

Uso de insectos en estudios nutricionales. Cambios en la composición corporal inducidos por la dieta

Andrés Carmona⁽¹⁾, Aura Gómez-Sotillo⁽²⁾

RESUMEN. Las reacciones metabólicas de los animales son bioquímicamente uniformes requiriéndose, en general, los mismos nutrientes. Muchos de éstos deben ser digeridos para que sus productos sean asimilados, necesiándose sistemas enzimáticos para el proceso digestivo. Dichos sistemas son equivalentes en los distintos grupos zoológicos. Asimismo, los agentes que impiden el aprovechamiento de una fuente alimenticia limitan el crecimiento y desarrollo de los individuos, independientemente de la especie considerada. Por ello, los insectos sirven como modelo para bioensayos cuyos resultados pueden ser extrapolados, con la debida precaución, a la nutrición humana y animal. Usando gorgojos de arroz (*Sitophilus oryzae*) se evaluó la supervivencia y los cambios de peso y de composición corporal en respuesta a dietas con harinas de semillas de leguminosas y factores antinutricionales purificados. Como dieta basal se usó almidón de maíz. La harina de *Phaseolus vulgaris* disminuyó la vida media de los adultos, mientras que los factores antinutricionales afectaron, principalmente, la composición corporal de los individuos. *An Venez Nutr* 1997; 10 (1):20-26.

Palabras clave: Insectos, dieta, ayuno, factores antinutricionales.

Introducción

La explotación de diferentes nichos ecológicos por organismos heterótrofos, como los animales, ha sido posible gracias a la conservación de las reacciones metabólicas esenciales que permiten la utilización de los nutrientes. Aunque entre los grupos de la escala zoológica pueden existir diferencias cualitativas en sus requerimientos nutricionales, los nutrientes básicos son los mismos. Para ser asimiladas, las biomoléculas complejas de la dieta, proteínas, carbohidratos y lípidos, deben ser hidrolizadas a sus bloques estructurales constituyentes. En consecuencia, los procesos digestivos de los animales se basan en la existencia de sistemas enzimáticos que catalizan reacciones similares (1,2). Más aún, estos sistemas son afectados, de manera análoga, por diversos factores antinutricionales producidos por las plantas. Estas sustancias, integrantes del arsenal químico vegetal, han evolucionado como mecanismos de defensa contra el ataque de los organismo que de ellas se alimentan (3,4).

La similitud de los procesos biológicos entre las especies ha hecho posible la implementación de sistemas modelo. Para estudios nutricionales, las ratas y ratones de laboratorio han tomado preeminencia, aunque otras especies como pollos, cerdos, hámsteres, acures y conejos encuentran utilidad en ensayos específicos. Menos frecuentes son los trabajos que utilizan microorganismos (5), insectos (6-9) o peces. No obstante, los resultados deben ser analizados dentro de los límites que imponen las diferencias cualitativas existentes

entre las especies.

Desde el punto de vista nutricional, los requerimientos de los insectos y los de animales superiores y humanos son semejantes. Los azúcares y grasas se necesitan, comparativamente, en grandes cantidades (g/kg peso corporal/día), los aminoácidos, purinas y ciertos lípidos en ordenes de magnitud menor (mg/kg peso/día), mientras que las vitaminas y minerales se requieren en cantidades mínimas (µg/kg peso por día). Como nutrientes esenciales para los insectos se han identificado a los aminoácidos arginina, femilantina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano y valina; las vitaminas hidrosolubles tiamina, riboflavina, ácido nicotínico, ácido pantoténico, biotina, ácido fólico y piridoxina, y las liposolubles A, D, E y K. Adicionalmente, se requiere colina

- 1 PhD en Nutrición, Laboratorio de Bioquímica Nutricional y Metabolismo, Instituto de Biología Experimental, Universidad Central de Venezuela.
- 2 Dr. en Biología, Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente.

Financiado en parte por el Consejo de Investigaciones de la Universidad de Oriente, Proyecto No. CI-S-1001-0549/92

Solicitar copia a: Andrés Carmona, Instituto de Biología Experimental, U.C.V. Apartado 47069, Caracas-1040.

y carnitina. Para el crecimiento y la reproducción se requieren, además, esteroides con un hidroxilo en posición 3 (2,10,11).

La digestión de los alimentos se realiza extracelularmente en el tracto digestivo. Los insectos fitófagos masticadores, como el *Sitophilus oryzae*, presentan un aparato bucal masticador y un tracto digestivo dividido en tres secciones. En la sección intermedia se encuentra el estómago, donde se secretan diversas enzimas digestivas: proteasas, lipasas y carbohidrasas. En la sección distal se encuentran los intestinos delgado y grueso y el recto; allí se digieren y absorben los alimentos no procesados en la sección intermedia (2,10-12).

