



# **UNIVERSIDAD DE SONORA**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos**

**Programa de Maestría en Ciencias y Tecnología de**

**Alimentos**

**Especialidad en Conservación y Procesamiento de Productos  
Marinos**

**“Crecimiento, Supervivencia y Vida de Anaquel en Hielo del  
Camarón Blanco (*Litopenaeus vannamei*) Alimentado con  
Dietas Contaminadas con Fumonisina B1”**

## **TESIS**

**Que para obtener el Grado de:**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**Presenta:**

**Miriam Hiesu García Morales**

**Hermosillo, Sonora**

**Diciembre del 2007**

# Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

## DEL AUTOR

Este trabajo se presenta como uno de los requisitos parciales para la obtención del Grado de Maestro en Ciencias y Tecnología de Alimentos con Especialidad en Conservación y Procesamiento de Productos Marinos, de la Universidad de Sonora.

Se deposita en la Biblioteca del Departamento de Posgrado, para ponerlo a disposición de los interesados. Se puede obtener un permiso para reproducir y/o referirse a este manuscrito, en forma parcial o total a través del Jefe del Departamento, cuando se considere que dicho trabajo apoye el avance académico.

En cualquier situación, se debe obtener permiso directamente del autor.

## ATENTAMENTE



Miriam Hiesu García Morales

## APROBACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS



Dra. Josafat Marina Ezquerria Brauer

Diciembre 07, 2007

Fecha

## DEDICATORIA

A **Dios...** Por darme la fuerza necesaria para terminar una fase más en mi vida.

A mis **Padres...** Quienes me apoyan y dan ánimos incondicionalmente. Siempre están al pendiente de mí y soportan todas mis locuras jejeje... Los quiero mucho...!

**Patty y Janny**, mis hermanas, ustedes siempre han sido una parte muy importante en mi vida. Por que siempre puedo contar con ustedes, ya sea para reír o para llorar...

**Fátima y Miguel Ángel**, cuates tremendos... ustedes siempre serán mi inspiración y por ustedes siempre querré llegar más lejos, puesto que algún día ustedes serán mi responsabilidad.

**Valeria y Luisito**, mis sobrinos, siempre serán la luz de mi vida. Los quiero mucho!!

Dicen por ahí que la **familia** es la base fundamental de toda sociedad y es lo que nos define como personas. Mi familia en verdad le ha hecho honor a esa afirmación. A mis **abuelos, tías y primos** por darme su confianza sin condiciones.

**Alejandra, Betty, Consuelo, Lilian, Paola, Zulema**, mis amigas, por todos los momentos divertidos que pasamos juntas, y los no tan divertidos también... y por todo lo que nos falta por hacer. Por que siempre hemos sido cómplices, además están dispuestas a ayudarme en todo momento.

No pueden faltar mis amigos en Guaymas, siempre es mejor calidad que cantidad!

*Hiessu García Morales*

## **AGRADECIMIENTOS**

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** por la beca otorgada en el transcurso de la maestría.

A la **Universidad de Sonora** y al **Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos** (DIPA), ya que entre sus paredes me fui formando académicamente y también fui creciendo como persona.

La fase experimental del presente estudio, incluyendo la obtención de organismos, fase de pre-cría y cultivo experimental, fue patrocinada por la empresa **LABORATORIO AVI-MEX S.A. DE C.V.**, a quien agradecemos profundamente su participación. Dicho estudio se realizó bajo convenio de colaboración entre la empresa y la Universidad de Sonora mediante el proyecto No. DIACE0604V, registrado ante la Comisión de Evaluación y Seguimiento de Proyectos Académicos de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad de Sonora.

**Dra. Marina Ezquerro**, usted no solo me transmitió su conocimiento, también fue una amiga que siempre estuvo dispuesta a ayudarme, una madre que me regañó en los momentos que lo necesite... Por eso le agradezco muchísimo todo su apoyo y dedicación.

A mi comité de tesis, **Dr. Mario Cortez Rocha**, **Dr. Armando Burgos Hernández** y **Dr. Martín Pérez**, por su aporte a mi trabajo, así como por sus valiosas recomendaciones... Muchas Gracias!!

Al **Dr. José Luis Cárdenas**, por todo el apoyo brindado durante mi estancia en el DIPA, nada hubiera sido lo mismo sin usted!!

A la **M.C. Violeta Parra** por las gestiones realizadas para poder hacer mi estancia en Canadá.

A la **Dra. Mayra González** y a todos aquellos que laboran en la Unidad Experimental Kino del DICTUS por su ayuda durante la realización del bioensayo.

A **Coty** por toda su ayuda en cuanto a trámites se refiere, muchas gracias por siempre estar dispuesta a ayudarme con una sonrisa en la cara.

**Betty**, te ganaste un renglón extra solo por el hecho de soportarme estos últimos años, resultaste una excelente compañera, quien se lo iba a imaginar... no? Jajaja. Ya en serio muchas gracias por tu amistad.

**Zulema**, no tengo palabras para expresar lo mucho que te agradezco tu apoyo, compañía, consejos, tiempo, es decir, por tu amistad. Muchas Gracias!!

A mi amigo de sangre naranja, **Willie**, quien siempre ha demostrado ser un excelente amigo, estando dispuesto a ayudarme en todo momento.

**Javercito, Mario Hiram**, ustedes hicieron que los momentos en la escuela fueran mas amenos.

A todas aquellas personas que influyeron de una u otra manera en mi formación académica o durante el desarrollo de este trabajo. Y a aquellos que están presentes en mi vida dándome ánimos. **¡Muchas Gracias por todo!**

*Hiessu García Morales*

## CONTENIDO

	Página
Lista de Tablas .....	
Lista de Figuras .....	
Resumen .....	
Introducción .....	
Objetivos .....	
Antecedentes .....	1
Aspectos Generales de la Acuicultura .....	1
Camaronicultura .....	2
Generalidades del Camarón .....	3
Anatomía y Morfología del Camarón .....	4
Sistema Digestivo del Camarón .....	5
Proteasas .....	8
Carbohidrasas y Lipasas .....	8
Requerimientos Nutricionales .....	9
Proteínas .....	9
Carbohidratos .....	10
Lípidos .....	10
Vitaminas y Minerales .....	11
Alimento Balanceado para Camarón .....	13
Contaminación por Hongos .....	14

	Página
Micotoxinas .....	15
Fumonisinias .....	16
Fumonisina B1 .....	18
Características Físicas y Químicas .....	18
Estructura Química .....	19
Modo de Acción .....	19
Efectos Toxicológicos de la FB1 .....	21
Manejo Post-cosecha del Camarón .....	27
Almacenamiento en Hielo .....	27
Efecto de la Dieta sobre la Calidad Post-cosecha del Camarón .....	28
Materiales y Métodos .....	29
Bioensayo .....	29
Tratamientos Experimentales .....	29
Organismos Experimentales .....	30
Sistema Experimental .....	31
Evaluación del Desempeño Biológico .....	32
Almacenamiento en Hielo .....	32
Determinaciones Analíticas .....	32



	Página
Determinación de la Actividad Enzimática en Hepatopáncreas .....	33
Obtención del Extracto Enzimático .....	33
Determinación de la Actividad Proteolítica Total en Hepatopáncreas .....	33
Actividad de Tripsina en Hepatopáncreas .....	34
Análisis en el Músculo de Camarón .....	34
Extracción de Proteína .....	34
Electroforesis en Gel SDS-Poliacrilamida .....	34
Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB) .....	35
Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) .....	36
Firmeza .....	37
Análisis Estadístico .....	37
Resultados y Discusión .....	39
Bioensayo .....	39
Tratamientos Experimentales .....	39
Control de Variables Fisicoquímicas y Desechos Nitrogenados .....	39
Evaluación del Desempeño Biológico .....	40
Análisis en el Músculo de Camarón Durante el Bioensayo .....	45
Concentración de Proteína en el Músculo .....	47

	Página
Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB) .....	49
Electroforesis en Gel SDS-Poliacrilamida .....	51
Firmeza .....	53
Determinación de la Actividad Enzimática en Hepatopáncreas .....	61
Almacenamiento en Hielo .....	64
Análisis en el Músculo de Camarón Durante el Almacenamiento en Hielo .....	64
Concentración de Proteína en el músculo .....	64
Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB) .....	65
Electroforesis en Gel SDS-Poliacrilamida .....	67
Firmeza .....	71
Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) .....	74
Conclusiones .....	82
Recomendaciones .....	83
Referencias .....	84

## LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1.	Temperatura máxima y entalpías de desnaturalización de las proteínas del músculo de camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) alimentado con dietas contaminadas con fumonisina B1 durante el bioensayo .....	52
2.	Actividad enzimática del hepatopáncreas del camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) alimentado con dietas contaminadas con fumonisina B1.....	63
3.	Temperatura máxima y entalpías de desnaturalización de las proteínas del músculo de camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) alimentado con dietas contaminadas con fumonisina B1 durante el almacenamiento en hielo.....	68

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Morfología externa del camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ).....	5
2. Anatomía del camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ).....	7
3. Estructura de la fumonisina B1.....	20
4. Interrupción de la biosíntesis <i>de novo</i> de esfingolípidos en células animales.....	22
5. Peso del camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) al inicio del bioensayo.....	41
6. Peso del camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) al final del bioensayo.....	43
7. Ganancia en peso del camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) alimentado con dietas contaminadas con fumonisina B1.....	44
8. Supervivencia del camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) alimentado con dietas contaminadas con fumonisina B1.....	46
9. Efecto de la fumonisina B1 sobre las proteínas del músculo de camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ).....	48
10. Densitograma de las proteínas del camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) al inicio del bioensayo.....	54
11. Densitogramas de las proteínas del camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) alimentado con dietas conteniendo diferentes dosis de fumonisina B1 a los 15 días del bioensayo...	55
12. Densitogramas de las proteínas del camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) alimentado con dietas conteniendo diferentes dosis de fumonisina B1 a los 15 días del bioensayo...	56

	Página
13. Densitogramas de las proteínas del camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) alimentado con dietas conteniendo diferentes dosis de fumonisina B1 a los 30 días del bioensayo...	57
14. Densitogramas de las proteínas del camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) alimentado con dietas conteniendo diferentes dosis de fumonisina B1 a los 30 días del bioensayo...	58
15. Resistencia al corte del camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) alimentado con dietas contaminadas con diferentes dosis de fumonisina B1.....	60
16. Efecto de la fumonisina B1 sobre la concentración de proteína del músculo de camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ).....	66
17. Densitogramas de las proteínas del camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) alimentado con dietas conteniendo diferentes dosis de fumonisina B1 al inicio del almacenamiento en hielo.....	69
18. Densitogramas de las proteínas del camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) alimentado con dietas conteniendo diferentes dosis de fumonisina B1 al inicio del almacenamiento en hielo.....	70
19. Densitogramas de las proteínas del camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) alimentado con dietas conteniendo diferentes dosis de fumonisina B1 después de 12 días de almacenamiento en hielo.....	72
20. Densitogramas de las proteínas del camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) alimentado con dietas conteniendo diferentes dosis de fumonisina B1 después de 12 días de almacenamiento en hielo.....	73
21. Resistencia al corte del camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) alimentado con dietas contaminadas con fumonisina B1 durante el almacenamiento en hielo .....	75

	Página
22. Micrografía del músculo de camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) alimentado a) 0 µg/g de fumonisina B1 y b) 0.2 µg/g de fumonisina B1 al inicio del almacenamiento en hielo.....	78
23. Micrografía del músculo de camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) alimentado a) 0.6 µg/g de fumonisina B1 y b) 2 µg/g de fumonisina B1 al inicio del almacenamiento en hielo.....	79
24. Micrografía del músculo de camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) alimentado a) 0 ppm de fumonisina B1 y b) 0.2 µg/g de fumonisina B1 después de 12 días de almacenamiento en hielo.....	80
25. Micrografía del músculo de camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) alimentado a) 0.6 µg/g de fumonisina B1 y b) 2 µg/g de fumonisina B1 después de 12 días de almacenamiento en hielo.....	81

## RESUMEN

Se evaluó el efecto de la fumonisina B1 (FB1) sobre el crecimiento y supervivencia del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado, así como su efecto sobre el músculo del organismo durante el almacenamiento en hielo.

Los resultados obtenidos en cuanto a crecimiento, indican que los camarones alimentados con 0.6 y 2  $\mu\text{g/g}$  de FB1 tuvieron un menor crecimiento que los alimentados con dietas que no la contenían. Sin embargo, no se encontró diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) en la supervivencia de los camarones alimentados con diferentes concentraciones de FB1.

No se detectó que la FB1 alterara la actividad de la enzima tripsina ni de las proteasas totales.

En cuanto a la concentración de proteína en el músculo se encontró que ésta aumentó significativamente ( $p < 0.05$ ) a los 15 días de bioensayo, el cual fue mayor en los camarones alimentados con 0.6 y 2  $\mu\text{g/g}$  de FB1, encontrándose al final del bioensayo que estos valores se vieron disminuidos, manteniéndose constante la concentración de proteína del camarón alimentado con dieta que no contenía FB1.

Se detectaron 3 picos endotérmicos, tanto en el bioensayo como en el almacenamiento en hielo, encontrándose diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre dosis de FB1 en la dieta, y en la entalpía del pico de la miosina durante el bioensayo. Durante el almacenamiento no se encontró diferencia significativa entre tratamientos, pero sí entre tiempos de almacenamiento.

No se encontraron cambios en el patrón electrofórico de las proteínas durante el bioensayo ni durante el almacenamiento en hielo. Sin embargo, se observaron cambios en la intensidad de la banda correspondiente a la miosina, durante el bioensayo. Durante el almacenamiento en hielo, los cambios observados fueron aparentemente debido al efecto del almacenamiento y no a la FB1. En cuanto a los resultados de firmeza, no se observó que hubiera un efecto de la adición de la FB1 en la dieta del camarón sobre la resistencia al corte durante el bioensayo o almacenamiento en hielo.

En las micrografías obtenidas del músculo durante el almacenamiento en hielo por 12 días, se observó que la fibra muscular estaba ordenada y estructurada al inicio del almacenamiento, cuando el camarón fue expuesto a 0, 0.2 y 0.6  $\mu\text{g/g}$  de FB1; sin embargo, con 2  $\mu\text{g/g}$  se empezaron a notar alteraciones en la fibra muscular. Después de 12 días, se observa pérdida de la estructura fibrilar, la cual puede ser atribuida al tiempo de almacenamiento en hielo.

Bajo las condiciones de este estudio, se concluye que la presencia de la FB1 en la dieta afecta el crecimiento de los camarones blancos, pero no su vida de anaquel en hielo.



## INTRODUCCIÓN

La camaronicultura se ha desarrollado aceleradamente; siendo una de las actividades acuícolas de mayor rentabilidad. Esta actividad representa una fuente importante de empleos y de divisas en varios estados del país como Sonora, Sinaloa y Nayarit. En Sonora la producción de camarón de cultivo ha alcanzado gran importancia económica, ya que se han aumentado las superficies destinadas para esta actividad, ocupando en el 2003 el primer lugar en la producción nacional, con una aportación de 31,073 toneladas (SIAP, 2003). La principal especie de camarón cultivada es el camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), ya que esta especie es una de las más adaptables para su cultivo, debido a que resiste amplios rangos de temperatura y salinidad (Martínez-Córdova, 1999).

Por otra parte, para el desarrollo óptimo del camarón se requieren de algunas características, como la forma de cultivo y el control de parámetros físicos y químicos. Estos factores unidos a un buen alimento repercuten en una mayor producción (Villareal-Cavazos *et al.*, 2004).

El alimento debe cumplir con ciertos atributos que no solo dependen del valor nutritivo sino de sus características físicas, porque es el insumo más elevado en lo que respecta a costos, es por ello que requiere de un buen manejo, elaboración y almacenamiento para evitar la descomposición y alteración del mismo. Si las condiciones de la materia prima, producción o almacenamiento no son las apropiadas, esto podría dar lugar a la aparición de

hongos, los cuales pueden producir compuestos tóxicos que contaminen el alimento. Estos compuestos son subproductos tóxicos o metabolitos secundarios llamados micotoxinas y pueden desarrollarse en ciertos productos alimenticios antes o después de la cosecha y durante el transporte o almacenamiento si se presentan las condiciones idóneas para su producción (Villareal-Cavazos *et al.*, 2004).

*Fusarium verticillioides* y *F. proliferatum* son hongos que producen un grupo particular de micotoxinas, conocidas como fumonisinas, de las cuales se han caracterizado 28 análogos estructuralmente similares, siendo la fumonisina B1 (FB1) la que se encuentra en mayor abundancia y es la más tóxica (Hlywka *et al.*, 1997; Van der Westhuizen *et al.*, 2004; Arranz *et al.*, 2004).

Se ha asociado el consumo de alimento contaminado con FB1 a leucoencefalomalacia equina y edema pulmonar porcina; en ratas se ha visto que afecta su crecimiento y causa hepatotoxicosis, hepatocarcinogénesis y toxicidad renal; en pollos causa lesiones en el hígado y corazón así como un incremento en la mortalidad y tiene efecto supresor sobre el sistema inmune (Lumlertdacha *et al.*, 1995). En peces, como tilapia, bagre y carpa, se observó una disminución en el crecimiento debido al consumo de alimento contaminado, así como una menor resistencia a la infección por bacterias (Lumlertdacha *et al.*, 1995; Pepeljnjak *et al.*, 2002; Tuan *et al.*, 2003). En cuanto a camarón, se ha visto que se afecta el sistema inmune, haciéndolo más susceptible al ataque de bacterias o virus cuando a la dieta de este se le adiciona FB1, también se

reportó que las proteínas miofibrilares se hacían más susceptibles a la desnaturalización (Mexía-Salazar, 2005). En otro estudio Burgos-Hernández *et al.*, (2005) encontraron que la actividad de la enzima colagenasa se vió incrementada por efecto de FB1, la cual fue extraída de hepatopáncreas de camarón blanco.

Debido a que en la actualidad, durante la elaboración de alimentos para organismos acuáticos, se emplean como insumos productos de origen vegetal los cuales pueden venir contaminados con hongos, o bien, favorecer el desarrollo de estos y a su vez repercutir en el organismo (Divakaran y Tacon, 2000). Por lo anterior es importante realizar estudios tendientes a elucidar el efecto que tiene esta micotoxina sobre algunas especies de cultivo comercialmente importantes como lo es el camarón, ya que es poco lo que se conoce acerca de el efecto que tiene sobre éste.

Aunado a lo anterior la forma más común de manejar a los camarones inmediatamente después de la cosecha es en hielo, siendo en éste donde se pueden presentar los mayores cambios, principalmente en cuanto a firmeza, la cual se relaciona con las proteínas miofibrilares presentes en el músculo del organismo, así como a la actividad enzimática. Tanto las proteínas como las enzimas se sabe que pueden verse afectadas por la presencia de toxinas, sin embargo, no se tiene información sobre el efecto de la fumonisina B1 sobre estos componentes en camarón cultivado durante su almacenamiento en hielo.

Por lo antes mencionado se planteó la hipótesis de que la presencia de la fumonisina en un alimento utilizado para alimentar camarón, afecta las proteínas miofibrilares y la actividad de las proteasas totales presentes en el músculo y esto a su vez repercutirá en su vida de anaquel.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Evaluar el efecto de la adición de fumonisina B1 en el alimento para camarón sobre el crecimiento, supervivencia y vida de anaquel del músculo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado.

### **Objetivos Específicos**

Determinar el efecto de cuatro concentraciones de fumonisina B1 adicionadas en el alimento, sobre la supervivencia y crecimiento de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado.

Evaluar el efecto de la adición de fumonisina B1 en la dieta del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) sobre las proteínas, actividad enzimática y firmeza del músculo durante el almacenamiento en hielo.

## **ANTECEDENTES**

### **Aspectos Generales de la Acuicultura**

La creciente demanda de alimentos para el sostenimiento de una población que se multiplica, la necesidad de fuentes de trabajo para ocupar a cientos de personas que cada año se integran a la vida laboral, y en general, la necesidad de crecimiento económico de la mayoría de los países, han hecho surgir y que se desarrollen actividades que aunque ya se llevaban acabo no se habían explotado de la forma en que se hace actualmente (Martínez-Córdova, 1999). Tal es el caso de la acuicultura, la cual es la ciencia y arte del cultivo de organismos acuáticos; comprende el conjunto de las actividades de producción de vegetales y animales en agua dulce o marina. Estas se caracterizan por una intervención humana más o menos marcada, destinada a incrementar la producción natural del medio (Sandino-Méndez, 2003).

Existen diversas definiciones y clasificaciones de la acuicultura que varían de acuerdo al criterio utilizado. Cualquiera que sea, la acuicultura ha demostrado ser un método sustentable y práctico para aumentar la producción de los rubros alimentarios acuáticos (Hendrickx, 2001).

La acuicultura se ha enfocado básicamente en dos direcciones: por un lado el cultivo de organismos herbívoros como carpas, tilapias, ostiones, etc., que no requieren elevados costos para su producción, en cambio se pueden obtener grandes cantidades de proteína animal para la alimentación de amplios sectores de la población; por otro lado en el cultivo de especies de alto valor

comercial como camarones, langostas, langostinos, etc (Martínez-Córdova, 1999).

### **Camaronicultura**

El cultivo de camarón, o camaronicultura, es una de las ramas de la acuicultura que más se ha desarrollado en los últimos años, teniendo un crecimiento en la producción mundial de camarón entre 1984 y el 2004 de 14% por año (FAO, 2004). En México, ésta actividad también ha tenido un gran crecimiento en los últimos años, pasando de una producción de poco más de 10,000 ton en 1990 a cerca de 85,200 ton en el 2006 (Martínez-Córdova, 2002; FAO, 2004). Este desarrollo camaronícola se ha dado principalmente en el Pacífico, sobre todo en el estado de Sinaloa, donde actualmente hay más de 250 granjas camaronícolas. En la región sur del estado de Sonora, la camaronicultura se está desarrollando fuertemente, contando con aproximadamente 84 granjas, y teniendo una producción en el 2006 de 15,191 ton, correspondiendo al 24% de la producción total del estado. Por otra parte, en la zona norte de Sonora se produjo aproximadamente 45,948 ton, lo cual representó el 71% de la producción estatal (COSAES, 2006). También en Baja California Sur, Nayarit y Oaxaca se ha implementando el cultivo de camarón (Martínez-Córdova, 2002).

En el cultivo de camarón hay varios aspectos que son prioritarios y que influyen de manera importante en la producción de las granjas. Entre estos aspectos cabe destacar la optimización en el uso del alimento y la

alimentación (en este punto se incluye la calidad del alimento, ajustes en la cantidad y calidad del alimento, según la productividad del sistema); fertilización; manejo del recambio del agua; estrategias de manejo de la descarga (atenuación y biorremediación del impacto); y sistemas integrales de acuicultura (Martínez-Córdova, 1999; Martínez-Córdova, 2002).

La alimentación representa más del 50% de los costos de producción de camarón, de ahí la importancia de manejar adecuadamente el alimento y la alimentación, ya que ello repercute de manera directa en la rentabilidad del cultivo, así como en el grado de impacto ambiental de las descargas al ecosistema (Villareal-Cavazos *et al.*, 2004).

### **Generalidades del Camarón**

Los camarones peneidos por su valor comercial son considerados de gran importancia en el ámbito mundial, tanto para las pesquerías como para el cultivo. La explotación y manejo de recursos naturales es más eficiente en la medida en que se tengan mejores conocimientos sobre su biología y ecología. Para la acuicultura ésta información es fundamental. El cultivo de cualquier organismo requiere conocer los aspectos relacionados con su anatomía, alimentación y reproducción (Rosenberry, 2004).



## **Anatomía y Morfología del Camarón**

El cuerpo de los camarones se divide en tres regiones: cefalotórax, abdomen y telson. En el cefalotórax encontramos los 2 ojos, pedunculados y móviles, el rostro, bien desarrollado y con dientes en sus márgenes superior e inferior, las 2 anténulas, con dos flagelos largos cada una, las 2 antenas, con su escafocerito bien desarrollado, las piezas bucales, mandíbulas y maxilípedos (pediformes el 2º y 3º par) que rodean la boca y con ellas rompen los alimentos antes de que éstos sean introducidos al esófago; y los pereiópodos, con el 1º y 2º par acabados en pinzas (más largo el 2º par y con una pinza más robusta) y los otros 3 pares acabados en una uña. El abdomen está dividido en seis segmentos, terminando el último segmento en una estructura puntiaguda llamada telson; en éste se encuentran los urópodos, que sirven para la natación (Figura 1) (Martínez-Córdova, 1999, Hendrickx, 2001).

