

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS**



**IMPACTO EN EL DESARROLLO PRODUCTIVO DE JUVENILES DE LOBINA
RAYADA *Morone saxatilis*, AL UTILIZAR HARINA DE GRILLO *Gryllus
assimilis* COMO FUENTE ALTERNATIVA DE PROTEÍNA EN LA DIETA.**

T E S I S

**QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA
OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRO EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

SILVIA ELIZABETH CALDERÓN CABRERA

ENSENADA BAJA CALIFORNIA, MÉXICO, ENERO 2018



Universidad Autónoma de Baja California
Facultad de Ciencias Marinas



**IMPACTO EN EL DESARROLLO PRODUCTIVO DE JUVENILES DE LOBINA
RAYADA *Morone saxatilis*, AL UTILIZAR HARINA DE GRILLO *Gryllus
assimilis* COMO FUENTE ALTERNATIVA DE PROTEÍNA EN LA DIETA.**

TESIS

Que para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA

Presenta

SILVIA ELIZABETH CALDERÓN CABRERA

Aprobada por:

Directora de tesis

Dra. Lus Mercedes López Acuña

Sinodal propietario

Dr. Mario Alberto Galaviz Espinoza

Sinodal propietario

Dra. Graciela Guerra Rivas

DEDICATORIA

A mi papá y a mi mamá, los mejores del mundo.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Baja California por abrirme las puertas de su Institución y apoyar mi formación profesional y el desarrollo de mi vida profesional.

A la Facultad de Ciencias Marinas por recibirme en el programa de maestría en Ecología Molecular y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Marinas.

A el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT por otorgarme la beca (Silvia Calderón, CVU 696475) para la realización de mi maestría y al proyectos # 220455 PROINNOVA para realizar mi investigación.

A la empresa Pacific Aquaculture S.A.P.I. de C.V., México por la donación de los organismos experimentales, muy en especial al Biol. Eric Pederesen, por creer que la investigación es necesaria para el desarrollo de la maricultura.

A la Unidad de Biotecnología en Piscicultura FCM-UABC por el gran aporte a este experimento, en especial al Dr. Conal D. True por todas sus enseñanzas en los cultivos.

A la Dra. Lus M. López Acuña, mi directora de tesis, por la fe que desde el inicio mostró en mí, por las enseñanzas académicas, personales y excepcionales principios e integridad de trabajo.

Al Dr. Mario A. Galaviz Espinoza, por el apoyo y por ser un andamio indispensable.

A la Dra. Graciela Guerra Rivas, por ser tan oportuna influencia para el desarrollo de ideas innovadoras.

Al los miembros del Laboratorio de Nutrición Acuícola de FCM-UABC, Honorio, Mario y José por fomentar valores, ética y equipo en todo momento; además de amistad y buenos recuerdos, me llevo de ustedes fuertes cimientos.

A Regina, Marco y Marlene, por el apoyo al experimento como servicio social.

A mis amigos Bere, Lluvia, Yes, Lesly, Isela, Aime y Leo por la incondicionalidad e inspiración.

A Marian por el apoyo, el amor, la exigencia y el impulso.

A mis hermanos Cris y José, y a mis padres Fernando y Rosalba por ser los mejores ejemplos a seguir, el mejor equipo y la mejor familia.

Remplazo parcial de la harina de pescado por harina de grillo *Gryllus assimilis* y su efecto sobre los parámetros productivos y digestibilidad de juveniles de lobina rayada *Morone saxatilis*.

Titulo Corto: Desarrollo de lobina rayada con diferentes niveles de harina de grillo.

KEYWORDS: harina de grillo, *Gryllus assimilis*, lobina rayada *Morone saxatilis*, digestibilidad

RESUMEN

La acuicultura demanda fuentes alternativas de proteína debido a escasas, alto precio y calidad variable de la harina de pescado (HP). Existe interés en la proteína de grillo por su alto valor nutricional, y por su producción potencial, sustentable y económica. En el presente estudio se evaluó la respuesta de juveniles de lobina rayada *Morone saxatilis* al ser alimentados con 6 dietas experimentales isoprotéicas (48%), isolipídicas (14%) e isoenergéticas (20.4 kJ g⁻¹) que fueron: una con 100% HP del requerimiento proteico como dieta control (HG0) y 5 más con sustituciones de 10 (HG10), 20 (HG20), 30 (HG30), 40 (HG40) y 50% (HG50) de la proteína de HP por la proteína de harina de grillo (HG) *Gryllus assimilis* y fueron comparadas con una dieta comercial marca EWOS (DCom; 45.1% proteína, 21.0% lípidos, 12.7% almidón, 9.9% cenizas y 22.2 kJ g⁻¹), el bioensayo duro 55 días. Se calculó el crecimiento, eficiencia de conversión alimenticia (ECA), razón de eficiencia proteica (REP), índices víscero (IVS) y hepatosomático (IHS), coeficiente de digestibilidad aparente de materia seca y nutrientes (CDA_{M, P, L y E}) *in vivo*, proximales de los tejidos de los peces y dietas, glucógeno, y bioquímica sanguínea. Se observaron similitudes en el crecimiento entre la dieta HG0 y las dietas con inclusión de HG (13.6 ± 1.4 a 14.7 ± 0.6 g), al igual que en el consumo (14.6 ± 1.1 a 15.4 ± 1.5 g). Los diferentes niveles de sustitución de HG no tuvieron influencia sobre el ECA y REP todas las dietas presentaron valores de ECA que fluctuaron entre 1.07 ± 0.1 y 1.1 ± 0.1 y la REP fluctuaciones entre 2.2 ± 0.1 y 2.4 ± 0.0. El IVS e IHS fueron mayores en los

organismos que consumieron la dieta DCom (7.9 ± 0.9 y 2.2 ± 0.4 , respectivamente) que el promedio del resto de las dietas (6.2 ± 0.7 - 6.8 ± 0.8 y 1.5 ± 0.2 - 1.8 ± 0.3 , respectivamente) ($P < 0.001$). El CDA de la materia seca de la dieta, de proteínas y lípidos no presentaron diferencias significativas, con fluctuaciones de 66.7 ± 0.1 a 58.8 ± 5.9 %, 87.5 ± 0.2 a 80.7 ± 1.0 % y 76.7 ± 3.8 a 84.0 ± 1.4 % respectivamente. La proteína, albumina y el colesterol en la sangre fueron mayores en DCom (4.5 ± 0.4 g dL⁻¹, 1.0 ± 0.1 g dL⁻¹, 270.6 ± 9.8 g dL⁻¹, respectivamente) en comparación con el resto de las dietas, en especial contra la del 50% (HG50) de inclusión de proteína de grillo (vs 3.5 ± 0.4 g dL⁻¹, 0.8 ± 0.1 g dL⁻¹, 212.0 ± 16.4 g dL⁻¹, respectivamente) ($P < 0.001$). El pez entero mostró más alto nivel de proteína en los peces alimentados con la dieta HG50 (57.13 ± 2.3 %) en relación con HG0 (52.4 ± 1.9 %) y DCom (51.2 ± 2.2 %) ($P < 0.05$); así mismo en el pez entero y el músculo, los niveles de lípidos fueron más bajos en los organismos que se alimentaron con las dietas con HG50 (30.3 ± 1.3 y 10.4 ± 0.7 %, respectivamente) en relación con la dieta DCom (35.11 ± 1.3 y 13.2 ± 1.5 %, respectivamente) ($P < 0.001$). Los resultados de este estudio sugieren que la proteína de *Gryllus assimilis* es una fuente viable para la sustitución de hasta el 50 % de harina de pescado.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	1
MATERIAL Y METODOS.....	4
Sistema y organismos experimentales.....	4
Preparación de ingredientes y dietas.....	4
Diseño experimental.....	7
Análisis estadísticos.....	8
RESULTADOS.....	9
Parámetros productivos.....	9
Hematología y bioquímica sanguínea.....	12
Composición proximal de tejidos y glucógeno en hígado.....	14
DISCUSIONES.....	17
Parámetros productivos.....	17
Hematología y bioquímica sanguínea.....	19
Composición proximal de tejidos y glucógeno en hígado.....	22
CONCLUSIONES.....	24
REFERENCIAS.....	25

LISTA DE TABLAS

Tabla		Pág.
1	Formulación y contenido proximal de dietas experimentales con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado (HP) por harina de grillo (HG).	15
2	Parámetros de supervivencia, crecimiento, eficiencia de conversión alimenticia (ECA), razón de eficiencia proteica (REP), consumo, índices viscerosomático (IVS) y hepatosomático (IHS) y coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) de juveniles de lobina rayada <i>Morone saxatilis</i> , alimentadas con diferentes porcentajes de harina de grillo (HG) de <i>Gryllus bimaculatus</i> .	19
3	Parámetros Hematológicos de juveniles de lobina rayada <i>Morone saxatilis</i> , alimentadas con diferentes porcentajes de harina de grillo (HG) de <i>Gryllus bimaculatus</i> .	22
4	Composición proximal en g 100 g ⁻¹ de tejidos (peso seco) de juveniles de lobina rayada <i>M. saxatilis</i> , alimentadas con diferentes porcentajes de harina de grillo (HG) <i>Gryllus bimaculatus</i> .	25

INTRODUCCIÓN

La principal fuente de proteína en la formulación de dietas para peces carnívoros en cultivo es la harina de pescado (HP). Por ser uno de los insumos de mayor proporción en la elaboración de dietas para animales de producción, la disponibilidad y calidad de este ingrediente hoy representa un tema de preocupación para las empresas productoras de alimento para granjas acuícolas. La harina de pescado se ha convertido en un recurso poco disponible debido a la pesca no sustentable y principalmente al incremento en la demanda (FAO, 2016), gracias a su calidad nutricional, por lo que se busca probar fuentes alternativas para la sustitución parcial o total de la proteína de este ingrediente para la formulación de dietas de organismos acuícolas.