Los mecanismos de acción de las enzimas digestivas son comparables a los de los animales superiores, pudiendo hablarse de actividades «similares» a la tripsina, quimiotripsina y α -amilasa. Estas hidrolasas son afectadas por los inhibidores de hidrolasas (tripsina, quimio tripsina y α -amilasa) producidos por las plantas, caracterizados a través de su interacción con las enzimas de animales superiores (3,7,13-17).

El uso de insectos como modelo en bioensayos nutricionales tiene como ventajas la corta duración y el menor costo de los experimentos. La pequeña cantidad de alimento requerida para cada ensayo permite evaluar el efecto de factores antinutricionales purificados, de limitada disponibilidad. Por otra parte, para cada réplica, se utilizan entre 30 y 40 individuos, por lo que se trabaja con «pequeñas poblaciones». Ello disminuye la variabilidad de los parámetros estudiados y facilita los análisis estadísticos.

Además de la medición de la supervivencia de individuos adultos, es posible monitorear los cambios de peso y/o de composición corporal que se producen a consecuencia de las manipulaciones nutricionales. Asimismo, puede determinarse el efecto de la dieta sobre la reproducción y la maduración de las larvas. En este trabajo se demuestra que el almidón de maíz sirve como dieta basal para los gorgojos de arroz (*Sitophilus oryzae*), lo cual ha facilitado la evaluación nutricional de proteínas purificadas, harinas e inhibidores de hidrolasas aislados de caraotas negras, demostrándose el potencial del modelo presentado para estudios de toxicología nutricional. No obstante, debido a su versatilidad, los gorgojos también podrían usarse en estudios para evaluar la calidad nutricional de diversas proteínas.

Materiales y métodos

Animales: En el presente estudio se utilizaron gorgojos de arroz adultos, *Sitophilus oryzae* L. (Coleóptera: Curculionidae), cultivados en cotiledones de arvejas (*Pisum sativum*) en envases cerrados, protegidos de la luz y mantenidos a temperatura ambiente. Los cultivos se establecieron colocando 60 adultos en las arvejas (250-300 g), por 20 días, para permitir la ovoposición. Luego se retiran los padres y se espera la emergencia de nuevos adultos (20 días). De cada camada se conformaron, al azar, grupos de 40 individuos, para los estudios nutricionales, que se colocaron en viales de vidrio con 2 g de la dieta correspondiente. Cada experimento se realizó por triplicado. La duración de cada uno de ellos se indica en los

gráficos respectivos. Habitualmente se incluyó en cada experimento, como control, un grupo de gorgojos mantenidos en ayunas.

En los ayunos de sobrevivencia, los animales se contaron diariamente, descartándose los animales muertos. Los resultados se expresaron como porcentaje de sobrevivencia o como sobrevivencia media (mediana). Las variaciones de peso de los individuos se evaluaron diariamente, hasta por 8 días, después de separarlos de la dieta y limpiados con un pincel para remover partículas adheridas al cuerpo.

Luego de ocho días, algunos animales fueron congelados a -10°C y se procedió al análisis de composición corporal. La humedad y las grasas se determinaron utilizando los métodos convencionales, como se indicó en su trabajo previo (9). El nitrógeno se midió dirigiendo las muestras en 1 mL de H_2SO_4 al 40%. La determinación del nitrógeno se realizó utilizando una modificación del método colorimétrico de Hevia y Ciocia (18). Luego de diluir las muestras digeridas con ácido sulfúrico con 4 mL de agua destilada, se tomaron 20 μL y se neutralizaron con 400 μL de KOH (4 moles/L), se agitó en vortex, se diluyó con 3 mL de agua y se le hizo reaccionar con 100 μL del reactivo de Nessler (Merk, Darmstadt, Alemania). La mezcla se dejó reposar por 10 min y se determinó su absorbancia a 490 nm. El contenido de nitrógeno se calculó con ayuda de una curva de calibración de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (100 $\mu\text{g/mL}$).

La separación del nitrógeno cuticular (exoesqueleto) del no-cuticular (corporal) se hizo solubilizando las proteínas corporales en NaOH (0.5 nmoles/L) por 24 horas. Las fracciones solubles e insolubles se dirigieron como se indicó en el párrafo anterior.

Dietas: Para los estudios nutricionales se prepararon semillas artificiales, con forma de esferas de 4-5 mm de diámetro, amasando el almidón de maíz (Maizina Americana), solo o en combinación con otros componentes (harina de caraotas negras, caseína, inhibidores de hidrolasas), con agua destilada. Las esferas se secaron en una estufa, por 4-6 horas, a 37°C y se conservaron en envases cerrados a temperatura ambiente. La composición porcentual de las dietas se presenta en el Cuadro N° 1.

La harina de caraotas negras (*P. vulgaris*) se obtuvo moliendo los granos en un molino eléctrico para café y luego pasándola a través de un tamiz de 60 mesh.