La mayoría de los órganos de los camarones, se encuentran en la región del cefalotórax. El cerebro es trilobulado, presenta un ganglio supraesofágico. El sistema nervioso es ventral en el tórax y en el abdomen, con los ganglios metamerizados. El corazón es ventral y se conecta directamente con el hemoceloma a través de arterias abdominales, ventral y dorsal. El sistema digestivo se compone de boca, estómago y hepatopáncreas situados en el cefalotórax; un intestino, una glándula intestinal en el abdomen y el ano situado centralmente donde comienza el telson. Las gónadas se encuentran en la mitad

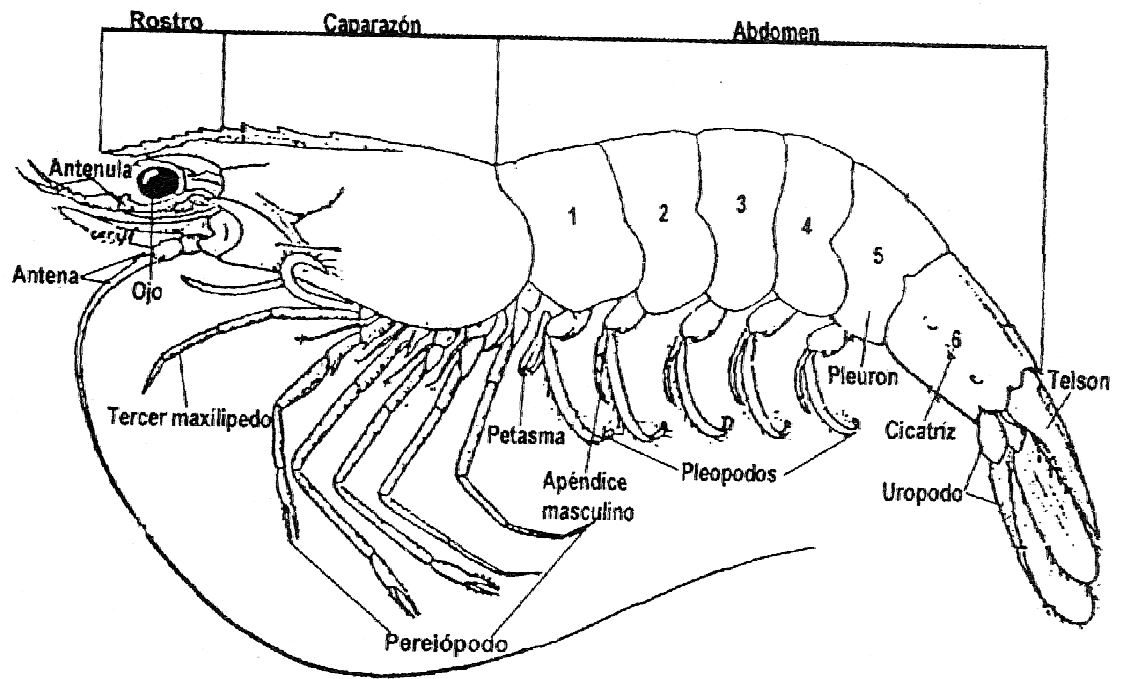


Figura 1. Morfología externa del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*)  
Fuente: Martínez-Córdova, 2002.

posterior del cefalotórax. En las hembras un par de ovarios se extienden hasta el abdomen. En el macho, el primer par de pereiópodos está modificado y adaptado para la función reproductiva, formando una estructura llamada petasma, que sirve como órgano copulador (Figura 2) (Fenucci, 1988).

### **Sistema Digestivo del Camarón**

El tracto digestivo de los camarones tiene una parte externa donde se localiza el esófago y el estómago; una parte media donde están los túbulos, sitios secretores de las enzimas digestivas; y una parte final donde se localizan el recto y el ano. Se ha establecido que el principal órgano del sistema digestivo de los crustáceos es el hepatopáncreas, un órgano compacto que ocupa una gran parte de la cavidad cefálica posterior a la cavidad cardíaca del estómago. Tiene dos lóbulos separados, los cuales están compuestos por hileras de túbulos ciegos que vierten, por el extremo abierto, sus productos de secreción al estómago (Cruz-Suárez, 1998). Tiene varias funciones biológicas como son la síntesis y secreción de las enzimas digestivas, la absorción, el mantenimiento de sustancias minerales y orgánicas, funciones metabólicas y la distribución de las reservas almacenadas (Icely y Nott, 1992).

Para que se lleve a cabo la digestión química se requiere de la acción de una serie de enzimas digestivas, identificándose principalmente enzimas del tipo proteasas, aunque también se han detectado carbohidrasas y lipasas (Cruz-Suárez, 1998).

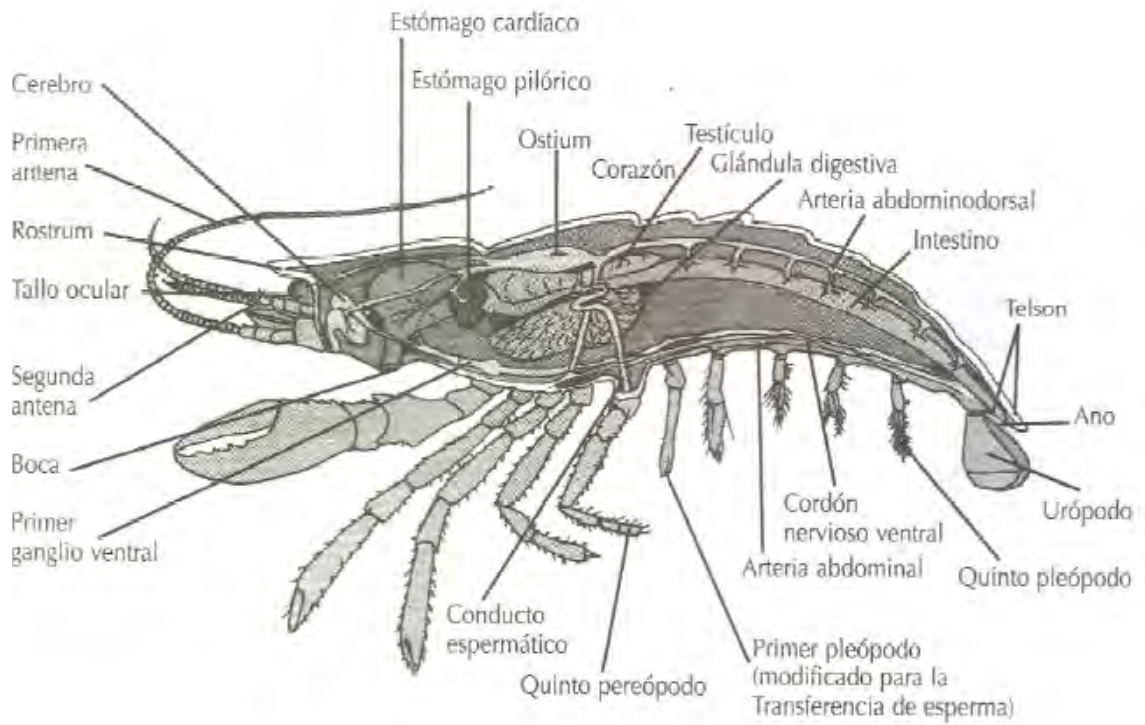


Figura 2. Anatomía del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*.  
 Fuente: Martínez-Córdova, 2002

**Proteasas.** El conjunto de las enzimas proteolíticas está constituido por dos grupos: endopeptidasas, que cortan los enlaces peptídicos en el interior de las cadenas proteicas y las exopeptidasas, que cortan los enlaces peptídicos aminoterminales, carboxiterminales y los dipéptidos. En general, la pepsina en el estómago, y la tripsina, quimiotripsina, carboxipeptidasas y aminopeptidasas en el intestino, son responsables de la hidrólisis de las proteínas ingeridas (Martínez-Córdova, 2002).

La tripsina representa por sí sola el 60% de la actividad proteásica del hepatopáncreas en los camarones. La importancia relativa de ésta enzima y su especificidad hacia los aminoácidos básicos que son esenciales en la nutrición de crustáceos, hace resaltar el problema de la calidad de las proteínas que se utilicen en su alimentación, en este caso un alimento balanceado (Cruz-Suárez, 1998).

**Carbohidrasas y Lipasas.** También existen enzimas que digieren los glúcidos: amilasas, maltasas, sacarasas, y algunas veces celulasas. La digestión de los lípidos está asegurada por las lipasas y estererasas. Los lípidos alimenticios deben sufrir dos tipos de transformaciones para poder ser absorbidos: -una emulsificación, que conduce a una micro-emulsión y una hidrólisis. Las lipasas actúan sobre los lípidos emulsionados y las estererasas continúan la digestión enzimática sobre los productos hidrosolubles obtenidos. En los camarones los compuestos emulsificantes que desempeñan el mismo papel que la bilis de los mamíferos, es decir, la de dispersar las grasas antes

de su digestión, son derivados de la taurina y de los ácidos cólico y desoxicólico (Cruz-Suárez, 1998).

### **Requerimientos Nutricionales del Camarón**

La nutrición del camarón es de carácter complejo, porque sus requerimientos varían a lo largo de sus ciclos de vida, por lo cual las dietas deben ser específicas para cada ciclo. Según Tacon (1990) hay cinco factores fundamentales que determinan la calidad nutricional y el éxito de una dieta artificial; estos factores son: la formulación y el contenido de nutrimentos, manufactura y características físicas, prácticas y regímenes de alimentación, y la calidad ambiental y disponibilidad del alimento natural (Fox *et al.*, 2001; Martínez-Córdova, 2002). La formulación adecuada es muy importante para cubrir lo más cercanamente posible los requerimientos nutricionales de los camarones con el menor desperdicio de nutrientes (Fox *et al.*, 2001).

Los nutrientes tienen diferentes funciones dentro del organismo y los requerimientos de cada uno varían, sobretodo con la especie y la etapa de desarrollo en la que se encuentren. Estos se dividen en dos grupos principales: macronutrientes que incluye proteínas, lípidos, carbohidratos y los micronutrientes que son las vitaminas y los minerales (Martínez-Córdova, 2002).

**Proteínas.** Es el ingrediente más importante y costoso de los componentes de una dieta. Los camarones deben consumir proteína para construir y reparar tejido dañado (mantenimiento) y para la síntesis de

nuevos tejidos (crecimiento y reproducción). Una vez cubierta la ración de mantenimiento, en cierta medida existe una relación directa entre la ración proteica y la tasa de crecimiento. La dosis más baja que asegura el crecimiento máximo es utilizada para definir el requerimiento (Cruz-Suárez, 1998). La cantidad mínima necesaria para obtener un crecimiento óptimo se ha establecido entre 28 y 60%; *L. vannamei* requiere entre 25 y 36% de proteína (Martínez-Córdova, 2002). Estas variaciones se deben probablemente a las diferencias entre las especies, la talla o la edad, la calidad de la proteína, el nivel de energía no proteica en la dieta, disponibilidad del alimento natural y las prácticas de cultivo (Lim y Akiyama, 1995).

En cuanto a los aminoácidos esenciales (arginina, metionina, treonina, valina, isoleucina, leucina, lisina, histidina, fenilalanina y triptofano), estos han sido estudiados en 10 especies de crustáceos, sin embargo, los requerimientos de cada uno de estos aminoácidos aún no se conocen; por el momento estos son estimados en base a la composición de la carne de los camarones (Cruz-Suárez, 1998).

**Carbohidratos.** Los camarones utilizan los carbohidratos como fuente de energía, como reserva de glucógeno, en la síntesis de quitina, ácidos nucleicos, pero la eficiencia de su utilización depende de la fuente y el nivel del carbohidrato (Fox *et al.*, 2001). Las dextrinas como la sucrosa, maltosa y trehalosa, y los polisacáridos como el glucógeno, dextrinas y almidón, son mejores fuentes de energía para el camarón que los monosacáridos como la

glucosa, fructosa y galactosa. La razón de la poca utilización de la glucosa por el camarón puede deberse a la tasa de absorción en el tracto digestivo (Martínez-Córdova, 1999).

**Lípidos.** Con respecto a la nutrición lipídica se sabe que los crustáceos usan generalmente bien las grasas como fuente de energía y como una fuente de ácidos grasos esenciales, necesarios para el crecimiento normal y la sobrevivencia de los animales.

Los lípidos sirven además como vehículos de las vitaminas liposolubles y proveen otros compuestos, como esteroides y fosfolípidos, que son esenciales para el buen funcionamiento metabólico del camarón. Los requerimientos cuantitativos de lípidos no han sido bien determinados y varían según la especie, pero en general la mayoría de los autores dan valores entre 4 y 9% de la dieta. Se ha observado para diferentes especies de camarón, que un contenido mayor del 15% de lípidos en la dieta produce un retardo en el crecimiento, además de producir un problema de orden tecnológico, ya que esos altos niveles impiden la compactación de las harinas, disminuyendo la estabilidad del alimento en el agua (Cruz-Suárez, 1998).

Los fosfolípidos son muy importantes y deben ser considerados en la selección de fuentes de lípidos para la dieta, su carencia disminuye el crecimiento y la sobrevivencia; son esenciales porque se requieren para el transporte de colesterol y triglicéridos en camarón. El colesterol también es indispensable para crustáceos. Una concentración de 0.5-1.0 % en la dieta



promueve el crecimiento y una concentración mayor de 5% lo retarda (Fox *et al.*, 2001).

**Vitaminas y Minerales.** Las vitaminas son un grupo de nutrientes esenciales requeridos en la mayor parte de las formas vivas. Aproximadamente 15 vitaminas han sido identificadas positivamente. Tradicionalmente son subdivididas en dos grupos: grupo de liposolubles las que incluyen al retinol (vitamina A), colecalciferol (vitamina D3), tocoferol (vitamina E), y menadiona (vitamina K3); y el grupo de las hidrosolubles, en las que se incluye a la tiamina (vitamina B1), riboflavina (vitamina B2), piridoxina (vitamina B6), ácido pantoténico, ácido nicotínico, biotina, ácido fólico, cianocobalamina (vitamina B12), ácido L-ascórbico (vitamina C), colina, e inositol (Fox *et al.*, 2001). De los requerimientos nutricionales estudiados en los camarones, la nutrición de vitaminas está considerada como una de las áreas más limitadas, por esta razón el alimento para camarón se fortifica con una premezcla de vitaminas (Lawrence *et al.*, 1994).

Acerca de los requerimientos minerales en peneidos, el fósforo y calcio son los minerales que más se han estudiado. Son parte esencial del exoesqueleto, funcionan como coenzimas, y regulan la permeabilidad de las membranas celulares (Martínez-Córdova, 1999). El fósforo es único, ya que se encuentra únicamente como un sólido y no se solubiliza en agua. Puede encontrarse en muchas plantas verdes o granos en forma indigerible, conocido como fitato o ácido fítico. Para proveer una adecuada dieta en fósforo, se

debe incluir en una forma purificada (ej., fósforo monobásico, dibásico, tribásico). Estas formas purificadas también tienen digestibilidad variable. El contenido de fósforo total de alimentos para camarón generalmente es de 1.5-2.5% (como base alimenticia), pero solo alrededor de 50% de ello está disponible para el crecimiento del camarón (Fox *et al.*, 2001). Los requerimientos de calcio dependen de la composición del medio, del nivel de inclusión de fósforo, de la especie en estudio y de las fuentes de origen. El nivel recomendado de calcio en dietas es un máximo de 2.8% (Martínez-Córdova, 1999).

### **Alimento Balanceado para Camarón**

Se considera un alimento balanceado el que es adecuado desde el punto de vista nutricional para un determinado animal en un estado fisiológico específico, que sea capaz de mantener la vida y promover el crecimiento sin el consumo de otras sustancias adicionales salvo el agua (Tacon, 1990). Este alimento representa más del 50% del costo total de producción, por lo que su diseño, formulación y elaboración, debe tener como objetivo encontrar el que sea óptimo, económico y de menores efectos contaminantes al ambiente (Martínez-Córdova, 1999).

Una formulación adecuada es muy importante para cubrir lo más cercanamente posible los requerimientos nutricionales de los organismos de cultivo con el menor desperdicio de nutrientes. Alimentos sobrados en

determinados insumos, no solo implican mayores costos, sino una menor eficiencia en su digestibilidad y aprovechamiento. Adicionalmente, estos son los responsables de un mayor deterioro de la calidad del agua del estanque y del ecosistema adyacente (Martínez-Córdova, 2002).

El proceso de fabricación debe ser el más adecuado para garantizar una mayor estabilidad en el agua y así evitar pérdida de nutrientes, lo cual impacta en lo económico a la granja y en lo ecológico al ambiente. El manejo y almacenamiento del alimento es muy importante para garantizar su calidad y evitar enranciamiento, infestación con hongos y pérdida de nutrimentos, factores que se verían reflejados en una deficiente respuesta productiva del camarón (Villareal-Cavazos *et al.*, 2004).

Cuando el alimento no contribuye a un buen crecimiento, o incluso está causando la muerte de los organismos, esto puede deberse a que los nutrientes no están siendo aprovechados, y puede ser atribuido entre otras causas a la presencia de sustancias perjudiciales que afectan la digestibilidad y asimilación de los alimentos. Además, hay que considerar que si las condiciones de manejo de la materia prima o almacenamiento del alimento terminado no son las apropiadas, esto podría dar lugar a la aparición de hongos, los cuales pueden producir y contaminar al alimento con micotoxinas (Ezquerro-Brauer *et al.*, 2004).

## **Contaminación por Hongos**

La identificación de los hongos contaminantes puede servir como diagnóstico en los brotes epidémicos de micotoxicosis, aunque las conclusiones definitivas solo pueden ser hechas mediante la identificación de la toxina responsable, puesto que la presencia del hongo no es evidencia suficiente de que este microorganismo sea el productor de la toxina. Además una toxina determinada puede persistir en el alimento, aún cuando el hongo que lo produce ya no esté presentes. Mientras que un determinado hongo puede ser capaz de producir más de una toxina, a su vez una toxina determinada puede ser producida por diferentes géneros de hongos. Sin embargo, la presencia de los hongos toxigénicos no es indicativo del riesgo potencial que eso conlleva (Betina, 1989).

Las micotoxinas pueden ser producidas por el hongo que crece en: plantas cultivadas (hongos de campo) y en material almacenado (hongos de almacenamiento). Los hongos de los cultivo, requieren un alto contenido de humedad (20-25%, en peso húmedo) para su crecimiento, mientras que los hongos de almacenamiento son capaces de crecer en sustratos, que poseen contenidos de humedad inferiores (12-18%, en peso húmedo). En base al contenido de humedad y la actividad de agua ( $a_w$ ), se puede expresar la habilidad del sustrato para permitir el crecimiento de microorganismos (Velásquez-González, 1995).

Los cereales pueden ser altamente susceptibles al crecimiento de los hongos cuando aún están en los campos de cultivos. Tanto los granos más pequeños así como los más grandes, son susceptibles a la infección por hongos toxigénicos y la posterior producción de micotoxinas. Las principales micotoxinas que se suelen encontrar regularmente en los cereales son aflatoxinas, ocratoxina A, deoxinivalenol, fumonisinas y zearalenona (Miller, 1995).

### **Micotoxinas**

Las micotoxinas son compuestos policetónicos resultantes de las reacciones de condensación que tienen lugar cuando en determinadas condiciones físicas, químicas y biológicas se interrumpe la reducción de los grupos cetónicos en la biosíntesis de los ácidos grasos realizada por los hongos. Estos ácidos grasos son metabolitos primarios utilizados por los hongos como fuente de energía (Van der Westhuizen *et al.*, 2004). La biosíntesis de estos compuestos ocurre fundamentalmente cuando el desarrollo del micelio se ha detenido durante la fase estacionaria de crecimiento, y existe limitación de algunos nutrientes, en presencia de un exceso de fuentes carbonadas disponibles (Thiel *et al.*, 1991). Estas toxinas son clasificadas como metabolitos secundarios, debido a que carecen en su mayoría de funciones conocidas para la fisiología del hongo que las produce. Actualmente se cree que estos compuestos podrían tener diferentes funciones en la supervivencia de los hongos que les dió origen, inhibiendo el crecimiento de otros

microorganismos, participando como agentes que favorecen la simbiosis con plantas, o actuando como hormonas sexuales o factores inductores de diferenciación (Demain y Fang, 2000).

La importancia que se les concede en la actualidad está relacionada con sus propiedades cancerígenas y con la naturaleza de su actividad en los animales. Las micotoxinas pueden desarrollarse en ciertos productos alimenticios antes o después de la cosecha, durante el transporte y en el almacenamiento bajo condiciones idóneas. Los factores que influyen en la producción de micotoxinas son: humedad relativa, temperatura y la disponibilidad de oxígeno, además de la actividad de agua, pH y el potencial de óxido-reducción (Ezquerro-Brauer *et al.*, 2004).

### **Fumonisin**

Son producidas principalmente por hongos del género *F. verticillioides* y *F. proliferatum* así como también por otras especies de este género (Lumlertdacha *et al.*, 1995; Pepeljnjak *et al.*, 2002; Tuan *et al.*, 2003; Van der Westhuizen *et al.*, 2004; Murphy *et al.*, 2006).

Las fumonisin fueron descubiertas en el año 1988 por dos grupos de trabajo de manera independiente. Uno de ellos estaba investigando la causa del cáncer de esófago en humanos en ciertas partes de Sudáfrica (Bezuidenhout *et al.*, 1988; Marasas *et al.*, 1988). Mientras que el otro estaba buscando encontrar la etiología de una de las enfermedades bien conocidas que afectan a los caballos, la leucoencefalomalacia (ELEM) (Laurent *et al.*, 1990; Pepeljnjak *et*

*al.*, 2002; Tuan *et al.*, 2003; Hartl y Humpf, 2000; Lumlerdacha *et al.*, 1995; Hlywka *et al.*, 1997).

Desde que fueron descubiertas el número de fumonisinas análogas conocidas se ha incrementado. En una reciente revisión de esta familia de compuestos, se catalogaron 28 miembros. Las fumonisinas son generalmente divididas en las series A, B, C y P. La importancia de algunos de estos análogos como contaminantes naturales de alimentos es incierta, y los reportes de los análisis de fumonisinas son frecuentemente limitados a FB1 y FB2, algunos reportes incluyen a la FB3 (Van der Westhuizen *et al.*, 2004; Arranz *et al.*, 2004).

La amplia distribución geográfica del patógeno de maíz productor de fumonisinas, *F. verticillioides*, ha resultado en la presencia de estas en maíz o productos que contienen maíz. Además de ser asociadas mundialmente con maíz, las fumonisinas también han sido detectadas en otros alimentos como arroz en Argentina, China, Corea y Estados Unidos, sorgo en Botswana, Brasil e India, espárragos en China, Alemania e Italia. La presencia de esta micotoxina también se ha reportado en té negro y plantas medicinales en Portugal y Turquía. Además de estar en estas materias primas, hay reportes esporádicos de la presencia de fumonisina en trigo y productos de trigo (Moss, 1998; Shephard, 2005; Ghiasian *et al.*, 2006; Jiansheng *et al.*, 2007).

## **Fumonisin B1**

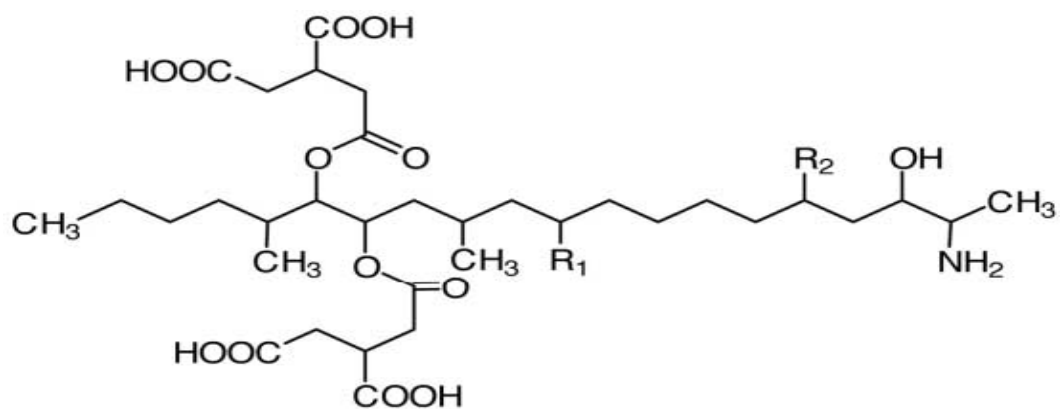
Es la micotoxina que se encuentra más ampliamente distribuida en la naturaleza, aproximadamente el 70% de las fumonisinas encontradas en la naturaleza es FB1, es la más tóxica para animales y humanos. La Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) clasificó a la Fumonisin B1 (FB1), como posible carcinogénico en humanos (grupo 2B) (Van der Westhuizen *et al.*, 2004 ; Shephard, 2005; Jiansheng *et al.*, 2007).

**Características Físicas y Químicas.** La FB1 es descrita como sólido amorfo con un punto de fusión de 103 a 105°C. Es un compuesto fuertemente polar, soluble en agua, en mezclas (acetonitrilo:agua; 1:1, v/v), altamente solubles en metanol, pero insolubles en disolventes no polares (Vesonder *et al.*, 1992; Sweeney y Dobson, 1999; Murphy *et al.*, 2006). Mediante análisis espectrofotométricos de masas se estableció que la FB1 (C<sub>34</sub>H<sub>59</sub>NO<sub>15</sub>) tiene un ión molecular protonado de peso molecular 722 (Bezuidenhout *et al.*, 1988). Tiene una rotación óptica de -28 a una concentración de 2 mg/ml de agua. Es estable al calor, sin embargo se han detectado pequeñas pérdidas de FB1 (<27%) en maíz y harina de maíz durante procesamiento a temperaturas ≤ 125°C por 60 min (Scott y Lawrence, 1994). Es difícil concluir si las altas temperaturas reducen la FB1 o únicamente resulta en un bloqueo químico del grupo amino primario (Dupuy *et al.*, 1993).