El consumo aparente de pescado per cápita a nivel mundial incrementó de un promedio de 9.9 kg en los sesentas a 14.4 kg en los noventas y 19.7 kg en 2013, y se calcula que llegara a 21.8 kg (equivalente de peso vivo) para 2025, 8% arriba del nivel base del periodo de 20.2 kg (FAO, 2016). Otra de las causas por la que se ha incrementado el consumo de pescado, es debido a factores como reducciones de subproductos de la industria de la carne para ser utilizados como ingredientes en las fórmulas de organismos acuícolas, unido al crecimiento poblacional, ligado a mejoras en ingresos y urbanización, han contribuido al aumento en el consumo de pescado (FAO, 2016).

La porción de la producción de peces destinada para consumo humano ha incrementado significativamente en las décadas recientes, de 67% en los sesentas, a 87% o más de 146 millones de toneladas en 2014, el remanente de las toneladas se destinan a productos no alimenticios, de los cuales 76% se reduce a harina y aceite de pescado, y el resto se utiliza para la elaboración de varios productos como materiales crudos para alimentación directa en la acuicultura (FAO, 2016). La proteína de pescado representa uno de los ingredientes más importantes y más costosos para la acuicultura, incluso llegando a representar el 50% de éstos (Cheng et al., 2004).

Del orden *Orthoptera*, los grillos y saltamontes tienen inmenso potencial como recurso nutricional. Algunos se conocen por el alto contenido de proteína (hasta 60%), y muchas de las especies son fáciles de cultivar en masa para producir importantes cantidades de biomasa anual a muy bajo costo de mantenimiento (Ganguly et al.,

2013). Desde el año 2000, el desarrollo de la acuicultura en África y Asia, unido a la búsqueda de fuentes alternativas de proteína han resultado en la investigación de la inclusión de harinas de grillos y saltamontes en dietas de bagre y tilapia (Makkar et al., 2014). En juveniles y alevines del bagre africano (*Clarias gariepinus*) se ha observado tolerancia a una sustitución de hasta el 25% de la proteína derivada de la langosta *Schistocerca gregaria* sin afectar al crecimiento (Balogun, 2011). En experimento con alevines de tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus*, se concluyó que la harina de langosta migratoria *Locusta migratoria* puede reemplazar hasta un 25% de la proteína sin efectos adversos en digestibilidad, crecimiento y parámetros hematológicos (Abanikannda, 2012). Especies de grillos comunes como el *Acheta domesticus* son altos (73 %) en proteína de calidad (Barroso et al., 2013) y, probado en dietas para el destete de ratas y en pollos de engorda, supera a la proteína de soya en todos los niveles de alimentación. *Gryllus assimilis* (Finke et al., 1989) puede también ser una rica fuente de calcio para consumo humano (Adámková et al., 2014). El perfil de ácidos grasos es similar al de harina de pescado, mientras que ésta tiene 2.5% de omega-6 y la de soya 55.4%, *A. domesticus* y *G. assimilis* tienen un nivel intermedio de 30% (Barroso et al., 2014). La eficiencia de conversión alimenticia es mayor comparada con animales de producción; la eficiencia alimenticia del grillo *A. domesticus* es el doble que la de los pollos de engorda, 4 veces más alta que la de los cerdos y 12 veces más eficiente que la del ganado bovino (Van Huis, 2012).

De la familia *Gryllidae*, el *Gryllus bimaculatus* resultó ser el más bajo en lípidos y el más alto en nivel de proteína incluyendo aminoácidos esenciales, en una comparación entre cinco especies que se prefieren como fuente nutricional en Korea: *Allomyrina dichotoma* (Coleoptera: Dynastidae), *Protaetia brevitarsis* (Coleoptera: Cetoniidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Teleogryllus emma* (Orthoptera: Gryllidae) (Ghosh et al., 2017). En varios estudios se observa en mayor abundancia ácido linoleico en *G. assimilis* y en *A. domesticus*, como en el estudio de Adámková et al. (2017) y Tzompa-Sosa et al. (2014). El coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) de la proteína cruda, lípidos, energía total y materia seca fue significativamente más alto en dietas elaboradas con HG de *G. bimaculatus*, en comparación con HP como fuente proteica en dietas para el bagre africano *Clarias gariepinus*, al igual que la

ganancia en peso y el rendimiento del crecimiento (Taufek et al., 2016). También Taufek et al. (2017), experimentó con la inclusión de diferentes porcentajes de HG de *G. bimaculatus* en dietas para bagre Africano *C. gariepinus* (25, 50, 75 y 100%) y observó que el CDA fue significativamente más bajo en la dieta con inclusión del 100% de HG, comparado con las dietas con más bajo nivel de inclusión, sin embargo, los valores de crecimiento y eficiencia proteica incrementaron de forma gradual con el incremento incluso de HG desde el 50 al 100%, y el valor de proteína cruda en pez entero fue significativamente mayor en los peces alimentados con inclusión del 50 al 100% de HG en comparación con los peces iniciales alimentados con una dieta comercial, indicando la capacidad de la HG como un sustituto de hasta el 100% sin afectar los parámetros productivos. Se ha demostrado que varios miembros del orden de los Ortópteros son nutricionalmente comparables a la harina de pescado y a la harina de soya, por lo que se consideran como fuente alterna de proteína, energía y vitaminas (Ganguly et al., 2013), y potenciales candidatos fundamentales en la nutrición animal (Barroso et al., 2014).

La lobina rayada *Morone saxatilis* es una especie carnívora de alto interés comercial en la acuicultura (Sullivan et al., 1995). Los consumidores en el medio oeste tienden a pagar precios altos por la lobina rayada, en particular consumidores que prefieren peces frescos de granja (Quagraine, 2017).

Por todo lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar cinco diferentes porcentajes de inclusión de harina de *G. assimilis* en sustitución de la harina de pescado como fuente principal de proteína en dietas para juveniles de la lobina rayada *Morone saxatilis*, y se determinó su efecto sobre los parámetros productivos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sistema y organismos experimentales

El experimento se llevó a cabo en la Unidad de Biotecnología en Piscicultura de la Facultad de Ciencias Marinas (UBP-FCM), Universidad Autónoma de Baja California (UABC) (31°51'51.51"N, 116°39'59.39"W), México. Se utilizó un sistema *Guelph* semicerrado de 21 tanques de 100 L con agua de mar filtrada a 20 y 5 μm (filtros de cartucho) integrado a un filtro biológico, con un flujo de 1.5 L min^{-1} , el agua se pasó por un equipo de luz ultravioleta para mantener la calidad de los parámetros del cultivo, se mantuvo el agua a una temperatura de $21 \pm 1^\circ\text{C}$ las condiciones de salinidad y oxígeno disuelto se mantuvieron a 35 ‰ y 6 mg $\text{O}_2 \text{L}^{-1}$, respectivamente, el fotoperiodo del cultivo fue de 12 horas luz y 12 horas oscuridad. Los organismos se anestesiaron con una solución de 150 mg L^{-1} de aceite de clavo con etanol (1:9) con fines de manejo durante los muestreos (Agüero-Grande, 2008). Se sembraron con distribución aleatoria 25 juveniles por tanque (Unidad experimental, UE) de lobina rayada *Morone saxatilis* donados por la empresa Pacific Aquaculture SAPI de C.V., México. La talla de los juveniles sembrados fue de 5.8 ± 0.4 g de peso total y 8.3 ± 0.3 cm de longitud total, y se aclimataron durante diez días con inclusión parcial diaria de la dieta control de 100% harina de pescado (HP) o 0% harina de grillo (HG0) sobre la dieta base comercial DCom (EWOS).

Preparación de ingredientes y dietas

Se obtuvo la harina de grillo (HG) de la empresa local BICHO S.A. de C.V., México. Se elaboró harina de pescado (HP) con pescado entero de cabrilla del golfo de California (*Paralabrax auroguttatus*). En un molino de carne se molieron los peces congelados y se secó la pasta a 65°C en una estufa de convección. Posteriormente se molió para obtener homogeneidad del tamaño de partículas. Se formularon 6 dietas experimentales, isolipídicas (14% de lípidos crudos), isoprotéicas (48% de proteína cruda) e isoenergéticas (4.9kJ g^{-1}) a partir de los requerimientos específicos de lobina rayada cultivada por la empresa Pacifico Aquaculture SAPI de C.V., México, la primera

dieta fue alimento comercial marca EWOS (DCom) y se utilizó como un control comercial, así como 6 dietas experimentales, una con 100% HP del requerimiento proteico como control (HG0), y las otras 5 con 10 (HG10), 20 (HG20), 30 (HG30), 40 (HG40) y 50 (HG50) % de la proteína deriva de la HG en sustitución de HP.