Los inhibidores de α -amilasa y de tripsina-quimiotripsina (Bowman-Birk) fueron separados, a partir de la fracción de albúminas de caraotas negras, por cromatografía de exclusión molecular en una columna de Sephadex G-75 (50x0.9 cm) hidratado con buffer Tris-HCl (0,1 moles/L; pH7). Las muestras se excluyeron con el mismo buffer con un gradiente de concentración de NaCl de 0 a 0.2 moles/L. Se recogieron fracciones de 2 mL, con un flujo de 1.25 mL/min, y se monitorearon a 280 nm en un espectrofotómetro digital Milton Roy 21. La actividad inhibitoria de las proteasas tripsina y quimiotripsina, de la α -amilasa y la actividad hemaglutinante fue ensayada en cada una de las fracciones (19). El pool de fracciones positivas, correspondiente a cada actividad, se

almacenó a -10°C . El contenido de proteínas de las fracciones se determinó utilizando la ecuación ($Y=144 \times (A_{215}-A_{225})$) y se expresó en $\mu\text{g/mL}$. Como patrón se utilizó una solución de albúmina sérica bovina (Sigma, Fracción V) de $100 \mu\text{g/mL}$ (20). La lectina de caraotas (PHA) fue aislada a partir de la fracción de globulina por cromatografía en Sephadex G-75 equilibrado con el mismo buffer Tris, al cual se le adicionó NaCl (0.3 moles/L). La actividad hemaglutinante se detectó frente a eritrocitos de conejo tratados con pronasa (21).

Cuadro N° 1

Composición porcentual, en base seca, de las dietas suministradas a los insectos¹

Dietas	Componentes (porcentaje)					
	Almidón de maíz	Caseína	Harina de caraotas	IA	ITQ	PHA
Basal	100	0	0	0	0	0
Basal + Caseína	98	2	0	0	0	0
Basal + Harina de caraotas	98	0	2	0	0	0
Basal + Inhibidor de α -Amilasa (IA)	99.99	0	0	0.005	0	0
Basal + Caseína + Inhibidor de Tripsina-Quimotripsina (ITQ)	97.99	2	0	0	0.005	0
Basal + Caseína + PHA	97.99	2	0	0	0	0.005

¹ El contenido de humedad de las semillas artificiales fluctuó entre 10 y 12%

Resultados y discusión

Efecto del ayuno o la alimentación con la dieta basal o harina de arvejas.

La restricción alimentaria produce drásticos efectos sobre el peso y el funcionamiento fisiológico de los individuos. Como se muestra en el Gráfico N° 1, la mortalidad de los insectos, privados totalmente de alimentos y agua, se acentuó a partir del sexto día de ayuno y ninguno de ellos permaneció vivo después del día 18. La sobrevivencia media (mediana), de gorgojos adultos, se estimó en 12 días. Kleiber (22), estudió la supervivencia de ratas frente al ayuno total (con acceso al agua) y encontró que los animales murieron entre el cuarto y el trigésimo día, con una sobrevivencia media de 12 días. La coincidencia entre los valores de la sobrevivencia media para ambas especies puede ser fortuita.

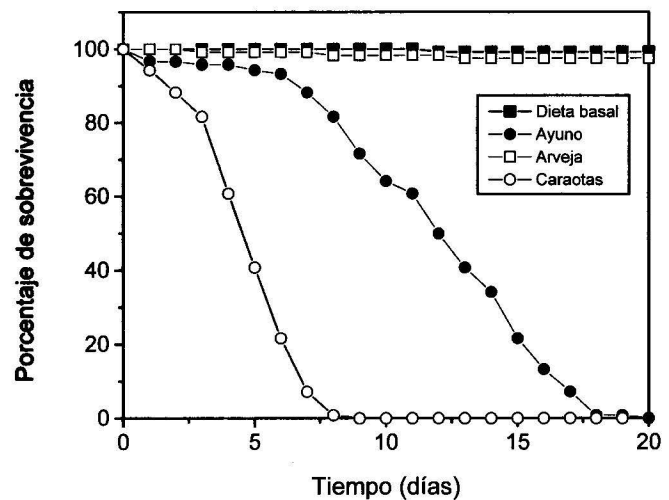
La sobrevivencia media de los insectos se redujo a 5 días al alimentarlos con harina de caraotas negras crudas (Gráfico N° 1). El efecto deletéreo de estas harinas se ha atribuido a su contenido de factores antinutricionales (inhibidores de hidrolasas, lectinas y taninos). La toxicidad de las caraotas crudas ha sido documentada, ampliamente, en estudios con otros animales, incluyendo al hombre (1,23,24).