**Estructura Química.** Consta de una cadena lineal hidrocarbonada sustituida con alcoholes y una amina. Es un diéster de propano-1, 2,3-ácido tricarbóxico y 2-amino-12,16-dimetil-3,5,10,14,15-pentahidroieicosanoico (Figura 3). Los grupos hidroxilo del C-14 y C15 están esterificados al grupo carboxilo terminal del ácido. Como la FB1 prácticamente es un alcohol de cadena larga, no absorbe en el ultravioleta ni en el visible, ni flúorese, por lo que debe derivatizarse para que sea fácilmente detectable el derivado fluorescente del grupo amino libre por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) (Moss, 1998; Sweeney y Dobson, 1999; Kim *et al.*, 2004; Desjardins, 2006; Murphy *et al.*, 2006).

**Modo de Acción.** La fumonisina B1 posee similitud estructural con algunos sustratos de esfinganina N-acetiltransferasa, produciendo inhibición competitiva de la enzima (Sweeney y Dobson, 1999). La esfinganina (Sa), una base esfingóide formada durante la síntesis *de novo* de esfingolípidos, y la esfingosina (So) producida durante el reciclaje fisiológico de esfingolípidos celulares, son los sustratos naturales de la enzima esfinganina N-acetiltransferasa. La FB1 impide la conversión de Sa a dihidroceramida y la reutilización de So a ceramida. La interrupción de la biosíntesis de esfingolípidos eleva las bases esfingoides y disminuye la ceramida y esfingolípidos más complejos como esfingomielina y gangliósidos. Tanto en estudios *in vivo* como *in vitro*, se observó que la inhibición de esta actividad enzimática por acción de FB1 tiene como consecuencia un incremento rápido de las concentraciones



Fumonisin B<sub>1</sub>: R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=OH  
 Fumonisin B<sub>2</sub>: R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=OH

Figura 3. Estructura de la Fumonisina B1  
 Fuente: Desjardins, 2006

intracelulares de Sa y, en menor grado, de So. Este aumento en los niveles de Sa produce una inversión en la relación Sa/So intracelular, que puede ser detectada en sangre periférica y orina, debido a que Sa puede difundirse libremente a través de la membrana plasmática. En este sentido, se ha estado evaluando la posibilidad de utilizar la relación Sa/So presente en diferentes muestras biológicas como biomarcador de exposición a FB1 (Figura 4) (Van der Westhuizen *et al.*, 2004).

Los esfingolípidos se encuentran principalmente en las membranas celulares y son críticos para el mantenimiento de la estructura de la membrana; regulan el crecimiento, diferenciación y transformación celular; son importantes en la transformación neoplástica y receptores celulares y en los sistemas de señales (Arranz *et al.*, 2004; Desjardins, 2006).

FB1 inhibe la proliferación de células en varios sistemas de cultivo celulares así como en el hígado y riñón de ratas. La interrupción de la biosíntesis de esfingolípidos causada por FB1 puede también inducir o prevenir la apoptosis, dependiendo del tipo de células y de la cantidad de moléculas de esfingolípidos bioactivas generadas (Desjardins, 2006).

La interrupción de la biosíntesis de esfingolípidos ha sido implicada en la actividad carcinogénica de la FB1. Sin embargo el mecanismo exacto de selección o iniciación de las células por FB1 es desconocido (Van der Westhuizen *et al.*, 2004).

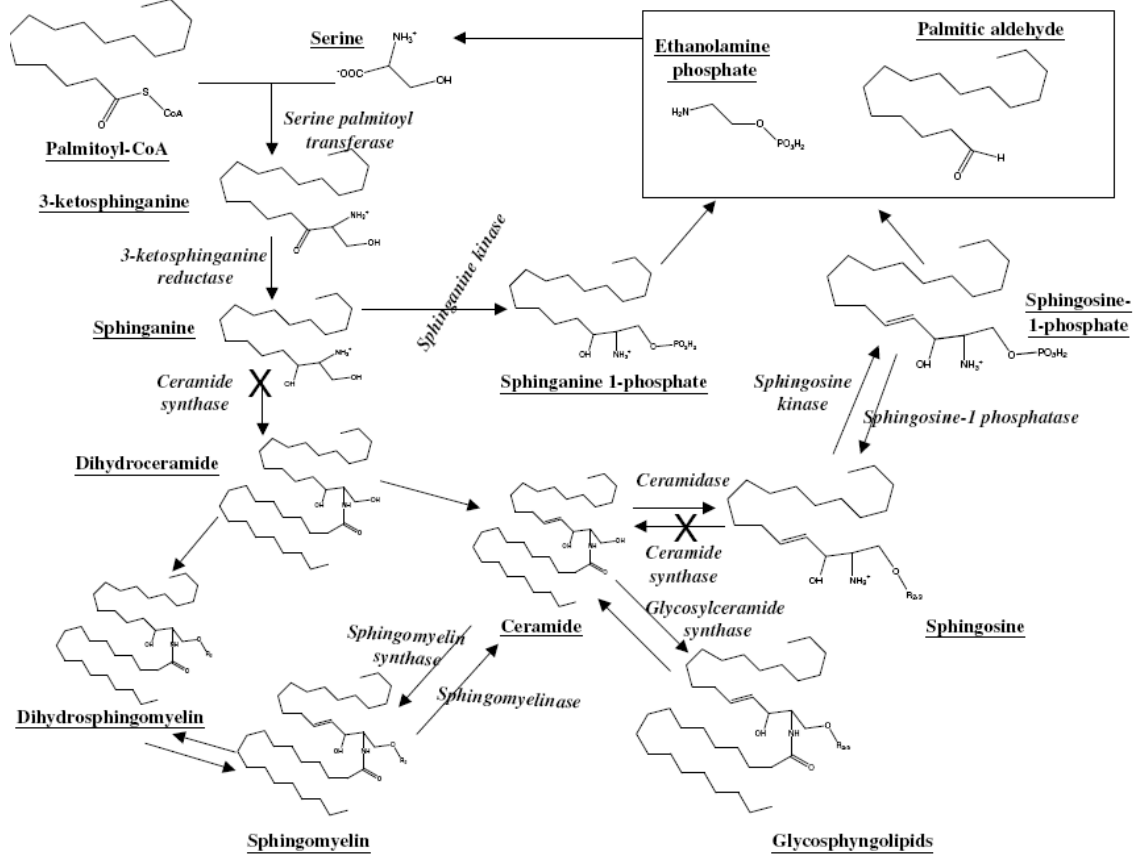


Figura 4. Interrupción de la biosíntesis *de novo* de esfingolípidos en células animales. El símbolo X muestra el camino inhibido por la FB1. Fuente: Soriano *et al.*, 2005

**Efectos Toxicológicos de FB1.** Los estudios de toxicidad de estos metabolitos de hongos se basan en la sintomatología, patología clínica y efectos sobre ciertos parámetros inmunológicos en animales expuestos a la FB1. Los estudios realizados hasta el presente sugieren que la FB1 no es genotóxica, pero tiene una importante acción promotora de cáncer hepático, según se ha demostrado por la inducción de focos  $\gamma$ -glutamyl transpeptidasa y GST positivos en hígado de ratas (Moss, 1998).

La toxicidad de FB1 se ha establecido en el cerebro de caballos, pulmones de puercos, riñones de ratas y conejos, corazón e hígado de aves, entre otras especies y órganos (Hlywka *et al.*, 1997).

La leucoencefalomacia equina (ELEM) es una enfermedad no infecciosa, de carácter esporádico y altamente fatal. Afecta al sistema nervioso central (SNC) en caballos y otros equinos. La enfermedad fué reportada como tal en 1850 y ha sido reconocida en todo el mundo. El reporte clínico más común de la LEM está relacionado con el SNC y constituye la llamada forma neurotóxica. Esta forma de la enfermedad es altamente fatal y puede estar precedida por un corto período de letargia y anorexia, pudiendo acaecer la muerte de manera asintomática. Comúnmente las manifestaciones del SNC en la forma neurotóxica incluyen una hiperestesia, hiperexcitabilidad, ceguera unilateral, marcha debilitada y en círculos, variación e incremento de la presión intracraneal. En fases terminales de la enfermedad, el animal entra en una etapa depresiva, adoptando generalmente una posición yacente, para luego

entrar en coma. La morbilidad está cifrada en un 25%, sin embargo la mortalidad está cerca del 100%. Los animales que sobreviven usualmente presentan lesiones neurológicas graves y permanentes. La patología clínica asociada incluye una masiva licuefacción necrótica, en uno de los hemisferios cerebrales. El término "leucoencefalomalacia" describe las lesiones primarias asociadas a la enfermedad y la necrosis de la materia blanca del cerebro. Los animales que sobreviven después de varios días del comienzo de la enfermedad ocasionalmente muestran neurofagia, satelitosis y gliosis (Wilson *et al.*, 1990).

El edema pulmonar porcino (EPP) es una condición letal sub-aguda, que se caracteriza por un edema de pulmón severo complicado con hidrotórax. La enfermedad ha sido asociada con el consumo de alimento preparado con maíz contaminados naturalmente con *F. verticillioides*. Los síntomas clínicos observados son una disnea aguda al principio de la enfermedad, debilidad, cianosis y finalmente la muerte. Haschek *et al.* (1992) han propuesto una explicación para los casos observados de EPP. De acuerdo con su teoría, el metabolismo de esfingolípidos está alterado por las lesiones causadas en la necrosis hepatocelular, lo que permite el paso de material de las membranas hacia el sistema circulatorio. Este material es fagocitado por los macrófagos intravasculares pulmonares (PIMs), los cuales están presentes en un gran número, siendo los responsables del inicio de los mediadores de la inflamación. Los órganos blanco de las patologías asociadas a la presencia de

micotoxinas de *Fusarium* en porcinos son pulmones, hígado y páncreas. A dosis bajas, la enfermedad hepática progresiva es el efecto más importante, mientras a altas dosis el edema pulmonar agudo es la patología principal que indefectiblemente finaliza con la muerte (Riley *et al.*, 2001).

En ratas cuando la FB1 ingresa por vía oral, aproximadamente un 4% de la dosis administrada es absorbida en el intestino. Luego se distribuye a la mayoría de los tejidos desapareciendo rápidamente del plasma, y eliminándose del organismo de acuerdo a un modelo bi o tricompartmental. El hígado y riñón retienen la mayoría de la toxina absorbida (Martínez-Larranaga *et al.*, 1999), siendo en algunos casos más importante la retención en hígado, y en otras situaciones se acumula principalmente en riñón. No existen evidencias, tanto en estudios *in vitro* como *in vivo*, de que la FB1 sea metabolizada. La micotoxina absorbida es posteriormente excretada por bilis. Cuando llega a intestino es hidrolizada posiblemente por enzimas microbianas, perdiendo uno o ambos ácidos tricarbóxicos laterales; encontrándose en materia fecal la toxina y los productos de la hidrólisis. Mientras que no existen evidencias de que la FB1 sea metabolizada por el complejo citocromo p, algunos estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que ésta micotoxina puede modificar la actividad de este complejo enzimático (Spotti *et al.*, 2000).

En pollos se han hecho varios estudios encontrándose que cuando estos son alimentados con dietas contaminadas con *F. verticillioides*, los animales bajan de peso, presentan anomalías en el esqueleto, así como

problemas en el corazón e hígado (Ledoux *et al.*, 1992; Weibking *et al.*, 1993).

En la región de Transkei, Sudáfrica, se incluyen algunas áreas donde los rangos anuales de la incidencia del cáncer de esófago (CE) esta muy por encima de la media mundial. Esto obliga a pensar en factores causales que podrían ser de origen genético, ambientales, nutricionales o la influencia de los estilos de vida. En ésta zona de África y también en zonas de China, existen fuertes correlaciones epidemiológicas entre la incidencia del CE y la presencia de alimentos y piensos contaminados con *F. verticillioides*. Las personas afectadas en dichas regiones, consumían en la dieta alimentos basados en maíz y productos derivados. El maíz, fue cultivado, cosechado en las parcelas, y almacenados en el exterior con visibles signos de presencia de hongos. También en Transkei, maíz muy contaminado con hongos fue utilizado en procesos fermentativos caseros para la obtención de cerveza, debido a un sabor especial que le otorga estos granos (Marasas *et al.* 1988; Cheng *et al.*, 1985; Moss, 1998; Murphy *et al.*, 2006).

Durante la elaboración de alimentos para organismos acuáticos, se emplean como insumos productos de origen vegetal, los cuales pueden venir contaminados con hongos, o bien, favorecer el desarrollo de estos y a su vez repercutir en el organismo. Se han realizado algunos estudios tendientes a elucidar el efecto de los hongos y micotoxinas sobre algunas especies de cultivo. Estudios realizados en bagre, demostraron que dependiendo de la talla del organismo era el efecto tóxico de la fumonisina (Lumlertdacha *et al.*,



1995), ya que a menor talla mayor fue el efecto tóxico. Resultados similares fueron detectados en tilapia (Tuan *et al.*, 2003). En otros estudios se observó que la FB1 redujo la producción de anticuerpos en bagre, sin embargo, no ocasionó muerte en los peces (Lumlertdacha and Lovell, 1995). Recientemente, Mexía-Salazar (2005) observó que al alimentar camarón blanco (*L. vannamei*) con dietas conteniendo FB1, se afectó el sistema inmune de los organismos, además de que provocó necrosis del hepatopáncreas y branquias.

A partir de estos hallazgos se involucró a la FB1 como responsable de algunos trastornos que se están presentando en los organismos cultivados, aunque aún es necesario que se realicen más estudios.

### **Manejo Post-Cosecha del Camarón**

Pasando a otro punto, se sabe que la oferta del camarón es superior a la demanda, sin embargo el consumidor normalmente busca productos frescos, por lo que lo más común es enhielarlo o congelarlo.

#### **Almacenamiento en Hielo**

Cuando el consumo de productos marinos fue difundiendo hacia el interior de los países y dejó de comercializarse únicamente en la costa, se hizo necesario desarrollar técnicas para el procesamiento de los productos del mar que evitarán su descomposición y lograrán una mayor aceptación entre la gente que no tenía costumbre de comerlos. Así mismo para obtener precios que

podieran competir con los de otros productos alimenticios, a los que sí estaban acostumbrados (Cifuentes-Lemus *et al.*, 1995).

Los principales procesos que se realizan para mantener en buen estado a los organismos cultivados son la utilización del frío, la deshidratación y el envasado. Los diversos métodos que emplean el frío van desde la utilización del hielo (enhielado) hasta la congelación (Cifuentes-Lemus *et al.*, 1995).

El enhielado o conservación con hielo se hace por simple mezcla de éste con los organismos depositados en cajas, las que pueden ser de diferentes materiales, generalmente de plástico, y llevan en su base orificios que permiten que el agua que se produce al desgastarse el hielo, escurra fácilmente. El hielo se agrega lo más triturado posible, con el fin de obtener la máxima superficie de contacto con el cuerpo del camarón, y además, para no producir efectos traumáticos. El hielo se deposita en proporciones del 10 al 15% y en capas alternadas de unos 8 centímetros de grosor. Si el hielo es suficiente para cubrir todos los organismos, la conservación puede durar hasta 10 días (Cifuentes-Lemus *et al.*, 1995).

### **Efecto de la Dieta sobre la Calidad Post-cosecha de los Camarones**

En las granjas acuícolas se pueden controlar algunos factores ambientales y dietarios. Estos factores pueden influir sobre la calidad alimentaria de los productos al momento de la cosecha. La calidad de la proteína afecta el contenido de las proteínas estromales y las propiedades termodinámicas del principal componente de estas proteínas estromales, el

colágeno. Al relacionar estas características con los organismos alimentados con dietas pobres, o bien, con altas concentraciones de proteína, éstos perdieron más textura y presentaron la menor aceptación por parte del panel (Ezquerro-Brauer *et al.*, 2004). La presencia de micotoxinas en alimento para camarón puede provocar bajo riesgo para la salud, pero afectar la aceptación, ya que la FB1 provocó daños en la proteínas miofibrilares del músculo del camarón blanco cultivado (Mexía-Salazar, 2005).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Bioensayo

#### **Tratamientos Experimentales**

Se elaboró alimento para camarón con diferente concentración de FB1 (0, 1, 2 y 4  $\mu\text{g/g}$ ). Para la elaboración del alimento se utilizó una premezcla de ingredientes para alimento de camarón comercial, aceite de pescado, agua y harina de maíz que contenía 59.9  $\mu\text{g/g}$  de FB1.

Primero se mezclaron el aceite de pescado, la premezcla de ingredientes y la harina contaminada por 15 min. Transcurrido este tiempo se agregó el agua, entre 300 y 500 ml/kg de harina preparada. Finalmente se mezcló de nuevo por 15 minutos haciendo un total de 30 minutos de mezclado, para una mejor homogenización. Para elaborar el pellet se utilizó el proceso de extrusión en frío. Una vez que se tuvo el pellet formado éste fue secado a 60°C en un secador de túnel.

La concentración final de FB1 en el alimento fue evaluado por un laboratorio externo, utilizando el ensayo de ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). Los sistemas ELISA tiene como principio el contener un anticuerpo inmovilizado en una superficie sólida de una micotoxina en particular, tal como un minivaso, una tarjeta, o bien, otro soporte. Estos anticuerpos contienen sitios de enlace con los cuales las micotoxinas reaccionan, pero también los conjugados enzimáticos de estas micotoxinas, que

se adicionan expofeso, de modo tal que se establece una competencia por los sitios de unión. Después de un determinado tiempo de reacción se eliminan todas las sustancias que no hayan reaccionado y se procede a adicionar un substrato, que da lugar a una reacción de desarrollo de color, generalmente con peróxido de hidrógeno. Posteriormente se procede a establecer una comparación visual entre la coloración de la solución del estándar de referencia y las muestras. Un color más rojizo indica una mayor concentración que el estándar y una coloración azul indica una concentración menor que el estándar. También se puede efectuar estas lecturas de las soluciones de manera espectrofotométrica.

### **Organismos Experimentales**

Se usaron postlarvas (PL14) de *L. vannamei*, las cuales fueron obtenidas del laboratorio comercial de producción de postlarvas Maricultura del Pacífico S.A. de C. V. establecido en Bahía Kino, Sonora.

Los organismos fueron sembrados y conservados durante aproximadamente 45 días en un estanque de cultivo de una hectárea y durante este tiempo fueron mantenidos con un alimento balanceado comercial.

Transcurridos los 45 días los organismos se transfirieron a un tanque de fibra de vidrio con capacidad de 10 m<sup>3</sup>, donde fueron conservados durante aproximadamente tres semanas. Posteriormente se transfirieron a tanques experimentales para dar inicio al experimento.

## **Sistema Experimental**

El sistema de cultivo experimental de recirculación consistió de dos módulos, cada uno con 50 tanques circulares de 30 cm de diámetro (19.7 L), un tanque reservorio circular de 140 cm diámetro (1,700 L), un biofiltro, un calentador en línea de operación controlada por un termostato, un enfriador (chiller), una cámara de luz ultravioleta, un filtro de arena, un filtro de cartucho de polipropileno con apertura de 50 m y una bomba de agua de 1.5 HP. Dichos módulos estaban interconectados entre sí.

El sistema experimental se encuentra dentro del Laboratorio Húmedo de Nutrición y Biotecnología Acuícolas de la Unidad Experimental Kino del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora, ubicado en Bahía Kino, Sonora. Durante la ejecución de los experimentos, la tasa de recirculación de agua fue de aproximadamente 2,000% cada 24 horas en cada tanque y cerca del 10% del volumen fue intercambiado diariamente por agua de mar nueva y filtrada. La temperatura del agua fue mantenida entre 29 y 30°C. Este parámetro, además de la salinidad y el oxígeno disuelto fueron registrados diariamente. El pH y las concentraciones de nitrógeno amoniacal, nitritos y nitratos fueron medidos semanalmente de acuerdo a adaptaciones de los métodos descritos por Solarzano (1969) y Spotte (1979).

Cada uno de los tratamientos experimentales fue asignado al azar al menos en 12 tanques experimentales, en los cuales se sembraron los organismos a una tasa de 56 individuos/m<sup>2</sup> (4 camarones/tanque). La tasa de alimentación se ajustó para proveer un exceso moderado de alimento. El alimento no consumido, al igual que las excretas y exuvias, fueron retiradas de los tanques cada mañana mediante sifoneo.

### **Evaluación del Desempeño Biológico**

El desempeño biológico de los organismos fue evaluado al final del experimento en cuanto a parámetros de crecimiento (peso final, peso ganado, porcentaje de peso ganado) y supervivencia.

### **Almacenamiento en Hielo**

Una vez que los camarones fueron cosechados, después de 30 días de ser alimentados con dietas contaminadas con FB1, estos fueron descabezados y se acomodaron en bolsas de plástico y colocados en hielo, alternando capas de camarón-hielo. Las cabezas fueron almacenadas en congelación para su posterior análisis. El periodo de almacenamiento fue de doce días, tomándose muestras a los 0, 4, 8 y 12 días. A las muestras obtenidas se les realizaron las determinaciones analíticas que se mencionan a continuación.

## **Determinaciones Analíticas**

Las determinaciones analíticas que se llevaron a cabo para evaluar el efecto de la FB1 sobre el músculo de camarón blanco (*L. vannamei*) cultivado, durante el bioensayo y almacenamiento en hielo por doce días, se describen a continuación.

### **Determinación de la Actividad Enzimática en Hepatopáncreas**

**Obtención del Extracto Enzimático.** Se ha visto que la actividad de las proteasas se puede ver afectada por la presencia de micotoxinas en el alimento para camarón, por lo que se espera que debido a la adición de la fumonisina B1 en la dieta, ésta sea modificada.

Para extraer las enzimas digestivas se separó el hepatopáncreas de la cabeza del camarón. Posteriormente fueron homogenizados en agua utilizando un biohomogenizador (Bioespec Products Ins) durante 1 min. La mezcla se centrifugó (Eppendorf Centrifuge 5810 R) a 5000 x g durante 30 min a 4 °C.

**Determinación de la Actividad Proteolítica Total en Hepatopáncreas.** Se realizó de acuerdo a lo descrito por Stauffer (1989). En tubos de ensayo de 13x100 se colocaron 500 µl de buffer tris-HCl 50 mM, pH 7.5, después se adicionaron 500 µl de azocaseína al 1% y 20 µl de extracto crudo enzimático. La mezcla de reacción se incubó a 37°C por 15 minutos. La reacción se detuvo al adicionar 500 µl de TCA al 20% (p/v). La mezcla se dejó reposar por 5 minutos a 4°C y posteriormente se centrifugó a 5000 xg por 10 minutos en una



centrifuga Eppendorf modelo 5810R. La absorbancia se leyó a 366 nm en un espectrofotómetro marca Perkin Elmer uv/vis Lambda 25. La actividad de proteasas se expresa como  $Abs_{366\text{ nm}}/\text{min}/\text{mg}$  proteína.

**Actividad de Tripsina en Hepatopáncreas.** Se determinó siguiendo la técnica descrita por Erlanger *et al.*, (1961). En tubos de ensaye se colocaron 1.25 ml de BAPNA (Na-Benzoil-DL-Arginina-p-nitroanilida) para después adicionarle 10  $\mu\text{l}$  del extracto enzimático. La mezcla de reacción se incubó por 30 min a 37°C. Cuando transcurrió el tiempo la reacción fue detenida adicionando 0.25 ml de ácido acético al 30%. La absorbancia se leyó a 410 nm en un espectrofotómetro marca Perkin Elmer uv/vis Lambda 25. La actividad de tripsina se reporta como  $Abs_{410\text{ nm}}/\text{min}/\text{mg}$  proteína.

### **Análisis en el Músculo de Camarón**

**Extracción de Proteína.** Fueron extraídas las proteínas utilizando la técnica descrita por Yan *et al.*, (1994), la cual se basa en la separación de las proteínas por su solubilidad en soluciones salinas. Diez gramos de músculo de camarón se homogenizaron a 4°C en buffer de fosfatos 0.01 M conteniendo NaCl 0.1 M a pH de 7.6, en una proporción 1:5 (p/v). El homogenizado se centrifugó (centrifuga Eppendorf modelo 5810R) a 7000  $\times g$  por 20 minutos a 4°C. El sobrenadante se utilizó como el extracto que contiene a las proteínas solubles.

**Electroforesis en Gel SDS-Poliacrilamida.** Con el fin de evaluar si las proteínas miofibrilares sufrieron alguna alteración por la exposición del camarón blanco a diferente concentración de FB1 se estableció el perfil electrofórico de las proteínas.

Para la electroforesis el extracto de proteínas se mezcló con una solución amortiguadora en condiciones desnaturizantes (ausencia de mercaptoetanol), en una proporción 1:3 (muestra:solución amortiguadora). La composición de la solución amortiguadora fue la siguiente: 25% de TRIS-HCl 0.5 M, pH 6.8, 20% de glicerol, 40% SDS al 10%, 15% de agua deionizada y 0.03% azul de bromofenol.

Los análisis electroforéticos se realizaron de acuerdo al método de Laemmli (1970), utilizando un equipo miniprotean III (Bio-Rad Laboratorio Chemical, Hercules, CA). Los geles superior y concentrador se prepararon al 4 y 10% de acrilamida, respectivamente. Se aplicaron 100 µg de proteína presentes en el extracto de proteínas miofibrilares. La corrida de electroforesis se llevó a cabo a temperatura de refrigeración con un voltaje de 120. Las bandas se tiñeron con azul de Comassie al 0.1 % (p/v). Los geles obtenidos fueron analizados en un analizador de imágenes (Bio-Rad).

**Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB).** Debido a que la estabilidad de las proteínas de los camarones está muy relacionada con las propiedades que el producto presente durante el procesamiento, el estudio del

comportamiento térmico de las proteínas miofibrilares del músculo de camarón puede ser importante para predecir la calidad final del producto (Ezquerro-Brauer *et al.*, 2004). Por lo anterior, se determinó el comportamiento térmico de las proteínas del músculo de camarón blanco cuando éste es expuesto a FB1, utilizando la técnica de CDB. Se empleó un Calorímetro Diferencial de Barrido marca Perkin-Elmer DSC-7. Se tomó un organismo por cada tratamiento de FB1 retirándosele la cáscara manualmente y de la muestra se obtuvo del primer segmento abdominal del músculo entero. Las muestras se colocaron en microcápsulas de acero inoxidable, selladas herméticamente con una engragoladora marca Perkin Elmer. Las condiciones de corrida fueron: velocidad de barrido de 10°C/min en un rango de temperatura de 26 a 124°C, usando aire como referencia. La energía total de desnaturalización de las proteínas, o sea, el cambio de entalpía, se midió por la integración del área bajo el pico. Se obtuvieron termogramas, entalpías (J/g) y temperaturas máximas (°C) de las proteínas del músculo de camarón blanco cultivado expuesto a la FB1.

**Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).** Con el fin de observar cambios en la estructura del músculo de camarón blanco cultivado se realizó un análisis de microscopía electrónica.

Debido que es una muestra biológica, es necesario fijar y extraer el agua de la muestra antes de ser observadas en el microscopio, para hacerlo se siguió la técnica descrita por Plascencia-Jatomea *et al.*, (2003). Se tomaron

porciones de 0.5 X 0.5 cm de músculo, a las cuales se les agregó 1-2 ml de una solución de glutaraldehído al 5% (a 4 °C), donde se fijaron durante 24 h. Se realizó una postfijación en tetróxido de osmio al 1 % (a 4 °C) durante 2 h. Una vez fijada la muestra, se procedió a deshidratar en soluciones de metanol (30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 %) durante 1 h. La porción deshidratada de músculo se cubrió con carbón para después observarla con un microscopio electrónico de barrido (JEOL JSM-5410LV).

**Firmeza.** La firmeza (textura) del músculo de los organismos marinos es un importante atributo sensorial que determina la calidad o aceptación de los productos con alto valor comercial. Esta propiedad del músculo está relacionada con la integridad de las proteínas miofibrilares (Ezquerro-Brauer *et al.*, 2004). Debido a esto se determinó si hay cambios en la textura del músculo después de ser alimentado con dietas contaminadas con FB1. Para hacer esto se cortó el músculo en porciones de 1 cm, se utilizó un texturómetro (Chatillón 12-3b, Empire Scale Co., Sante Fe Springs, CA) con un punzón cónico de 0.5 cm de diámetro para evaluar la textura. La firmeza se reporta como las libras de fuerza necesarias para romper el tejido (Dunajski, 1979).

### **Análisis Estadístico**

Se aplicó un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía a los datos de crecimiento y supervivencia (transformados mediante arcoseno). Se

identificaron las posibles diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos mediante la prueba de Tukey's.

Los datos obtenidos durante el almacenamiento en hielo se analizaron usando un diseño de dos factores: tratamiento (cuatro niveles) y tiempo de almacenamiento (cuatro niveles). Las variables respuesta fueron firmeza, CDB y actividad enzimática. Los datos fueron comparados mediante un análisis de varianza de dos vías y con una comparación de medias aplicando la prueba de Tukey. Se trabajó con un nivel de significancia del 5%. Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico JMP versión 4.0.4.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Bioensayo

#### **Tratamientos Experimentales**

La idea central de este trabajo fue la de establecer el efecto de la fumonisina B1 en varios indicadores de calidad del camarón blanco durante su cultivo, así como después de la cosecha. Por ello, primeramente se evaluó la concentración final de este compuesto, el cual, como se mencionó en el apartado de metodología se realizó en un Laboratorio Comercial. La concentración final en las dietas para camarón fue menor a la esperada, 0, 0.2, 0.6 y 2  $\mu\text{g/g}$  de fumonisina B1. Esto pudo deberse a que se utilizó harina de maíz contaminada con FB1 en la cual la micotoxina no se encontraba distribuida homogéneamente. Sin embargo, estudios anteriores sobre el efecto de la FB1 en el camarón blanco (*L. vannamei*), la dosis mayor utilizada fue de 1  $\mu\text{g/g}$ , encontrándose que a esta dosis se ve afectado el sistema inmune así como la actividad enzimática y las proteínas miofibrilares (Burgos-Hernández *et al.*, 2005; Mexía-Salazar, 2005), por lo que se esperaba detectar efectos negativos sobre el desarrollo del organismo.

#### **Control de Variables Físicoquímicas y Desechos Nitrogenados**

Durante el cultivo de cualquier especie es muy importante tener ciertos controles, para asegurar el crecimiento y supervivencia de éstos (Frías-Espéricueta y Páez-Osuna, 2001). En este tipo de trabajos se debe tener

especial cuidado con estos controles, para poder así establecer el efecto que posea algún factor externo, como el de las micotoxinas en la dieta. Las condiciones de cultivo durante el bioensayo para evaluar el efecto de la fumonisina B1 sobre el camarón blanco, *L. vannamei*, fueron  $4.7 \pm 0.4$  mg/L de oxígeno disuelto, temperatura  $28.9 \pm 0.3$  °C, pH de  $7.9 \pm 0.3$  y  $37.5 \pm 0.5$  ‰ de salinidad.

Los desechos nitrogenados fueron de 0.25 mg/L para el nitrógeno amoniacal y  $2.1 \pm 1$  mg/L para nitritos. Es importante monitorear estos parámetros debido a la toxicidad de los compuestos del nitrógeno excretado. Frías-Espericueta *et al.* (2000) reportaron que los valores de nitrógeno amoniacal no deben ser mayores a 1.2 mg/L. Asimismo, Wickins (1976) reporta que los nitritos deben ser menores de 8.5 mg/L para evitar los efectos tóxicos de estos.

En base a lo anterior, se puede establecer que las condiciones de cultivo durante el bioensayo fueron óptimas para el crecimiento del camarón blanco y que cualquier efecto adverso que se llegue a detectar será por la acción de la fumonisina B1.

### **Evaluación del Desempeño Biológico**

Esta evaluación se hizo en relación al peso ganado, crecimiento y supervivencia del camarón blanco durante el bioensayo. No hubo diferencia

significativa en el peso inicial de los camarones, encontrándose entre 5.5 y 5.7  $\pm$  0.2 g (Figura 5). Asegurándose así que se partió de organismos de la misma talla, ya que se ha reportado que la talla del camarón tiene influencia en la sensibilidad a las micotoxinas (Hlywka *et al.*, 1997; Hartl y Humpf, 2000).

Al final del bioensayo el peso final del camarón (Figura 6) alimentado con la dieta que contenía 0  $\mu$ g/g de FB1 fue de 8.4  $\pm$  1.2 g, mientras que para el que fue alimentado con la dieta de 0.2  $\mu$ g/g fue de 8.4  $\pm$  0.6 g, 7.9  $\pm$  0.6 g para los de la dieta con 0.6  $\mu$ g/g de FB1 y 7.5 para los de la dieta con 2.0  $\mu$ g/g de FB1. No se encontró diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre la ganancia en peso de los camarones alimentados con 0 y 0.2  $\mu$ g/g de FB1 (2.8  $\pm$  1.2 g y 2.5  $\pm$  0.7 g, respectivamente). Sin embargo, entre la dieta con 0, 0.6 y 2.0  $\mu$ g/g de FB1 si hubo diferencia significativa (2.5  $\pm$  0.7g, 2.3  $\pm$  0.6 g y 2  $\pm$  0.7g, respectivamente) en el peso ganado por el camarón (Figura 7).

De acuerdo con los resultados obtenidos la FB1 afecta el crecimiento del camarón blanco, obteniéndose un menor peso a medida que aumentaba la dosis de FB1 en el alimento. Esto puede producir pérdidas significativas para el camaronicultor debido a que el precio del camarón depende en gran medida de su talla, por lo que es indispensable obtener un producto de buen tamaño. La diferencia en el peso ganado del camarón con la dieta que no contenía FB1 y la de 2.0  $\mu$ g/g fue de 0.8 g. Suponiendo que en una granja se cosechen 500 ton



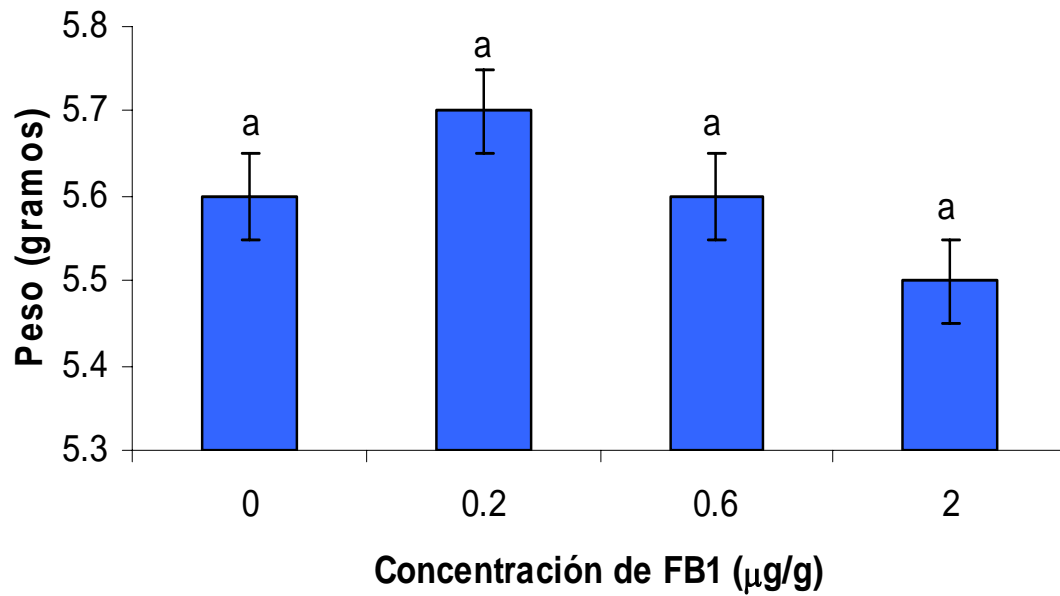


Figura 5. Peso del camarón blanco (*L. vannamei*) al inicio del bioensayo<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Letras iguales indican que no hay diferencia significativa ( $p > 0.05$ ).

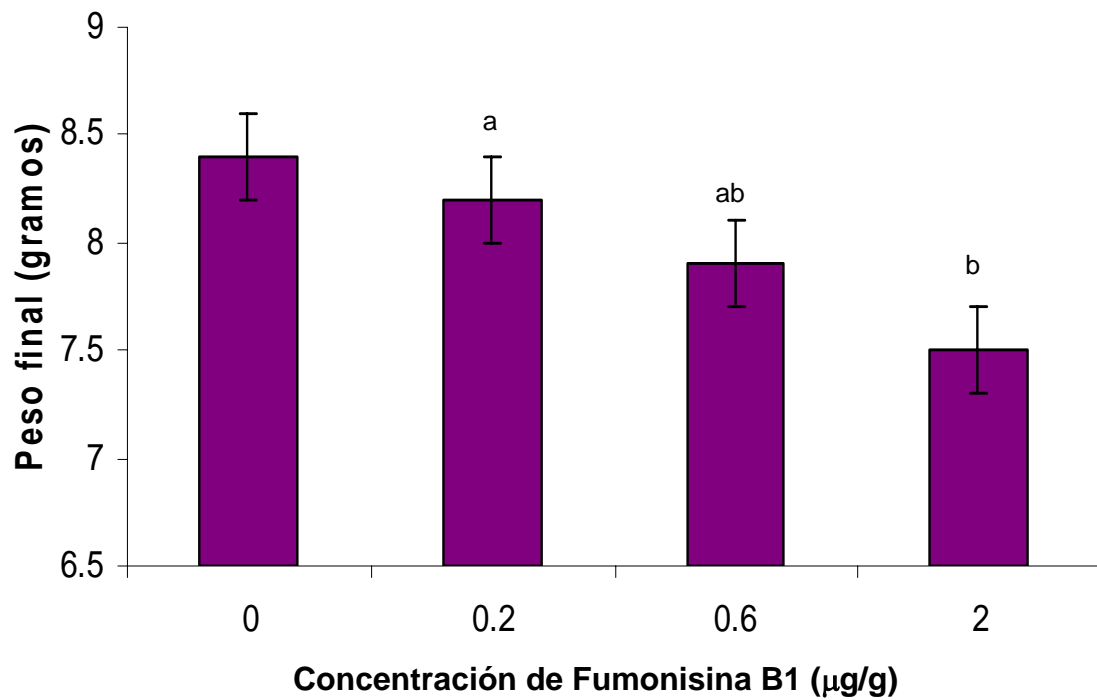


Figura 6. Peso del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) al final del bioensayo<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Letras diferentes indican que hay diferencia significativa entre dosis ( $p > 0.05$ ).

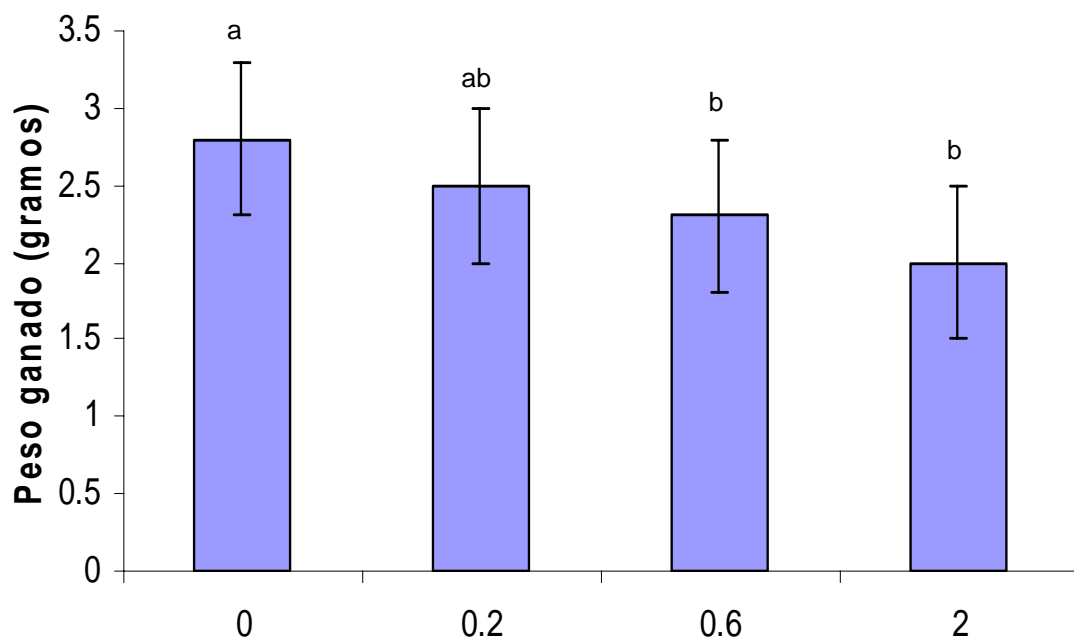


Figura 7. Ganancia en peso del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentado con dietas contaminadas con FB1<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Letras diferentes indican diferencia significativa entre dosis ( $p > 0.05$ ).

de camarón (Granja Camaronícola Gloria, del estado de Nayarit), se tendría una pérdida de 53.55 ton.

Resultados similares se han encontrado en peces como carpa, tilapia y bagre cuando estos fueron alimentados con alimento contaminado con FB1. En tilapia se redujo el crecimiento en un 29.0% cuando fue alimentada con dietas que contenían 70 mg/kg de FB1 (Tuan *et al.*, 2003), mientras que en bagre se ha reportado una reducción en el crecimiento de hasta un 50% con dietas que contienen 80 mg/kg FB1 (Lumlertdacha *et al.*, 1995; Pepeljnjak *et al.*, 2002; Tuan *et al.*, 2003).

La supervivencia de los camarones no se vio afectada por la inclusión de FB1 en la dieta, ya que no se encontró diferencia significativa entre las dosis (Figura 8). Esto podría indicar que si bien, la FB1 no causa la muerte del camarón blanco cuando el alimento está contaminado con hasta 2.0  $\mu\text{g/g}$  de FB1 el crecimiento si se ve afectado, causando una disminución en éste de hasta un 11%, pudiendo causar esto grandes pérdidas para el camaronicultor.

Las razones de porque se presenta esa menor tasa de crecimiento pueden ser variadas. Se ha reportado que la presencia de algunas toxinas presentes en los alimentos van alterar la actividad enzimática en el camarón (Burgos-Hernández *et al.*, 2005), teniendo probablemente como consecuencia que la proteína se destine para mantenimiento y no para crecimiento. También hay reportes de que la fosfatasa alcalina se ve afectada por las micotoxinas, la

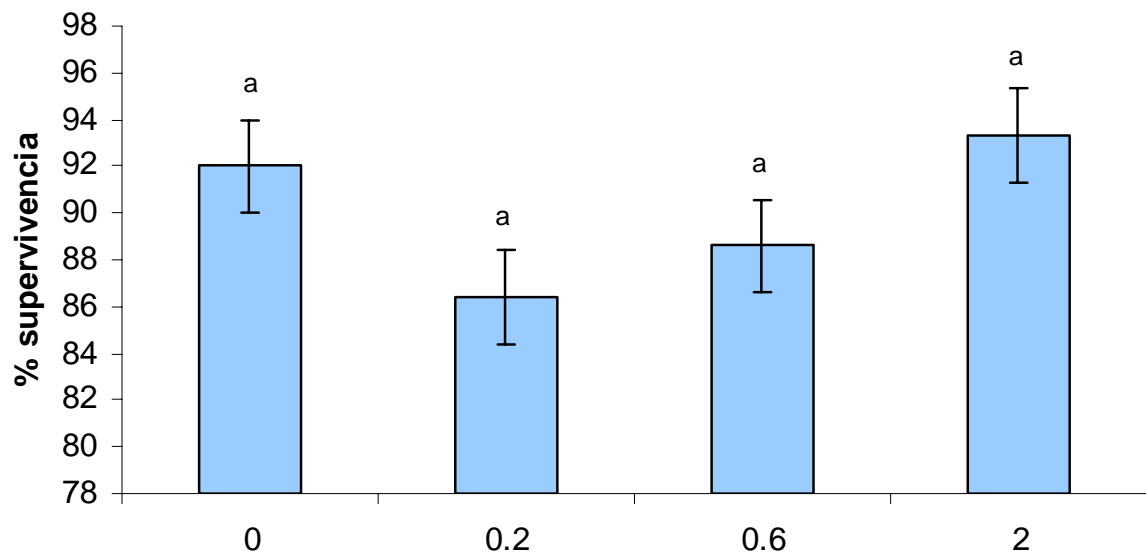


Figura 8. Supervivencia del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentado con dietas contaminadas con FB1<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Letras iguales indica que no hay diferencia significativa entre dosis ( $p>0.05$ ).

cual juega un papel importante durante la fase de detoxificación de los organismos (Boonyaratpalin *et al.*, 2001). Sin embargo faltaría realizar otro tipo de estudios para esclarecer de qué manera afecta la presencia de la fumonisina B1 el metabolismo de los camarones.

### **Análisis en el Músculo de Camarón Durante el Bioensayo**

Además de las alteraciones en la ganancia en peso durante el bioensayo, el músculo del organismo puede verse afectado por la presencia de compuestos tóxicos (Mexía-Salazar, 2005), relacionado esto principalmente con las proteínas que conforman el tejido.

**Concentración de Proteína en el Músculo.** En cuanto a la concentración de proteína soluble en el músculo se obtuvo lo siguiente, al inicio se detectaron concentraciones de 206 mg/ml, posteriormente a los 15 días de bioensayo, ésta concentración aumentó significativamente ( $p < 0.05$ ), 526, 500, 828 y 644 mg/ml de proteína en los camarones alimentados con dietas que contenían 0, 0.2, 0.6 y 2.0  $\mu\text{g/g}$  de FB1, respectivamente (Figura 9). Siendo más notorio este aumento en los organismos alimentados con 0.6 y 2  $\mu\text{g/g}$  de FB1. Este incremento sugiere por un lado que los organismos estaban creciendo. Sin embargo, debido a que los camarones alimentados con dietas conteniendo FB1, mostraron una menor tasa de crecimiento, también hace

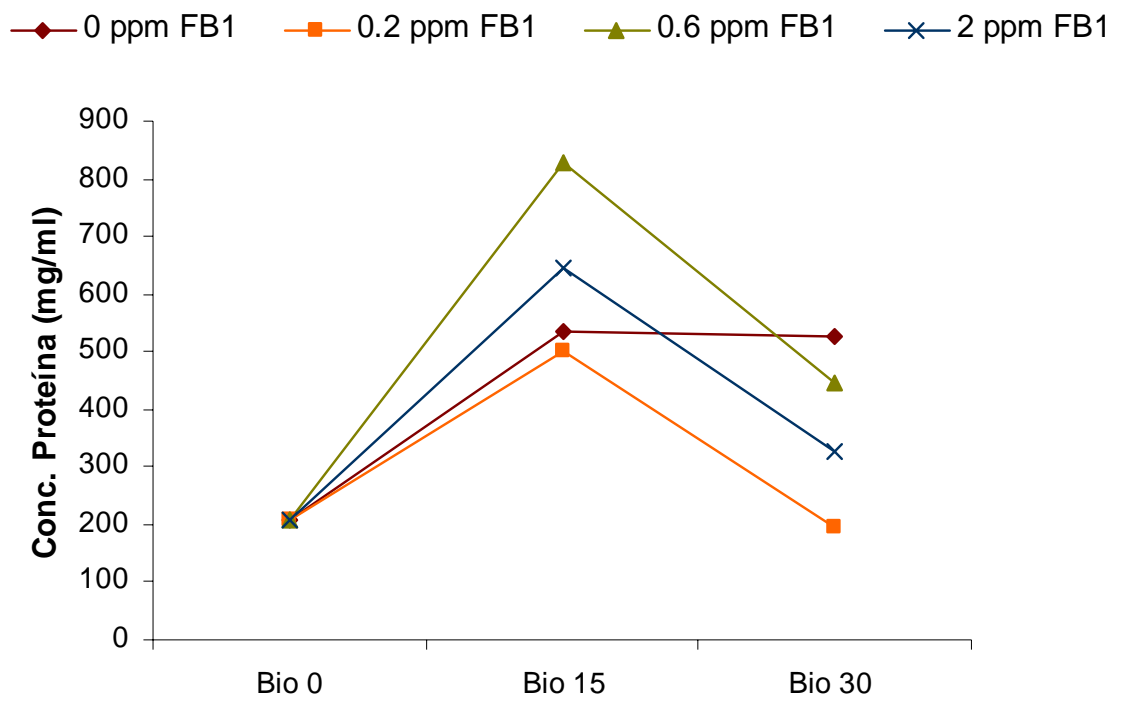


Figura 9. Efecto de la FB1 sobre las proteínas del músculo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*).

suponer que la presencia de ésta micotoxina indujo alteraciones en el sistema de aprovechamiento de la proteína, ya que al final del bioensayo los valores detectados en los camarones alimentados con la dieta control, es decir en ausencia de FB1, permanecieron constantes (526 mg/ml). En los organismos alimentados con 0.2, 0.6 y 2.0  $\mu\text{g/g}$  de FB1 se detectó una aparente disminución en la concentración de la proteína 194, 446 y 326 mg/ml, respectivamente.

El comportamiento antes mencionado, hace suponer que la FB1 causó alteraciones estructurales, con lo cual se vieron afectadas las interacciones entre proteínas, ocasionando una menor solubilización de éstas en las soluciones salinas que se utilizan para extraerlas (Sriket *et al.*, 2007).

Este tipo de fenómeno se ha detectado por la acción de toxinas de algunas bacterias en seres humanos, las cuales inducen cambios en las superficies celulares ([www.chembio.uoguelph.ca/merrill/research](http://www.chembio.uoguelph.ca/merrill/research)). También, como se mencionó anteriormente probablemente la FB1 está alterando las enzimas que participan en el metabolismo energético de los camarones, induciendo cambios como los mencionados anteriormente. De nueva cuenta, ya que este tipo de trabajos son prácticamente pioneros en el estudio de camarones, es necesario realizar más estudios para esclarecer como afecta la FB1 a las proteínas del músculo de camarón.



**Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB).** Se evaluó la estabilidad de las proteínas del camarón blanco cuando éste es alimentado con dietas contaminadas con FB1 mediante la técnica de CDB. Esta técnica mide la cantidad de energía que se desprende o absorbe cuando la muestra es calentada, enfriada o mantenida a temperatura constante (Rouzaud *et al.*, 1995).

