual que les corresponde dentro de la vaina.

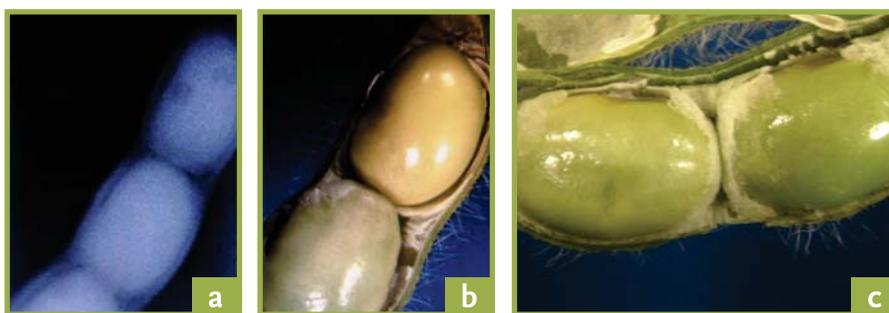


Figura 6.1.6

Patrón radiográfico e imagen fotográfica correspondientes al estadio R7. A. Radiografía de una vaina con tres semillas en el estadio de madurez fisiológica en su interior. La pared de la vaina se muestra con un contorno de gran contraste como consecuencia de su alto contenido de humedad. Se observa una nítida separación entre semillas y pared de la vaina produciéndose una fina cámara de aire de color oscuro. Se evidencia también una mínima superficie de contacto entre semillas indicada por áreas oscuras de mayor tamaño. B. Vainas con semillas en estadio de madurez fisiológica, R7. Semillas de color amarillo, ocupando mayoritariamente toda la cavidad individual en la vaina, con interrupción de la conexión con la vaina y con alto contenido de humedad.

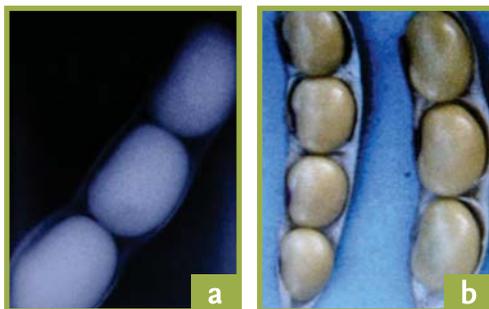


Figura 6.1.7

Patrón radiográfico e imagen fotográfica correspondientes al estadio R8. A. Radiografía de una vaina con tres semillas en el estadio de R8. La pared de la vaina se evidencia como una delgada línea blanca delimitando cada cavidad seminal y muestra un menor contraste con respecto al estadio R7 debido a que posee un menor contenido de humedad. Se observan tres semillas con forma esférica en interior de la vaina. Existe una amplia separación entre las semillas que permanecen en la cavidad individual de la vaina. Cada semilla muestra una mayor separación entre ellas y con la pared de la vaina indicada por las grandes áreas oscuras radiolúcidas que se observan. B. Imagen fotográfica de una vaina cerrada en estadio R8. C. Imagen fotográfica de una vaina abierta con dos semillas en R8.



Formación de la semilla de *Triticum aestivum* (L.)

Figura 6.2.1

Patrón radiográfico correspondiente a la formación de la espiga de trigo que se encuentra a la altura del cuello de la penúltima hoja. No se distingue el raquis zigzagante de la espiga.



Figura 6.2.2

Radiografía correspondiente al crecimiento avanzado de la espiga de trigo a la altura del cuello de la penúltima hoja. Comienza a observarse el raquis zigzagante de la espiga y la elongación de las aristas de las glumas.



Figura 6.2.3

Radiografía correspondiente al crecimiento avanzado de la espiga de trigo por encima del cuello de la penúltima hoja. Se distingue el raquis zigzagante de la espiga y la elongación de las glumas.



Figura 6.2.4

Radiografía correspondiente al crecimiento avanzado de la espiga de trigo por encima del cuello de la penúltima hoja. Se distingue el raquis zigzagueante de la espiga, los ovarios y los estilos plumosos en la cavidad interna de cada espiguilla.



Figura 6.2.5

Radiografía correspondiente al crecimiento avanzado de la espiga de trigo por encima del cuello de la penúltima hoja. Se distingue el crecimiento de los ovarios y las anteras en la cavidad interna de las espiguillas superiores.



Figura 6.2.6

Radiografía correspondiente al crecimiento avanzado de la espiga de trigo por encima del cuello de la penúltima hoja. Se distingue cinco espiguillas con crecimiento del ovario y las anteras en su interior.



Figura 6.2.7

Radiografía correspondiente al crecimiento de las semillas en un 20% en la zona central de la espiga.



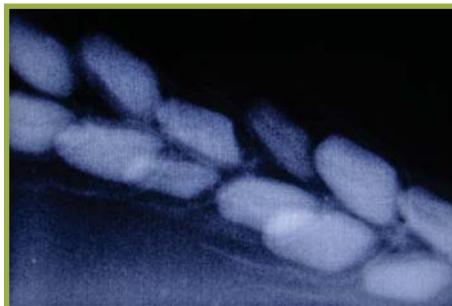
Figura 6.2.8

Patrón radiográfico correspondiente al crecimiento de las semillas en la zona central de la espiga ocupando un 80% de la longitud de la espiguilla. Se observan los granos de trigo bien marcados dentro de las espiguillas rodeadas por las glumelas y glumelas, con sus correspondientes aristas, insertos sobre el raquis y el pedicelo de la espiga. La buena definición de la radiografía permite apreciar el surco de los cariopsis de trigo. El embrión no se observa en la imagen por encontrarse en el lado opuesto al surco y en contacto estrecho con la lemma. En la parte basal de la imagen se observa una espiguilla vana.



Figura 6.2.9

Patrón radiográfico correspondiente al estadio de grano maduro. Se observa en la radiografía la forma aguzada típica del cariopsis del trigo. En la parte central de la espiga se observa la presencia de dos cariopsis deformados.



La incorporación de la técnica de Rayos X a las Reglas Internacionales de Análisis de Semillas significó un importante reconocimiento de las innegables ventajas de la radiología aplicada al diagnóstico de calidad de las simientes.

No obstante ello, la realización práctica de la citada técnica no contó desde un comienzo con la difusión práctica correspondiente como consecuencia de la falta de equipamientos específicos disponibles para tal fin. Ello no impidió, sin embargo, que diferentes investigadores buscarán la forma más efectiva de ir adquiriendo experiencias en los métodos y materiales empleados en la radiología humana, como así también de las exigencias de seguridad en el empleo rutinario de la técnica.

En la actualidad, podemos decir que se ha incursionado con éxito en esta práctica de análisis, lo que ha permitido elaborar numerosos patrones de diagnóstico de gran utilidad para el entendimiento preciso de diversos factores que afectan la calidad de los lotes de semillas de diferentes especies.

En forma simultánea a la adquisición de conocimientos, se han desarrollado equipos de laboratorio que hacen posible la práctica de la Prueba de Rayos X y le dan real inserción en el trabajo de rutina de un Laboratorio de Análisis de Semillas.



Ministerio de Agroindustria
Presidencia de la Nación