En nuestro laboratorio mantenemos las poblaciones de gorgojos en arvejas peladas, que no manifiestan la toxicidad de las semillas de caraotas. En este sustrato, la sobrevivencia media de individuos adultos es de unos 6 meses. Estos granos

son muy ricos en nutrientes y dificultan la evaluación del aprovechamiento de otros componentes añadidos a la dieta. Por ello, se hizo necesario buscar un medio de cultivo alternativo, de composición definida (dieta basal), que permitiera el mantenimiento de los insectos y al mismo tiempo posibilitara estudios sobre los efectos nutricionales o antinutricionales de harinas y fracciones purificadas de semillas de leguminosas. El almidón de maíz satisfizo dichas condiciones y fue adoptado como dieta basal apteica. Como se observa en el Gráfico N° 1, la sobrevivencia de los gorgojos fue la misma en arvejas o en la dieta basal durante los 20 días del experimento. Es decir, el aporte de nutrientes de ambos sustratos evitó la mortalidad de los insectos por un largo tiempo.

Gráfico N° 1

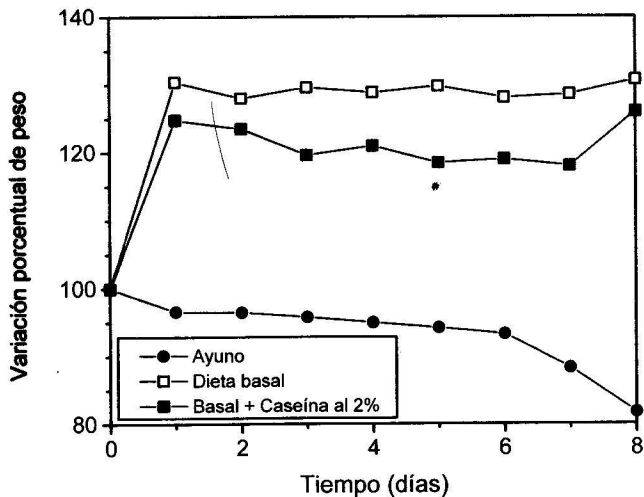
Efecto del ayuno sobre la sobrevivencia de gorgojos de arroz adultos



Individuos adultos (40 por vial) fueron mantenidos en ayuno o alimentados con 2g de las dietas indicadas. Los valores son el promedio de un ensayo realizado por triplicado.

Durante el ayuno se produce una rápida pérdida de peso. En el Gráfico N° 2 se muestra que los gorgojos en ayunas mantienen su peso relativamente constante durante los primeros 6 días, produciéndose luego una declinación abrupta de los materiales corporales, la cual precede al incremento en la tasa de mortalidad (Gráfico N° 1). En contraste, el suministro de la dieta basal, con o sin caseína al 2% promovió la ganancia de peso en relación al valor inicial de gorgojos mantenidos en arvejas peladas. Con la dieta basal, la ganancia de peso fue ligeramente mayor que con la dieta con caseína, aunque dichas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Resultados preliminares han señalado que el mantenimiento de los insectos en la dieta basal por largos períodos de tiempo si bien no influyó sobre su sobrevivencia, si disminuyó la potencial reproductiva. No obstante, este efecto no ha sido evaluado exhaustivamente.

Gráfico N° 2
Efecto del ayuno sobre el peso corporal de gorgojos de arroz adulto



Los ensayos se realizaron como se describe en el texto. Los animales se pesaron diariamente. Los valores corresponden al promedio del peso de los individuos que permanecieron vivos en cada réplica y se expresaron en función del peso inicial.

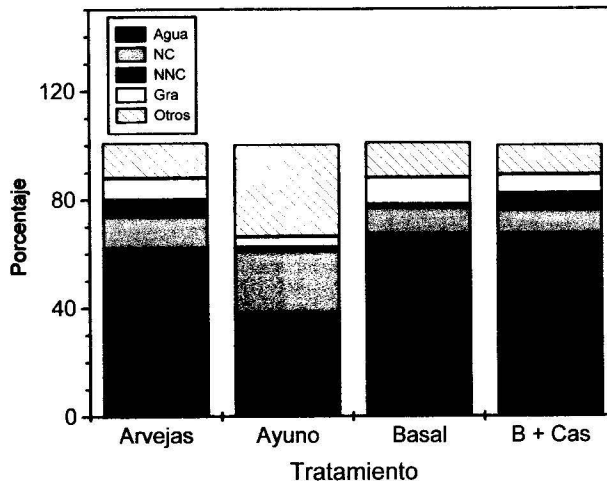
Efecto del tratamiento sobre la composición corporal de gorgojo adultos

En los gráficos anteriores se evaluó el efecto de varios tratamientos sobre dos parámetros diferentes: la sobrevivencia y la variación de peso. Ambos fueron apropiados para cuantificar los efectos de tratamientos extremos como el ayuno y la alimentación con la harina de caraotas crudas, pero no permitieron evidenciar diferencias entre los grupos de animales alimentados con dietas no tóxicas, pero de diferente calidad nutricional. Por ejemplo, como se señaló en el párrafo anterior, la ganancia de peso de los individuos fue ligeramente mayor con la dieta basal apteica que con aquella suplementada con caseína al 2% (Gráfico N° 2). Por ello, se hizo necesario realizar análisis de composición corporal para monitorear los cambios en la dinámica de utilización de los nutrientes y los procesos de adaptación de los individuos frente a los diferentes tratamientos.