Los termogramas del músculo de camarón blanco presentaron tres picos endotérmicos, los cuales corresponden a las transiciones de la miosina (pico I) proteínas del estroma y/o sarcoplasmáticas (pico II) y actina (pico III) (Paredi *et al.*, 1996; Rivas-Vega *et al.*, 2001; Ramírez-Olivas *et al.*, 2004). Al inicio del bioensayo la temperatura máxima ( $T_{max}$ ) del pico de la miosina fue de 52°C con una entalpía de 0.11 J/g; en el pico II la  $T_{max}$  fue de 71°C con una entalpía de 0.11, y para el pico III la  $T_{max}$  fue de 85 con una entalpía de 0.2 J/g.

A los 15 días del bioensayo se detectaron también 3 picos endotérmicos (Tabla 1). En el pico I se obtuvieron  $T_{max}$  de 51°C, 51°C, 50.5°C y 50.5°C para los camarones alimentados con 0 µg/g, 0.2 µg/g, 0.6 µg/g y 2.0 µg/g de FB1 respectivamente. Como se puede apreciar hubo una disminución en la temperatura máxima, sin embargo se requiere una mayor cantidad de energía para desnaturalizarla, ya que las entalpías fueron de 0.54 J/g para los camarones alimentados sin FB1, 0.64 J/g para los que fueron alimentados con 0.2 µg/g, 0.70 J/g cuando la dieta contenía 0.6 µg/g de FB1 y 0.85 J/g en los

camarones alimentados con la dieta con 2.0  $\mu\text{g/g}$  de FB1. No hubo diferencia significativa entre la entalpía al inicio del bioensayo y las entalpías obtenidas a los 15 días en los camarones alimentados con las diferentes dosis de FB1, pero si se encontraron diferencia significativa en las entalpías entre las dosis.

Conforme aumentó la cantidad de FB1 en el alimento, la energía que se requirió para desnaturalizar a la miosina fue mayor. Estos resultados coinciden con los reportados por Mexía-Salazar (2005), quien después de alimentar al camarón blanco (*L. vannamei*) por 8 días con dietas contaminadas con FB1, observó un aumento en la entalpía de la dieta que tenía la mayor concentración de FB1 (1 $\mu\text{g/g}$ ).

Cuando finalizó el bioensayo (30 días), en el pico I correspondiente a la miosina, se tuvo una  $T_{\text{max}}$  y entalpía de 50.5°C y 0.55 J/g respectivamente para el camarón alimentado con 0  $\mu\text{g/g}$  de FB1. Para los organismos alimentados con FB1 se presentaron los siguientes valores: 0.2  $\mu\text{g/g}$  de FB1 a 51°C y 0.61 J/g; 0.6  $\mu\text{g/g}$  de FB1 a 51°C y 0.83 J/g; finalmente con 2.0  $\mu\text{g/g}$ , 50°C y 0.93 J/g. Al igual que a los 15 días de bioensayo, la temperatura máxima fue menor a la de los camarones al inicio del bioensayo, mientras que la entalpía aumentó según iba aumentando la concentración de FB1 en la dieta. No se detectó diferencia significativa ( $p>0.05$ ) entre las entalpía al inicio del bioensayo y al final del mismo. Sin embargo, si se obtuvo diferencia significativa ( $p<0.05$ ) entre las dosis (Tabla 1). El hecho de que se hubiese requerido una mayor

Tabla 1. Temperatura máxima y entalpías de desnaturalización de las proteínas del músculo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentado con dietas contaminadas con fumonisina B1 durante el bioensayo.

Concentración de FB1 en la dieta (µg/g)	Pico I		Pico II		Pico III	
	Entalpía (J/g)	Tmax (°C)	Entalpía (J/g)	Tmax (°C)	Entalpía (J/g)	Tmax (°C)
<b>Inicio Bio</b>	0.11 <sup>a</sup>	52 <sup>a</sup>	0.11 <sup>a</sup>	71	0.2 <sup>a</sup>	85
<b>Bio 15</b>						
0 FB1	0.54 <sup>b</sup>	50 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	ND
0.2 FB1	0.64 <sup>b</sup>	51 <sup>a</sup>	8.2 E-02 <sup>b</sup>	71 <sup>a</sup>	0.11 <sup>a</sup>	85 <sup>a</sup>
0.6 FB1	0.70 <sup>cb</sup>	50 <sup>a</sup>	9.4 E-02 <sup>b</sup>	71 <sup>a</sup>	0.18 <sup>a</sup>	85 <sup>a</sup>
2.0 FB1	0.85 <sup>c</sup>	50 <sup>a</sup>	0.34 <sup>a</sup>	58 <sup>b</sup>	0.27 <sup>a</sup>	85 <sup>a</sup>
<b>Bio 30</b>						
0 FB1	0.55 <sup>b</sup>	50.5 <sup>a</sup>	0.14 <sup>a</sup>	70 <sup>a</sup>	0.13 <sup>a</sup>	84 <sup>a</sup>
0.2 FB1	0.61 <sup>b</sup>	51 <sup>a</sup>	0.11 <sup>a</sup>	67 <sup>a</sup>	0.10 <sup>a</sup>	83 <sup>a</sup>
0.6 FB1	0.83 <sup>c</sup>	51 <sup>a</sup>	0.20 <sup>a</sup>	70 <sup>a</sup>	0.13 <sup>a</sup>	83 <sup>a</sup>
2.0 FB1	0.93 <sup>c</sup>	50 <sup>a</sup>	0.14 <sup>a</sup>	70 <sup>a</sup>	0.17 <sup>a</sup>	84 <sup>a</sup>

ND = No detectado

<sup>a</sup> Letras iguales entre renglones indica que no se encontró diferencia significativa (p>0.05).

energía para desnaturalizar a la miosina presente en el músculo de los camarones alimentados con FB1, no necesariamente significa que esta sea más estable. Este comportamiento puede atribuirse a que la presencia de la FB1 esta causando alteraciones conformacionales en las proteínas, como ya se mencionó anteriormente. Esto se puede relacionar con el menor desarrollo detectado en los organismos alimentados con FB1. Sin embargo, para determinar de qué manera afectan la FB1 a las proteínas del camarón es necesario realizar otro tipo de estudio, como un análisis de infrarrojo para ver el tipo de interacciones que se están dando.

**Electroforesis en gel SDS-Poliacrilamida.** El típico patrón electrofórico de las proteínas miofibrilares consiste en 2 bandas principales, el de la cadena pesada de la miosina y la actina (Sotelo *et al.*, 2000). En el perfil electrofórico del camarón blanco (*L. vannamei*) alimentado con dietas conteniendo diferentes dosis de FB1 se observó este patrón. En la Figura 10 se observa el densitograma del gel obtenido con los camarones al inicio del bioensayo. La banda a los 200 kDa corresponde a la cadena pesada de miosina (CPM), a los 45 kDa se detecta la actina, las bandas detectadas en el rango de 20 a 30 kDa se han atribuido a la cadena ligera de miosina (CLM) (Crupkin *et al.*, 1982; Stefansson y Hultin, 1994; Sotelo *et al.*, 2000).

A los 15 y 30 días de bioensayo se observó el mismo patrón electrofórico en los geles de los extractos de camarones alimentados con dietas conteniendo diferente dosis de FB1, se logró observar la banda de la

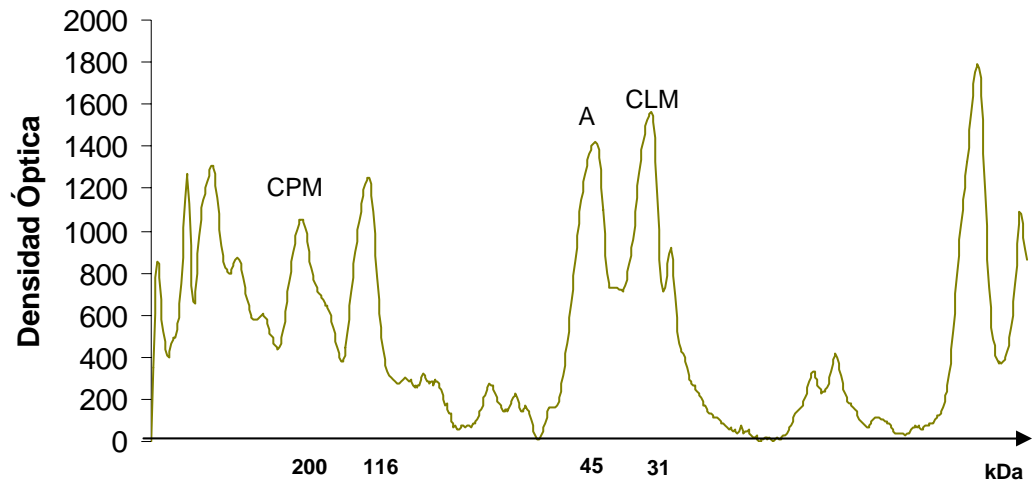


Figura 10. Densitograma de las proteínas del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) al inicio del bioensayo.

cadena pesada de miosina, de la actina y de la cadena ligera de miosina (Figuras 11, 12, 13 y 14).

A pesar de que no se apreciaron cambios en los geles realizados, cuando éstos fueron analizados en un densitómetro se detectó que la densidad óptica de las bandas presentaba ligeras diferencias en la intensidad de las mismas, principalmente en la correspondiente a la cadena pesada de miosina. La densidad óptica está directamente relacionada con la concentración de proteína en la banda (Sotelo *et al.*, 2000). En cuanto a la banda correspondiente a la actina, ésta permaneció sin cambios. Se ha reportado anteriormente que esta fracción proteica es más estable que la miosina y el colágeno (Mexía-Salazar, 2005). Estos resultados sugieren que la principal fracción proteica afectada por la presencia de FB1 en la dieta es la miosina.

**Firmeza.** Como se menciona en el apartado de materiales y métodos, la resistencia al corte (o firmeza) del músculo de camarón, es un importante atributo sensorial, el cual está relacionado con la integridad de las proteínas miofibrilares así como con las proteínas del tejido conectivo. Al medir la resistencia al corte de los camarones durante el bioensayo, se encontró que ésta fue aumentando. Se ha reportado que el crecimiento del camarón involucra un incremento en el tamaño de las fibras musculares por lo cual se requerirá mayor fuerza para romper el tejido conforme el organismo se vaya desarrollando (Dunajski, 1979).

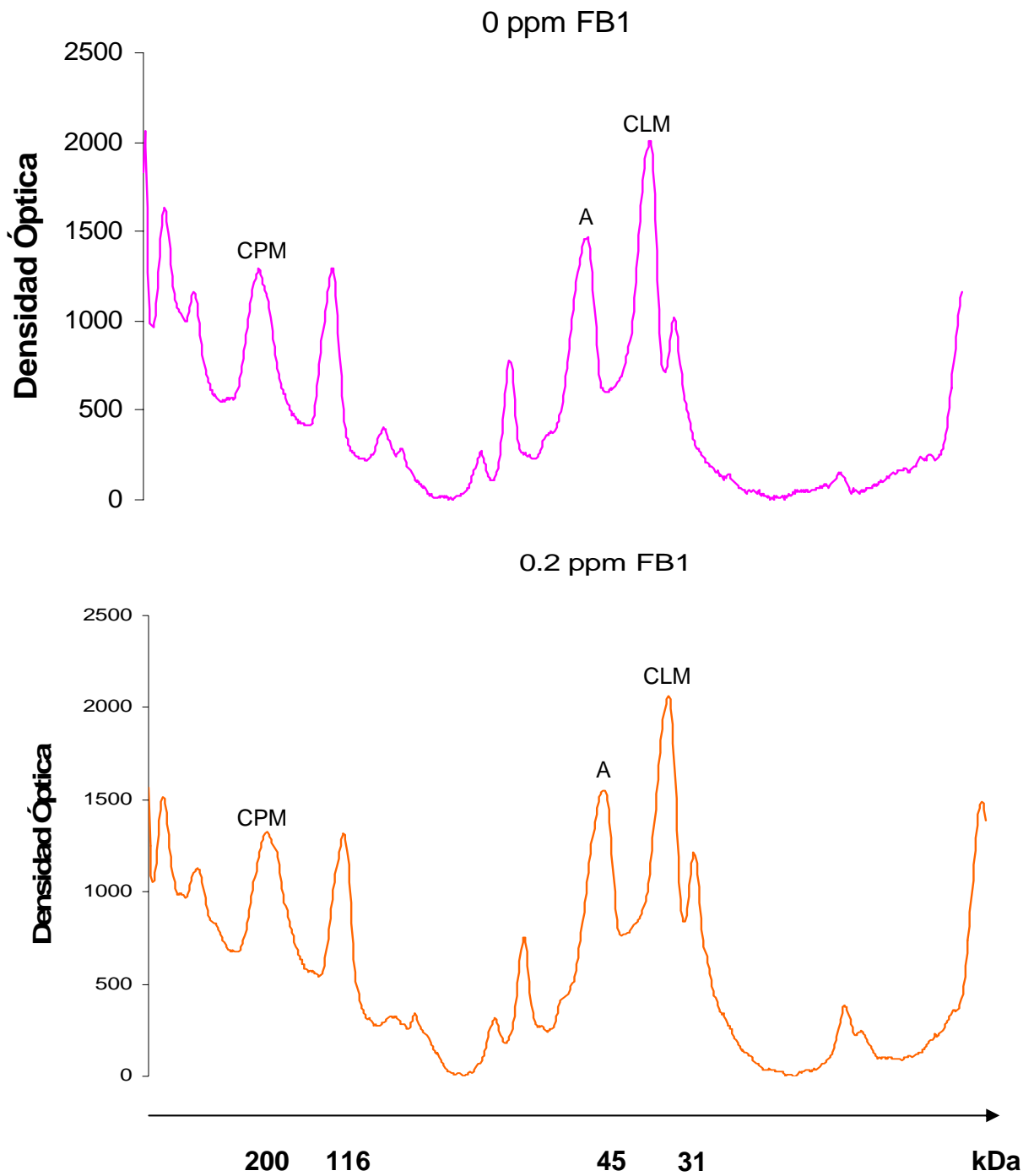


Figura 11. Densitogramas de las proteínas del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentado con dietas conteniendo diferente dosis de fumonisina B1 a los 15 días del bioensayo.

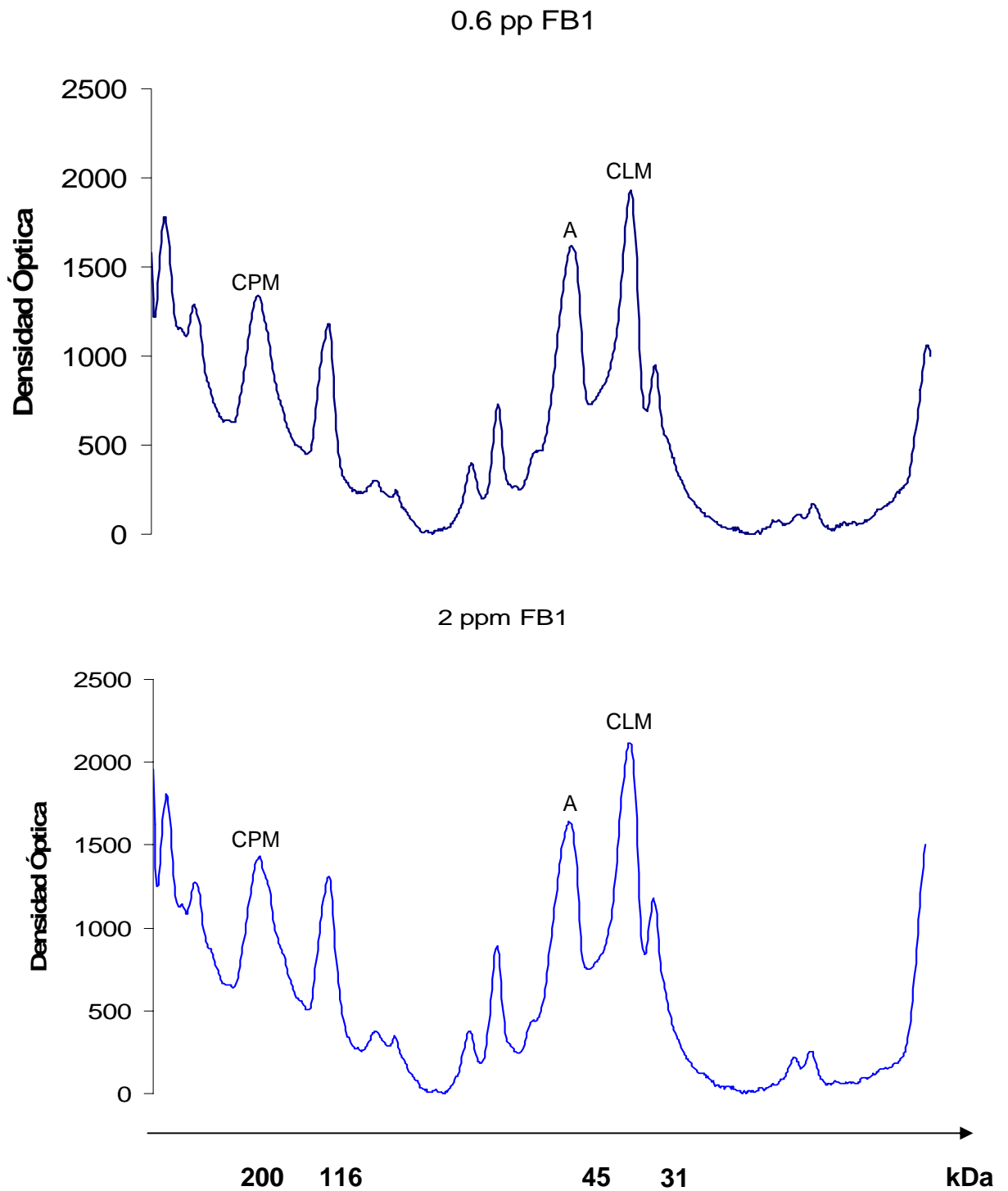


Figura 12. Densitogramas de las proteínas del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentado con dietas conteniendo diferente dosis de fumonisina B1 a los 15 días del bioensayo.



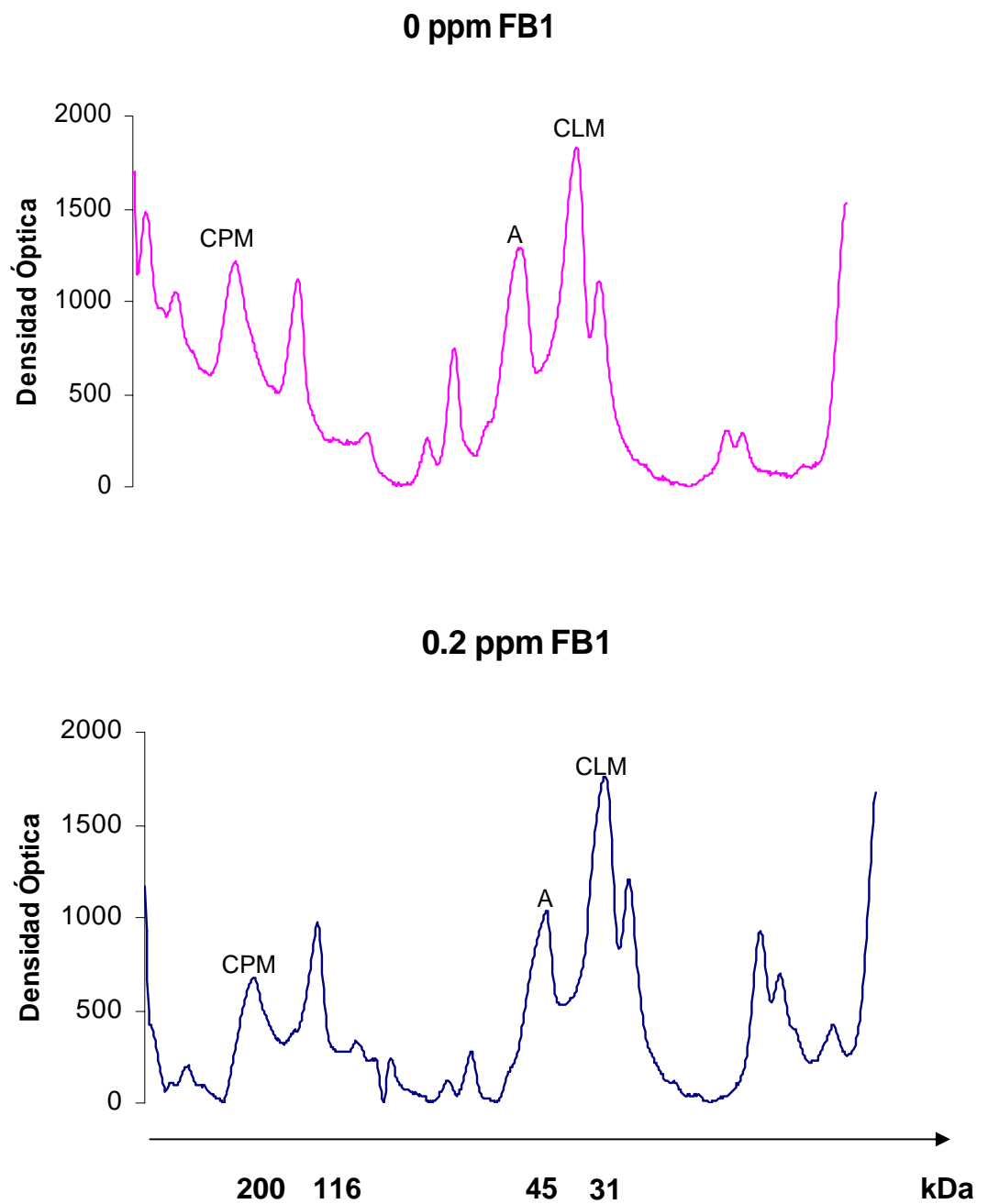


Figura 13. Densitogramas de las proteínas del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentado con dietas conteniendo diferente dosis de fumonisina B1 a los 30 días del bioensayo.

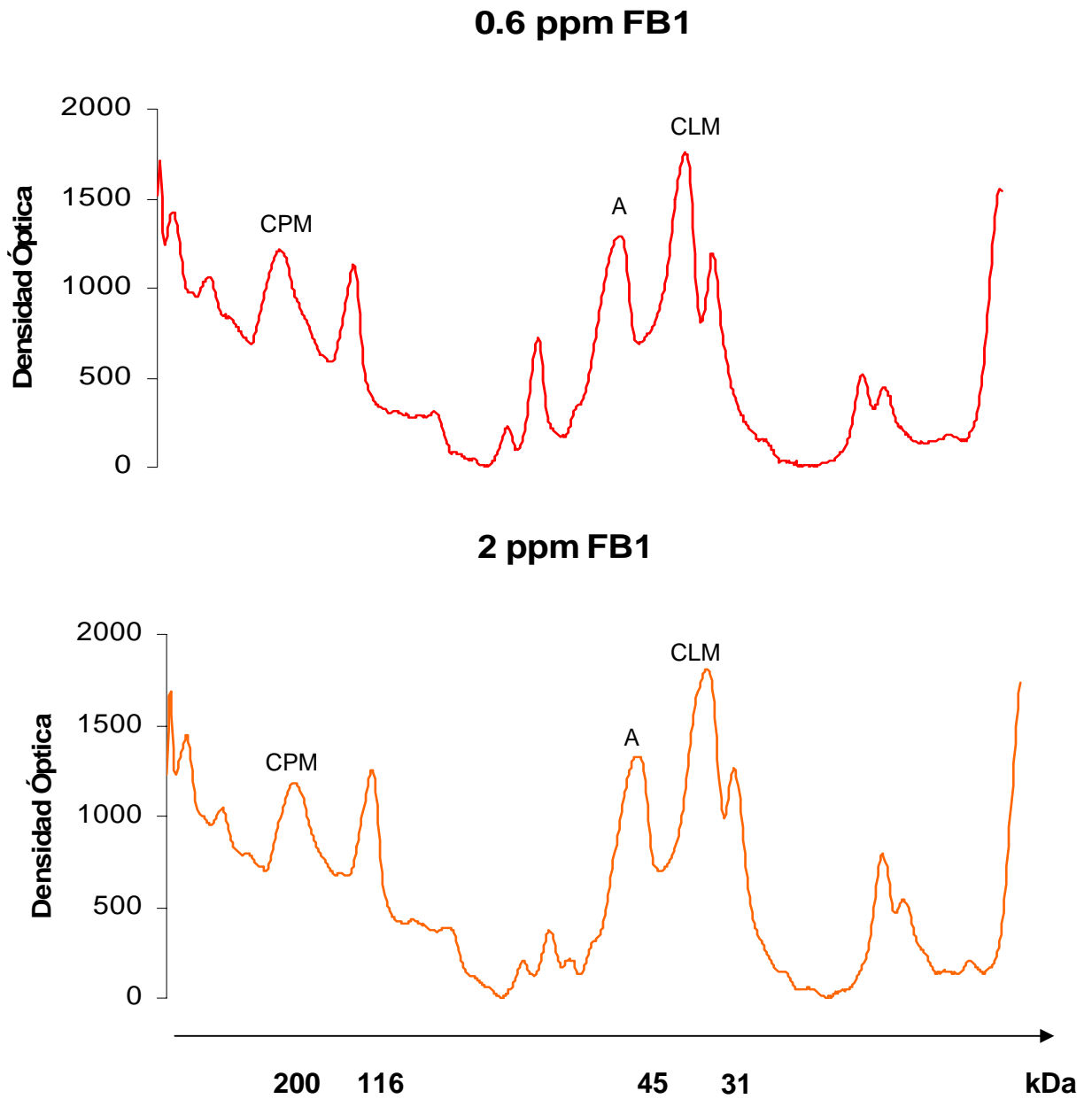


Figura 14. Densitogramas de las proteínas del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentado con dietas conteniendo diferente dosis de fumonisina B1 a los 30 días del bioensayo.