Las dietas se elaboraron utilizando una mezcladora Kitchen Aid, para homogenizar los ingredientes sólidos en seco, agregando posteriormente el aceite de pescado, el almidón y la gelatina pre-hidratadas en agua caliente hasta tener una masa homogénea con consistencia adecuada. La masa se pasó por un extrusor de 5 mm de diámetro y se secó a 65°C por 24 horas en la estufa de convección, se almaceno en bolsas de plástico herméticas a -4°C hasta su uso. En la Tabla 1 se muestra la formulación y contenido químico proximal de las diferentes dietas utilizadas en el presente bioensayo.

Tabla 1. Formulación y contenido proximal de dietas experimentales con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado (HP) por harina de grillo (HG).

Ingredientes (%)	DCom	HG0	HG10	HG20	HG30	HG40	HG50
Harina de pescado (HP) ^A		70.80	63.80	56.70	49.60	42.60	35.40
Harina de grillo (HG) ^B		0.00	5.95	11.90	17.85	23.80	29.80
Harina de maíz		12.75	12.75	12.75	12.75	12.75	12.75
Almidón de maíz		4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Aceite de pescado		4.00	3.40	2.90	2.40	1.90	1.40
Lecitina		1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Grenetina		4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Celulosa		0.00	1.65	3.30	4.95	6.50	8.20
Mezcla de minerales ^C		0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Mezcla de vitaminas ^D		0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Cloruro de colina		0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Vitamina C		0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Vitamina E		0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Triptófano ^E		0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Taurina ^E		0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Lisina ^E		0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Metionina ^E		0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Sílice (marcador)		0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
<i>Análisis proximal (%)</i>							
Proteína	45.1	49.4	47.4	48.9	47.9	46.2	47.5
Lípidos	21.0	13.9	13.2	14.6	14.0	14.6	13.6
Cenizas	9.9	15.5	17.2	16.3	14.2	13.2	11.2
Humedad	5.2	3.9	3.8	1.1	1.2	2.5	2.9
Almidón	12.7	10.9	10.3	9.9	10.0	10.1	10.0
ELN ^F	6.1	6.4	8.2	9.3	12.8	13.5	14.9
Ca (g 100 g ⁻¹) ^G	0.034	0.051	0.050	0.044	0.043	0.040	0.038
P (g 100 g ⁻¹) ^G	0.022	0.043	0.039	0.034	0.035	0.025	0.025
Energía total kJ g ⁻¹	22.2	20.1	19.6	20.6	20.8	20.7	20.9
Relación proteína/energía	2.0	2.5	2.4	2.4	2.3	2.2	2.3

^A Cabrilla del golfo de California (*Paralabrax auroguttatus*). ^B BICHO S.A. de C.V., México. ^C ASA Premix (g kg⁻¹): tiamina HCl, 0.5; riboflavina, 8.0; piridoxina HCl, 5.0; Ca pantotenato, 20.0; niacina, 40.0; biotina, 0.040; ácido fólico, 1.80; cianocobalamina, 0.002; acetato vitamina A (500,000 IU g⁻¹) 2.40; vitamina D3 (400,000 IU g⁻¹), 0.50; acetato DL- α -tocoferol, 80.0; α celulosa 834.26. ^D ASA Premix (g 100 g⁻¹): cloruro de cobalto, 0.004; sulfato cúprico pentahidrato, 0.250, sulfato ferroso heptahidrato, 4.0, sulfato manganeso anhídrido, 0.65; yoduro de potasio, 0.067; selenito de sodio, 0.010; sulfato de zinc heptahidrato 13.19, α -celulosa 81.83. ^E Amino ácidos de Pharmaceutical Co., Ltd., U.S.A., ^F % Extracto Libre de Nitrógeno: 100-(Proteína+Lípidos+Cenizas+ Almidón). ^G Contenido de calcio y fosforo en las dietas.

Diseño experimental

Las 7 dietas (DCom, HG0, HG10, HG20, HG30, HG40, HG50) se distribuyeron por triplicado en un diseño completamente al azar en los 21 tanques del sistema "Guelph". Se alimentaron los peces a saciedad tres veces al día (8:00, 13:00 y 19:00 h), por un periodo de 55 días, registrando diariamente el consumo de alimento de cada replica. Se succionaron las heces y restos de alimento de los tanques dos veces al día por medio del depósito para asentamiento de sólidos del sistema, y una vez a la semana se removieron los sólidos del fondo y paredes de cada tanque para limpieza general.

Se realizaron biometrías (peso g y talla cm) al inicio, en medio y al final del experimento para concretar la curva de crecimiento y de eficiencia de conversión alimenticia por medio de la obtención de ganancia de peso (GP) = P final - P inicial, eficiencia de conversión alimenticia (ECA) = alimento consumido/incremento de peso y razón eficiencia proteica (REP) = ganancia de peso/ proteína consumida, consumo (total, g pez⁻¹) = alimento administrado-alimento no consumido y la supervivencia (%) = 100 - (org. Inicio-org. final/org. inicio) * 100. Se colectaron heces 30 minutos posteriores al alimento dos veces al día mediante sifoneo directo y se almacenaron a -20°C para determinar la digestibilidad *in vivo* a partir del coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) según el método de Lovell (1998) de materia seca (CDA_M) = [100-(cenizas en alimento/cenizas en heces)] * 100; CDA de proteína (CDA_P) = [100-((cenizas en alimento/cenizas en heces) * (proteína en heces/proteína en alimento))] * 100; CDA de lípidos (CDA_L) = [100 - ((cenizas en alimento/ cenizas en heces) * (lípidos en heces/lípidos en alimento))] * 100; CDA de energía (CDA_E) = [100 - ((cenizas en alimento/ cenizas en heces) * (lípidos en heces/lípidos en alimento))] * 100.

En la biometría final se sacrificaron 8 peces de cada tanque (24 peces por dieta) para realizar análisis proximal de los diferentes tejidos (pez entero, músculo, vísceras e hígado) y determinación de índice biológico a partir del índice viscerosomático (IVS)=peso vísceras/peso pez*100 y hepatosomático (IHS) = peso hígado /peso pez*100. Durante la biometría final, por medio de punción cardiaca se extrajeron muestras de sangre de 8 peces de cada tanque (3 replica por dieta) y se colectó en jeringas de 1 ml con 0.1 ml de solución anticoagulante al 10% (EDTA) para hematocrito

por método de microhematocrito con un lector de tubos Spiracrit Lancer, concentración de hemoglobina, y se centrifugó a 12,000 rpm y 4°C por 5 minutos para obtención del plasma para determinar la concentración de proteína total, glucosa, albumina y colesterol por medio de kits comerciales (*Pointe Scientific, INC*).

El contenido de proteína total en las diferentes muestras de tejido y dietas se calculó por medio del contenido total de nitrógeno por el método de Kjeldahl, aplicando el factor de 6.25, la humedad y cenizas de acuerdo a las especificaciones de la AOAC (2000). Para determinación de lípidos totales se empleó el método modificado de Folch et al. (1957). El almidón se analizó en las dietas experimentales y en las heces colectadas por medio del método de Thivend et al. (1972), sometiendo 0.05 g de muestra y 25 ml agua destilada a alta presión y temperatura, en un esterilizador MARKET FORGE (STME-E). Posterior a la digestión enzimática con Amiloglucosidasa de *Aspergillus niger* (SIGMA-ALDRICH) durante 2 horas, se determinó el contenido de glucosa de la muestra, siguiendo las especificaciones del kit de glucosa (Liquid Glucose Oxidase, POINTE SCIENTEFIC) y leyendo con absorbancia a 520 nm en un Multiskan GO, Thermo Scientific. Se determinó glucógeno en hígado después de hidrolizarlo hasta glucosa, por medio del método de Plummer (1987) con un kit comercial (*Pointe Scientific, INC*).

Análisis estadísticos

Se evidenciaron diferencias significativas entre las diferentes dietas analizando los datos obtenidos de las respuestas de crecimiento, eficiencias alimenticias, índices y composición bioquímica de la sangre por medio de un análisis de varianza (ANOVA) de una vía y se realizarán comparaciones mediante pruebas de Tukey ($P < 0,05$) mediante el Software de procesamiento de datos estadísticos SigmaPlot V 12.5. Ink (2013).

RESULTADOS

Parámetros productivos

Al final del periodo experimental, la supervivencia de los organismos fue mayor al $94.7 \pm 2.3\%$, no se presentaron diferencias significativas ($P = 0.336$) entre las dietas experimentales (Tabla 2).