El peso promedio de gorgojos adultos mantenidos en arvejas peladas fue de 1.7 ± 0.07 mg, de los cuales el 61% correspondió al agua, 12% al nitrógeno cuticular (exoesqueleto de quitina y escleroproteínas), 6% al nitrógeno corporal y 8% a las reservas de grasa. La fracción «otros», estimada por diferencia, que incluye a los esqueletos carbonados de los compuestos nitrogenados, a los carbohidratos (glucógeno, trehalosa; 10) y a las cenizas, ascendió al 13% (Gráfico N° 3). El peso corporal de individuos que sobrevivieron 8 días de ayuno disminuyó en un 50% en relación al valor inicial (0.854 ± 0.06 mg). Dicha declinación fue debida, principalmente, a la pérdida de agua. No obstante, desde un punto de vista cualitativo, resultaron más dramáticos los cambios en el nitrógeno

corporal (83%) y en la grasa (50%). Estos resultados demuestran la utilización de las reservas corporales durante el ayuno, hasta que los individuos mueren por desnutrición y deshidratación (10).

Gráfico N° 3
Composición corporal de gorgojos sometidos a varios tratamientos



La composición corporal de los gorgojos se estableció como se describe en el texto, utilizando de 10-15 individuos que sobrevivieron, bajo los diferentes tratamientos, por lo menos hasta el octavo día. B + Cas: Basal + Caseína al 2%.

Aunque el peso corporal de los insectos alimentados por 8 días con la dieta basal (2.16 ± 0.08 mg) o aquella suplementada con caseína (2.09 ± 0.07 mg) fue muy similar, se observaron grandes diferencias en la proporción de algunos componentes. El contenido de agua fue el mismo en ambos grupos (Gráfico N° 3), pero el N corporal de los animales que recibieron la dieta basal fue sólo del 1%, como en el ayuno, mientras que, en aquellos que recibieron el suplemento de caseína, el nitrógeno corporal fue del 6%. El contenido de grasa se elevó hasta el 10% en el grupo apteico y hasta el 7% en el grupo con caseína, similares a los valores iniciales (grupo arvejas).

En relación al Gráfico N° 3, resulta interesante destacar que la respuesta de los gorgojos a la dieta basal (constituida casi exclusivamente pro carbohidratos) se asemeja a la de los niños con Kwashiorkor, alimentados con una dieta muy pobre en proteínas y rica en carbohidratos, los cuales disminuyeron sus reservas de proteínas y aumentan las de grasa, particularmente en el hígado (25).

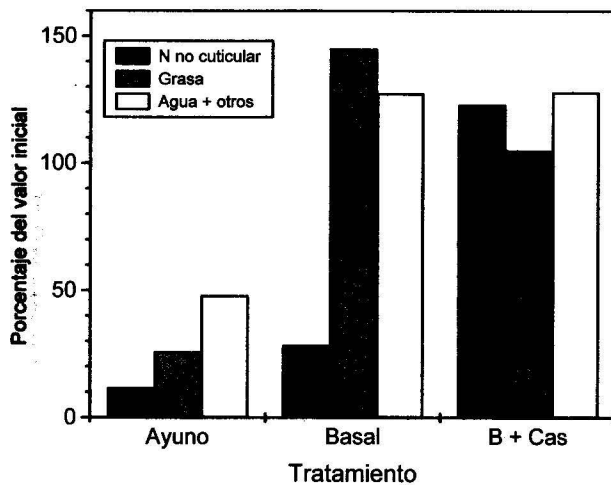
Variación porcentual de los componentes corporales por efecto de distintos tratamientos.

El desarrollo de métodos para estimar la composición corporal se ha convertido en una importante herramienta para el análisis de las transacciones metabólicas, la identificación de cambios adaptativos y la evaluación del estado nutricional. En el Gráfico N° 4 se presentan los cambios relativos en las

proporciones de algunos componentes corporales de gorgojos, los cuales ocurren en respuesta a diversos tratamientos. Como valores iniciales se tomaron aquellos de los animales provenientes de las poblaciones mantenidas en arvejas peladas. Para facilitar la interpretación de los resultados, se omitieron los valores del nitrógeno cuticular que no se modificaron por efecto de los tratamientos y se sumaron los valores del agua y los «otros» componentes.

Gráfico N° 4

Variación porcentual de los componentes corporales en relación a gorgojos crecidos en arvejas



Los individuos se analizaron como se señala en el gráfico N° 3. Los valores se expresaron como porcentaje del valor inicial correspondiente a animales crecidos en arvejas peladas. B + Cas: Basal + Caseína al 2%.

La declinación del peso durante el ayuno es debida, entre otros, a la pérdida de agua. En humanos y animales superiores se pierde agua, electrolitos y se reducen las proteínas corporales durante las primeras etapas del ayuno (26). Se ha encontrado en ratas que el agua y el nitrógeno corporal mantienen proporciones relativamente constantes cuando se expresan en base al peso magro, constituyendo un parámetro útil para calcular la Utilización Proteínica Neta (NPU). En estos animales, la relación N/H₂O fluctuó alrededor de 0.04 (27).