En el camarón, al inicio del bioensayo presentó una firmeza fue de  $0.483 \pm 0.12$  lb/fuerza; cuando se midió la firmeza al camarón a los 15 días del bioensayo esta fue de  $0.610 \pm 0.12$  lb/fuerza,  $0.670 \pm 0.033$  lb/fuerza,  $0.635 \pm 0.15$  lb/fuerza y  $0.701 \pm 0.10$  lb/fuerza para los camarones alimentados con dietas conteniendo  $0 \mu\text{g/g}$ ,  $0.2 \mu\text{g/g}$ ,  $0.6 \mu\text{g/g}$  y  $2.0 \mu\text{g/g}$  de FB1, respectivamente.

Al medir la firmeza a los 30 días de bioensayo, los resultados para la dieta sin FB1 fueron de  $0.780 \pm 0.18$  lb/fuerza, siendo similares a la de los organismos alimentados con dietas conteniendo FB1, ya que cuando se tenían  $0.2 \mu\text{g/g}$  de FB1, el valor detectado fué de  $0.715 \pm 0.062$  lb/fuerza, de  $0.88 \pm 0.20$  en los de la dieta con  $0.6 \mu\text{g/g}$  FB1, y de  $0.755 \pm 0.08$  lb/fuerza para los de  $2.0 \mu\text{g/g}$  de FB1. En la Figura 15 se muestra la gráfica de la resistencia al corte del camarón blanco durante el bioensayo.

Como se puede observar en la gráfica durante los primeros días del bioensayo se dió un incremento en la resistencia al corte, de igual manera a los 30 días se observó un aumento en la firmeza en los diferentes tratamientos evaluados. Se detectó una aparente mayor resistencia al corte en los organismos alimentados con  $0.6 \text{ ppm}$  FB1, sin embargo los resultados no fueron estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ). Esto sugiere que a pesar de que se observaron cambios en el crecimiento y en la solubilidad de las proteínas, estos cambios no afectaron a la firmeza, probablemente se requiera más tiempo o mayores dosis de exposición para que los cambios pudieran detectarse.

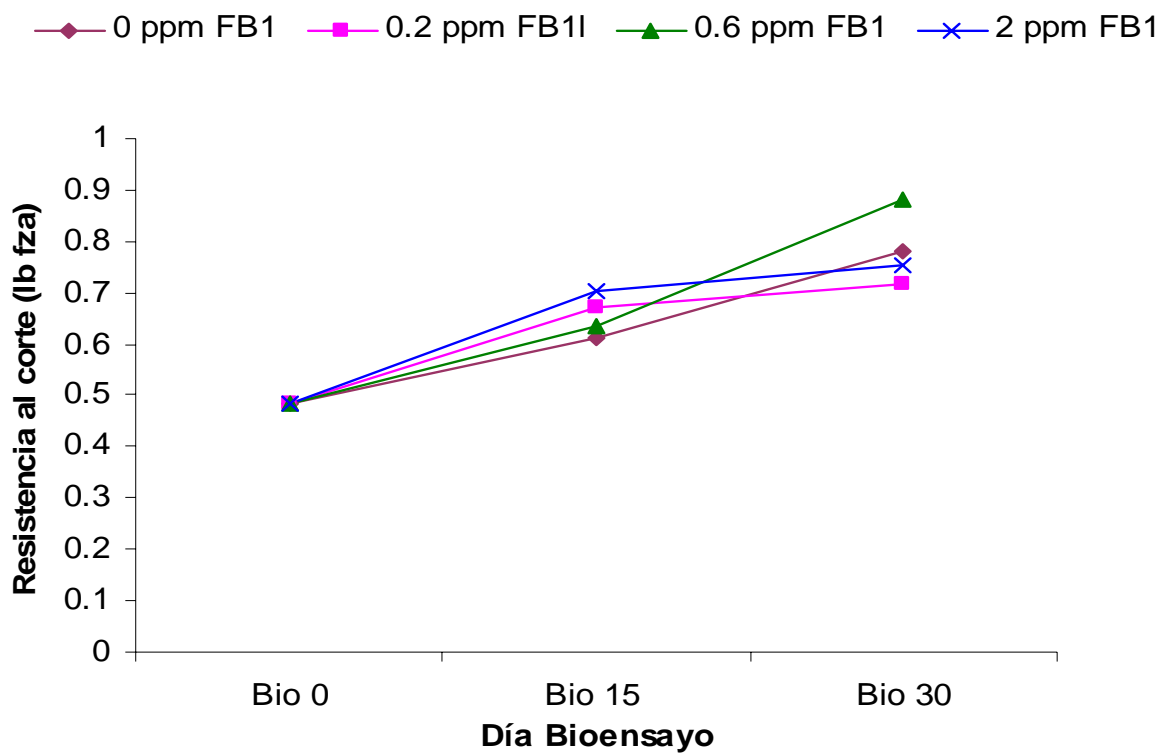


Figura 15. Resistencia al corte del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentado con dietas contaminada con diferentes dosis de fumonisina B1.

## **Determinación de la Actividad Enzimática en Hepatopáncreas**

Se determinó la actividad de la enzima tripsina y de proteasas totales en hepatopáncreas de los camarones después de haber sido alimentados por 30 días con dietas contaminadas con diferente dosis de FB1, ya que se ha reportado que las micotoxinas causan alteración en el funcionamiento de las enzimas digestivas (Burgos-Hernández *et al.*, 2005).

El camarón realiza la degradación del alimento por acción de las enzimas digestivas procedentes del hepatopáncreas, estas enzimas son proteasas, carbohidrasas y lipasas principalmente. Debido a que estos organismos utilizan las proteínas para mantenimiento, crecimiento y como fuente de energía las proteasas juegan un papel importante en su metabolismo (Cruz-Suárez, 1998; Yan *et al.*, 1997; Burgos-Hernandez *et al.*, 2005).

Se ha reportado en el camarón, actividad de enzimas proteolíticas tales como tripsina, quimiotripsina, carboxipeptidasas A y actividad tipo-pepsina (Yan *et al.*, 1994; Cruz-Suárez, 1998; Ceccaldi, 1997). La tripsina representa por si sola el 60% de la actividad proteásica del hepatopáncreas del camarón; por lo cual ésta enzima es de suma importancia para el correcto desarrollo del organismo (Cruz-Suárez, 1998; Burgos-Hernández *et al.*, 2005).

Bajo las condiciones de este estudio no hubo diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la actividad de tripsina, ni en la actividad de proteasas totales ( $p < 0.05$ ) del hepatopáncreas del camarón alimentado con dietas

contaminadas con diferentes dosis de FB1 (0, 0.2, 0.6 y 2.0  $\mu\text{g/g}$ ) (Tabla 2). Estos resultados coinciden en cuanto a la actividad de tripsina se refiere, con los reportados por Burgos-Hernández et al. (2005) quienes encontraron que la FB1 no afectaba la actividad de esta enzima cuando fue expuesta a diferente concentración de la micotoxina (0.25, 0.5, y 1.0  $\mu\text{g/g}$ ).

Estos resultados nos indican que bajo las condiciones de este estudio, no se ve afectada la actividad de las principales enzimas digestivas. Tal vez éste metabolito está afectando otro tipo de enzimas relacionadas con la utilización de proteínas, ocasionando con esto los cambios en estabilidad de las proteínas y crecimiento del camarón mencionados anteriormente.

### **Almacenamiento en Hielo**

#### **Análisis en el Músculo de Camarón Durante el Almacenamiento en Hielo**

Una vez concluido el bioensayo los camarones fueron cosechados y almacenados en hielo, ya que es frecuente la utilización de este para conservarlos cuando son comercializados inmediatamente después de su cosecha, o bien, mientras son transportados a las plantas donde serán procesados.

**Concentración de Proteína en el Músculo.** Al hacer esta determinación se obtuvo que en el camarón recién cosechado, la concentración de proteína era de 526, 194, 446 y 326 mg/ml cuando fueron

Tabla 2. Actividad enzimática del hepatopáncreas del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentado con dietas contaminadas con fumonisina B1.

Concentración de FB1 en la dieta ( $\mu\text{g/g}$ )	mg Proteína	Proteasas		Tripsina	
		Unidades	U específicas	Unidades	U específicas
0 FB1	0.262	$0.1150 \pm 0.003^a$	$0.4389 \pm 0.01^a$	$0.013 \pm 0.0011^a$	$0.169 \pm 0.01^a$
0.2 FB1	0.215	$0.1154 \pm 0.016^a$	$0.5369 \pm 0.08^a$	$0.011 \pm 0.0003^a$	$0.177 \pm 0.01^a$
0.6 FB1	0.253	$0.1161 \pm 0.012^a$	$0.4588 \pm 0.05^a$	$0.014 \pm 0.0016^a$	$0.189 \pm 0.02^a$
2.0 FB1	0.253	$0.0874 \pm 0.004^a$	$0.3453 \pm 0.02^a$	$0.012 \pm 0.0009^a$	$0.167 \pm 0.01^a$

Unidades =  $\text{Abs}_{420}\text{nm}/\text{min}$

U específicas =  $\text{Abs}_{420}\text{nm}/\text{min}/\text{mg}$  proteínas

Promedio de tres determinaciones

Diferentes letras entre renglones indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

alimentados con 0, 0.2, 0.6 y 2.0  $\mu\text{g/g}$  de FB1, respectivamente. Se detectó un incremento en la concentración de proteína después de 4 días de almacenamiento, el cual no fué estadísticamente significativo entre dosis ( $p>0.05$ ). Después se observó una disminución en la proteína, la cual se mantuvo constante hasta los 12 días de almacenamiento. De nueva cuenta no se detectó diferencia significativa en los valores entre dosis (Figura 16).

Se ha reportado que durante los primeros días del almacenamiento en hielo de organismos marinos se da una hidrólisis de las proteínas miofibrilares causada principalmente por enzimas proteolíticas endógenas, como catepsinas y calpainas (Benjakul *et al.*, 1997; Martínez *et al.*, 2001; Tironi *et al.*, 2002; Yongswawatdigul y Park, 2002). Esta pérdida en la integridad de las proteínas miofibrilares indica un desdoblamiento parcial de éstas, lo cual puede contribuir a que incremente la concentración de proteína soluble. Al darse este desdoblamiento algunos grupos hidrofóbicos son expuestos en la superficie molecular, pudiéndose dar interacciones entre dichos grupos viéndose reflejado esto en una disminución de la solubilidad de las proteínas (Yongswawatdigul y Park, 2002; Sriket *et al.*, 2007).

De acuerdo a los resultados obtenidos, se observaron modificaciones en la extracción de proteínas durante el almacenamiento en hielo, dichas modificaciones ocurren normalmente durante el almacenamiento en hielo, esto nos sugiere que la presencia de FB1 en las dietas del camarón blanco no afectó



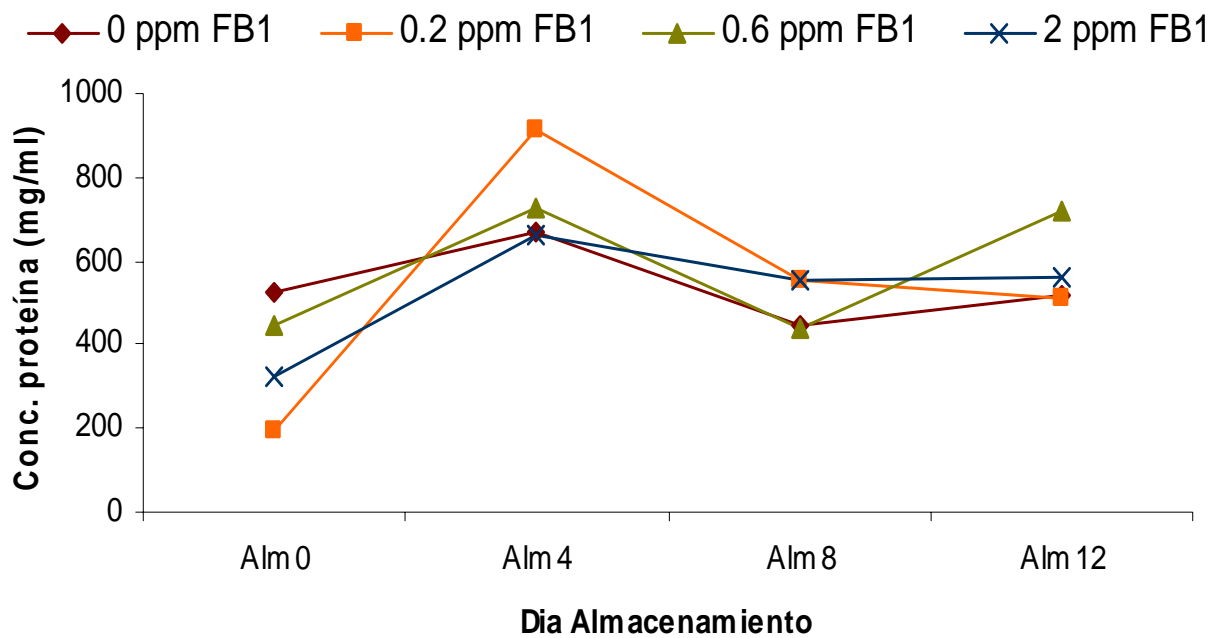


Figura 16. Efecto de la fumonisina B1 sobre la concentración de proteína del músculo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*)

la solubilización de las proteínas durante el almacenamiento en hielo, al menos bajo las condiciones de este estudio.

**Calorimetría Diferencial de Barrido (CBD).** En lo que respecta a las propiedades térmicas de las proteínas del camarón durante el almacenamiento en hielo, se encontraron al igual que en el bioensayo, tres picos endotérmicos, los cuales coinciden con los reportados para miosina (pico I), proteínas sarcoplasmáticas y/o estromales (pico II) y actina (pico III) (Paredi *et al.*, 1996; Rivas-Vega *et al.*, 2001; Ramírez-Olivas *et al.*, 2004).

Al inicio del almacenamiento se obtuvo para el pico correspondiente a la miosina (pico I) una entalpía de 0.55 J/g en el camarón alimentado con la dieta conteniendo 0 µg/g de FB1; para el que fue alimentado con 0.2 µg/g de FB1 la entalpía fue de 0.61 J/g; de 0.83 y 0.93 J/g para los camarones alimentados con dietas contaminadas con 0.6 y 2.0 µg/g de FB1, respectivamente. Después de ser almacenados en hielo por 12 días se encontraron entalpías de 0.22, 0.55, 0.58 y 0.55 J/g para los camarones alimentados con 0, 0.2, 0.6 y 2.0 µg/g de FB1 respectivamente (Tabla 3).

Se observó un efecto significativo del tiempo de almacenamiento sobre las entalpías de transición de los 3 picos encontrados en los termogramas del camarón blanco, ya que entre muestreos se detectó diferencia significativa en la entalpía ( $p < 0.05$ ), independientemente de la dosis de FB1 suministrada en la dieta del camarón, la cual tendió a disminuir conforme aumentaba el tiempo de almacenamiento en hielo.

Tabla 3. Temperatura máxima y entalpías de desnaturalización de las proteínas del músculo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentado con dietas contaminadas con fumonisina B1 durante el almacenamiento en hielo.

Concentración de FB1 en la Dieta ( $\mu\text{g/g}$ )	Pico I		Pico II		Pico III	
	Entalpía (J/g)	Tmax ( $^{\circ}\text{C}$ )	Entalpía (J/g)	Tmax ( $^{\circ}\text{C}$ )	Entalpía (J/g)	Tmax ( $^{\circ}\text{C}$ )
<b>Alm 0</b>						
0 FB1	0.55 <sup>a</sup>	50.5 <sup>a</sup>	0.58 <sup>a</sup>	71 <sup>a</sup>	0.45 <sup>a</sup>	85 <sup>a</sup>
0.2 FB1	0.61 <sup>a</sup>	51 <sup>a</sup>	0.14 <sup>a</sup>	72 <sup>a</sup>	ND	ND
0.6 FB1	0.83 <sup>b</sup>	51 <sup>a</sup>	0.38 <sup>a</sup>	71 <sup>a</sup>	0.11 <sup>b</sup>	80 <sup>a</sup>
2.0 FB1	0.93 <sup>b</sup>	50 <sup>a</sup>	0.17 <sup>a</sup>	70 <sup>a</sup>	0.11 <sup>b</sup>	85 <sup>a</sup>
<b>Alm 12</b>						
0 FB1	0.22 <sup>d</sup>	49 <sup>a</sup>	0.14 <sup>b</sup>	70 <sup>a</sup>	0.13 <sup>b</sup>	84 <sup>a</sup>
0.2 FB1	0.55 <sup>a</sup>	48 <sup>a</sup>	0.11 <sup>b</sup>	67 <sup>a</sup>	0.10 <sup>b</sup>	83 <sup>a</sup>
0.6 FB1	0.58 <sup>c</sup>	49 <sup>a</sup>	0.20 <sup>b</sup>	70 <sup>a</sup>	0.13 <sup>b</sup>	83 <sup>a</sup>
2.0 FB1	0.55 <sup>c</sup>	49 <sup>a</sup>	0.14 <sup>b</sup>	70 <sup>a</sup>	0.17 <sup>b</sup>	84 <sup>a</sup>

Promedio de tres determinaciones

ND = No detectado

<sup>a</sup> Letras diferentes entre renglones indica que se encontró diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

Estos resultados encontrados por CDB pueden relacionarse con los observados en concentración de proteína, ya que conforme transcurre el tiempo de almacenamiento la proteína requiere mayor energía para ser desnaturalizada y se está extrayendo una menor concentración de proteína, lo cual puede relacionarse con agregación proteica como se menciono anteriormente.

**Electroforesis en Gel SDS-Poliacrilamida.** Durante el almacenamiento en hielo se obtuvo el típico patrón electrofóretico para proteínas miofibrilares. En las figuras 17 y 18 se muestran los densitogramas obtenidos para los camarones al inicio del almacenamiento en hielo. Al igual que en la electroforesis hecha durante el bioensayo, el perfil electrofóretico encontrado cuando los camarones fueron alimentados con diferentes dosis de FB1 fué el mismo. Cuando estas fueron analizadas en el densitómetro no se encontró diferencia en cuanto a la intensidad de las bandas entre dosis. Como se mencionó anteriormente, dicha intensidad está relacionada con la concentración de proteína en la banda (Sotelo *et al.*, 2000). En las figuras 19 y 20 se muestran los densitogramas obtenidos para los camarones almacenados por 12 días en hielo, encontrándose una disminución en la intensidad de las bandas, con respecto a la de 0 días de almacenamiento, sin presentarse cambios en la intensidad de las bandas entre dosis de FB1 administrada en la dieta.

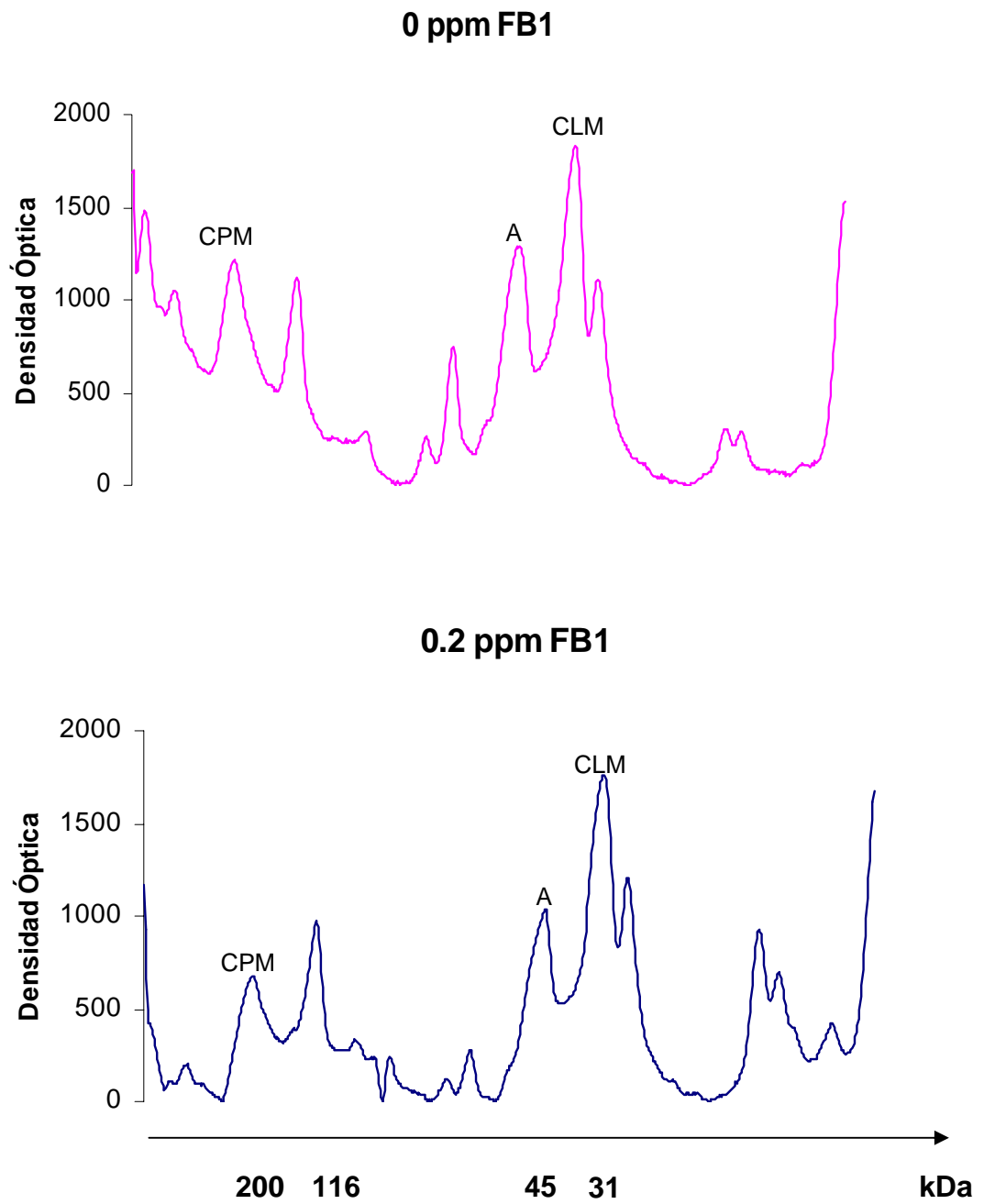


Figura 17. Densitogramas de las proteínas del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentado con dietas conteniendo diferentes dosis de FB1 al inicio del almacenamiento en hielo

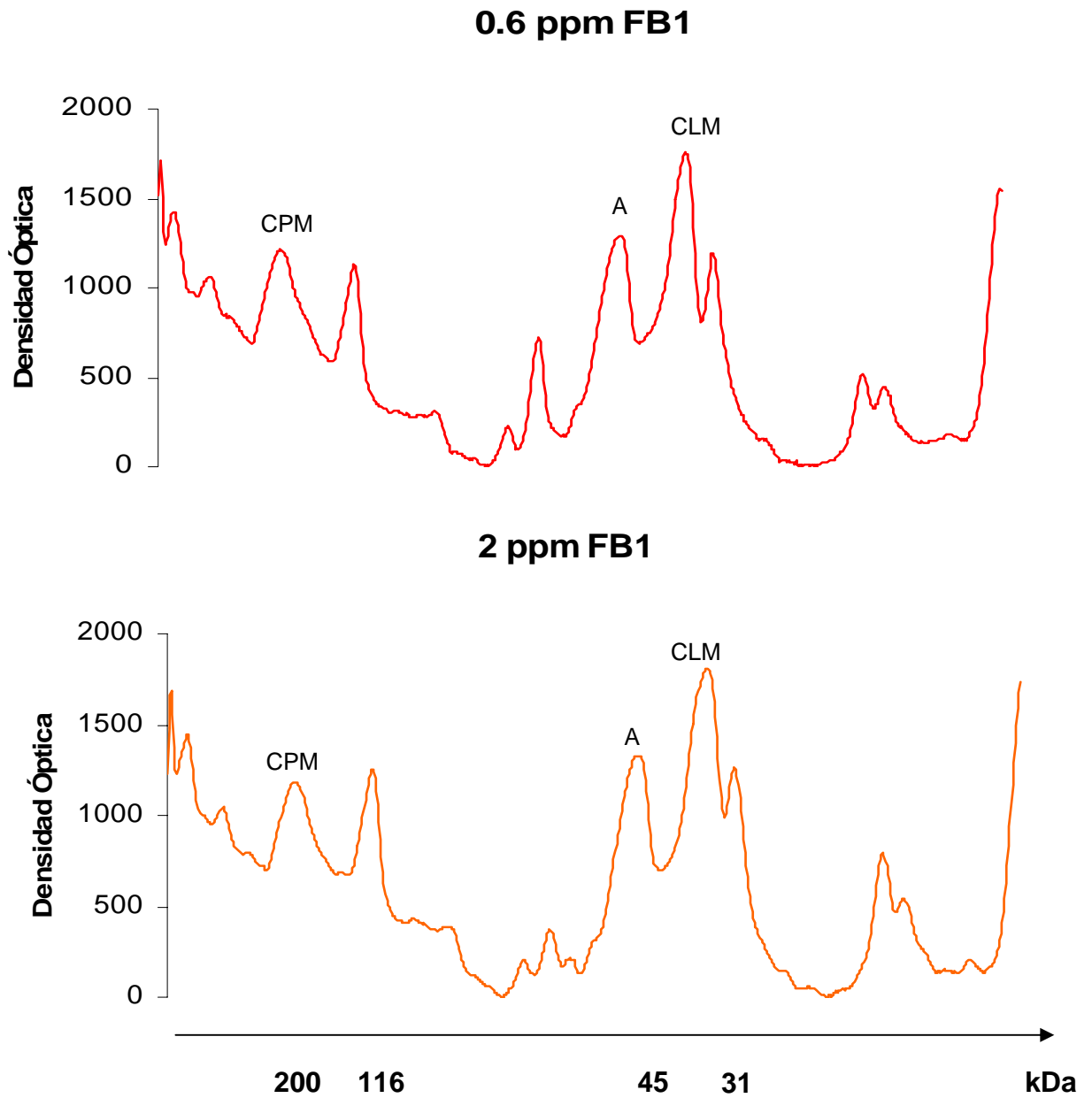


Figura 18. Densitogramas de las proteínas del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentado con dietas conteniendo diferentes dosis de FB1 al inicio del almacenamiento en hielo

