

## RAYOS X: UNA HERRAMIENTA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ALGUNAS ESTRUCTURAS ÓSEAS EN CACHAMA BLANCA, *PIARACTUS BRACHYPOMUS* (CUVIER, 1818)

X-RAYS: A TOOL FOR QUANTIFYING SOME BONES STRUCTURES  
IN CACHAMA, *PIARACTUS BRACHYPOMUS* (CUVIER, 1818)

Martha Mesa-Granda<sup>1, 4</sup>, Mario Cerón-Muñoz<sup>2, 5</sup>, Martha Olivera<sup>2, 3, 6</sup>, Mónica Botero-Aguirre<sup>2, 7</sup>

### Resumen

La cachama blanca *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818), es una especie importante en la piscicultura colombiana. Presenta buenos índices productivos, gran rusticidad y excelente palatabilidad. Sin embargo, posee alto número de espinas intramusculares (**EIM**) que limitan su consumo, haciendo necesario la disminución de esta característica mediante selección artificial. Se presenta una técnica radiográfica que permite cuantificar algunas estructuras óseas, entre ellas la EIM sin sacrificar los animales elegidos como parentales en un futuro programa de mejoramiento genético de características óseas. Se comparó la cuantificación de ocho variables óseas, obtenida por Rayos X (**Rx**; 44Kv y 4 mAs) y por disección (método post-cocción) en 33 especímenes de esta especie de 1.341 ± 253 g, provenientes de la Estación Piscícola San José del Nus (Universidad de Antioquia), en San Roque (Antioquia), Colombia. Los resultados obtenidos entre dos métodos de observación para cada variable cuantificada fue altamente significativa ( $p < 0,001$ ) con coeficientes de correlación de 0,81, 1,00 y 0,93 para el número EIM, número de costillas (**C**) y número de vértebras (**V**), respectivamente. La evaluación de magnificación mostró que huesos con forma curvilínea como costillas, apófisis dorsales (**APOD**) y apófisis ventrales (**APOV**), tuvieron mayor diferencia entre los métodos. Se concluye que la técnica de Rx es una herramienta eficiente para cuantificación de EIM y otras estructuras óseas en peces, que permitirá ser utilizada en la selección de individuos para un programa de mejoramiento genético de índole esquelético.

*Palabras clave:* diagnosis ósea, magnificación, morfometría, radiografía en peces.

### Abstract

Cachama blanca *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818), is an important species in Colombian fish culture. It has good production rates, a high rusticity, and an excellent palatability. However, this species has a large number of intramuscular bones (**IMB**) which reduces its use as food. We present radiographic technique for allowing quantification of some bone structures and IMB without killing the animals selected as parentals in a future program for genetic improvement by reducing some osseous characteristics. The quantification of eight osseous variables were obtained by X rays method (44 Kv and 4 mAs) and dissection (post cooking method) on 33 specimens of this species from 1.341 ± 253 g, obtained from the fish culture station of the University of Antioquia in San Roque (Antioquia), Colombia. Results obtained from two observing methods for each quantified variable were highly significant ( $p < 0.001$ ) with correlation value of 0.81, 1.00, and 0.93 for IMB, ribs number (**R**), and the number of vertebrae (**V**), respectively. Magnification evaluation showed that some bones with a curvaceous form like ribs, dorsal apophysis (**DAPO**), and ventral apophysis (**VAPO**) had differences between observing methods. X rays technique is an efficient tool for counting IMB and some other fish osseous structures and it may be used on fish selection in a genetic improvement program of osseous characteristics.

*Key words:* magnification, morphometric, osseous diagnosis, X-rays in fish.

Recibido: mayo de 2005; aceptado: junio de 2006.

<sup>1</sup> Grupo **GICAUNAD**. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Medellín (Antioquia), Colombia.

<sup>2</sup> Grupo **GRICA**. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia. Medellín (Antioquia), Colombia.

<sup>3</sup> Grupo de Biotecnología y Fisiología de la Reproducción. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia. Medellín (Antioquia), Colombia.

Correos electrónicos: <sup>4</sup> <marthamesa@agronica.udea.edu.co>; <sup>5</sup> <mceronm@agronica.udea.edu.co>; <sup>6</sup> <molivera@catios.udea.edu.co>; <sup>7</sup> <mobotero@agronica.udea.edu.co>.