Después de 8 días de ayuno, el contenido de nitrógeno no-cuticular de los individuos cayó hasta un 10% de los valores iniciales (Gráfico N° 4). En este grupo la relación N/H₂O fue de 0.026. El suministro de la dieta basal (aproteica), por el mismo tiempo, produjo cambios sustanciales en la economía de las proteínas corporales, las cuales disminuyeron sólo hasta el 30% del valor inicial. Sin embargo, debido a las diferencias de peso corporal, el contenido de N no cuticular fue del 1% en ambos grupos (Gráfico N° 3). Al igual que en humanos y otros animales (28), el suministro de energía (almidón) tuvo un efecto protector de las reservas corporales de proteínas, las cuales no serían consumidas con fines energéticos. A pesar de la «mejora» del status proteico, la relación N/H₂O de los

ratones fue de 0.11.

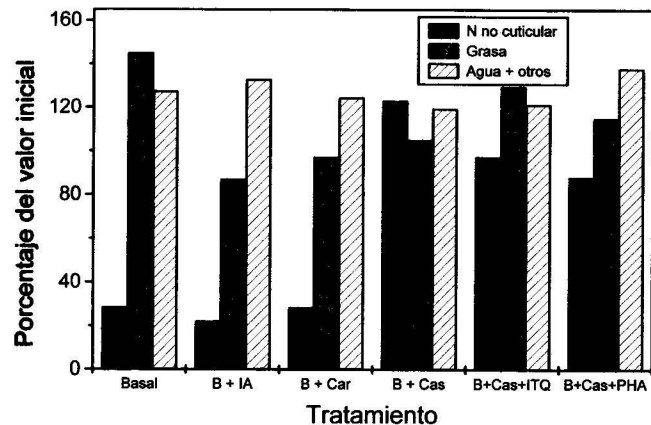
Las reservas de grasa disminuyeron hasta el 26% de los valores iniciales por efecto del ayuno y subieron hasta el 145% con la dieta basal. La alimentación con almidón de maíz implica, además de la atenuación del desgaste de las proteínas y aminoácidos libres, la acumulación del exceso de energía bajo la forma de trehalosa, glucógeno y grasa (2,10). En futuros experimentos se hará necesario evaluar la variación del glucógeno corporal, la cual puede ser cualitativamente muy importante. En el presente estudio, dicho parámetro está oscurecido por las fluctuaciones del componente «otros».

Efecto de harinas y factores antinutricionales de caraotas negras.

En el Gráfico N° 1 se presentó el efecto tóxico de la harina de caraotas crudas sobre la sobrevivencia de gorgojos adultos. A fin de estudiar los cambios de composición corporal, se añadió 2% de harina de caraotas crudas a la dieta basal. Asimismo, se ensayó el efecto del inhibidor de amilasa (IA), del inhibidor de tripsina-quimotripsina (ITQ) y de la lectina de caraotas (PHA) aislado de las mismas semillas, todos al 0.005% (50 µg/g dieta) (Gráfico N° 5).

Gráfico N° 5

Efecto de la harina de caraotas y de fracciones proteicas aisladas sobre la composición corporal de gorgojos de arroz



Los individuos se analizaron como se señala en el gráfico N° 4. a la dieta basal de maizina se le añadió harina de caraota (Car) o Caseína (Cas) al 2%, o inhibidor de α -amilasa (IA), de tripsina-quimotripsina (ITQ) o lectina de caraotas (PHA) al 0.005%.

En relación a los insectos mantenidos en arvejas, el suministro de la dieta basal elevó la grasa corporal hasta el 145%. Dicho incremento en las reservas de grasa no ocurrió cuando a la dieta basal se le adicionó IA. En este caso la grasa corporal alcanzó sólo al 88% de la estimada en los insectos mantenidos en arvejas, lo cual representa una disminución del 40% en la deposición de grasa con respecto a lo observado con la dieta basal sola. Esto demuestra que IA afectó la utilización del

almidón de maíz, reduciendo el aporte energético de la dieta basal. Recientemente, se demostró el efecto del IA de caraotas sobre la digestibilidad *in vivo* de almidones y otros nutrientes en ratas (29). Para realizar este estudio fue necesario purificar 1 g del IA de caraotas a partir de 1 kg de harina. En contraste a lo reportado para las ratas, IA no afectó los niveles de nitrógeno no cuticular.