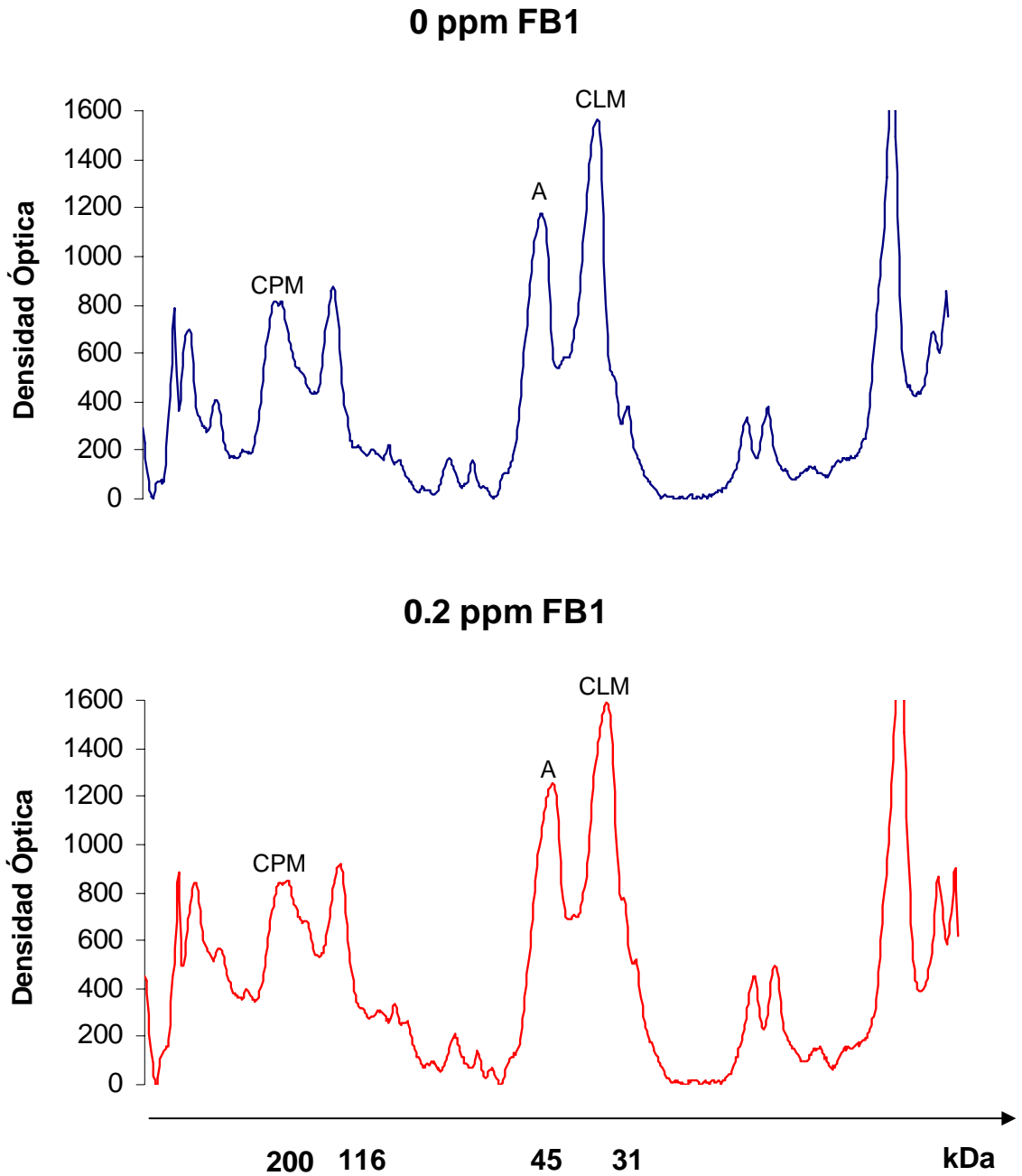
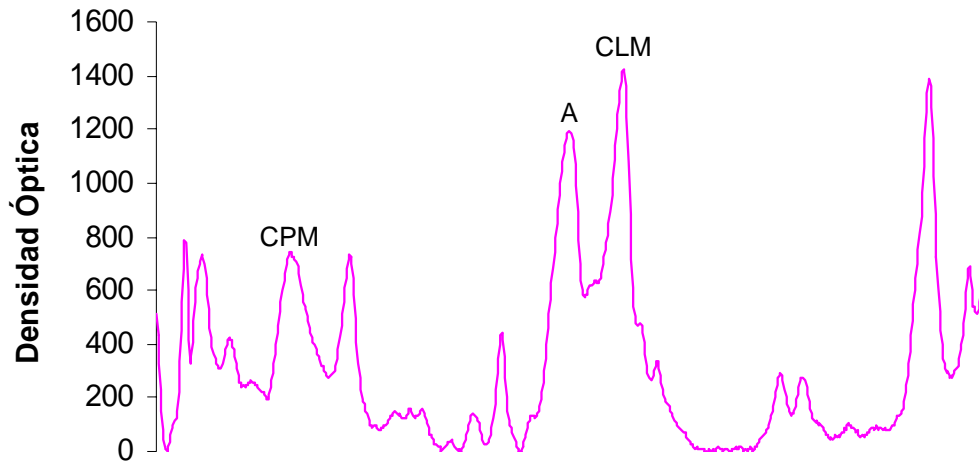


Figura 19. Densitogramas de las proteínas del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentado con dietas conteniendo diferentes dosis de FB1 después de 12 días de almacenamiento en hielo

### 0.6 ppm FB1



### 2 ppm FB1

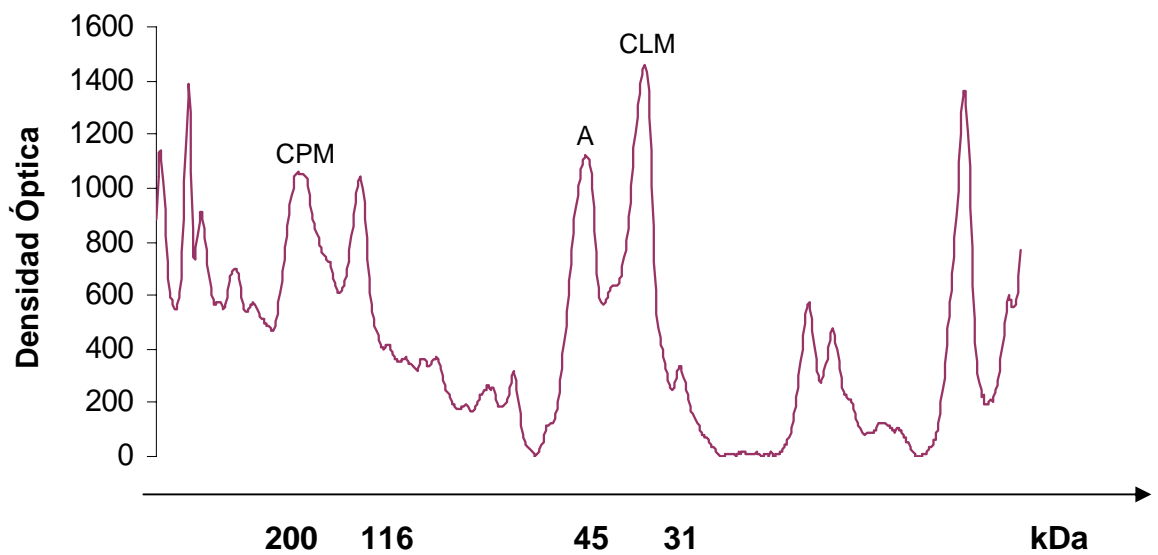


Figura 20. Densitogramas de las proteínas del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentado con dietas conteniendo diferentes dosis de FB1 después de 12 días de almacenamiento en hielo



Se ha reportado que la intensidad de la banda de la cadena pesada de la miosina va disminuyendo conforme avanza el tiempo de almacenamiento en hielo, debido a la acción de las enzimas proteolíticas propias del músculo de camarón (Yongswawatdigul y Park, 2002; Ramírez-Olivas *et al.*, 2004). Esto sugiere que la proteínas sufrieron modificaciones debido al almacenamiento en hielo independientemente de la dieta suministrada a los camarones durante el bioensayo.

**Firmeza.** Esta propiedad del músculo de camarón juega un papel muy importante en la aceptación de éstos en el mercado, ya que es un reflejo de la calidad del producto (Dunajski, 1979).

Al inicio del almacenamiento se obtuvo una resistencia al corte de  $0.78 \pm 0.18$  lb/fuerza para el camarón alimentado con  $0 \mu\text{g/g}$  de FB1,  $0.71 \pm 0.06$ ,  $0.8 \pm 0.20$  y  $0.75 \pm 0.08$  lb/fuerza cuando estos fueron expuestos a 0.2, 0.6 y  $2.0 \mu\text{g/g}$  de FB1, respectivamente. Después de 12 días de almacenamiento en hielo los resultados obtenidos fueron de  $0.61 \pm 0.13$ ,  $0.77 \pm 0.14$ ,  $0.74 \pm 0.21$  y  $0.68 \pm 0.23$  lb/fuerza para las camarones alimentados con 0, 0.2, 0.6 y  $2.0 \mu\text{g/g}$  de FB1, respectivamente.

Durante el almacenamiento en hielo se vio una tendencia a disminuir la resistencia al corte del músculo de camarón (Figura 21), la cual se detectó desde los 4 días de almacenamiento. No se encontró diferencias significativa ( $p > 0.05$ ) entre la disminución de la firmeza y la dosis de FB1 con la que fueron alimentados los camarones durante el bioensayo.

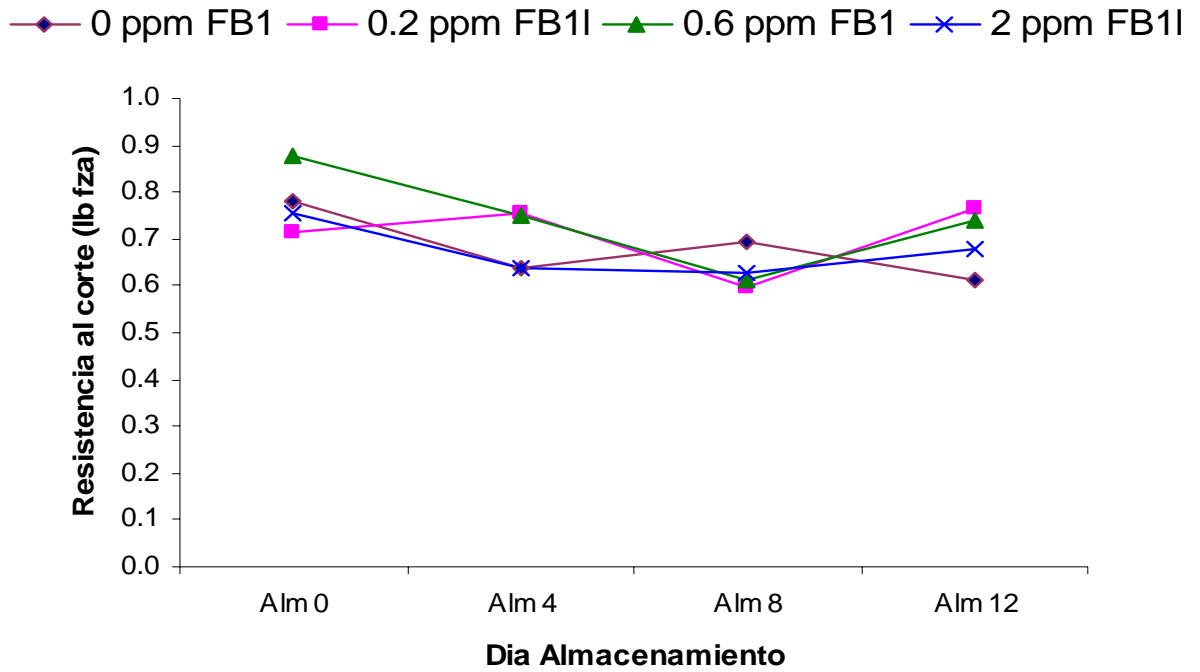


Figura 21. Resistencia al corte durante el almacenamiento en hielo del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentado con dietas contaminadas con diferentes dosis de fumonisina B1.

Se ha reportado una disminución de la resistencia al corte durante el almacenamiento en hielo, la cual se ha atribuido principalmente a la acción de la enzimas sobre las proteínas del músculo (Roth *et al.*, 2002; Ramírez-Olivas *et al.*, 2004). Esta disminución en la textura a los 4 días de almacenamiento se puede relacionar con el aumento detectado en la extracción de proteínas, ya que la firmeza está relacionada principalmente con los cambios en las proteínas durante el almacenamiento. Además, que los mecanismos involucrados en el ablandamiento del músculo se consideran de tipo fisicoquímico y enzimático (Dunajski, 1979, Ezquerra-Brauer *et al.*, 2004). Por lo cual, bajo las condiciones de este estudio, la FB1 en la dieta con la que fué alimentado el camarón blanco, no tuvo efecto sobre la pérdida de firmeza en el músculo durante el almacenamiento en hielo.

**Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).** Se realizó esta determinación para observar los cambios en la estructura de las fibras musculares. En las figuras 22 y 23 se muestran las micrografías del camarón al inicio del almacenamiento en hielo. En el músculo del camarón alimentado con la dieta que no contenía FB1 (Figura 22a) se observan fibras ordenadas, bien estructuradas y compactas. Los espacios que se ven en la micrografía son debidos al tratamiento que se le dió a la muestra, la cual fué sometida a criofractura para ser observada en el microscopio electrónico.

La figura 22b corresponde a la micrografía de músculo del camarón alimentado con 0.2 µg/g de FB1, se observa que la fibra se mantiene

ordenada y estructurada. Sin embargo, cuando el camarón fue expuesto a una dieta con 2.0  $\mu\text{g/g}$  de FB1 (Figura 23b), se observa como empiezan a desaparecer los bordes de las fibras, ya no se presenta la forma estriada de la fibra muscular, aunque no se detecta que se este dando una separación en las fibras.

Relacionando los resultados obtenidos en la evaluación del crecimiento, donde se presentó una disminución en el crecimiento de los camarones alimentados con 2.0  $\mu\text{g/g}$  de FB1, además de que su estabilidad térmica y perfil electrofóretico se vio alterado, al ver a nivel microscópico, se observa que efectivamente la fibra muscular empieza a presentar alteraciones.

Después de almacenar en hielo el músculo de camarón por 12 días (Figura 24 y 25), se observa que en el músculo de camarón alimentado con 0  $\mu\text{g/g}$  de FB1 (24a), aún se ven las fibras ordenadas y sin separaciones evidentes. Sin embargo, es evidente que ya no se encuentra bien estructurada. En las figuras 24b, 25a y 25b se muestran las micrografías del músculo de camarón expuesto a 0.2, 0.6 y 2.0  $\mu\text{g/g}$  de FB1, respectivamente. De nueva cuenta se observan fibras ordenadas, sin embargo, ya perdió la estructura que tenía al inicio del almacenamiento en hielo. Estas alteraciones en la estructura pueden ser debido a los cambios que sufre el músculo durante el almacenamiento en hielo. Ya que como se mencionó anteriormente, no se detectaron a nivel macroscópico cambios en las proteínas debido a la FB1 durante el almacenamiento en hielo, por lo cual no es posible asegurar que

las alteraciones a nivel microscópico que se están observando, sean debido a la acción de la toxina. Por lo cual es necesario llevar a cabo más estudios, como resonancia magnética nuclear (RMN), espectroscopía de Raman, entre otras, con las cuales se pueden determinar las interacciones de las proteínas con la fumonisina B1 y así esclarecer bien el efecto de esta sobre las proteínas del músculo de camarón blanco.

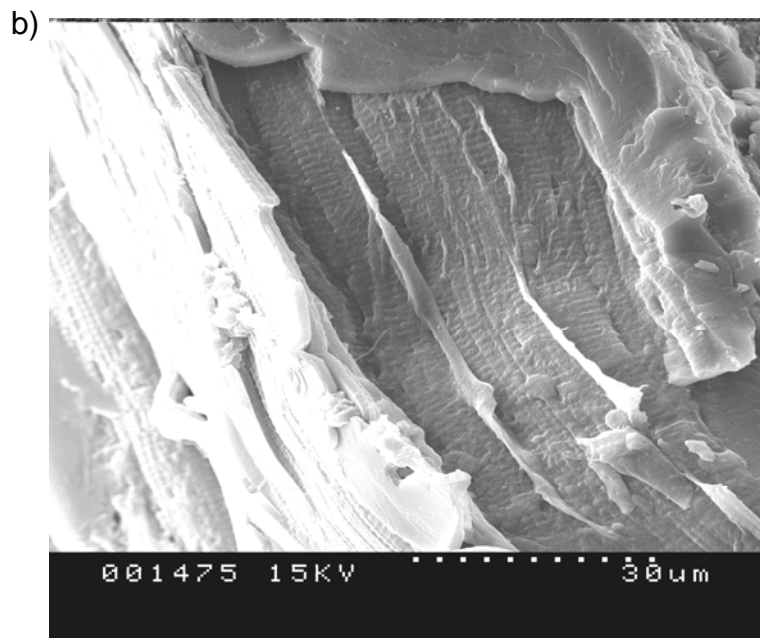
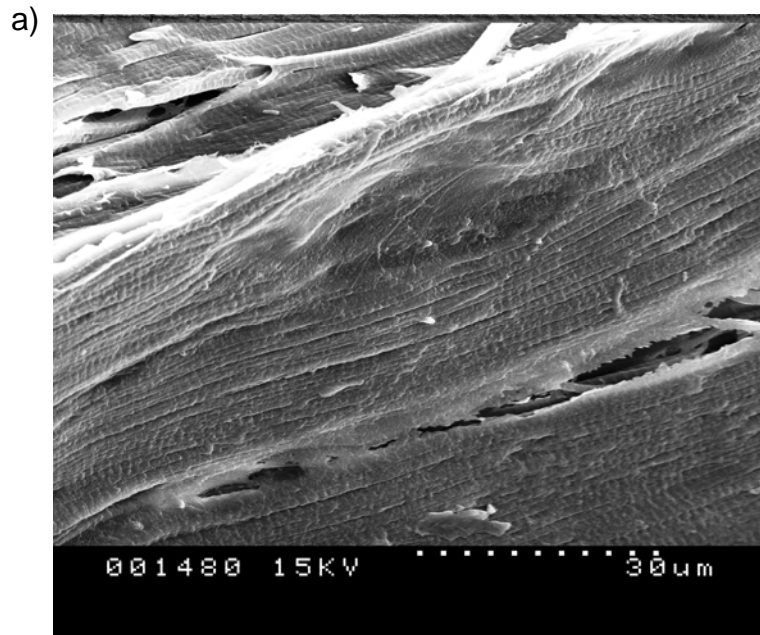


Figura 22. Micrografía del músculo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentado con: a) 0 µg/g de FB1, y b) 0.2 µg/g de FB1 al inicio del almacenamiento en hielo.

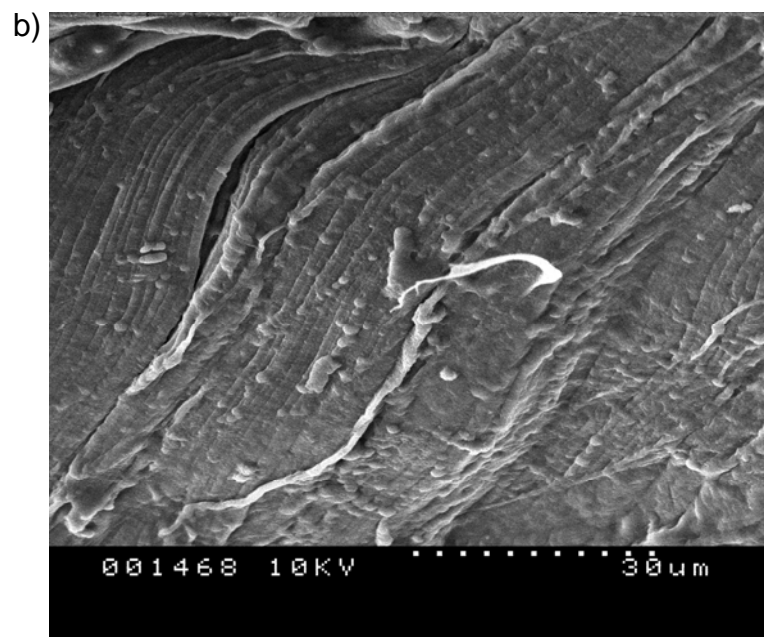
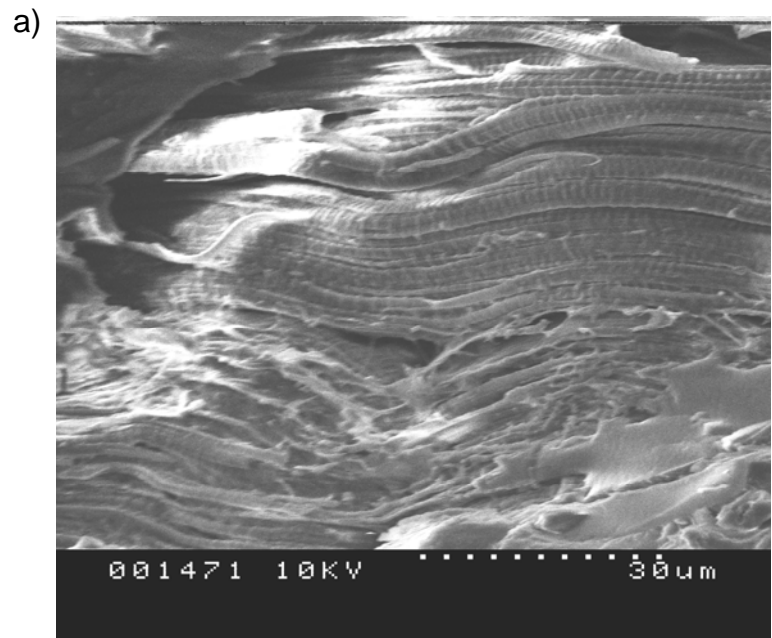


Figura 23. Micrografía del músculo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentado con: a) 0.6 µg/g de FB1, y b) 2.0 µg/g de FB1 al inicio del almacenamiento en hielo.

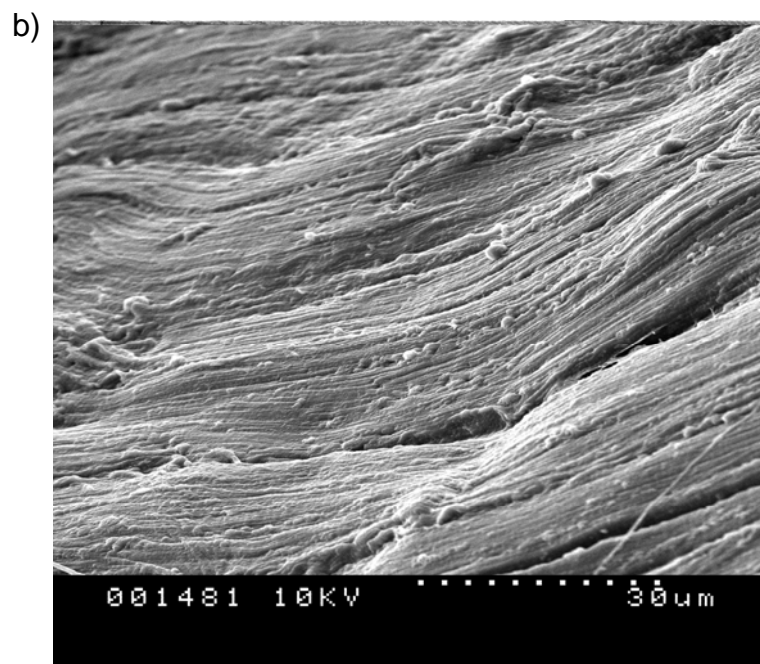
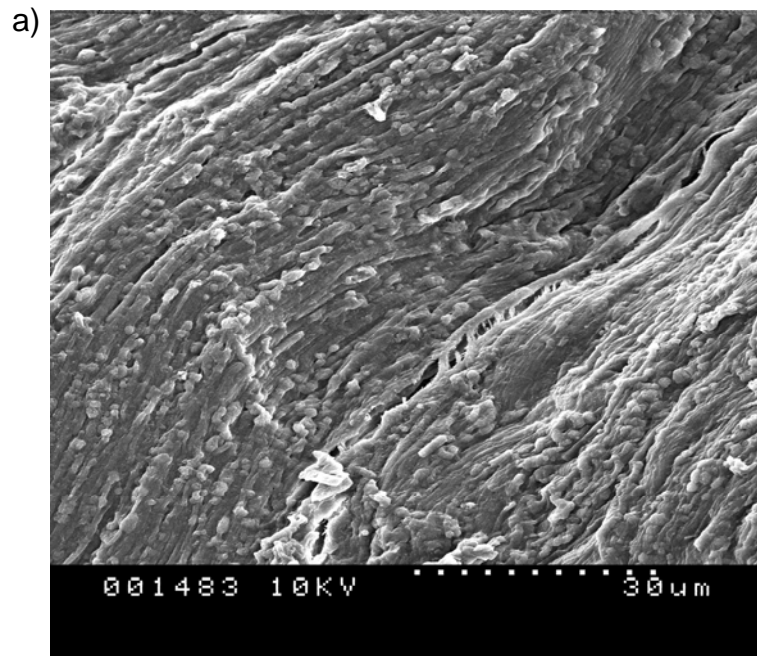


Figura 24. Micrografía del músculo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentado con: a) 0 µg/g de FB1, y b) 0.2 µg/g de FB1 después de 12 días de almacenamiento en hielo.