## INTRODUCCIÓN

La cachama blanca *Piaractus brachypomus* Cuvier (1818), es una especie nativa de la Amazonía y la Orinoquía (Díaz y López, 1995; Orozco, 1990). Su tolerancia a condiciones ambientales desfavorables, sus buenos parámetros productivos y su palatabilidad la hacen atractiva para la acuicultura. Sin embargo, la especie presenta un gran número de espinas intramusculares (**EIM**) que limitan su consumo.

La radiografía, es una herramienta posible de utilizar para la investigación de la distribución y orientación de tejidos mineralizados, tal y como aquellos que conforman el sistema óseo de los peces, pues estos se caracterizan por poseer cristales de hidroxapatita con proporciones en el rango de 1,0-1,4 Ca/P (Bigi et al., 1998; Roy et al., 2001), lo cual los hace radiopacos y por lo tanto observables por medio de los rayos X (**Rx**) (Aquino et al., 2001; Landis y Geraudie, 1990).

Los Rx han sido utilizados en estudios de verificación de radiopacidad de los huesos de peces (Ell y Parker, 1992); como herramienta diagnóstica de accidentes de ingestión de espinas de pescado en humanos (Kumar et al., 2003); en estudios de calcificación de tejidos del pez *Polipterus* sp. (Actinopterygii) de acuerdo a la edad (Meinke et al., 1979). Además, han servido para convalidar resultados de sustancias marcadoras como osteocalcin y su correlación con el contenido mineral de costillas de *Cyprinus carpio* (Roy et al., 2001); en la medición de la evacuación gástrica en *Lucioperca lucioperca* y en la evaluación de periodos de digestión en intestino de ciprínidos (Hepher, 1993, específicamente pp. 252-258).

Este estudio pretendió validar la técnica radiográfica (Rx) como herramienta de cuantificación de EIM y otras estructuras óseas en cachama blanca (*P. brachypomus*), determinando su capacidad de diagnóstico, para ser utilizada en programas de mejoramiento genético que permitan disminuir el número de EIM.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La conformación ósea y número de EIM de 33 especímenes de esta especie de un año de edad, con peso promedio  $1.341 \pm 253,6$  g (en un rango de 802 a 1.807 g), fue definida individualmente mediante la técnica radiográfica (Rx, 44 Kv y 4 mAs), especificaciones determinadas previo ensayo-error. Para tomar la radiografía se utilizó un equipo portátil (Poli-móvil Siemens III, colimador Kv 420 mAs 200, punto focal -1,5 mm). Posteriormente, los animales fueron sacrificados, previa insensibilización con choque de frío y se les realizó disección post-cocción y las características óseas fueron nuevamente cuantificadas. Los resultados obtenidos en cada variable a partir de la disección y de la radiografía del lado derecho, fueron relacionados utilizando correlaciones de Spearman para variables discretas tales como número de vértebras (**V**), número de costillas derechas (**CD**), número de radios aleta dorsal (**RAD**); número de radios de aleta anal (**RAA**), número de apófisis dorsales (**APOD**), número de apófisis ventrales (**APOV**), número de espinas intramusculares dorsales derechas (**EIMDD**) y número de espinas intramusculares ventrales derechas (**EIMVD**). La magnificación —entendida como el porcentaje de aumento o disminución—, de la característica en Rx comparada con la disección, se analizó en variables continuas como longitud de apófisis dorsales (**LAPOD**), longitud de apófisis ventrales (**LAPOV**), longitud de costillas derechas (**LCD**), longitud de base aleta dorsal (**LBAD**), longitud de base aleta anal (**LBAA**), longitud de columna vertebral (**LCV**) y ancho del cuerpo (**ACPO**), aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Magnificación} = \frac{\text{Longitud media disección} - \text{Longitud media Rx}}{\text{Longitud media disección}} \times 100$$

Se compararon los promedios de las longitudes (método radiográfico-método poscocción) mediante una prueba t Student. A partir de regresiones entre los resultados obtenidos de acuerdo con el método, se buscaron ecuaciones predictoras para

estimar el tamaño real de la estructura ósea. Todos los procedimientos se realizaron bajo el *Software* SAS v.8.