Los peces alimentados durante 55 días con dietas con harina de grillo (HG) al 10, 20, 30, 40 y 50% mostraron una ganancia de peso similar ($P = 0.022$) al de los peces alimentados con la dieta elaborada con harina de pescado sin adición de harina de grillo (HG0, 13.8 ± 0.1 g), a diferencia ($P < 0.05$) de los peces que consumieron la dieta comercial DCom (11.2 ± 0.1 g), la mayor ganancia de peso se observa en los peces alimentados con HG30, HG40 y HG50 (14.7 ± 0.6 , 14.8 ± 1.3 g, y 15.1 ± 1.0 respectivamente) y en lo que respecta a los porcentajes de crecimiento, la dieta DCom presenta un $278.2 \pm 3.6 \%$, mientras que los peces que consumieron la dieta HG50 presentaron el mayor porcentaje ($367.2 \pm 18.2\%$) en crecimiento en peso.

Se presentaron diferencias significativas en consumo, los peces alimentados con la dieta DCom presentaron un menor consumo (10.9 ± 1.1 g pez⁻¹) y significativo ($P < 0.005$) con respecto al resto de las dietas experimentales (14.6 ± 1.1 a 15.4 ± 1.5 g pez⁻¹). Los diferentes niveles de sustitución de HG no tuvieron influencia sobre el ECA y REP. El desempeño de los peces que consumieron las dietas experimentales presentaron valores de ECA que fluctuaron entre 1.07 ± 0.1 y 1.1 ± 0.1 entre todas las dietas ($P = 0.612$) y la REP fluctuó entre 2.2 ± 0.1 y 2.4 ± 0.0 entre todas las dietas ($P = 0.222$).

El índice viscerosomático (IVS, 7.86 ± 0.9) y hepatosomático (IHS, 2.22 ± 0.4) en los peces alimentados con la dieta DCom fueron significativamente ($P < 0.001$) mayores en comparación con el resto de las dietas experimentales (Tabla 2).

El coeficiente de digestibilidad aparente de la materia seca de las dietas (CDA_M) y de nutrientes, como proteína (CDA_P) y lípidos (CDA_L) no presentaron diferencias significativas entre las diferentes dietas ($P = 0.540$, 0.059 y 0.119 , respectivamente). En general las diferentes dietas presentaron una digestibilidad aparente de entre 58.8 ± 5.9

y $66.7 \pm 0.1\%$, con lo que respecta a la digestibilidad de los nutrientes, los peces presentaron una digestibilidad de proteína entre 80.7 ± 1.0 a $87.5 \pm 0.2\%$; para los lípidos de 76.7 ± 3.8 a $84.0 \pm 1.4\%$.

Tabla 2. Parámetros de supervivencia, crecimiento, eficiencia de conversión alimenticia (ECA), razón de eficiencia proteica (REP), consumo, índices viscerosomático (IVS) y hepatosomático (IHS) y coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) de juveniles de lobina rayada *Morone saxatilis*, alimentadas con diferentes porcentajes de harina de grillo (HG) de *Gryllus bimaculatus*.

DIETA	DCom	HG0	HG10	HG20	HG30	HG40	HG50	P
Supervivencia %	98.7 ± 2.3	98.7 ± 2.3	98.7 ± 2.3	97.3 ± 4.6	100.0 ± 0.0	98.7 ± 2.3	94.7 ± 2.3	0.336
Peso inicial (g)	5.9 ± 0.5	5.7 ± 0.4	5.7 ± 0.4	5.7 ± 0.4	5.8 ± 0.4	5.7 ± 0.4	5.7 ± 0.4	0.144
Peso final (g)	17.6 ± 2.7 ^b	20.2 ± 3.7 ^a	20.0 ± 2.5 ^a	19.6 ± 3.2 ^a	20.4 ± 3.5 ^a	20.5 ± 3.5 ^a	19.6 ± 3.5 ^a	<0.001
Peso ganado (g)	11.2 ± 0.1 ^b	13.8 ± 0.1 ^{ab}	13.6 ± 1.4 ^{ab}	13.9 ± 1.1 ^a	14.7 ± 0.6 ^a	14.8 ± 1.3 ^a	15.1 ± 1.0 ^a	0.029
Peso ganado %	278.2 ± 3.6 ^b	337.4 ± 3.6 ^{ab}	345.0 ± 31.5 ^{ab}	347.4 ± 33.3 ^{ab}	353.8 ± 9.5 ^a	358.1 ± 21.1 ^a	367.2 ± 18.2 ^a	0.029
Consumo (g)	10.9 ± 1.1 ^b	14.6 ± 1.1 ^a	15.3 ± 1.3 ^a	14.8 ± 0.5 ^a	14.7 ± 1.0 ^a	15.4 ± 1.5 ^a	14.6 ± 1.4 ^a	0.005
ECA	1.1 ± 0.0	1.1 ± 0.1	1.0 ± 0.0	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.0	1.07 ± 0.1	1.07 ± 0.1	0.612
REP	2.4 ± 0.0	2.2 ± 0.2	2.2 ± 0.1	2.2 ± 0.1	2.4 ± 0.0	2.3 ± 0.2	2.3 ± 0.2	0.222
IVS	7.9 ± 0.9 ^a	6.8 ± 0.8 ^b	6.5 ± 0.6 ^b	6.4 ± 1.3 ^b	6.8 ± 0.8 ^b	6.4 ± 0.6 ^b	6.2 ± 0.7 ^b	<0.001
IHS	2.2 ± 0.4 ^a	1.5 ± 0.2 ^b	1.8 ± 0.3 ^b	1.6 ± 0.4 ^b	1.5 ± 0.3 ^b	1.5 ± 0.2 ^b	1.5 ± 0.4 ^b	<0.001
CDA _M	62.5 ± 1.3	62.6 ± 7.8	66.7 ± 0.1	59.2 ± 3.1	59.0 ± 3.9	58.8 ± 5.9	60.8 ± 1.8	0.540
CDA _P	81.9 ± 1.7	87.5 ± 0.2	81.5 ± 2.3	81.2 ± 3.7	84.6 ± 0.6	80.7 ± 1.0	84.7 ± 1.1	0.059
CDA _L	84.0 ± 1.4	80.3 ± 2.2	76.7 ± 3.8	78.3 ± 3.4	83.0 ± 2.1	83.0 ± 1.2	82.1 ± 0.9	0.119
CDA _E	79.4 ± 5.7	85.3 ± 0.2	80.5 ± 2.4	80.6 ± 3.9	84.1 ± 1.0	80.8 ± 1.0	84.5 ± 1.0	0.321

Los valores son medias (±DS), superíndices diferentes indican diferencias significativas entre las dietas (P<0.05, ANOVA de una vía y prueba de Tukey). Ganancia de peso (GP) = P final - P inicial, eficiencia de conversión alimenticia (ECA) = alimento consumido / incremento de peso y razón eficiencia proteica (REP) = ganancia de peso/ proteína consumida, consumo (total, g pez⁻¹) = alimento administrado-alimento no consumido y la supervivencia (%) = 100 - (org. Inicio-org. final/org. inicio) * 100. materia seca (CDA_M) = [100-(cenizas en alimento/cenizas en heces)] * 100; CDA de proteína (CDA_P) = [100-((cenizas en alimento/cenizas en heces) * (proteína en heces/proteína en alimento))] * 100; CDA de lípidos (CDA_L) = [100 - ((cenizas en alimento/ cenizas en heces) * (lípidos en heces/lípidos en alimento))] * 100; CDA de energía (CDA_E) = [100 - ((cenizas en alimento/ cenizas en heces) * (lípidos en heces/lípidos en alimento))] * 100.

Hematología y bioquímica sanguínea

Las respuestas de la bioquímica sanguínea de los peces se muestran en la Tabla 3.

El nivel de hematocrito se observa variable ($P < 0.001$) entre las diferentes dietas, con valores menores para los organismos que consumieron las dietas HG30 ($28.0 \pm 3.9\%$), HG40 ($28.1 \pm 3.7\%$), HG50 ($28.7 \pm 5.1\%$), y un máximo para la dieta HG0 (35.2 ± 3.0).

Los valores de proteína total en plasma fueron significativamente mayores en los peces alimentados con la dieta comercial DCom ($4.5 \pm 0.4 \text{ g dL}^{-1}$), sin embargo, el contenido de proteína en el plasma disminuyó a medida que aumentaba la inclusión de harina de grillo en las dietas (HG10 a HG50) con un rango de 4.1 ± 0.2 a $3.5 \pm 0.4 \text{ g dL}^{-1}$, respectivamente ($P < 0.001$). La glucosa en sangre fue significativamente ($P < 0.001$) mayor en los peces alimentados con la dieta control HG0 ($108.44 \pm 11.5 \text{ mg dL}^{-1}$), y los niveles de albumina se mostraron significativamente más elevados en los peces alimentados con la dieta comercial DCom ($1.0 \pm 0.1 \text{ g dL}^{-1}$) en comparación con la dieta control HG0 ($0.9 \pm 0.1 \text{ g dL}^{-1}$), HG30 ($0.8 \pm 0.1 \text{ g dL}^{-1}$), HG40 ($0.8 \pm 0.1 \text{ g dL}^{-1}$) y HG50 ($0.8 \pm 0.1 \text{ g dL}^{-1}$) ($P < 0.001$). El colesterol fue más alto ($270.6 \pm 9.8 \text{ mg dL}^{-1}$) en la dieta DCom contra la dieta HG10 ($240.9 \pm 16.6 \text{ mg dL}^{-1}$) y HG20 ($234.3 \pm 13.3 \text{ mg dL}^{-1}$), y más aún contra la dieta HG30 ($218.9 \pm 16.9 \text{ mg dL}^{-1}$), HG40 ($218.5 \pm 13.7 \text{ mg dL}^{-1}$) y HG50 ($212.0 \pm 16.4 \text{ mg dL}^{-1}$) ($P < 0.001$). Los datos de hemoglobina fueron más altos en los peces que consumieron la dieta comercial DCom ($13.5 \pm 1.8 \text{ g dL}^{-1}$) y en la HG10 ($13. \pm 1.3 \text{ g dL}^{-1}$) que en el resto de las dietas ($P < 0.001$).