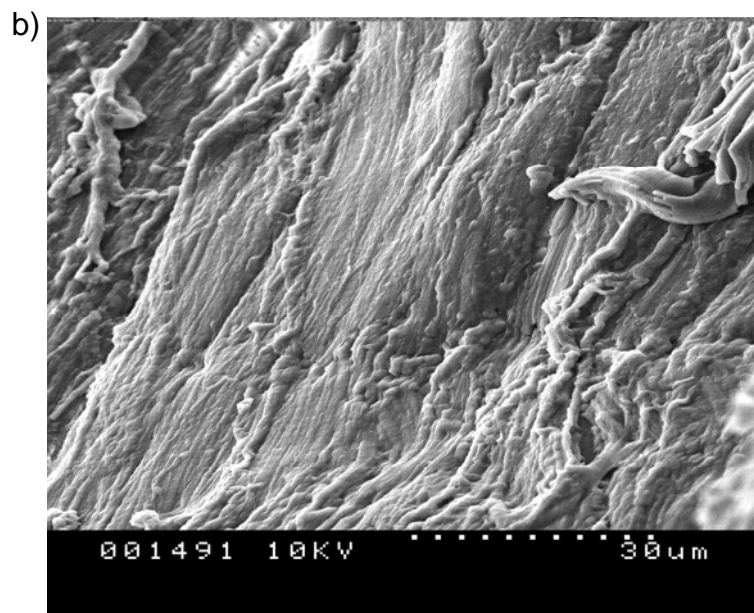
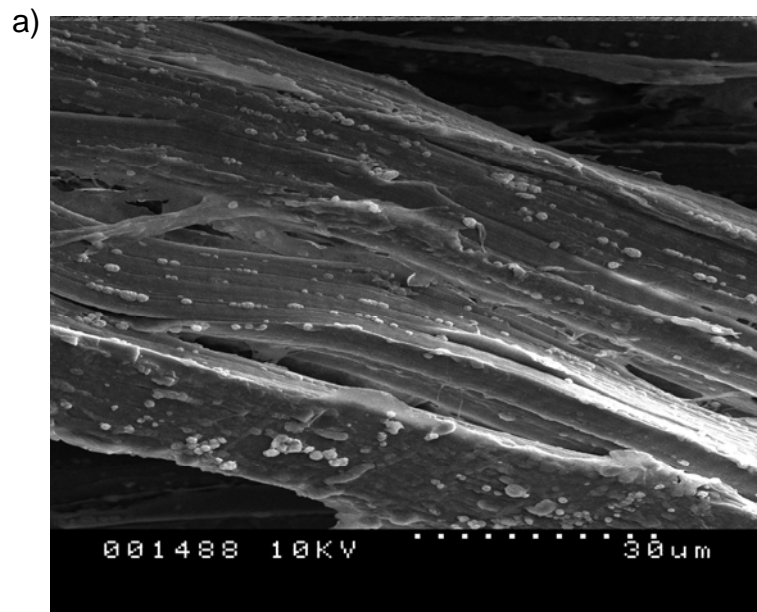


Figura 25. Micrografía del músculo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentado con: a) 0.6 µg/g de FB1, y b) 2 µg/g de FB1 después de 12 días de almacenamiento en hielo.

## CONCLUSIONES

Bajo las condiciones de este estudio se logró establecer el efecto de la adición de la fumonisina B1 en el alimento sobre el crecimiento, supervivencia y vida de anaquel del músculo del camarón blanco cultivado.

Durante el bioensayo se detectó que la fumonisina B1 en la dieta del camarón afectó el crecimiento pero no la supervivencia del organismo evaluado. Además, se observó que la adición de la fumonisina B1 en la dieta indujo cambios en la concentración y propiedades térmicas de las proteínas presentes, sin alterar el perfil electrofóretico en el músculo. Los cambios detectados en las proteínas por la adición de la fumonisina no tuvieron un efecto sobre firmeza del músculo del camarón inmediatamente después de la cosecha.

Se obtuvo que la adición de la fumonisina B1 en la dieta no afectó la actividad de tripsina ni de proteasas totales.

Durante el almacenamiento la presencia de fumonisina B1 en la dieta con la que fue alimentado el camarón, no tuvo un efecto sobre el músculo mantenido en hielo durante 12 días.

Lo anterior indica que la adición de la fumonisina B1 afectó el desarrollo del camarón durante su cultivo, pero esto no impactó en su vida de anaquel durante el almacenamiento en hielo.

## RECOMENDACIONES

Debido a que el bioensayo solo se llevó a cabo por 1 mes, sería conveniente realizar un estudio del efecto de la fumonisina B1 sobre el crecimiento y supervivencia del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) durante un periodo de cultivo más largo. Así como utilizar dosis más altas de micotoxina.

Así mismo realizar estudios más detallados acerca del efecto de la fumonisina B1 sobre las proteínas del músculo cuando el organismo está en crecimiento, sería conveniente estudiar también el efecto de esta micotoxina sobre el metabolismo del camarón.

También sería interesante realizar estudios durante tiempos de almacenamiento más prolongados, para determinar si a largo plazo sigue sin tener efecto la fumonisina B1 sobre el músculo de camarón.

## REFERENCIAS

- Arranz, I., Baryens W.R.G. and Van der Weken G. 2004. Review: HPLC determination of fumonisin mycotoxins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 44:195-203.
- Benjakul, T., Seymour, A., Morrissey, M.T. and An, H. 1997. Physicochemical changes in pacific whiting muscle proteins during iced storage. *Journal of Food Science*. 62 (4):729–733.
- Betina, V. 1989. *Mycotoxins: Chemical, Biological and Environmental Aspects*. Ed. Elsevier. Bratislava. 350 pp.
- Bezuidenhout, S.C., Gelderblom, W.C., Gorst-Allman, C.P., Horak, R.M., Marasas, W.F., Spiteller, G. and Vleggaar, R. 1988. Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. *J. Chem. Soc. Commun*. 743-745.
- Boonyaratpalin, M., Supamattaya, K., Verakunpirya, V. and Dupraser, D. 2001. Effect of aflatoxin B1 on growth performance, blood components, immune function and histopathological changes in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). *Aquaculture Research*. 32: 388-398.
- Burgos-Hernández, A., Farias, S.I., Torres-Arreola, W. and Ezquerra-Brauer, J.M. 2005. In vitro studies of the effects of aflatoxin B1 and fumonisin B1 on trypsin-like and collagenase-like activity from the hepatopancreas of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*. 250: 390-410.
- Ceccaldi, H.J. 1997. Anatomy and physiology of digestive system. En: *Crustacean Nutrition*. Vol 6. D´Abramo, L.R., Conklin, D.E. and Akiyama, D.M. (Eds). World Aquaculture Society. Louisiana, USA. 411-472 pp
- Cheng, S.J., Jiang, Y.Z., Li, M.H. and Lo, H.Z. 1985. A mutagenic metabolite produced by *Fusarium moniliforme* isolated from Lixian county, China. *Atherosclerosis*. 31:9-15.
- Cifuentes-Lemus, J.L., Torres-García, P. y Frías, M.M.1995. *El océano IX: La pesca*. Instituto Latinoamericano de la Comunicación Educativa. Fondo de Cultura Económica. México D.F. 25-29 pp
- COSAES. 2006. Comité de Sanidad Acuícola del Estado de Sonora. Sitio: [www.cosaes.com/antecedente\\_camaron.htm](http://www.cosaes.com/antecedente_camaron.htm)

- Crupkin, M., Roura, S.I., Saavedra, J.P. and Truco, R.E. 1992. Conformational change in actomyosin from post-spawned hake stored on ice. *Journal of Food Science*. 57(5):1109–1111.
- Cruz-Suárez, L.E. 1998. Digestión en camarón y su relación con formulación y fabricación de alimentos balanceados. *Avances en Nutrición Acuícola III. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. Monterrey, Nuevo León, México. 207-232 pp.
- Demain, L. and Fang, A. 2000. The natural functions of secondary metabolites. En: *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Vol 69. Ed Springer Berlin/ Heidelberg. Massachusetts, USA. 1-39 pp.
- Desjardins, A.E. 2006. *Fusarium Mycotoxins: Chemistry, Genetics and Biology*. American Phytopathological Society Press. USA. 268 pp.
- Divakaran, S. and Tacon, A.G. 2000. Studies on the toxicity of shrimp (*Penaeus vannamei*) fed diets dosed with aflatoxin B1 to humans. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 9 (3): 115-119.
- Dunajsky, E. 1979. Texture in fish muscle. *Journal of Texture Studies*. 10: 301-318.
- Dupuy, J., Le Bars, P., Boudra, H. and Le Bars, J. 1993. Thermostability of fumonisin B1, a mycotoxin from *Fusarium moniliforme* in corn. *Appl. Env. Microbiol.* 59:2864-2867.
- Erlanger, B.F., Kokowsky, N. and Cohen, W. 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Arch. Biochem. Biophys.* 95:271-278.
- Ezquerro-Brauer, J.M., Bringas-Alvarado, L., Burgos-Hernández, A. y Rouzaud-Sandez, O. 2004. Control de la composición química y atributos de calidad de camarones cultivados. *Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. Hermosillo, Sonora, México. 441-462 pp.
- FAO. 2004. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.  
Sitio: [www.fao.org/fi/website/FIRetrieveAction.do?dom=topic&fid=16003](http://www.fao.org/fi/website/FIRetrieveAction.do?dom=topic&fid=16003)

- Fenucci, J.L. 1988. Manual para la cría de camarones peneidos. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Brasilia, Brasil. 85 pp.
- Fox, J., Treece, G.D. y Sánchez, D. 2001. Nutrición y manejo del alimento. Métodos para el mejorar la camaronicultura en Centroamérica. Texas A&M University. College Station, Texas, USA. 65-90 pp.
- Frías-Espericueta, M. y Páez-Osuna, F. 2001. Toxicidad de los compuestos del nitrógeno en camarones. En: Camaronicultura y Medio Ambiente. Páez-Osuna F. (Ed). Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM. Sinaloa, México. 225-238 pp.
- Frías-Espericueta, M.G., Harfush-Mélendez, M. and Páez-Osuna, F. 2000. Effects of ammonia on mortality and feeding of postlarvae shrimp *Litopenaeus vannamei*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 65:98-103.
- Ghiasian, S.A., Maghsood, A.H., Yazdanpanah, H., Shephard, S., Van der Westhuizen, L., Vismer, H.F., Rheeder, J. and Marasas W. 2006. Incidence of *Fusarium verticillioides* and levels of fumonisins in corn from main production areas in Iran. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54:6118-6122.
- Granja Camaronícola Gloria del Estado de Nayarit. Sitio: <http://www.nayarit.gob.mx/notes>.
- Hartl, M. and Humpf, H. U. 2000. Toxicity assessment of fumonisin using the brine shrimp (*Artemia salina*) bioassay. Food and Chemical Toxicology. 38:1097-1102.
- Haschek, W.M., Motelin, G., Ness, D.K., Harlin, K.S., Hall, W. K., Vesonder, R.F., Peterson, R.E. and Beasley, V.R. 1992. Characterization of fumonisins toxicity in orally and intravenously dosed swine. Mycopathologia. 117:83-96.
- Hendrickx, M. E. 2001. Taxonomía, Biología y Zoogeografía de los Peneidos de Importancia Comercial del Pacífico Mexicano. En: Camaronicultura y Medio Ambiente. Páez-Osuna F. (Ed). Instituto de Ciencias de Mar y Limnología, UNAM. Sinaloa, México. 25-37 pp.

- Hlywka, J.J., Beck, M.M. and Bullerman, L. 1997. The use of the chicken embryo screening test and brine shrimp (*Artemia salina*) bioassays to assess the toxicity of fumonisin B1 mycotoxin. *Food and Chemical Toxicology*. 35: 991-999.
- Icely, J.D. and Nott, J.A. 1992. Digestion and Absorption: Digestive System and Associated Organs. En: *Microscopic Anatomy of Invertebrates: Decapod, Crustacean*. Vol 10. Harrison, F.W and Humes, A.G. (Eds). Willy-liss Inc. New York, USA. 14-20 pp.
- Jiansheng, W., Ying, Z., Wanbo, L., Xiangcheng, Z., Liangcheng, D. and Qiaomei, W. 2007. Fumonisin level in corn-based food and feed from Linxian County, a high-risk area for esophageal cancer in China. *Food Chemistry*. 76:1-17
- Kim, E.K., Maragos, C. and Kendra, D.F. 2004. Liquid chromatographic determination of fumonisins B1, B2, and B3 in corn silage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52:196-200.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227:680-685.
- Laurent, D., Lanson, M., Goasdue, N., Kohler, F., Pellegrin, F. and Platzer, N. 1990. Étude en RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  de la macrofusine, toxine isolée de maïs infecté par *Fusarium moniliforme* Sheld. *Analisis*.18:172-179.
- Lawrence, A.L., Akiyama, D.M. and Dominy, W.G. 1994. Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry. American Soybean Association. St. Louis, MO. USA. 132-144 pp.
- Ledoux, D.R., Brown, T.P., Weibking, T.S. and Rottinghaus, G.E. 1992. Fumonisin toxicity in broiler chicks. *J. Vet. Diagn. Invest.* 4:330-333.
- Lim, C. and Akiyama, D.M. 1995. Nutrients requirements of penaeids shrimp. En: *Nutrition and Utilization Technology in Aquaculture*. Lim, C. and Sessa, D.J. (Eds). AOAC Press. Champaign, Ill. 60-73 pp.
- Lumlertdacha, S., Lovell, R.T., Shelby, R.A., Lenz, S.D. and Kempainen, B.W. 1995. Growth, hematology and histopathology of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed toxin from *Fusarium moniliforme*. *Aquaculture*. (130): 201-218.

- Lumlertdacha, S. and Lovell, R.T. 1995. Fumonisin-contaminated dietary corn reduced survival and antibody production by channel catfish challenged with *Edwardsiella ictaluri*. *Journal of Aquatic Animal Health*. 7(1):1-8.
- Marasas, W.F.O., Jaskiewicz, K., Venter, F.S., Gelderblom, W.C.A., Coetzer, J.A.W. Thiel, P.G. and Van der Lugt, J.J. 1988. *Fusarium moniliforme* contamination of maize in esophageal cancer areas in Transkei. *S. Afr. Med. J.* 74:110-114.
- Martínez-Córdova, L.R. 1999. Cultivo de Camarones Peneidos, Principios y Prácticas. AGT Editores. México, D.F. 283 pp.
- Martínez-Córdova, L.R. 2002. Camaronicultura: Avances y Tendencias. AGT Editores. México, D.F. 167 pp.
- Martínez, I., Friis, T.J. and Careche, M. 2001. Post mortem muscle protein degradation during ice-storage of Arctic (*Pandalus borealis*) and tropical (*Penaeus japonicus* and *Penaeus monodon*) shrimps: a comparative electrophoretic and immunological study. *Journal of Food Science and Agriculture*. 81(12):1199-1208.
- Martínez-Larranaga, M.R., Anadon, A., Diaz, M.J., Fernandez-Cruz, M.L., Martinez, M.A., Frejo, M.T., Martinez, M., Fernandez, R., Anton, R.M., Morales, M.E. and Tafur, M. 1999. Toxicokinetics and oral bioavailability of fumonisin B1. *Vet. Hum. Toxicol.* 41(6):357-62
- Mexía-Salazar, A.L. 2005. Efecto del Alimento Contaminado Artificialmente con Fumonisina B1 sobre el Sistema Inmune, el Hepatopáncreas y las Proteínas del Músculo de Camarón Blanco (*Litopenaeus vannamei*) Cultivado. Tesis de Maestro en Ciencias. Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México.
- Miller, J.D. 1995. Fungi and Mycotoxins in Grain: Implications for stored product research. *J. Stored Prod. Res.* 31 (1): 1-16.
- Moss, M.O. 1998. Recent studies of mycotoxins. *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement*. 84:62-76.
- Murphy, P.A., Hendrich S., Landgren, C. and Bryant, C. 2006. Food mycotoxin: An update. *Journal of Food Science*. 71(5): 51-65.



- Paredi, M.E., Tomas, M.C., Crupkin, M. and Añon, M.C. 1996. Thermal denaturation of muscle proteins from male and female squid (*Illex argentinus*) at different sexual maturation stage. A differential scanning calorimetric study. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 44:3812-3816.
- Pepeljnjak, S., Petrinc, Z., Kovacic, S. and Segvic, M. 2002. Screening toxicity study in young carp (*Cyprinus carpio* L.) on feed amended with fumonisin B1. *Mycopathologia*. 156:139-145.
- Plascencia-Jatomea, M., Viniegra, G., Castillo-Ortega, M.M. and Shirai, K. 2003. Effect of chitosan and temperature on spore germination of *Aspergillus niger*. *Macromolecular Bioscience*. 3(10):582-586.
- Ramírez-Olivas, R., Rouzaud, O., Haard, N., Pacheco-Aguilar, R., Ezquerra-Brauer, J. 2004. Changes in firmness and thermal behavior of ice-stored muscle of jumbo squid (*Dosidicus gigas*). *Eur. Food Res. Technol.* 219:312-315.
- Riley, R., Enongene, E., Voss, K.A., Norred, W.P., Filimore, M., Sharma, R.P. Spitsbergen, J., Williams, D.E., Carlson, D.B. and Merrill, A.H. 2001. Sphingolipid perturbations as mechanisms for fumonisin carcinogenesis. *Environmental Health Perspectives*. 109(2):310-308.
- Rivas-Vega, M.E., Rouzaud-Sández, O., Martínez-Córdova, L.R. and Ezquerra-Brauer, J.M. 2001. Effect of feed protein levels on digestive proteolytic activity, texture and thermal denaturation of muscle protein in reared blue shrimp. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 10(4):25-37.
- Rosenberry, B. 2004. *World Shrimp Farming. An annual report.* Rosenberry B. (Ed). Shrimp News Internacional. EUA. 276 pp.
- Roth, B., Moeller, D., Veland, J.O., Imsland, A. and Slinde E. 2002. The effect of stunning methods on rigor mortis and texture properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Science*. 67(4):1462–1466.
- Rouzaud, O., Ramírez, B. y Jara, M. 1995. *Uso del calorímetro de barrido diferencial en alimentos. Curso de actualización para profesores investigadores.* Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. Universidad de Sonora. Hermosillo, México.
- Sandino-Méndez, C.X. 2003. *Aprovechamiento sostenible de larva de camarón.* Facultad de Ciencias Puras, Departamento de Biología, UNAN. Nicaragua. 45-56 pp.

- Scott, P.M. and Lawrence, G.A. 1994. Stability and problems in recovery of fumonisins added to corn-based foods. *J. AOAC Int.* 77 (2):541-545.
- SIAP. 2003. Anuario Estadístico de Pesca. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Sitio: [www.siap.gob.mx/](http://www.siap.gob.mx/)
- Shephard, G.S. 2005. Do fumonisin mycotoxins occur in wheat? *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 53 (23):9295-9302.
- Solarzano, L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by phenolhypochlorite method. *Limnology and Oceanography.* 14:799-801.
- Soriano, J.M., González, L. and Catalá, A.I. 2005. Mechanism of action of sphingolipids and their metabolites in the toxicity of fumonisin B1. *Progress in Lipid Research.* 44:345–356.
- Sotelo, C.G., Piñeiro, C., Pérez-Martín, R. and Gallardo, J.M. 2000. Analysis of fish and squid myofibrillar proteins by capillary sodium dodecyl sulfate gel electrophoresis: actin and myosin quantification. *European Food Research and Technology.* 211(6): 1438-2377.
- Spotte, S. 1979. *Fish and invertebrate culture: water management in closed systems.* 2nd edition. Wiley and Sons. New York, USA. 345 pp.
- Spotti, M., Pompa, G. and Caloni F. 2000. Fumonisin B1 metabolism by bovine liver microsomes. *Veterinary Research Communications.* 25(6): 1573-1578.
- Sriket, P., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Kijroongrojana, K. 2007. Comparative studies on the effect of the freeze-thawing process on the physicochemical properties and microstructures of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Penaeus vannamei*) muscle. *Food Chemistry.* 104:113-121.
- Stauffer, C. 1989. *Enzyme assay for food scientist.* Van Nostrand Reinhol/AVI. New York . 456-462 pp.
- Stefansson, G. and Hultin, H.O. 1994. On the solubility of cod muscle proteins in water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 42:2656-2664.
- Sweeney M.J. and Dobson D.W. A. 1999. Molecular biology of mycotoxin biosynthesis. *Microbiology Letters.* 175:149-163.

- Tacon, A.G. 1990. The essential nutrients. En: Standard Methods for the Nutrition Anfeeding of Farmed and Shrimp. Vol 1. Argent Laboratories Press. Washington, USA. 21-43 pp.
- Thiel, P.G., Marasas, W.F.O., Sydenham, E.W., Shephard, G.S., Gelderblom, W.C.A. and Nieuwenhuis, J.J. 1991. Survey of fumonisin production by *Fusarium* species. Appl. Environ. Microbiol. 57:1089-1093
- Tironi, V.A., Tomás, M.C., and Añón, M.C. 2002. Structural and functional changes in myofibrillar proteins of sea salmon (*Pseudoperca semifasciata*) by interaction with malonaldehyde. Journal of Food Science. 67(3): 929–935.
- Tuan, N.A., Manning B. B., Lovell R. T. and Rottinghaus, G.E. 2003. Response of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing different concentrations of moniliformin or fumonisin B1. Aquaculture. 217: 515-528.
- University of Guelph. Department of Molecular and Cellular Biology. Protein structure and dynamics laboratory.  
Sitio: [www.chembio.uoguelph.ca/merrill/research](http://www.chembio.uoguelph.ca/merrill/research)
- Van der Westhuizen, L., Wentzel, C.A., Gelderblom, A., Shephard, G. and Swanevelder, S. 2004. Disruption of sphingolipid biosynthesis in hepatocyte nodules: selective proliferative stimulus induced by fumonisin B. Toxicology. 200: 69-75.
- Velásquez-González, C.A. 1995. Análisis de micotoxinas aminopolihidroxiladas. Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agrària de Lleida. Universitat de Lleida. 1-70 pp.
- Vesonder, R.F., Labeda, D.P. and Peterson, R.E. 1992. Phytotoxic activity of selected water-soluble metabolite of *Fusarium* against *Lemna minor* L. (Duckweed). Mycopathologia. 118: 185-189.
- Villareal-Cavazos, D.A., Guajardom, G.C., Ezquerra-Brauer, J.M., Scholz, U., Cruz-Suárez, E. y Ricque-Marie, D. 2004. Efectos de las micotoxinas en la nutrición de camarones peneidos. Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Hermosillo, Sonora, México. 463-479 pp.

- Weibking, T.S., Ledoux, D.R. and Bermúdez, A.J. 1993. Effects of feeding *Fusarium moniliforme* culture material, containing known levels of fumonisin B1, on the young broiler chick. *Poult. Sci.* 72:456-466.
- Wickins, J.F. 1976. The tolerance of warm-water prawns to recirculated water. *Aquaculture.* 9:19-37.
- Wilson, T.M., Ross, P.F. and Rice, L.G. 1990. Fumonisin B1 levels associated with an epizootic of equine leukoencephalomalacia. *J. Vet. Diagn. Inv.* 2: 213-216.
- Yan, T.R., Lee, C.S. and Lee, J.Y. 1994. Studies on Proteolytic enzymes of red-tail shrimp (*Penaeus penicillatus*). *J of Chinese Agricultural Chemical Society.* 32(1):25-32.
- Yongswawatdigul, J. and Park, J.W. 2002. Biochemical and conformation changes of actomyosin from threadfin bream stored in ice. *Journal of Food Science.* 67(3): 985–990.