Sorprendentemente, cuando se añadió 2% de harina de caraotas crudas a la dieta basal (Gráfico N° 5) se obtuvo un efecto similar al del IA purificado, reduciéndose, principalmente, las reservas de grasa. En este caso el aporte de IA fue 6 veces mayor al presente en la dieta con IA purificado. Esto sugiere que el efecto de IA sería uno de los más significativos en las harinas crudas. Sobre la base de un estudio de correlación estadístico se encontró (30) que, entre los factores antinutricionales de *Canavalia ensiformis*, la actividad de IA fue una de las más importantes en términos de la toxicidad de las harinas crudas de estas semillas. Muy recientemente se reportó que arvejas transgénicas, a las que se les incorporó el gen que codifica para el IA de caraotas, no sufrieron daños cuando se las infectó con el gorgojo de arvejas (*Bruchus pisorum*) (31).

Estos hallazgos parecen confirmarse al observar el efecto del ITQ y de la lectina de caraotas (PHA) (Gráfico N° 5). Estos factores antinutricionales sólo disminuyeron marginalmente la utilización de la caseína de la dieta como se evidencia al comparar los niveles de nitrógeno no-cuticular obtenidos en respuesta a la respuesta dieta control (basal + caseína). De esta comparación también puede deducirse que la utilización del carbohidrato dietario no fue afectada, alcanzándose valores de grasa corporal que se aproximan a los obtenidos con la dieta basal aprotéica. Estos resultados contrastan con los obtenidos con mamíferos monogástricos como las ratas, donde la PHA tiene un profundo efecto deletéreo (32,33).

Los resultados presentados en este trabajo confirman que los gorgojos de arroz se comportan de manera similar a otros animales frente a varias manipulaciones nutricionales (ayuno, suministro de dietas aprotéicas, etc) lo cual, aunado a las características intrínseca del sistema experimental (duración, costo y requerimientos de los ensayos y facilidad para analista ulteriores) los convierten en un modelo útil para estudiar complejas interrelaciones entre nutrientes y antinutrientes. Desde un punto de vista práctico, se constituyen en una alternativa sencilla y económica para realizar estudios de nutrición básica con aplicación a la nutrición humana y animal. La significación de los hallazgos de tales estudios será mayor en la medida en que las diferencias interespecíficas sean apropiadamente consideradas para evitar el riesgo de extrapolaciones exageradas.

Referencias

- Jaffé WG. Toxic factors in beans: Their practical importance. En: Jaffé W.G. ed. Nutritional aspects of common beans and other legume seeds as animal and human feed. Caracas, Venezuela: Arch Lat Nutr 1973; 199-209.
- Brusell E. An introduction to insecto physiology. Londres, U.K. Academic Press 1970; 31-56.
- Ryan CA. Protease inhibitors in plants. Genes for improving defense against insects and pathogens. Ann Rev Phytopathol 1990; 28:425-9.
- Carmona A. Tannins pigments that complex proteins and inhibit digestive enzymes. Arch Lat Nutr 1994; 44 (4 Sppl): 33S-8S.
- Haenel H & Kharatyan SG. Some observations on the use of microbiological techniques for the determination of protein quality. En: Porter J.W.G. and Rolls B.A. eds. Proteins in human nutrition. Londres. U.K: Academic Press 1973; 195-206.
- Lipke H, Fraenkel GS y Liener IE. Effect of soy bean inhibitor on growth of *Tribolium confusum*. Anal Food Chem 1954; 2:410-4.
- Birk Y & Applebaum SW. Effect of soy bean trypsin inhibitors on the development and mid gut proteolytic activity of *Tribolium castaneum* larvae. Enzymology 1960; 22:318-26.
- Dowd PF, Smith CM y Sparks TC. Detoxification of plant toxins by insects. Insect Biochem 1983; 13:453-468.
- Carmona A, Gómez-Sotillo A y Seidl S. Uso de pruebas bioquímicas para el estudio de problemas nutricionales en *Canavalia ensiformis*. En: Vargas R., León A. y Escobar A. eds. *Canavalia ensiformis* (L) (DC). Producción, procesamiento y utilización en alimentación animal. Caracas, Venezuela. Editorial Futuro 1993;141-52.
- Chapman RF. The insects structure and function. New York U.S.A.: American Elsevier Publishing Company, Inc., 1971; 21-82.
- Romoser WS. The science of entomology. New York U.S.A. Collier McMillan Publishing Co. Inc 1973; 63-4.
- Coulson RN & Witter TA. Entomología Forestal. Ecología y control. Ciudad de México, México, Noriega Editores-Editorial Limusa 1990; 43-4.
- Szwabert J. Efecto de algunos factores antinutricionales presentes en semillas de leguminosas sobre el gorgojo de arroz *Sitophilus oryzae*. (Tesis de grado) Caracas, Venezuela, Universidad Central de Venezuela. 1980; 60 pp.
- Gatehouse AMR y Boulter B. Assesment of the antimetabolic effects of trypsin inhibitor from cow pea (*Vigna unguiculata*) and other legumes on the development of the bruchid beetle *Callosobruchus maculatus*. J Sci Food Agric; 1983; 34:345-50.
- Baker JE. Purification of isoamylases from the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L) (Coleóptera: Curculionidae), by high performance liquid chromatography. Interaction with partially-purified amylase inhibitors from wheat. Insect Biochem 1987; 17:37-44
- Baker JE. Purification of α -amilasa inhibitor from wheat, *Triticum aestivum*, and its interaction with amylase from the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). Insect Biochem 1988; 18:107-16.
- Broadway RM y Duffey SS. The effect of dietary proteins on the growth and digestive physiology of larval *Heliotis zea* and *Spodoptera exigua*. J Insect Physiol, 1986; 32:673-80.
- Hevia P & Ciocia AM. Aplicación de un colorimétrico método to the determination of nitrogen in nutritional studies with ratas and humans. Nutr Rep Int 1988; 38:1129-1136.
- Gómez-Sotillo A, Carmona A & Seidl DS. Fractionation of *Canavalia ensiformis* proteins. Distribution of proteic antinutritional factors. En: van der Poel, A.F.B., Husman J. & Saini H.S. ed. Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds. Wageningen, Holanda, Wageningen Pers 1993; 235-9.
- Segel IH. Biochemical calculations. How to solve mathematical problems in general biochemistry. 2nd edition. New York U.S.A. John Wiley & Sons 1976; 333-7.
- Santiago JG, Levy-Benshimol A & Carmona A. Effect of *Phaseolus vulgaris* lectins on glucose absorption, transport, and metabolism in rat everted intestinal sacs. J Nutr Biochem 1993; 4:426-430.
- Klieber M. The fire of Life, an introduction to animal energetics, Huntington, New York, U.S.a. Robert E. Krieger Publishing Co. 1975; 11-24.
- Jaffé WG. Estudios sobre la inhibición del crecimiento en ratas causada por algunas semillas de leguminosas. Acta Cient. Venezolana 1950; 1:62-4.