Tabla 3. Parámetros Hematológicos de juveniles de lobina rayada *Morone saxatilis*, alimentadas con diferentes porcentajes de harina de grillo (HG) de *Gryllus bimaculatus*.

DIETA	DCom	HG0	HG10	HG20	HG30	HG40	HG50	P
Hematocrito %	32.4 ± 2.7 ^{ab}	35.2 ± 3.0 ^a	32.3 ± 4.2 ^{ab}	30.8 ± 3.0 ^{bc}	28.0 ± 3.9 ^c	28.1 ± 3.7 ^c	28.7 ± 5.1 ^{bc}	<0.001
Proteínas g dL	4.5 ± 0.4 ^a	4.1 ± 0.2 ^b	4.0 ± 0.3 ^b	3.9 ± 0.4 ^{bc}	3.9 ± 0.3 ^{bc}	3.8 ± 0.2 ^{bc}	3.5 ± 0.4 ^c	<0.001
Glucosa mg dL	89.9 ± 16.8 ^b	108.4 ± 11.5 ^a	78.0 ± 16.7 ^b	82.7 ± 9.3 ^b	74.7 ± 13.7 ^b	83.0 ± 14.2 ^b	81.6 ± 13.6 ^b	<0.001
Albumina g dL	1.0 ± 0.1 ^a	0.9 ± 0.1 ^b	0.9 ± 0.1 ^{ab}	0.9 ± 0.1 ^{ab}	0.8 ± 0.1 ^c	0.8 ± 0.1 ^{bc}	0.8 ± 0.1 ^{cb}	<0.001
Hemoglobina gdL	13.5 ± 1.8 ^a	11.8 ± 0.6 ^{ab}	11.7 ± 0.9 ^{abc}	10.7 ± 0.9 ^{bc}	10.9 ± 0.6 ^{bc}	10.2 ± 1.1 ^c	10.7 ± 1.3 ^{bc}	<0.001
Colesterol mg dL	270.6 ± 9.8 ^a	222.1 ± 19.3 ^c	240.9 ± 16.6 ^b	234.3 ± 13.3 ^{bc}	218.9 ± 16.9 ^c	218.5 ± 13.7 ^c	212.0 ± 16.4 ^c	<0.001

Los valores son medias (±DS), superíndices diferentes indican diferencias significativas entre las dietas (P<0.05, ANOVA de una vía y prueba de Tukey).

Composición proximal de tejidos y glucógeno en hígado

La composición química proximal de pez entero, músculo, vísceras e hígado, así como el contenido de glucógeno en hígado de lobina rayada que se alimentaron con diferentes niveles de inclusión de harina de grillo son presentados en la Tabla 4.

El análisis de la composición proximal del pez entero mostro una diferencia significativa mayor de proteína en los peces alimentados con la dieta con nivel más alto de inclusión de harina de grillo HG50 ($57.1 \pm 2.3\%$) con respecto al resto de las dietas ($P < 0.050$), además, la DCom mostró la menor cantidad de proteína ($51.2 \pm 2.2\%$) en pez entero, aunque no de manera significativa. La cantidad de lípidos en pez entero resultó ser significativamente alto en los peces alimentados con DCom ($35.1 \pm 1.3\%$) en comparación con HG50 ($30.3 \pm 1.3\%$) ($P < 0.001$). Se observa una diferencia significativa entre las cenizas de los peces enteros alimentados con HG50 ($13.8 \pm 0.3\%$) y el resto de las dietas, y es más evidente aun con los alimentados con la DCom ($12.1 \pm 0.3\%$) ($P < 0.001$). El contenido de humedad de pez entero resultó menor en los peces alimentados con DCom ($67.9 \pm 0.6\%$) en comparación con el resto de las dietas ($P = 0.002$).

El nivel de proteína en el músculo no mostró diferencias significativas ($P = 0.208$) entre las distintas dietas experimentales. Sin embargo, el nivel de lípidos resultó menor significativamente ($P < 0.001$) entre las dietas HG40 ($10.0 \pm 1.6\%$) y HG50 ($10.4 \pm 0.7\%$). El nivel de cenizas fue menor en los peces alimentados con la DCom ($5.9 \pm 0.1\%$) en comparación del resto de las dietas, especialmente con la HG50 ($6.3 \pm 0.1\%$) ($P < 0.001$). La humedad en el músculo no tuvo diferencias significativas ($P = 0.193$) entre los peces alimentados con las diferentes dietas.

Se muestran diferencias significativas en el nivel de proteína en víscera en la DCom ($10.9 \pm 0.6\%$) en comparación al resto de las dietas (13.4 ± 0.2 a $15.2 \pm 0.5\%$). Los peces alimentados con la mayor inclusión de harina de grillo (HG50) presentaron diferencias significativas ($P = 0.004$) con alto contenido de lípidos en víscera ($90.3 \pm 0.1\%$). El mayor nivel de cenizas en la víscera se registró en HG0 ($1.3 \pm 0.0\%$) con respecto al resto de las dietas ($P < 0.001$).

El contenido de proteína y lípidos en hígado se vieron afectados por las diferentes dietas experimentales, la DCom mostró la menor cantidad de proteína ($38.3 \pm 0.0\%$) en el hígado, seguida por la dieta HG50 ($47.1 \pm 0.6\%$) en comparación con el resto de las dietas ($P < 0.001$). Los lípidos en el hígado fueron significativamente menores en la dieta DCom ($22.8 \pm 0.4\%$) en comparación con el resto de las dietas, las cuales presentaron un rango de 25.94 ± 1.1 a $27.9 \pm 0.1\%$ ($P < 0.001$). HG0 presentó la mayor cantidad de cenizas en el hígado ($5.9 \pm 0.2\%$) en comparación con el resto de las dietas pero sobre todo comparada con DCom ($4.2 \pm 0.3\%$) ($P < 0.001$). El glucógeno en el hígado se presentó significativamente ($P = 0.020$) en mayor concentración en los peces que se alimentaron con la dieta DCom ($14.3 \pm 2.0\%$) en comparación con la dieta HG0 ($10.8 \pm 1.3\%$), las dietas con inclusión de HG fueron similares a la dieta DCom (Tabla 3).

Tabla 4. Composición proximal en g 100 g⁻¹ de tejidos (peso seco) de juveniles de lobina rayada *M. saxatilis*, alimentadas con diferentes porcentajes de harina de grillo (HG) *Gryllus bimaculatus*.