## RESULTADOS

Por disección se determinó un mínimo y máximo de 68 y 80 EIM, respectivamente, distribuidas en

mayor proporción en la musculatura epiaxial en un rango entre 23 y 29 EIM del lado derecho, teniendo que la mayor proporción de la población (31,25%) presentó 27 EIM dorsales derechas. Las EIM ventrales derechas se observaron incrustadas en la musculatura hipoaxial en un rango entre 9 y 13, observándose que la mayor proporción de la población (31,25%) presentó 11 EIMV (tabla 1).

**Tabla 1.** Distribución de espina intramuscular en musculatura epiaxial y hipoaxial derecha de *P. brachypomus* obtenidas por disección (**EIMDD** = espina intramuscular dorsal derecha; **EIMVD** = espina intramuscular ventral derecha; **EIMT** = espina intramuscular total)

Variable	Media $\pm$ SD	Mediana	Moda	Mínimo	Máximo
<b>EIMDD</b>	27,16 $\pm$ 1,05	27	27	23,00	29,00
<b>EIMVD</b>	10,50 $\pm$ 0,88	10	11	9,00	13,00
<b>EIMT</b>	75,38 $\pm$ 3,11	74	74	68,00	80,00

Por radiografía se determinó un total de EIM del lado derecho muy similar al encontrado por disección ( $p < 0,001$ ); las otras variables merísticas presentaron comportamiento similar entre los métodos ( $p > 0,05$ ).

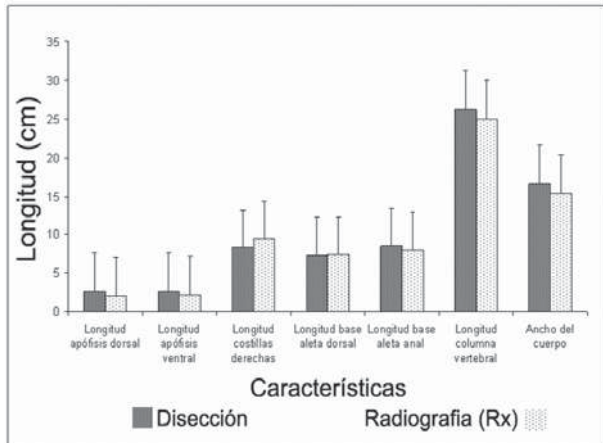
El coeficiente de correlación fue altamente significativo ( $p < 0,001$ ), entre las dos técnicas. Sin embargo, la intensidad en la relación fue diferente entre las variables analizadas. Las variables con mayor coeficiente de correlación fueron número de vértebras ( $r = 0,93$ ) y número de costillas ( $r = 1,0$ ), seguido por EIMT ( $r = 0,81$ ) (tabla 2).

**Tabla 2.** Relación entre las variables óseas merísticas de *P. brachypomus*, determinadas por disección y por rayos X (Rx)

Variable	Código	r	p
N.º de vértebras	<b>V</b>	0,93	< 0,0001
N.º de costillas	<b>C</b>	1,00	< 0,0001
N.º de radios aleta dorsal	<b>RAD</b>	0,60	0,0002
N.º de radios aleta anal	<b>RAA</b>	0,75	< 0,0001
N.º de apófisis dorsales	<b>APOD</b>	0,74	< 0,0001
N.º de apófisis ventrales	<b>APOV</b>	0,84	< 0,0001
N.º de EIM dorsal derecho	<b>EIMDD</b>	0,81	< 0,0001
N.º de EIM ventral derecho	<b>EIMVD</b>	0,81	< 0,0001

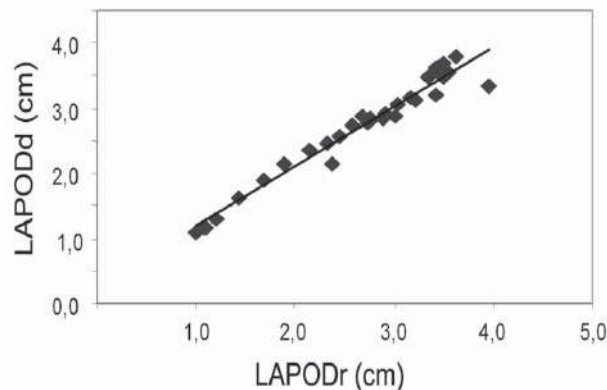
La longitud promedio de algunas estructuras óseas (cm) observadas por disección y Rx, mostraron diferencia altamente significativa ( $p < 0,001$ ) (figura 1). Los resultados de magnificación arrojaron una

disminución en los valores promedios de LAPOD (-22,7%), LAPOV (-18,46%), LACPO (-7,33%), LBAA (-5,1%) y LCV (-5,1%), mientras LCD se incrementó (14,6%).