24. Bressani R, Hernández E y Brahn JE. Relationship between content and intake of bean tannins and protein digestibility in humans. *Plant Foods Hum Nutr* 1988; 38:5-21.
25. Graham GG. Effects of deficiency of protein and amino acids. En: National Research Council, Committee on Amino acids, eds. *Improvement of protein nutriture*. National Academy of Sciences. Washington, D.C. 1974; 109-137.
26. Bray GA. Fuel homeostasis. En: *Nutrition in transition*. Proceedings Western Nutrition Congress V. White P.L. & Selvey N. eds. Monroe, Wisconsin, U.S.A. The American Medical Association 1977; 117-136.
27. Pellet PL. Methods of protein evaluation with rats I. En: Porter J.W.G. and Rolls B.A. eds. *Proteins in human nutrition*. Londres U.K.: Academic Press 1973; 1-9.
28. Mauro J. Some current problems in protein nutrition. En: Porter, JWG and Rolls, BA, eds. *Protein in human nutrition*. Londres. U.K.: Academic Press, 1973; 1-9.
29. Pusztai A, Grant G, Duguid T. et al. Inhibition of starch digestion by α -amilase inhibitor reduce the efficiency of utilization of dietary proteins and lipids and retards the growth of rats. *J Nutr* 1995; 125:1554-62.
30. Gómez-Sotillo A. Efecto de tratamientos físicos y químicos sobre los factores antinutricionales presentes en las semillas de *Canavalia ensiformis*. Digestibilidad in vitro e in vivo. (Tesis Doctoral). Caracas, Venezuela; Universidad Central de Venezuela, 1990; 176 pp.
31. Schroeder HE, Gollash S., Moore A. et al. Bean α -amilase inhibitor confers resistance to the pea weevil (*Bruchus pisorum*) in transgenic peas (*Pisum sativum* L.). *Plant physiol*. 1995; 107:1233-1239.
32. Jaffé WG. Estudios sobre la inhibición de crecimiento de ratas causada por algunas semillas de leguminosas. *Acta Cient Venez*. 1950; 1:62-64.
33. Pusztai A, Ewn SW, Grant G. et al. The relationship between survival and binding of plant lectins during small intestinal passage and their effectiveness as growth factors. *Digestion*; 46(Suppl 2) 1990; 308-316.

Use of insects in nutritional studies. Changes in body composition brought about by diet

ABSTRACT. Metabolic reactions of animals are biochemically uniform and most nutrients are common to all of them. Usually, these nutrients must be broken down before assimilation of products could occur. For this, equivalent enzymatic systems have evolved. On the same token, antinutritional factors that block nutrient utilization may limit growth and development of individuals in most species. Insects are also bound to these rules. Therefore, they could be used as models in bioassays whose results could be extrapolated to the fields of human and animal nutrition. In this study, survival and changes in body weight and composition were measured in adult weevils (*Sitophilus oryzae*) fed diets with legume seed flours and purified antinutritional factors. As a basal diet, corn starch was used Phaseolus vulgaris flour reduced the half-survival time of weevils, whereas purified antinutritional factors most often changed body composition. *An Venez Nutri* 1997; 10 (1):20-26.

Key Words: Weevils, diet, starvation, antinutritional factors.