DIETA	DCom	HG0	HG10	HG20	HG30	HG40	HG50	P
<i>Pez entero (%)</i>								
Proteína	51.2 ± 2.2 ^b	52.4 ± 1.9 ^b	53.4 ± 2.2 ^{ba}	53.1 ± 1.8 ^{ba}	54.0 ± 2.2 ^{ba}	53.2 ± 3.2 ^{ba}	57.1 ± 2.3 ^a	<0.050
Lípidos	35.1 ± 1.3 ^a	34.1 ± 1.4 ^{ab}	33.9 ± 1.9 ^{ab}	33.5 ± 1.3 ^{ab}	32.2 ± 2.9 ^{cb}	33.9 ± 1.2 ^{ab}	30.3 ± 1.3 ^c	<0.001
Cenizas	12.1 ± 0.3 ^c	12.3 ± 0.2 ^{bc}	12.8 ± 0.3 ^b	12.7 ± 0.7 ^{bc}	12.8 ± 0.3 ^b	12.4 ± 0.4 ^{bc}	13.8 ± 0.3 ^a	<0.001
Humedad	67.9 ± 0.6 ^b	70.0 ± 0.2 ^a	70.2 ± 1.0 ^a	70.3 ± 0.0 ^a	70.9 ± 0.1 ^a	69.7 ± 0.2 ^{ab}	71.0 ± 1.0 ^a	0.002
<i>Músculo (%)</i>								
Proteína	79.9 ± 1.1 ^a	81.3 ± 3.3 ^a	80.2 ± 2.6 ^a	81.3 ± 2.3 ^a	80.8 ± 1.7 ^a	81.8 ± 2.1 ^a	83.3 ± 1.5 ^a	0.208
Lípidos	13.2 ± 1.5 ^a	12.1 ± 1.5 ^{ac}	11.7 ± 1.0 ^{ac}	12.4 ± 1.6 ^{ab}	12.4 ± 1.0 ^a	10.0 ± 1.6 ^c	10.4 ± 0.7 ^{cb}	<0.001
Cenizas	5.9 ± 0.1 ^c	6.1 ± 0.1 ^b	6.2 ± 0.1 ^{ab}	6.2 ± 0.1 ^{ab}	6.3 ± 0.2 ^{ab}	6.2 ± 0.1 ^{ab}	6.3 ± 0.1 ^a	<0.001
Humedad	74.5 ± 0.8 ^a	76.1 ± 0.8 ^a	75.4 ± 0.3 ^a	75.9 ± 1.5 ^a	75.5 ± 0.2 ^a	75.0 ± 0.5 ^a	76.1 ± 0.3 ^a	0.193
<i>Víscera (%)</i>								
Proteína	10.9 ± 0.6 ^b	14.0 ± 0.7 ^a	13.4 ± 0.2 ^a	14.1 ± 0.2 ^a	13.9 ± 0.0 ^a	14.3 ± 0.4 ^a	15.2 ± 0.5 ^a	<0.001
Lípidos	88.4 ± 0.5 ^{ab}	79.3 ± 0.2 ^{cb}	78.6 ± 0.3 ^{ca}	83.1 ± 1.6 ^{ac}	76.5 ± 0.1 ^c	86.0 ± 6.2 ^{ac}	90.3 ± 0.1 ^a	0.004
Cenizas	0.7 ± 0.0 ^c	1.3 ± 0.0 ^a	1.2 ± 0.1 ^{ab}	1.2 ± 0.1 ^{ab}	1.2 ± 0.0 ^{ab}	1.1 ± 0.0 ^b	1.1 ± 0.0 ^b	<0.001
Humedad	69	61	64	63	61	63	65	
<i>Hígado (%)</i>								
Proteína	38.3 ± 0.0 ^d	50.5 ± 0.4 ^{ab}	51.5 ± 0.4 ^a	48.2 ± 0.3 ^{cb}	49.6 ± 0.1 ^b	49.1 ± 0.5 ^b	47.1 ± 0.6 ^c	<0.001
Lípidos	22.8 ± 0.4 ^b	27.9 ± 0.1 ^a	26.3 ± 0.2 ^a	27.2 ± 0.2 ^a	25.94 ± 1.1 ^a	27.1 ± 0.1 ^a	26.7 ± 1.2 ^a	<0.001
Cenizas	4.2 ± 0.3 ^d	5.9 ± 0.2 ^a	5.6 ± 0.2 ^{abc}	4.8 ± 0.04 ^{bd}	5.1 ± 0.0 ^b	4.9 ± 0.1 ^b	5.1 ± 0.1 ^{bc}	<0.001
Humedad	31	29	28	30	30	29	30	
Glucógeno	14.3 ± 2.0 ^a	10.8 ± 1.3 ^b	12.1 ± 1.4 ^a	12.2 ± 0.6 ^a	12.4 ± 1.0 ^a	12.0 ± 1.1 ^a	12.3 ± 0.5 ^a	0.016

Los valores son medias (±DS), superíndices diferentes indican diferencias significativas entre las dietas (P<0.05, ANOVA de una vía y prueba de Tukey).

DISCUSIONES

La fuerte demanda de harina de pescado para alimentar a los organismos destinados a la acuicultura evidencia la necesidad de fuentes alternativas de proteína. El presente estudio, tuvo como objetivo evaluar la respuesta de lobina rayada (*M. saxatilis*) a la sustitución parcial de la harina de pescado por harina de grillo (*G. assimilis*), con la finalidad de definirlo como una fuente alternativa viable de proteína en dietas para esta especie de pez. Los resultados obtenidos en el presente estudio, muestran diferencias significativas en la mayoría de los parámetros analizados, entre las dietas experimentales y la dieta comercial, lo que demuestra el potencial de la harina de grillo como sustituto proteico, incluso en un porcentaje mayor que en estudios previos, como es el caso de la harina de langosta de desierto *S. gregaria* en dieta para bagre africano *Clarias gariepinus* (Balogun, 2011), la harina de *L. migratoria* en dietas para tilapia del Nilo (Abanikannda, 2012) y la harina del saltamontes *Zonocerus variegatus* en la dieta de alevines de *C. gariepinus* (Alegbeleye et al., 2012), en los que sustituyen hasta el 25% de la proteína sin afectar los parámetros productivos. Además, será necesario analizar la aceptación de la lobina rayada a porcentajes mayores a 50% de sustitución de la proteína de harina de pescado por harina de *G. assimilis*, como en el caso de *C. gariepinus*, el cual se alimentó con dietas que contenían harina de *G. bimaculatus* con una sustitución del 100% sin afectar la composición corporal y la eficiencia alimenticia (Taufek et al., 2016).

Parámetros productivos

Los peces del presente estudio alimentados con 20 a 50% de proteína derivada de la harina de grillo mostraron una ganancia de peso similar al de los peces alimentados con harina de pescado como fuente principal de proteína, con una ganancia en peso de hasta 15.1 g, así como un porcentaje de crecimiento de hasta 367.2, a diferencia de los peces que consumieron la DCom (11.2 g, 299.7%, respectivamente). La tendencia en crecimiento de los juveniles de lobina rayada se observa en incremento conforme se

aumenta la HG, resultados similares son reportados con sustitución de HP por HG de *G. bimaculatus* para dietas de *C. gariepinus*, donde la tasa de crecimiento y eficiencia proteica incrementaron de forma proporcional al incrementar la inclusión de HG, del 50 al 100% (Taufek et al., 2017). De manera proporcional se observa que lobina rayada consumió de manera significativa más alimento (14.6 a 15.4 g) a través de las dietas experimentales con respecto a los peces alimentados con DCom (10.9 g). Sin embargo, los resultados de ECA, REP y CDA no mostraron diferencias significativas entre todas las dietas, quizá dicha diferencia puede deberse, a que en efecto los organismos que se alimentaron con la dieta DCom crecieron menos, pero también, consumieron menos alimento, y por lo tanto las eficiencias alimenticias fueron similares al resto de las dietas. Los valores promedio de ECA (1.08) obtenido en este estudio no presentaron variación por el nivel de inclusión de HG, al mostrar excelentes conversiones de alimento. Resultados diferentes son reportados por Taufek et al. (2017) con valores altos de ECA (2.20 en promedio) comparado con el nivel más bajo de inclusión de HG, confirmando con el incremento significativo de REP y tasa de crecimiento específico (promedio: 1.69 y 2.32, respectivamente) al alimentar a *C. gariepinus* con *G. bimaculatus* como sustituto proteico con niveles de inclusión del 25 al 100%; los autores hacen referencia al papel que jugó la quitina sobre el crecimiento retardado de peces alimentados con insectos (Alegbeleye et al., 2012), aunque también se ha reportado que bajos niveles de quitina favorecen la eficiencia de crecimiento promoviendo bifidobacterias (Spreen et al., 1984), sin embargo, los niveles máximos de tolerancia de quitina de *M. saxatilis* aún están por estudiarse.

Por lo general los índices viscerosomático (IVS) y hepatosomático (IHS) se ven aumentados cuando los organismos acumulan grasa en los tejidos viscerales por un exceso de energía en la dieta, además de un posible aumento en el contenido de glucógeno en el hígado cuando las dietas exceden la inclusión de carbohidratos. La especie de Lobina rayada del presente estudio presentó los valores más altos en ambos índices (IVS y IHS) en los organismos que se alimentaron con la dieta comercial DCom (22.2 kJ g⁻¹). El resto de las dietas experimentales produjeron en los organismos índices similares entre sí, indicando un posible balance de nutrientes en las dietas, ya

que dichos factores están asociados al tamaño del hígado y a la cantidad de grasa visceral (Storebakken y Austreng, 1987).

Antes de que uno de los componentes de los alimentos puedan ser utilizados por los organismos, estos deberán ser digeridos y absorbidos (Halver y Hardy, 2002), ya que una variación en la digestibilidad puede afectar la eficiencia de estos como fuente de energía y de nutrientes (Allan et al., 1999). En lo que respecta a la digestibilidad, en el presente estudio no se presentaron diferencias significativas entre todas las dietas estudiadas en lo que respecta al CDA de materia seca, proteína, lípidos y energía. Los valores promedio de CDA_P y CDA_L superaron el 80% en promedio. Taufek et al. (2016) utilizando un 30% de sustitución de HG de *G. bimaculatus* para dietas del bagre Africano *C. gariepinus* observó diferencia significativas entre HG y HP para CDA_M, CDA_P CDA_L y CDA_E en contraste a nuestros resultados que no fueron diferentes en ninguno de estos parámetros. La quitina es un material presente en el exoesqueleto de los ortópteros, tiende a disminuir la absorción de lípidos y puede provocar diarrea (Olsen et al., 2006) por lo que podrían esperarse niveles más bajos de ECA, REP y CDA, y mayor concentración de lípidos en la heces, por lo contrario, en éste estudio se obtuvieron valores similares en dichos parámetros y menor concentración de lípidos en las heces de los peces alimentados con los niveles más altos de HG.