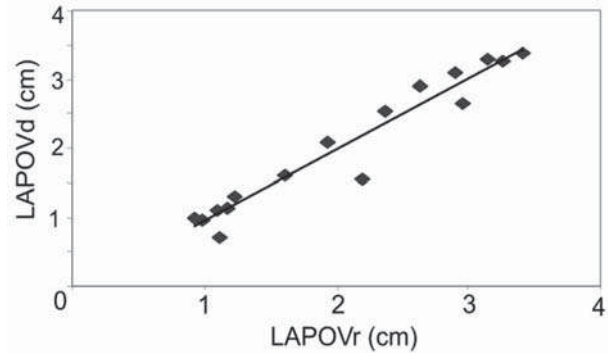


**Figura 1.** Comparación de las longitudes promedio (media  $\pm$  sd) de variables óseas (cm) de *P. brachypomus*, determinadas por disección y Rx

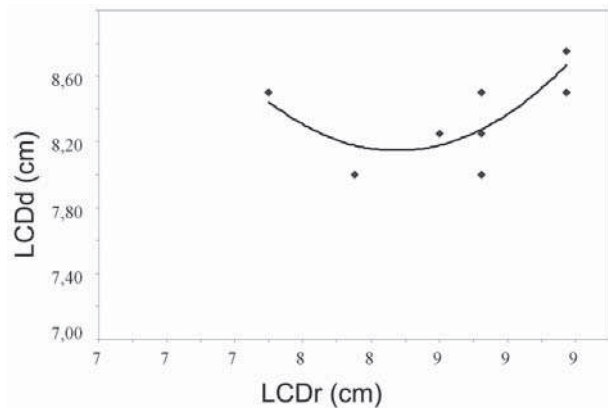
Los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) obtenidos para cada variable de acuerdo con el método de cuantificación fueron importantes. Para LAPOD se obtuvo la ecuación  $y = 0,9143x + 0,2752$  ( $R^2 = 0,96$ ) y para LAPOV una ecuación de  $y = 1,0398x - 0,1017$  ( $R^2 = 0,9413$ ) (figuras 2 y 3). La variable LCD, mostró una tendencia polinomial, en donde la ecuación predictiva fue  $y = 0,5245x^2 - 9,1807x + 48,316$  ( $R^2 = 0,7186$ ) (figura 4).



**Figura 2.** Regresión lineal entre longitud apófisis dorsales, obtenidas por disección y Rx de *P. brachypomus* (LAPODd = longitud apófisis dorsal disección; LAPODr = longitud apófisis radiografía)



**Figura 3.** Regresión lineal entre longitud apófisis ventrales, obtenidas por disección y Rx de *P. brachypomus* (LAPOVd = longitud apófisis ventral disección; LAPOVr = longitud apófisis ventral radiografía)



**Figura 4.** Regresión polinomial entre longitud Costillas derechas, obtenidas por disección y Rx de *P. brachypomus* (LCDd = longitud costillas derechas disección; LCDr = longitud costillas derechas radiografía)

Para las demás variables LACPO, LBAA y LCV no se logró obtener una ecuación predictora.

## DISCUSIÓN

La mayor correlación entre técnicas (disección y Rx) se obtuvo para huesos como CD y V que hacen parte del esqueleto axial (Bird y Mabee, 2003), los cuales en los peces tienen su primer desarrollo embrionario haciéndolos estructuras altamente calcificadas como se ha demostrado en *Salmo salar*, los que utilizan el calcio almacenado en las

vértebras para remodelación de huesos craneales en la maduración sexual (Kacem et al., 2000); los cuales en el momento de ser valorados mediante radiografía, presentaron mayor densidad y mayor mineralización ósea, que depende del nivel de hidroxapatita fijado (Meinke et al., 1979), lo que permitió mayor poder de penetración del haz de luz radiográfico. El tener una imagen radiográfica de buena calidad depende de la radiación que absorben los cuerpos (Pedrosa y Casanova, 1997), por eso huesos con mayor densidad como éstos permitieron observar una relación mayor entre técnicas y hacer de la radiografía una técnica eficiente.