Hematología y bioquímica sanguínea

Los estudios de sangre en organismos en cultivo son muy útiles ya que al experimentar con ingredientes alternativos en las dietas para peces llegan a ser indicadores de salud general, cambios fisiológicos, estrés y calidad nutricional (Bahmani et al., 2001). Para medir dichos parámetros se utilizaron los intervalos de referencia hematológicos y bioquímicos del plasma para híbridos de tilapia (*Oreochromis nilotica* x *O. mossambicus* x *O. aureus*) determinados por Hrubec et al. (2000) siguiendo los lineamientos del Comité Nacional para Estándares de Laboratorios Clínicos (NCCLS).

Los bajos niveles de hemoglobina y hematocrito son indicadores de anemia, en el presente estudio los resultados de hemoglobina fueron más altos en los peces que

consumieron la dieta comercial DCom (13.5 g dL⁻¹) seguida de la HG10 (12.1 g dL⁻¹), con respecto al resto de las dietas, y el nivel de hematocrito fue menor en las dietas con inclusión de HG comparadas con la dieta control y la DCom. Rumsey et al. (1994) menciona que los niveles diferentes de hematocrito se van a presentar en peces con privación nutricional extrema. Sin embargo, satisfactoriamente dichos niveles en el presente estudio se mantienen por arriba del intervalo de referencia (7.0 - 9.8 g dL⁻¹) de Hrubec et al. (2000), indicando que la fuente de proteína no afectó los elementos de eritropoyesis (Rumsey et al., 1994).

La presencia elevada de proteína en el plasma de la sangre se ha relacionado con la calidad de la dieta, y por ende, con el estado nutricional del pez (Atencio-Garcia et al., 2007), indicando que probablemente existan inflamaciones y procesos de reparación en el tracto digestivo como respuesta de hipersensibilidad a ciertos ingredientes de la dieta (Rumsey et al., 1994; Krogdahl et al., 2000; Peres et al., 2003). El contenido de proteína en plasma de los peces del presente estudio muestran concentraciones más alta en los organismos alimentados con la dieta DCom (4.5 g dL⁻¹), en comparación con el resto de las dietas estudiadas. Además, se muestra un decremento significativo de proteína en el plasma de los peces que consumieron más HG. Ingrediente como la soya han promovido en el salmón del Atlántico (*Salmo salar* L), la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y totoaba (*T. macdonaldi*) un efecto negativo al analizar la concentración de proteína en el plasma de estos peces, la cual se vio aumentada a medida que se incrementaba la concentración de soya en la dieta (Atencio-Garcia et al., 2007; Rumsey et al., 1994; Krogdahl et al., 2000; Peres et al., 2003; López et al., 2015, respectivamente). En base a estos estudios, se podría sugerir que la inclusión de HG en la dieta HG50 tuvo una respuesta más favorable del tracto digestivo que la dieta DCom, la cual indica que podría ser una fuente alternativa de proteína para dietas de peces carnívoros que actualmente están siendo alimentados con dietas que contienen sustitución parcial o total de la harina de pescado por proteína o harina de soya.

La glucosa presente en la sangre puede ser debida a la presencia de carbohidratos en el alimento, así como resultado del estrés, lo cual provoca una estimulación de las vías

alternas en la liberación de glucosa por medio de la gluconeogénesis y liberación de glucagón, causando un estado de resistencia a la insulina y llegar a producir hiperglicemia (Thrall et al., 2004). Los resultados del presente estudio, indican un pico de glucosa en los organismos que se alimentaron con la dieta sin adición de HG (HG0, 108.4 mg dL⁻¹), mientras que el resto de las dietas se mantuvieron constantes, dentro del rango referencia de referencia (39-96 mg dL⁻¹) de Hrubec et al. (2000). Los niveles de glucosa en sangre son utilizados como indicador eficiente de estrés en investigación en acuicultura, debido a que la glucosa es la fuente principal de energía usada por el pez cuando debe soportar condiciones desfavorables, generando catecolaminas (adrenalina y noradrenalina) estimulando la gluconeogénesis (Kubokawa et al., 1999; en Labarrere et al., 2013), pudiendo indicar algún factor de estrés en los peces alimentados con la dieta control.

Los resultados de albumina fueron mayores significativamente en los peces alimentados con DCom (1.0 g dL⁻¹) en comparación con los tratamientos HG30, HG40 y HG50 (0.8 g dL⁻¹), y se encuentran por debajo de lo indicado por Hrubec et al. (2000) con 1.0 a 1.6 g dL⁻¹. Giannini et al. (2005) reporta que el nivel de albumina en sangre puede sugerir daño hepático y una absorción anormal de proteína. La concentración de proteína total, albumina y globulina en la sangre de peces que se mantuvieron bajo estrés en sistemas de alta densidad, puede deberse a una respuesta inmune provocada por un alto conteo bacteriano provocando (Hrubec et al., 2000).

El colesterol es clave en la síntesis de hormonas esteroideas y como un componente de las membranas celulares. La concentración de colesterol en la sangre puede ser influenciada por la nutrición, el nivel de actividad y actividad hepática (Labarrere et al., 2013). En el presente estudio se observa que en la dieta DCom (270.6 mg dL⁻¹) el nivel de colesterol fue el más elevado, significativamente mayor a la dieta control y a HG10 (240.9 mg dL⁻¹) y 20 (234.3 mg dL⁻¹), y estas a su vez fueron significativamente mayores que las dietas HG30 (218.9 mg dL⁻¹), 40 (218.5 mg dL⁻¹) y 50 (212 mg dL⁻¹), mostrando una baja gradual del nivel de colesterol en proporción al porcentaje de inclusión de harina de grillo. Los niveles decrecientes de colesterol podrían deberse al nivel de

quitina y quitosan contenido en la HG, que se ha reportado que pueden afectar la absorción de grasa dietética (Razdan et al., 1997). Los resultados favorables en la salud de los peces alimentados con las dietas experimentales pueden afirmarse con el contenido de quitina, considerado como un prebiótico de selección de bacterias autóctonas que contrarrestan el establecimiento de microbios patógenos en el tracto gastrointestinal de algunos peces (Olsen et al., 2006). Esto es relevante ya que las producciones enzimáticas de las bacterias del intestino contribuyen a la nutrición de peces (Ray et al., 2011).

Composición proximal de tejidos y glucógeno en hígado

Diferentes autores han evaluado la calidad de las dietas mediante diferentes análisis de tejidos (Bureau et al., 2000; Bañuelos-Vargas et al., 2014). Los resultados de proteína en el pez entero fueron significativamente mayores en los peces alimentados con HG50 (57.1%) en comparación con HG0 y DCom, indicando un posible aprovechamiento proteico, el cual se depositó en los tejidos del pez de forma favorable; resultados similares presentan Taufek et al. (2017) donde se observa que el contenido de proteína de pez entero en los peces alimentados con 50 al 100% de inclusión de HG fue mayor comparada con el resto de las dietas. En lo que respecta al contenido de lípidos en pez entero, solo los peces alimentados con HG50 (30.3%) presentaron una menor concentración de lípidos en comparación con las dietas que no contenían HG. Esta relación de decremento de lípido en pez entero y músculo puede deberse al contenido de quitina, ya que la digestibilidad de nutrientes puede ser influenciada por el alto poder de enlace del agua con la estructura de la quitina, que forma enlaces iónicos que se unen a varias sustancias iónicas como lípidos y bilis, evitando la hidrólisis de la lipasa y reduciendo la absorción de lípidos en los mamíferos (Tharanathan y Kittur 2003), resultados que se manifestaron en estudios con trucha arcoíris (Lindsay et al., 1984) y tilapia (Shiau y Yu 1999). Sin embargo, a pesar de estos resultados, en el presente estudio se observó un incremento en el crecimiento mientras se aumentaba el

contenido de proteína de grillo hasta un nivel de 50%, por lo que la inclusión máxima de HG en la dieta de lobina rayada aún debe definirse.

El hígado y vísceras en las dietas con las más alta concentración de proteína de grillo, tendieron a mostrar en forma significativa, una mayor cantidad de proteína y lípidos en comparación con las dietas comercial y control; sin embargo, estos incrementos de HG en la dieta, causaron en el músculo una disminución en su contenido de lípidos ($P < 0.05$), conforme aumentaba en forma no significativa su contenido de proteína.

Los resultados generales de composición proximal se asemejan a los de Taufek et al. (2017), donde la proteína del pez entero de los peces alimentados con nivel de inclusión de HG del 50-100%, fue significativamente mayor que aquellos alimentados con niveles menores de HG; así mismo, al igual que en este estudio el contenido de lípidos fue afectado inversamente por el contenido de proteína de las dietas.

El glucógeno en el hígado resultó menor en la dieta HG0 (10.8%) en relación con las dietas experimentales con inclusión de HG y éstas a su vez resultaron menores que la dieta DCom, aunque tal diferencia no fue significativa. Esto podría deberse a que un exceso de carbohidratos en la dieta activa la gluconeogénesis, por su parte un exceso de proteína en la dieta provoca aumento de excreción de amoníaco a través de las branquias, el exceso va al hígado y se convierte en glucógeno o triglicéridos (Guillaume et al., 2004).