La EIM presentó una correlación menor (0,81) que las anteriores; posiblemente porque son estructuras que no han adquirido su mineralización, pues la población evaluada está en crecimiento (1 año) disminuyendo la densidad ósea; además la distribución de la EIM entre la musculatura de mayor tamaño (hipoaxial y epiaxial), la hace una estructura ósea con mayor espesor para ser atravesado por el haz de luz, desmejorando la calidad de la radiografía (Pedrosa y Casanova, 1997). Aún así, puede considerarse que los resultados son aplicables en la utilización de la radiografía como una herramienta de cuantificación de EIM y de otras estructuras esqueléticas.

La variación en longitudes (cm) puede explicarse por la dispersión de los rayos en la radiografía, o magnificación desigual entre diferentes partes del mismo tejido, debida a la diferente distancia focal de la película. Los Rx son divergentes, por lo tanto cuanto más cerca esté el objeto del foco a radiografiar, mayor será su tamaño en la película radiográfica y mayor la magnificación (Hausmann, 1997). En este trabajo, LAPOD y LAPOV mostraron mayor pérdida de longitud, o sea estuvieron más alejadas del foco radiográfico, pues son estructuras esqueléticas recubiertas por la musculatura más desarrollada y el haz de luz requiere atravesar mayor espesor. A diferencia, las LCD mostraron mayor ganancia de longitud, o sea estuvieron más cerca del foco, pues la zona en la cual se distribuyen

presenta una musculatura superficial que no interfiere con el haz de luz radiográfico. En general, los huesos curvilíneos fueron los que mayor pérdida o ganancia de longitud mostraron entre los métodos comparados, pero también fueron en los cuales se pudo obtener una ecuación predictora que permite obtener información morfológica ósea a partir de la observación radiográfica.

El mejoramiento genético aplica la selección masal como estrategia para elegir los mejores reproductores que participarían en el programa (Falconer y Mackay, 1996); la técnica radiográfica en peces, es una herramienta válida para esta selección cuando se trata de buscar la disminución de EIM, pues permite cuantificarlas sin necesidad de sacrificar los animales. Existen otros métodos de selección de parentales, como la utilización de caracteres indirectos o por hermanos medios que requerirían el sacrificio de los animales y son métodos que tienen cierto margen de error en la selección (Cardelino y Rovira, 1987). Aunque en este estudio se obtuvo un nivel de relación de 0,81 entre el número de EIM medida por disección vs. Rx, este método o técnica es una buena alternativa para describir la variabilidad genética de la característica en diferentes poblaciones, como también para seleccionar los reproductores de una explotación de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) antes de que obtengan su madurez sexual a los 3,5 años, intervalo bastante largo como para esperar a tomar la decisión de utilizar el individuo como reproductor o no (Orozco, 1990).

Esta herramienta permitirá hacer un acercamiento a la descripción fenotípica esquelética en cachama blanca y avanzar en el conocimiento taxonómico y de parámetros genéticos en la familia y otras especies de peces.

Con base en estos resultados se recomienda experimentar la técnica, con diferentes grados de energía incidente dependiendo de la estructura que se quiera observar, pues las estructuras óseas tienen diferente nivel de radiopacidad que influye en la calidad de la radiografía y en su eficiencia diagnóstica.

## CONCLUSIONES

La radiografía como herramienta de cuantificación de EIM muestra una relación entre técnicas (disecación y Rx) de 81%, al utilizar 44 kv. y 4,0 mAs; lo cual la hace una herramienta interesante para tomar decisiones al seleccionar individuos en programas de mejoramiento genético para disminuir esta característica, evitando el sacrificio de los animales.

El porcentaje de error para EIM (19%) se atribuye a la calidad de la radiografía debido a la dispersión de los Rx que dependió del espesor muscular en el cual se incrusta.