CONCLUSIONES

Niveles crecientes de sustitución de la proteína de la harina de pescado por la harina de grillo (*G. assimilis*) en dietas para juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*) presentaron crecimiento, eficiencia alimenticia y proteica similares con la dieta comercial y con la dieta sin harina de grillo, además, mejoraron significativamente los valores de hematología y bioquímica sanguínea. Así mismo, presentaron efectos positivos sobre la composición proximal de tejidos al incrementar el contenido de proteína y disminuir los lípidos en el tejido de pez entero y músculo, sin cambios significativos en el contenido de proteína. El contenido de glucógeno en hígado fue mayor en las dietas con harina de grillo.

Los resultados del presente estudio sugieren que la proteína de *Gryllus assimilis* es una fuente viable para la sustitución parcial de la proteína de la harina de pescado en juveniles de *Morone saxatilis* de hasta el 50%.

REFERECIAS

- Abanikannda, M. F., 2012. Nutrient digestibility and haematology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with varying levels of locust (*Locusta migratoria*) meal. Bachelor Thesis. Federal University of Agriculture, Abeokuta, Ogun State, Nigeria.
- Adámková, A., Kouřimská L., Borkovcová M., Miček J., Bednářov M., 2014. Calcium in edible insects and its use in human nutrition. *Potravinárstvo, Scientific Journal of Food Industry* 8 (1), 233-238.
- Adámková, A., Miček J., Kouřimská L., Borkovcová M., Bušina T., Adámek M., Bednářová M. and Krajša J., 2017. Nutritional potential of selected insect species reared on the Island of Sumatra. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 14(5), 521.
- Allan, G. L., Rowland, S. J., Parkinson, S., Stone, D., Jantrarat, W., 1999. Nutrient digestibility for juvenile silver perch *Bidyanus bidyanus*: development of methods. *Aquaculture*. 170. 131–145.
- Alegbeleye, W. O., Obasa S. O., Olude, O. O., Otubu, K., Jimoh, W., 2012. Preliminary evaluation of the nutritive value of the variegated grasshopper (*Zonocerus variegatus* L.) for African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell. 1822) fingerlings. *Aquaculture Research*. 43, 412–420.
- AOAC (Association of Official and Analytical Chemists), 2000. Official methods of analysis of AOAC. 17th Edition. Vol. 1.
- Atencio-García, V., Genes-López, F., Madariaga-Medozza, D., Pardo-Carrasco, S., 2007. Hematología y química sanguínea de juveniles de Rubio *Salminus affinis* (Pisces: Characidae) del río Sinú. *Acta Biol. Colomb.* 12, 27-40.
- Bahmani, M., Kazemi, R., Donskaya, P., 2001. A comparative study of some hematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). *Fish Physiol. Biochem.* 24, 135-140.

- Balogun, B. I., 2011. Growth performance and feed utilization of *Clarias gariepinus* (Teugels) fed different dietary levels of soaked *Bauhinia Monandra* (Linn.) seed meal and sun-dried locust meal (*Schistocerca gregaria*). Unpublished Ph.D Thesis, Ahmadu Bello University, Zaria.
- Bañuelos-Vargas, I., López L. M., Pérez-Jiménez, A., Peres, H., 2014. Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on hepatic intermediary metabolism and antioxidant status of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*). *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B* 170, 18-25.
- Barroso, F. G., Haro, C., Sanchez-Muros, M. J., Venegas, E., Martinez-Sanchez, E., Perez-Bañón, C., 2013. The potential of various species for use as food for fish. *Aquaculture* 422-423, 193-201.
- Cheng, Z.J., Hardy, R.W., Huige, H.J., 2004. Apparent digestibility coefficients of nutrients in brewer's and rendered animal by-products for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)). *Aquacult. Res.*, 35, 1–9.
- FAO, 2016. The state of world fisheries and aquaculture 2016 (SOFIA). World review of fisheries and aquaculture.
- Finke, M. D., Sunde, M. L., DeFoliart, G. R., 1984. An evaluation of the protein quality of Mormon crickets (*Anabrus simplex* Halderman) when used as a high protein feedstuff for poultry. *Poultry Science*. 64, 708-712.
- Ganguly, A., Chakravorty, R., Das, M., Gupta, M., Mandal, D. K., Haldar, P., Ramos-Elorduy, J., Pino, J. M., 2013. A preliminary study on the estimation of nutrients and anti-nutrients in *Oedaleus abruptus* (Thunberg) (Orthoptera: Acrididae). *International Journal of Nutrition and Metabolism* 5(3), 50-56.
- Ghosh, S., Lee S. M., Jung C., Meyer-Rochow V.B., 2017. Nutritional composition of five commercial edible insects in South Korea. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, Accepted manuscript.
- Guillaume, J., Blanco, A. S., 2004. *Nutrición y alimentación de peces y crustáceos*. Mundi-Prensa.
- Halver, J.E., Hardy R.W., 2002. *Fish nutrition*. US: Academic Press.

- Hrubec, T. C., Cardinale, J. L., Smith S. A., 2000. Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis Hybrid*). *Veterinary Clinical Pathology*. 29, 7-12.
- Krogdahl, A., Bakke-McKellep, A. M., Roed, K. H., Baeverfjord, G., 2000. Feeding Atlantic salmon *Salmo salar* L. soybean products: effects on disease resistance (furunculosis), and lysozyme and IgM levels in the intestinal mucosa. *Aquaculture Nutrition*. 6, 77-84.
- Kubokawa, K., Watanabe, T., Yoshioka, M., Iwata, M., 1999. Effects of acute stress on plasma cortisol, sex steroid hormone and glucose levels in male and female sockeye salmon during the breeding season. *Aquaculture*. 172, 335–349.
- Labarrère, C. R., Carvalho de Faria, P. M., de Alencar Teixeira E., Martins Melo, M., 2013. Blood chemistry profile of Surubim hybrid fish (*Pseudoplatystoma Reticulatum* X *P. Corruscans*) raised in different stocking densities. *Ciênc. agrotec.* 37, 251-258.
- Makkar, H. P. S., Tran, G., Heuzé, V., Ankers, P., 2014. State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Animal Feed Science and Technology*. 197, 1-33.
- Peres, H., Lim, C., Klesius, P. H., 2003. Nutritional value of heat-treated soybean meal channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*. 225, 67-82.
- Quagraine, K., 2017. Consumer willingness to pay for a saline fish species grown in the us Midwest: the case of striped bass, *Morone saxatilis*. *Journal of the World Aquaculture Society*.
- Razdan, A., Pettersson, D., Pettersson, J., 1997. Broiler chicken body weights, feed intakes, plasma lipid and small-intestinal bile acid concentrations in response to feeding of chitosan and pectin. *British Journal of Nutrition*. Aug; 78 (2), 283-91.
- Rumsey, G. L., Siwicki, A. K., Anderson, D. P., Bowser, P. R., 1994. Effect of soybean protein on serological response, non-specific defense mechanisms, growth, and protein utilization in rainbow trout. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 41, 323-339.
- Shiau, S., Yu, Y., 1999. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Aquaculture* 179, 439–446.

- Spreen, K. A., Zikakis, J. A., Austin, P. R., 1984. The effect of chitinous materials on the intestinal microflora and the utilization of whey in monogastric animals. *In: Chitin, Chitosan and Related Enzymes* (ed. by J.A. Zikakis). Academic Press 57- 75.
- Storebakken, T. and Austreng, E., 1987. Ration level for salmonids. II. Growth, feed intake, protein digestibility, body composition, and feed conversion in rainbow trout weighing 0.5-1.0 kg. *Aquaculture*, 60: 207-221.
- Taufek, N. M., Muin, H., Raji, A. A., Razak S. A., 2016. Apparent digestibility coefficients and amino acid availability of cricket meal, *Gryllus bimaculatus*, and Fishmeal in African Catfish, *Clarias gariepinus*, Diet. *Journal of the World Aquaculture Society*.
- Taufek, N. M., Muin, H., Raji, A. A., Yusof, H. M., Alias, Z., Razak, S. A., 2017. Potential of field crickets meal (*Gryllus bimaculatus*) in the diet of African catfish (*Clarias gariepinus*). *Journal of Applied Animal Research* 1-6.
- Tharanathan, R.; Kittur, F.; 2003. Chitin-the undisputed biomolecule of great potential. *Crit. Rev. Food Sci.* 43(1), 61-87.
- Thrall, M.A. 2004. Hematology of fish. In: Thrall, M.A., Baker, D.C., Campbell, T.W., DeNicola, D., Fettman, M.J., Lassen, D.E., Rebar, A., Weiser, G. *Veterinary Hematology And Clinical Chemistry*. Lippincott Williams & Wilkins (1st ed.). Maryland, U.S.A. 618 pp.
- Trejo- Escamilla, I., 2009. Respuesta de crecimiento de juveniles de corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) alimentados con dietas con diferentes niveles de almidón suplementadas con bacterias probióticas. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias Marinas, UABC Ensenada, B.C.
- Tzompa-Sosa, D.A., Yi, L., van Valenberg, H.J.F., van Boekel, M.A.J.S. Lakemond, C.M.M., 2014. Insect lipid profile: Aqueous versus organic solvent-based extraction methods. *Food Res. Int.*, 62, 1087–1094.
- Van Huis, A., 2012. Potential of insects as food and feed in assuring food security. The Netherlands. *Annu. Rev. Entomol.* 58, 563–83.