La mayor relación entre técnicas se obtuvo para costillas y vértebras por ser los huesos que mayor

densidad presentan; al igual que para magnificación la longitud de apófisis dorsales, apófisis ventrales y la longitud de las costillas fueron las que mayor variabilidad presentaron.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a: John Jairo Arboleda Céspedes (Director Regionalización, Universidad de Antioquia); Jaime Uribe Valencia (Coordinador técnico, Estación Piscícola San José del Nús); Jairo Rivera Posada (médico veterinario y radiólogo, Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia); Corporación Biogénesis y; al grupo de Biotecnología y Fisiología de la Reproducción (Universidad de Antioquia).

## REFERENCIAS

- Aquino AE, Schaefer SA, Miquelarena AM.** 2001. A new species of *Hisonotus* (Siluriformes, Loricariidae) of the Upper Rýo Uruguay Basin. *American Museum Novitates*, 3333:1-12.
- Bigi A, Cacchioli A, Fichera AM, Gabbi C, Koch MH, Ragionieri L, Ripamonti A, Roveri N.** 1998. X-ray diffraction and polarizing optical microscopy investigation of the structural organization of rabbit tibia. *Journal of Biomedical Materials Research*, 41(2):289-295.
- Bird NC, Mabee PM.** 2003. The developmental morphology of the axial skeleton of the zebrafish, *Danio rerio* (Ostariophysi: Cyprinidae). *Developmental Dynamics*, 228:337-357.
- Cardelino R, Rovira J.** 1987. *Mejoramiento genético animal*. Ed. Hemisferio Sur. Montevideo, Uruguay.
- Custidiano E, Ricciardi EJ, Custidiano-Secchi AE.** 2000. *Diseño y desarrollo de un sistema detector de radiaciones ionizantes*. Departamento de Física, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas, Universidad Nacional del Nordeste (UNNE). Chaco-Corrientes, Argentina.
- Díaz F, R. López.** 1993. El cultivo de la cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) y de la cachama negra (*Colossoma macropomum*). Pp. 207-219. En: Rodríguez H, Polo G, Salazar G (eds.). *Fundamentos de la acuicultura continental*. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura (INPA). Santafé de Bogotá, Colombia.
- Eli SR, Parker AJ.** The radio-opacity of fishbones. *Clinical Otolaryngology and Allied Sciences*, 17(6):514-516.
- Falconer DS, Mackay TFC.** 1996. *Introduction to quantitative genetics*. Cuarta edición. Addison Wesley Longman. Essex, Reino Unido.
- Hausmann E, Allen K.** 1997. Reproducibility of bone height measurements made on serial radiographs. *Journal of Periodontology*, 68(9):839-841
- Hepher B.** 1993. *Nutrición de peces comerciales en estanques*. Editorial Limusa. México.
- Kacem A, Gustafsson S, Meunier FJ.** 2000. Demineralization of the vertebral skeleton in Atlantic salmon *Salmo salar* L. during spawning migration. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 125(4):479-484.

- Kumar M, Joseph G, Kumar S, Clayton M.** 2003. Fish bone as a foreign body. *Journal of Laryngology and Otology*, 117(7):568-569.
- Landis WJ, Geraudie J.** 1990. Organization and development of the mineral phase during early ontogenesis of the bony fin rays of the trout *Oncorhynchus mykiss*. *Anatomical Record*, 228(4):383-391.
- Meinke DK, Skinner HC, Thomson KS.** 1979. X-ray diffraction of the calcified tissues in *Polypterus*. *Calcified Tissue International*, 28(1):37-42.
- Orozco JJ.** 1990. *Estudio de crecimiento y de producción de cachama negra (Colossoma macropomum) y la cachama negra (Colossoma bidens) a densidades altas en tanques y jaulas flotantes*. Informe CERER-U. de Lieje, Bélgica.
- Pedrosa CS, Casanova R.** 1997. *Diagnóstico por imagen: tratado de radiología clínica*. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, España.
- Roy ME, Nishimoto SK, Rho JY, Bhattacharya SK, Lin JS, Pharr GM.** 2001. Correlations between osteocalcin content, degree of mineralization, and mechanical properties of *C. carpio* rib bone. *Journal of Biomedical Materials Research Journal of Biomedical Materials Research*, 54(4):547-553.

